

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Departamento Académico de Ciencias Agrarias



**EFFECTO DE DOS REGULADORES DE CRECIMIENTO
EN FASE DE ENRAIZAMIENTO IN VITRO DE LA PIÑA**

(Ananas comosus L.) VAR. 'CAYENA LISA'

TESIS

Para Optar el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Elith María Alejandro López

PROMOCIÓN II – 1997

“Unasinos líderes del futuro”

TINGO MARÍA – PERÚ

2002

DEDICATORIA

A DIOS que hizo el mundo y todas las cosas que hay en él. Porque en Dios vivimos, nos movemos y existimos.

Hechos 17: 24 - 28

A mi querido padre TEÓFILO, con cariño y amor, por su abnegado sacrificio, apoyo económico y confianza brindada para lograr mi carrera profesional.

A mi querida madre ELITH JUANA, mi mejor amiga, con infinito amor y eterna gratitud por su invaluable apoyo y constante aliento en mi formación profesional.

A mi hermana SILVIA PATRICIA con afecto, amor y estimación por el apoyo incondicional en la culminación del presente trabajo.

AGRADECIMIENTO

- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva y docentes de la Facultad de Agronomía, que contribuyeron en la formación de mi carrera profesional.
- Al Ing. M. Sc. David Guarda Sotelo, asesor de la presente tesis, por su gentil colaboración en el análisis estadístico y valiosa orientación.
- Al Ing. Luis García Carrión, coasesor de esta tesis por la amistad y ayuda oportuna para su culminación.
- Al Ing. Walter Enrique Panduro Calderón, por su orientación en la ejecución de la presente tesis.
- A los miembros del jurado: Ing. Carlos Carbajal Toribio, Ing. Jorge Adriazola del Aguila e Ing. Carlos Miranda Armas, mi sincero agradecimiento.
- Al Ing.M.Sc Tomás Melgarejo Gutiérrez e Ing M.Sc Wilfredo Zavala Solórzano, por la amistad brindada y apoyo bibliográfico para la redacción de la presente tesis.
- Al Ing. Rolando Reyes Salazar, por su amistad y orientación en la redacción de la tesis.
- Al Bach. Juan Carlos Chávez Figueroa con profundo amor y agradecimiento por su invaluable apoyo y confianza.
- Al Ing. Pedro Merino Sifuentes y al Bach. Alfredo Loayza Alva por las facilidades brindadas para la redacción de la tesis.
- A todos mis familiares y amigos que de una u otra manera me brindaron su amistad y apoyo permanente.

ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	13
II. REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1 Aspectos generales sobre la piña.....	15
2.2 Aspectos generales sobre cultivos de tejidos	17
2.3 Aspectos generales sobre medios de cultivo	19
2.4 Estado físico del medio de cultivo	28
2.5 Cultivo de tejidos en piña	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1 Lugar de ejecución	32
3.2 Materiales y equipos	32
3.3 Componentes en estudio	33
3.4 Tratamientos en estudio	34
3.5 Diseño experimental	35
3.6 Esquema del análisis de variancia	36
3.7 Ejecución del experimento	36
3.8 Observaciones registradas y metodología	42
IV. RESULTADOS	45
4.1 Altura de plántula	45

4.2	Diámetro de plántula	55
4.3	Número de hojas	59
4.4	Días a la formación de raíces	69
4.5	Longitud de raíces	78
4.6	Número de raíces	87
4.7	Días a la formación de brotes	96
4.8	Número de brotes	100
4.9	Porcentaje de enraizamiento	104
4.10	Formación de callo y porcentaje de sobrevivencia	107
V.	DISCUSIÓN.....	108
VI.	CONCLUSIONES	120
VII.	RECOMENDACIONES	121
VIII.	RESUMEN	122
IX.	BIBLIOGRAFÍA	124
X.	ANEXO	128

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Descripción de los tratamientos en estudio	34
2. Esquema del análisis de variancia	36
3. Análisis de variancia para la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo	45
4. Análisis de los efectos simples para la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo	46
5. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días	48
6. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días	51
7. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días	53
8. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días	54
9. Análisis de variancia para el diámetro de plántula evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo	55

10. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al diámetro de plántula evaluados a los 30 y 60 días	58
11. Análisis de variancia para el número de hojas evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo	59
12. Análisis de los efectos simples para el número de hojas evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo	61
13. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al número de hojas evaluados a los 30 y 60 días	62
14. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente al número de hojas evaluados a los 30 y 60 días	65
15. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al número de hojas evaluados a los 30 y 60 días	67
16. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente al número de hojas evaluados a los 30 y 60 días	68
17. Análisis de variancia para los días a la formación de raíces	69
18. Análisis de los efectos simples para los días a la formación de raíces	70

19. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a los días a la formación de raíces	71
20. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a los días a la formación de raíces	74
21. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a los días a la formación de raíces	76
22. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a los días a la formación de raíces	77
23. Análisis de variancia para la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo	78
24. Análisis de los efectos simples para la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo	79
25. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días	80
26. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días	83

27. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días	85
28. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días.....	86
29. Análisis de variancia para el número de raíces evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo	87
30. Análisis de los efectos simples para el número de raíces evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo	88
31. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al número de raíces evaluados a los 30 y 60 días	89
32. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente al número de raíces evaluados a los 30 y 60 días	92
33. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al número de raíces evaluados a los 30 y 60 días	94
34. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente al número de raíces evaluados a los 30 y 60 días	95
35. Análisis de variancia para los días a la formación de brotes	96

36. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a los días a la formación de brotes	98
37. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a los días a la formación de brotes	99
38. Análisis de variancia para el número de brotes evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo. Datos transf. a \sqrt{x}	100
39. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al número de brotes evaluados a los 30 y 60 días. Datos transf. a \sqrt{x}	101
40. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente al número de brotes evaluados a los 30 y 60 días. Datos transf. a \sqrt{x}	102
41. Análisis de variancia para el porcentaje de enraizamiento	104
42. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al porcentaje de enraizamiento	106
43. Resultados de la formación de callo y porcentaje de sobrevivencia	107
44. Composición del medio básico de Murashige y Skoog (1962)	129

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Efecto de la interacción dosis de ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en la altura de plántula a los (a) 30 días y (b) 60 días.	49
2. Efecto de la interacción dosis de ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en el diámetro de plántula a los (a) 30 días y (b) 60 días	57
3. Efecto de la interacción dosis del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en el número de hojas a los (a) 30 días y (b) 60 días ...	63
4. Días a la formación de raíces por efecto de la interacción del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B)	72
5. Efecto de la interacción dosis del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en la longitud de raíces a los (a) 30 días y (b) 60 días..	81
6. Efecto de la interacción dosis del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en el número de raíces a los (a) 30 días y (b) 60 días ..	90
7. Días de formación de brotes por efecto de la interacción del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B)	97
8. Efecto de la interacción dosis del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en el número de brotes a los (a) 30 días y (b) 60 días .	103
9. Efecto de la interacción dosis del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en el porcentaje de enraizamiento	105

10.	Instalación del experimento en la cámara de cultivo	130
11.	Plántula de piña a los 60 días dosificado con 0.5 mg/l de ácido naftalenacético + 0.2 (a), 0.3 (b) y 0.4 (c) mg/l de ácido indolbutírico.	131
12.	Plántula de piña a los 60 días dosificado con 1.0 mg/l de ácido naftalenacético + 0.2 (a), 0.3 (b) y 0.4 (c) mg/l de ácido indolbutírico.	132
13.	Plántula de piña a los 60 días dosificado con 1.5 mg/l de ácido naftalenacético + 0.2 (a), 0.3 (b) y 0.4 (c) mg/l de ácido indolbutírico	133
14.	Plántula de piña a los 60 días dosificado con 0.2 mg/l de ácido indolbutírico + 0.5 (a), 1.0 (b) y 1.5 (c) mg/l de ácido naftalenacético...	134
15.	Plántula de piña a los 60 días dosificado con 0.3 mg/l de ácido indolbutírico + 0.5 (a), 1.0 (b) y 1.5 (c) mg/l de ácido naftalenacético...	135
16.	Plántula de piña a los 60 días dosificado con 0.4 mg/l de ácido indolbutírico + 0.5 (a), 1.0 (b) y 1.5 (c) mg/l de ácido naftalenacético ...	136
17.	Efecto de las dosis del ácido naftalenacético y ácido indolbutírico en plántulas <i>in vitro</i> de piña. Fotografía tomada a los 60 días después de la siembra en el medio de enraizamiento	137

I. INTRODUCCIÓN

En el avance de la biotecnología ha cumplido un papel importante el desarrollo de las técnicas *in vitro* de células, tejidos y órganos. La micropropagación, es decir la propagación clonal por cultivo *in vitro* constituye uno de los métodos biotecnológicos que mayores logros ha aportado al desarrollo de una nueva agricultura.

Las piñas son comunmente propagadas por estructuras vegetativas y para esto varias partes de la planta pueden ser usadas, pero su calidad como material de propagación varía considerablemente, por eso esta técnica es una alternativa segura y eficaz para la producción de vitroplantas homogéneas y de alta calidad en menor tiempo, a gran escala y libre de enfermedades.

Los propágulos convencionales de lento crecimiento; y la producción limitada de coronas, esquejes e hijuelos restringen la tasa de multiplicación de material selecto y la producción de nuevos clones y variedades, sobre todo si deseamos ingresar de manera competitiva al mercado internacional.

Sin embargo, existen aspectos que deben ser investigados con el objeto de mejorar la eficiencia de ésta técnica, uno de estos es el proceso de rizogénesis que es el último paso en la regeneración *in vitro*, en la cual se buscará la formación de raíces en los brotes producidos, por ello la necesidad de un medio de cultivo *in*

vitro adecuado, para cuyo fin se requiere conocer el efecto de reguladores de enraizamiento en el cultivo *in vitro* de piña.

Es en atención a lo referente que realizamos el presente trabajo de investigación en el que se tuvo como objetivos:

- 1.- Determinar el efecto de dos reguladores de crecimiento para el enraizamiento de piña (*Ananas comosus* L.) en la variedad 'Cayena Lisa'.
- 2.- Determinar las concentraciones hormonales óptimas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GENERALES SOBRE LA PIÑA

A. Crecimiento, desarrollo y fructificación de la piña

La piña se puede propagar por semilla, pero éste método es usado generalmente sólo para fines de mejoramiento. La piña se comporta como autoestéril, luego, cuando se obtienen semillas, éstas son el resultado de polinización cruzada y por ende éste material tiende a disgregar y solo puede tener aplicación dentro de programas de selección de nuevas variedades, que luego se propagan por medios vegetativos que es la forma tradicional de propagación de la piña (19).

La planta de piña, según el tipo de hijuelo utilizado en la plantación, crece y fructifica en períodos de tiempo variable. En cada caso se distingue dos etapas, la primera que comprende entre 9 y 11 meses, al que se le denomina juvenil, caracterizada por un crecimiento puramente vegetativo. A continuación comienza una segunda etapa que empieza con un cambio de pigmentación en las hojas que se van formando, las mismas que de verde se tornan verde rojiza; en ésta etapa que toma entre 7 a 13 meses, ocurre la floración, crecimiento y maduración del fruto.

En el curso de la primera etapa, la planta acumula carbohidratos en la forma de almidón y otros compuestos, los cuales son utilizados en la segunda etapa en el desarrollo del fruto.

De acuerdo al material de propagación, desde que se establece el hijuelo en el terreno hasta la maduración del fruto, las dos etapas forman de 16 a 18 meses cuando se ha utilizado hijuelos de la base de la planta; 20 a 22 meses en caso de hijuelos de la base del fruto; y de 22 a 24 meses en caso de hijuelos de la corona (5).

B. Cultivares

El origen de los cultivares en piña puede atribuirse principalmente a las mutaciones somáticas, como no hay autofecundación y la polinización cruzada sólo ocurre en forma ocasional; los híbridos naturales son muy escasos, además las semillas germinan con dificultad (13).

En el Perú las variedades de piña más importantes son la 'Ecuatoriana Espinosa', 'Blanca de Chanchamayo', 'Samba', 'Pucallpina' y 'Roja Trujillana'; sin embargo, la de mayor aceptación e importancia es la "Cayena Lisa", representando aproximadamente el 75% de toda la producción de piña a nivel mundial. Por esta razón, es necesario considerar en nuestro país un incremento de hectáreas de cultivo de dicha variedad y la introducción de la misma en zonas donde aun no se las cultiva. Para llevar a cabo dicha tarea nos sería de mucha utilidad la aplicación de las técnicas de micropropagación *in vitro* y el desarrollo de programas de producción masiva de hijuelos de variedades altamente rentables (16).

2.2 ASPECTOS GENERALES SOBRE CULTIVOS DE TEJIDOS

A. Definición

El cultivo de tejidos *in vitro* comprende un heterogéneo grupo de técnicas mediante las cuales un explante (parte separada de un vegetal, por ejemplo: protoplasto, célula, tejido, órgano) se cultiva asépticamente en un medio de composición químicamente definida y se incuba en condiciones controladas. Esta técnica se basa fundamentalmente en el principio de totipotencialidad, que establece que cualquier célula somática joven o en proceso de diferenciación tiene una alta capacidad o potencialidad para regenerar una planta completa si se le coloca en condiciones adecuadas (25).

B. Importancia

Esta metodología ha demostrado importantes ventajas en comparación con los sistemas convencionales de propagación; entre las cuales tenemos:

- Multiplicación masiva y rápida.
- Obtención de plantas libres de hongos, bacterias y de enfermedades virósicas.
- Homogeneidad del material.
- Mayor vigor de las plantas regeneradas.
- Multiplicación durante todo el año.
- Ahorro de espacio con respecto a los sistemas tradicionales.
- Conservación del material genético en vías de extinción.

- Fácil transporte e intercambio de material vegetal.
- Propagación de especies de difícil multiplicación (17).

C. Etapas en la micropropagación

Murashige, ha propuesto las siguientes etapas para micropropagar eficientemente una especie:

Etapas I: Iniciación o establecimiento aséptico de los explantes garantizando su supervivencia en las nuevas condiciones de cultivo.

Etapas II: Período de multiplicación, donde se desarrollan los brotes y/o estructuras de multiplicación masiva.

Etapas III: Enraizamiento y pretransplante, donde se prepara el material producido para su supervivencia en condiciones de suelo, para lo cual se debe adaptar a los materiales producidos a una condición netamente autotrófica.

Además de las tres etapas mencionadas pueden considerarse otras dos como parte integral del procedimiento:

Etapas IV: Transplante al suelo y aclimatación a las condiciones ambientales.

Etapas O: Etapa inicial que comprende la selección de la planta madre y la selección de una modalidad de pretratamiento para volver funcional la estrategia que se adopte (20).

D. Factores que influyen en la micropropagación

Existen diferentes factores que determinan el éxito en los sistemas de micropropagación, entre los más importantes tenemos:

- Planta que dona el explante (planta madre).
- El explante.
- Asepsia.
- Medio de cultivo.
- Control riguroso de las condiciones ambientales del cultivo.

Estos factores del cultivo de tejidos proporcionan las ventajas principales que tienen dicha técnica sobre los métodos de propagación vegetativa tradicionales en cuanto a la posibilidad de lograr resultados satisfactorios en un mayor número de especies difíciles de multiplicar (25).

La elección, aislamiento y desinfección del explante es el primer paso para el establecimiento *in vitro* de cualquier especie vegetal y el éxito de esta fase depende en gran medida de una serie de parámetros relacionados con el propágulo (estado fisiológico, edad, estado de desarrollo y estado sanitario) y con el sistema seguido para su manipulación y esterilización (29).

2.3 ASPECTOS GENERALES SOBRE MEDIOS DE CULTIVO

A. Principios generales

Para crecer las células requieren una variedad de nutrimentos orgánicos e inorgánicos; éstos requerimientos se demuestran fácilmente en órganos y tejidos

extirpados de plantas superiores e inferiores. Los nutrimentos orgánicos, al igual que los inorgánicos, se requieren en dos niveles: uno macro y otro micro. Generalmente las células en crecimiento pueden fabricar sus proteínas a partir de fuentes adecuadas de nitrógeno y carbohidratos suministradas por el medio de cultivo, además de una cantidad de sustancias orgánicas adicionales que se requieren en cantidades mínimas y que son muy activas en el crecimiento (25).

A menudo, la necesidad de los factores orgánicos de crecimiento se hace evidente sólo cuando se considera un crecimiento largo y continuado o potencialmente indefinido. Aunque una planta verde intacta es autótrofa, las células de sus regiones de crecimiento pueden ser acentualmente heterótrofas y requerir la aplicación de un número de estimulantes orgánicos complejos que, en el caso de la planta intacta, generalmente se derivan de las células verdes (23).

En términos generales la mayor parte de los tejidos se pueden cultivar exitosamente en un medio que contenga cualquiera de varias mezclas de sales minerales diseñadas para mantener el crecimiento de tejidos y órganos. A menudo se utiliza la sacarosa como una fuente de energía. Algunos tejidos se pueden cultivar exitosamente en un medio completamente definido, mientras otros no presentan crecimiento en soluciones salinas relativamente simples, a menos que se complementen con ciertos microelementos, vitaminas y otras sustancias promotoras del crecimiento de naturaleza completamente indefinida, tales como el agua de coco (AC), la caseína hidrolizada (CH), los extractos de levadura y de malta, u otros semejantes (25).

El éxito del cultivo de tejidos vegetales depende sustancialmente del medio de cultivo empleado. Para establecer un sistema de cultivo de tejidos se elabora primero un medio de cultivo óptimo que se ajuste a los principales requerimientos nutricionales de la especie vegetal, al tipo de explante, y al sistema de cultivo. La efectividad de un cultivo depende tanto de los ingredientes básicos, nutrimentos, azúcar y hormonas, como del agente gelificador (15).

B. Ingredientes

El medio de cultivo es la combinación sólida o líquida de nutrientes y agua. La fórmula de Murashige y Skoog (anexo Cuadro 44), ha demostrado que es el medio adecuado para una gran variedad de especies, así como para diferentes partes de una planta; esta fórmula contiene macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, aminoácidos, carbohidratos y reguladores, esenciales para el crecimiento del tejido vegetal (12, 21).

C. Reguladores de crecimiento vegetal

Los reguladores del crecimiento son compuestos orgánicos que en pequeñas cantidades estimulan, inhiben, o modifican de algún modo cualquier proceso fisiológico en las plantas (12).

El desarrollo de las plantas tanto en crecimiento y diferenciación de órganos es regulado por la acción de sustancias químicas o reguladores del crecimiento, que activan o deprimen determinados procesos fisiológicos interactuando entre sí (7).

Algunos reguladores pueden ser estimulantes a bajas dosis o inhibitorias a dosis altas; el umbral depende de la especie de la planta. Todo esto dificulta la aplicación de un criterio (26).

Las concentraciones altas pueden producir anomalías en la formación de raíces y necrosis de los tejidos, observaciones de concentraciones altas de auxinas atroflan el crecimiento de raíces adventicias (32).

Actualmente se reconocen cinco tipos básicos de sistemas químicos de reguladores de crecimiento vegetal, divididos en tres grupos principales:

- a). Promotores del crecimiento: Auxinas, Citokininas y Giberelinas.
- b). Inhibidores del crecimiento: ácido abscísico.
- c). Etileno. (14)

En el cultivo *in vitro* de plantas superiores, los reguladores especialmente las auxinas y citokininas, juegan un papel muy importante. Se puede decir que el cultivo *in vitro* es generalmente imposible sin reguladores. Si a un medio nutritivo se le debe añadir una auxina o una citokinina, para conseguir la extensión y/o la división celular, es algo que depende del tipo de explante y de la especie vegetal (23).

D. Las auxinas

El término auxina (del griego auxein, incrementar), fue utilizado por primera vez por Fritz Went, en Holanda en 1920, quien efectuó experimentos que

probaron definitivamente la existencia de una sustancia difusible que estimula el alargamiento celular, y en la década de 1930 se conoció la estructura e identidad de la auxina: el ácido indolacético (3).

Se sintetiza principalmente en el ápice del tallo y ramas jóvenes, en las yemas y hojas jóvenes y en general en los meristemas (25). Comprenden una gran familia de sustancias que tienen en común la capacidad de producir un agrandamiento y alargamiento celular, sin embargo se ha encontrado al mismo tiempo que promueven la división celular en el cultivo de tejidos (26) frecuentemente fomentan el desarrollo de callos y generalmente ejercen el control primario en el crecimiento de tallos y raíces (32).

Auxinas naturales y sintéticas han sido utilizadas ampliamente en el cultivo de células, tejidos y órganos vegetales para producir respuestas morfogénicas específicas. Por regla general las concentraciones bajas de auxina estimulan el crecimiento, en tanto que las más altas lo inhiben, aunque la concentración óptima dependa de la especie y el tipo de tejido (26).

Entre las muy numerosas sustancias auxínicas tres han tomado gran importancia en lo que concierne al enraizamiento:

- El AIA (ácido indolacético).
- El AIB (ácido indolbutírico).
- El ANA (ácido naftalenacético).

El AIA es muy activo pero presenta inconvenientes debido a que su molécula se destruye fácilmente por oxidación y es poco estable; además que es relativamente soluble y se descompone rápidamente en los tejidos de la planta (2).

El AIB su forma sintética es considerado como uno de los mejores productos para aumentar el enraizamiento en un gran número de especies; su actividad auxínica es débil y los sistemas de enzimas destructoras de auxinas lo destruyen relativamente lento, resulta muy eficaz como estimulante de las raíces, debido a que se desplaza muy poco y se retiene cerca del sitio de aplicación (30); su molécula es más estable y menos soluble, pasa menos rápido en los tejidos de la planta y permanece más tiempo en el punto de aplicación, produce un sistema de raíces más fuertes y fibrosas (2).

Aunque el ácido indolbutírico ha sido identificado como un producto natural en la cáscara de la patata hace 40 años, todavía es referido como una auxina sintética (10). Este ácido es comúnmente utilizado para promover la iniciación radicular tanto *in vitro* como *ex vitro* (31).

El ANA es de un empleo más delicado, porque el margen entre el umbral de su actividad y el umbral de su toxicidad es muy pequeño; es mucho más activo pero mucho más fitotóxico; ocasiona usualmente el desarrollo de raíces cortas y gruesas (2). Deben evitarse las concentraciones excesivas con ANA por el peligro de provocar daños en las plantas; al usarlo en concentraciones muy altas tienden a producir raíces gruesas y atrofiadas (32).

Todas las formas de crecimiento de la raíz inicial o en longitud, o en la forma de raíces cortas y gruesas, se desarrollan por un tratamiento hormonal apropiado. Muchas especies requieren las auxinas más fuertes como AIB o ANA para estimular la formación de raíces (29). Una mezcla de hormonas ha tenido éxito donde las hormonas empleadas solas no han dado más que poco o ningún resultado; ANA y AIB, no tienen la misma acción sobre la rizogénesis y la causa radica en las prioridades secundarias de su molécula: facilidad de penetración y rapidez de conducción dentro de la planta (2).

Se determinó el ritmo de movimiento polar de algunas auxinas y encontraron que la velocidad del ácido naftalenacético fue de 6.7 mm/h, y del ácido indolbutírico 3.2 mm/h, en un trabajo realizado por Leopold y Lam (8)

Los reguladores de crecimiento que se desplazan con facilidad pueden causar efectos indeseables de crecimiento en la planta propagada. Partes iguales provocan que un porcentaje más alto echen raíces en algunas especies que cualquiera de ambos utilizado por separado (32).

Se usaron plántulas de cítricos *in vitro* como fuente de explante; ellos cultivaron propágulos de nudos e hipocotilos los cuales para inducir la formación radicular fueron transferidos a un medio suplementado con diferentes cantidades de ácido naftalenacético (0.0-26.9 μM) y ácido indolbutírico (0.0-25 μM), obtuvieron una exitosa multiplicación y enraizamiento (22).

Las bases fisiológicas para la iniciación de los primordios radiculares parecen estar correlacionados con el nivel de auxina presente en los tejidos o un balance entre la auxina y otros constituyentes. En algunos casos se ha observado que concentraciones relativamente altas de auxina podrían estar relacionados con deficiencias en la absorción, transporte o modo de acumulación de la auxina o un proceso rápido de cambios metabólicos hacia compuestos no auxínicos (7).

Las yemas pueden ser una fuente de inhibidores del enraizamiento y su efecto se ve incrementado con la utilización de las reservas por la aceleración de la emisión de brotes, que genera gran actividad metabólica dejando en déficit a las necesidades para la emisión de raíces (10).

Hay evidencias substanciales que indican que la luz modifica los niveles endógenos de las hormonas o altera la sensibilidad de las células a éstas; el ácido naftalenacético y el ácido indolbutírico son completamente activos en tejidos irradiados (9).

La luz es el factor más complejo y variable para el normal desarrollo de las plantas; en la fotomorfogénesis es una señal utilizada para el control del desarrollo (11).

Un periodo corto de irradiación con luz roja podría ser capaz de acelerar el proceso de rizogénesis. El ácido naftalenacético incrementa el número de raíces por brotes en la oscuridad, así como en la luz roja y luz blanca (27).

Se realizó un trabajo sobre el efecto de la luz y la concentración de auxinas en la rizogénesis *in vitro* de una bromelia (*Gusmania lingulata* L.), donde llegó a la conclusión que el factor de mayor importancia para el proceso de rizogénesis es la luz y que un periodo de exposición de la luz roja es capaz de acelerar el proceso de rizogénesis en una semana, siendo más efectivo que el ácido naftalenacético (33).

La falla del enraizado puede atribuirse también a una concentración excesiva de las sustancias promotoras de la iniciación radical, pudiendo ésta provocar un crecimiento desordenado de las células precursoras de raíces, produciendo una formación callosa parecida a un tumor (1).

Se realizó un trabajo en *Musaenda erythrophgela* Schum, mediante cultivo *in vitro* en el cual se encontró que la formación de raíces se logró eliminando las citokininas del medio y adicionando auxinas. De las auxinas probadas el ácido indolbutírico (AIB) fue superior al ácido naftalenacético (ANA); al aumentar la concentración de ácido indolbutírico (AIB), se incrementa el porcentaje de raíces, acortando el tiempo de la formación de un sistema radical largo, delgado y bien ramificado. Con el ANA, en todas las concentraciones probadas se obtuvo un menor porcentaje de brotes con raíces, y al aumentar las concentraciones éstas se hacían más cortas y gruesas, y la proliferación de callos fue mayor (18).

2.4 ESTADO FÍSICO DEL MEDIO DE CULTIVO

Aunque en la mayoría de los medios de enraizamiento se emplea el agar como soporte, al no ser este un material completamente inerte, se ha reportado un crecimiento pobre de las raíces en varias especies sensitivas. Explicándose este fenómeno por la poca difusión de sustancias tóxicas liberadas por el tejido en crecimiento, aireación y disponibilidad de nutrientes.

Los medio líquidos ofrecen ventajas en esta fase ya que además de las otras facilidades que poseen, permiten la difusión de los residuos tóxicos de las plantas, fundamentalmente los fenoles que son abundantes durante la iniciación del crecimiento de las raíces y el desarrollo general de la planta es más rápido acortándose el período de trasplante . La utilización de medios líquidos trae consigo una serie de ventajas que se reflejan fundamentalmente en la disminución de los costos por concepto de medio de cultivo al eliminarse el agar, lo cual tiene un efecto superior al ser esta la fase donde se maneja el mayor volumen de plantas en todo el proceso de propagación *in vitro* (15).

2.5 CULTIVO DE TEJIDOS EN PIÑA

El éxito de la multiplicación rápida a través de la micropropagación *in vitro* de orquídeas y otras especies agrícolas, sugiere que ésta técnica es altamente ventajosa cuando se requieren numerosas plantas de una calidad deseable. Consecuentemente varios intentos han sido hechos para utilizar éste método para

la multiplicación clonal rápida de la piña; se obtuvieron pocas plantas regeneradas procedentes de segmentos de corona en cultivos *in vitro*. La multiplicación rápida a través del cultivo de yemas axilares de la piña, así como también de otras bromeliáceas nos sugiere que ésta alternativa es un método eficiente para la propagación clonal rápida *in vitro* de ésta planta.

Un éxito parcial al cultivar retoños de piña; fue reportado por Mapes que produjo estructuras parecidas a cormos y/o plántulas a partir de ápices retoñales previamente agitados sobre un medio de Murashige y Skoog (MS) suplementado con Adenina. Laksmisita y otros, obtuvieron plántulas de yemas terminales de la corona *in vitro*; sin embargo sólo una planta fue obtenida de cada yema (6).

La formación de plántulas múltiples en cultivo de yemas laterales de piña; éstas fueron obtenidas de yemas axilares usualmente latentes extraídas de la corona y cultivadas sobre un medio MS suplementadas con ANA, AIB y Kinetina. Mediante la agitación de los frascos de cultivo, durante el crecimiento se incrementó el número de retoños múltiples originados; comparados con el cultivo estacionario (sin agitación), el cultivo con agitación fue casi tres veces superior, así, se produjeron un promedio de 62 retoños múltiples en cultivos agitados y un 26 en cultivos sin agitación. Este ciclo repetitivo resulta en un gran número de plantas. Posteriormente los retoños al ser transferidos a un medio MS conteniendo

bajas concentraciones de ANA y AIB, desarrollaron raíces y dieron lugar a plántulas que poco después fueron transplantadas al suelo (6).

Explantos foliares extraídos de plántulas *in vitro*, también desarrollaron un callo capaz de regenerarse. Varios explantes tales como: sincarpas jóvenes, yemas axilares de chupones y/o esquejes, pequeñas coronas y esquejes cultivados, produjeron una masa similar a un protocormo que creció vigorosamente y posteriormente se diferenciaron en plántulas. Se observó muchas variantes entre las regeneradas respecto a la espina, color de la hoja, excreción de cera sobre la superficie y densidad foliar. La secuencia y distribución de ésta variante parecieron estar relacionadas a la fuente del explante, mientras que el sincarpo y los esquejes desarrollaron variantes en altas frecuencias, las yemas axilares y de la corona lo hicieron en una pequeña cantidad (6).

Los procesos organogénicos dependen en gran medida de la relación óptima de las concentraciones de auxinas y citocininas endógenas y exógenas presentes en los cultivos. Con el fin de obtener un crecimiento apreciable en yemas de piña cultivadas *in vitro*, se realizó un trabajo utilizando diferentes modificaciones del medio Murashige y Skoog; los mejores resultados para la etapa de inicio fueron encontrados con los medios que contenían 0.25 mg/l de Benzilaminopurina + 0.2 mg/l de ácido naftalenético, mientras que para multiplicación fue de 2 mg/l de Benzilaminopurina (24).

La primera parte del desarrollo de los explantes de piña podía lograrse sin dificultad; sin embargo sería importante la utilización de las combinaciones del ácido indolbutírico (AIB) y ácido naftalenacético (ANA) en la segunda etapa que comprende el desarrollo foliar y radical; en el cultivo de la piña ésta etapa resulta tan importante como la primera, ya que el trasplante a los invernaderos no alcanza éxito si las pequeñas plantas no poseen una altura adecuada (24).

La formación de retoños múltiples de cultivos de yemas laterales de piña, fue reportado por Zepeda y Sagawa; ellos sugieren que por lo menos 5000 plantas podrían ser producidos en 12 meses de una simple corona, estiman que podría ser posible producir dos millones de plantas a partir de una simple yema en dos años (6).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Micropropagación *In Vitro* de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en el km 1.5 carretera Tingo María-Huánuco, distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco y región Andrés Bello Cáceres, cuyas coordenadas geográficas son:

Longitud : 75°57'00''
Latitud sur : 09°09'08''
Altitud : 670 m.s.n.m.

3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

Los materiales y equipos usados en éste trabajo fueron los siguientes:

A. Material vegetal

El material biológico que se utilizó fueron hijuelos de base de la planta provenientes de la ciudad de Chanchamayo; cuyas hojas fueron retiradas cuidadosamente para luego excindir las yemas axilares las cuales después de ser sometidas a un proceso de desinfección fueron sembradas *in vitro* para su multiplicación y posterior siembra en el medio de enraizamiento.

B. Instrumental y equipos

Pinzas rectas largas, mangos de bisturí con hojas de disección número 10 y 11, espátulas finas, tijera de disección recta, baguetas metálicas, cámara de

flujo laminar, autoclave, potenciómetro digital, destilador, refrigerador, incubador y balanza digital.

C. Materiales de vidrio, de plástico y otros

Magentas con tapa o frascos de vidrio con boca ancha, placas petri de vidrio, beaker pirex de 500 y 1000 ml, erlemmeyer pirex de 500, 1000 y 2000ml, probetas de 100 y 1000 ml, baguetas de vidrio, pipetas graduadas de 1 y 10 ml, mechero de vidrio, pizeta plástica, algodón, papel kraft, parafilm, papel aluminio, mascarillas, marcadores indelebles, escobillas para lavar tubos de ensayo, papel toalla y detergente.

D. Reactivos y otros

Medio Basal de Murashige y Skoog (Anexo Cuadro 44), ácido naftalenacético (ANA) de 0.5, 1.0 y 1.5 mg/l; ácido indolbutírico (AIB) de 0.2, 0.3 y 0.4 mg/l, NaOCl al 5%, alcohol al 96%, NaOH 1N y HCl 1N.

3.3 COMPONENTES EN ESTUDIO

- Material vegetal

Micropropágulos de piña, variedad 'Cayena Lisa', provenientes de cultivo *in vitro*, de 4 meses de edad, con un tamaño aproximado de 1-1.2 cm.

- Reguladores de crecimiento

- a). Ácido naftalenacético (ANA) : Factor A
- b). Ácido indolbutírico (AIB) : Factor B

- **Dosis (concentraciones)**

- $a_1 = 0.5 \text{ mg/l}$
- $a_2 = 1.0 \text{ mg/l}$
- $a_3 = 1.5 \text{ mg/l}$
- $b_1 = 0.2 \text{ mg/l}$
- $b_2 = 0.3 \text{ mg/l}$
- $b_3 = 0.4 \text{ mg/l}$

3.4 TRATAMIENTOS EN ESTUDIO

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos en estudio.

Tratamiento	Clave	ANA (A) ^{1/}		AIB (B) ^{2/}	
		(mg/l)		(mg/l)	
T ₁	a ₁ b ₁	0.5	+	0.2	
T ₂	a ₁ b ₂	0.5	+	0.3	
T ₃	a ₁ b ₃	0.5	+	0.4	
T ₄	a ₂ b ₁	1.0	+	0.2	
T ₅	a ₂ b ₂	1.0	+	0.3	
T ₆	a ₂ b ₃	1.0	+	0.4	
T ₇	a ₃ b ₁	1.5	+	0.2	
T ₈	a ₃ b ₂	1.5	+	0.3	
T ₉	a ₃ b ₃	1.5	+	0.4	
T ₁₀	a ₀ b ₀	0.0	+	0.0	

^{1/} Ácido naftalenacético.

^{2/} Ácido indolbutírico.

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el presente estudio se utilizó el diseño completamente al azar, con arreglo factorial 3A x 3B mas un testigo adicional con 7 repeticiones por tratamiento. El modelo aditivo lineal del presente experimento fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Es la respuesta obtenida en la k-ésima repetición a la cual se la aplicó la i-ésima concentración del ácido naftalenacético (ANA) con la j-ésima concentración del ácido indolbutírico (AIB).

μ = Efecto de la media general.

α_i = Efecto de la i-ésima concentración del ácido naftalenacético (ANA).

β_j = Efecto de la j-ésima concentración del ácido indolbutírico (AIB).

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre la i-ésima concentración del ácido naftalenacético (ANA) con la j-ésima concentración del ácido indolbutírico (AIB).

ε_{ijk} = Efecto aleatorio del error experimental asociado a dicha observación, Y_{ijk} .

Para:

$i = 1, 2, 3$ concentraciones de ANA.

$j = 1, 2, 3$ concentraciones de AIB.

$k = 1, \dots, 7$ repeticiones (4).

3.6 ESQUEMA DEL ANÁLISIS DE VARIANCIA

Cuadro 2. Esquema del análisis de variancia.

Fuente de variación	G.L.
Tratamientos	9
Factorial	8
A	2
B	2
Ax B	4
Factorial Vs Testigo	1
Error experimental	60
Total	69

3.7 EJECUCIÓN DEL EXPERIMENTO

A. Selección de micropropágulos a nivel *in vitro*

El material vegetal fue obtenido de las yemas axilares de los hijuelos de base de la planta de piña, el cual después de ser desinfectado fue sembrado *in vitro* (Abril de 1999), con regular fragmento de la parte basal, posteriormente se transfirieron al medio de multiplicación (Junio de 1999); al cabo de 55-60 días se seleccionaron aquellos micropropágulos que tuvieron el mismo tamaño y pesos aproximados, con nula contaminación de microorganismos y fueron llevados a un medio que no contenía hormonas (Agosto de 1999), esto se hizo con la finalidad

que los micropropágulos no tuviesen restos de hormonas utilizados en la fase de multiplicación que pudiesen alterar los resultados finales; al cabo de 15 días fue sembrado en el medio de enraizamiento (16 de Agosto de 1999), donde se aplicaron los diferentes tratamientos ya especificados en el Cuadro 1.

B. Preparación del medio

Para preparar el medio de Murashige y Skoog (1962), fue conveniente preparar una solución stock concentrada , procediendo de la siguiente manera:

a). Para la solución stock de macronutrientes: (10 x) pesar :

NH_4NO_3	16500 mg
KNO_3	19000 mg
KH_2PO_4	1700 mg
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3700 mg
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440 mg

Disolver en 500 ml de H_2O destilada.

b). Para la solución stock de micronutrientes: (100 x) pesar:

KI	83.00 mg
H_3BO_3	620.00 mg
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2230.00 mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	860.00 mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	25.00 mg
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	2.50 mg

CoCl₂.6H₂O 2.50 mg

Disolver en 500 ml de H₂O destilada.

c). Para la solución stock de Hierro: (100 x) pesar:

FeSO₄.7H₂O 2780.00 mg

Na₂EDTA 3730.00 mg

Disolver por separado y agregar el sulfato ferroso sobre el Na₂EDTA y enrasar a 100 ml de agua destilada.

d). Para la solución stock de vitaminas: (100 x) pesar:

Ácido nicotínico 50 mg y disolver en 100 ml
H₂O destilada.

Tiamina 10 mg y disolver en 100 ml
H₂O destilada.

Piridoxina-HCl 50 mg y disolver en 100 ml
H₂O destilada.

Mioinositol 10000 mg y disolver en 100
ml H₂O destilada.

e). Para la solución stock de aminoácido (100 x) pesar:

Glicina 200 mg y disolver en 100
ml H₂O destilada.

f). Para la solución stock de las auxinas pesar:

AIB 20 mg y disolver en aproximadamente
20 ml de agua destilada con NaOH 1N
enrazar a 100 ml H₂O destilada.

ANA 20 mg disolver en aproximadamente
20 ml de agua destilada con NaOH 1N
enrazar a 100 ml H₂O destilada.

Una vez preparada la solución madre se procedió de la siguiente manera:

1. En un beaker de 1000 ml adicionar 300 ml de H₂O destilada.
2. Adicionar las siguientes alícuotas en las cantidades especificadas :
 - Macronutrientes..... 50 ml/l
 - Micronutrientes..... 5 ml/l
 - Hierro..... 1 ml/l
 - Mioinositol..... 1 ml/l
 - Ácido nicotínico..... 1 ml/l
 - Piridoxina-HCl 1 ml/l
 - Tiamina-HCl 1 ml/l
 - Glicina 1 ml/l
3. Adicionar 30 gramos de sacarosa
4. Adicionar las concentraciones de auxinas de acuerdo a los tratamientos especificados en el Cuadro 1.
5. Enrazar a 1000 ml con agua destilada.

6. Llevar a pH 5.8
7. Calentar la solución y disolver 8 g del agar.
8. Dispensar 30 ml del medio en frascos de vidrio .
9. Esterilizar en autoclave a 15 libras.
10. Guardar los frascos en el refrigerador a 15°C.

C. Esterilización del material

Una característica esencial del cultivo de tejidos es la conservación del material y medio nutritivo sin contaminación, principalmente de microorganismos. El medio de cultivo, así como material de cristalería, instrumentos, agua y otros implementos se esterilizaron en autoclave.

El material de vidrio e instrumental de disección se envolvió en papel aluminio o papel de envoltura y se esterilizó a 120 °C durante 20 minutos.

D. Operaciones previas

Por asepsia en el establecimiento y ulterior manipulación de los cultivos es preciso adoptar algunas precauciones durante las tareas que se llevaron a cabo en la cámara de transferencia o de flujo laminar, así:

- a). Antes de comenzar a trabajar, se desinfectó la mesa y las paredes de la cámara con etanol 70% igualmente se desinfectó la parte externa de los recipientes que contenían los medios de cultivo o el agua estéril, antes de introducirlo en la cámara.

- b). Fue necesario que las manos, y eventualmente los antebrazos del cultivador sean desinfectados con etanol 70%; el uso de máscaras y gorros no es imprescindible, pero reduce la contaminación si se opera en cámaras de aire estéril.
- c). Los instrumentos básicos empleados se flamearon previamente con etanol 96%; el material de vidrio utilizado como soporte para las disecciones (cajas petri), se esterilizó.
- d). Se realizó las operaciones de disección lo más cerca posible a la llama de un mechero. Se evitó exposiciones prolongadas de los micropropágulos o de los medios en recipientes abiertos.

E. Siembra

Se tomaron los micropropágulos provenientes del medio de refrescamiento *in vitro* (medio que no contenía hormonas) con una pinza y se introdujo en los frascos conteniendo el medio de cultivo con los tratamientos especificados en el Cuadro 1.

F. Sellado

Una vez hecha la siembra se tapó el frasco y se selló, con la película plástica para una mejor protección contra posibles patógenos.

G. Incubación

Los frascos se colocaron en el cuarto de incubación en condiciones ambientales controladas:

Temperatura: 27-28 °C

Fotoperíodo: 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

Intensidad lumínica: 1600 - 2000 lux.

H. Enraizamiento

Las plántulas seleccionadas en la fase de multiplicación de 1-1.2 cm se procedieron a establecerlos en un medio de enraizamiento (16 de Agosto de 1999), para inducir al crecimiento de las raíces y elongación del tallo.

3.8 OBSERVACIONES REGISTRADAS Y METODOLOGÍA

A. Altura de plántula

Se tomó una altura inicial al momento de la siembra para ver cuanto crecía durante la etapa de enraizamiento; se consideró desde el cuello de la plántula hasta la hoja más prolongada. Estas evaluaciones se realizaron a los 30 y 60 días .

B. Diámetro de plántula

Se tomaron a la altura de la base de la plántula; haciendo uso del vernier, se realizó una evaluación inicial , posteriormente a los 30 y 60 días .

C. Número de hojas

Se contaron las hojas con que disponía cada plántula, éstas evaluaciones se realizaron cada 5 días.

D. Días a la formación de raíces

Se determinó los días transcurridos desde la siembra en el medio de enraizamiento hasta el inicio de formación de raíces.

E. Longitud de raíces

Se tomó la longitud en centímetros desde la base de la raíz, hasta su parte terminal; se evaluó a los 30 y 60 días.

F. Número de raíces

Las evaluaciones se realizaron a los 30 y 60 días, se contó el número de raíces por plántula.

G. Días a la formación de brotes

Se determinó los días transcurridos desde la siembra en el medio de enraizamiento hasta el inicio de formación de los brotes.

H. Número de brotes

En base al número de brotes diferenciables por plántula; se realizaron evaluaciones cada 5 días.

I. Porcentaje de enraizamiento

Basándose en el número de plántulas que enraizaron por tratamiento, entre el número total de plántulas expuestas.

J. Formación de callo y porcentaje de sobrevivencia

Se realizó en base a la escala:

0 : No formó callo

1 : Formó callo

El porcentaje de sobrevivencia se hizo basándose en el número de plántulas sobrevivientes, por tratamiento.

IV. RESULTADOS

4.1 ALTURA DE PLÁNTULA

Cuadro 3. Análisis de variancia para la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo.

Fuentes de Variación	GL	Cuadrados medios	
		a los 30 días	a los 60 días
Tratamientos	9	3.17391 AS	7.92285 AS
Factorial	8	3.53900 AS	8.90646 AS
A [ANA] ^{1/}	2	13.85323 AS	33.96845 AS
B [AIB] ^{2/}	2	0.11980 AS	0.34782 AS
AxB	4	0.09148 AS	0.65479 AS
Factorial Vs Testigo	1	0.25320 AS	0.05395 S
Error experimental	60	0.00869	0.01332
Total	69		
	C.V =	7.51%	5.20%

^{1/} Ácido naftalenacético.

^{2/} Ácido indolbutírico.

S Significación estadística al 5% de probabilidad.

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

Del Cuadro 3 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas para el efecto de las concentraciones del ácido naftalenacético (A), ácido indolbutírico (B),

para la interacción entre dichas hormonas (A x B), tanto a los 30 y 60 días; y para el contraste factorial vs testigo, se encontró a los 30 y 60 días diferencias estadísticas al 1% y 5% de probabilidad respectivamente.

- Que el coeficiente de variabilidad fue de 7.51% a los 30 días y 5.20% a los 60 días, denotando excelente homogeneidad de los resultados experimentales.

Cuadro 4. Análisis de los efectos simples para la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo.

Fuentes de Variación	GL	Cuadrados medios	
		a los 30 días	a los 60 días
Efecto simple del factor A			
A en b ₁	2	5.28122 AS	12.53499 AS
A en b ₂	2	5.14002 AS	13.02691 AS
A en b ₃	2	3.61496 AS	9.71613 AS
Efecto simple del factor B			
B en a ₁	2	0.03670 S	0.64033 AS
B en a ₂	2	0.19220 AS	0.76566 AS
B en a ₃	2	0.07386 AS	0.25141 AS
Error experimental	60	0.00869	0.01332

S Significación estadística al 5% de probabilidad.

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

Del Cuadro 4 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los niveles del factor A (concentraciones del ácido naftalenacético) en cada una de los niveles del factor B (concentraciones del ácido indolbutírico): b_1 (0.2 mg/l) , b_2 (0.3 mg/l) y b_3 (0.4 mg/l), tanto a los 30 y 60 días para el carácter en estudio.
- Existen diferencias estadísticas al 5 y 1% de probabilidad entre los niveles del factor B en cada uno de los niveles del factor A (concentraciones del ácido naftalenacético): a_1 (0.5 mg/l), a_2 (1.0 mg/l) y a_3 (1.5 mg/l) a los 30 días. Asimismo para la altura de plántula a los 60 días se encontró diferencias altamente significativas entre los niveles del factor B en cada uno de los niveles del factor A

Cuadro 5. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Altura de plántula (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
A en b ₁			
a ₁ b ₁	0.5	0.96 b	1.91 b
a ₂ b ₁	1.0	2.18 a	3.55 a
a ₃ b ₁	1.5	0.50 c	0.89 c
A en b ₂			
a ₁ b ₂	0.5	1.02 b	2.00 b
a ₂ b ₂	1.0	2.32 a	3.88 a
a ₃ b ₂	1.5	0.70 c	1.23 c
A en b ₃			
a ₁ b ₃	0.5	1.10 b	2.47 b
a ₂ b ₃	1.0	1.99 a	3.22 a
a ₃ b ₃	1.5	0.57 c	0.91 c

^{1/} Ácido naftalenacético

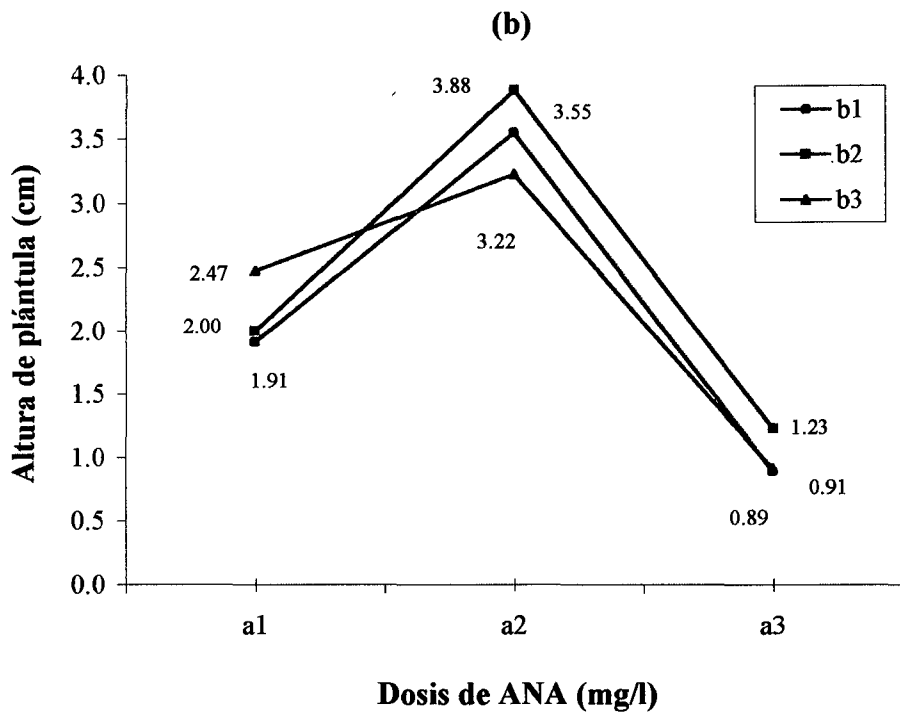
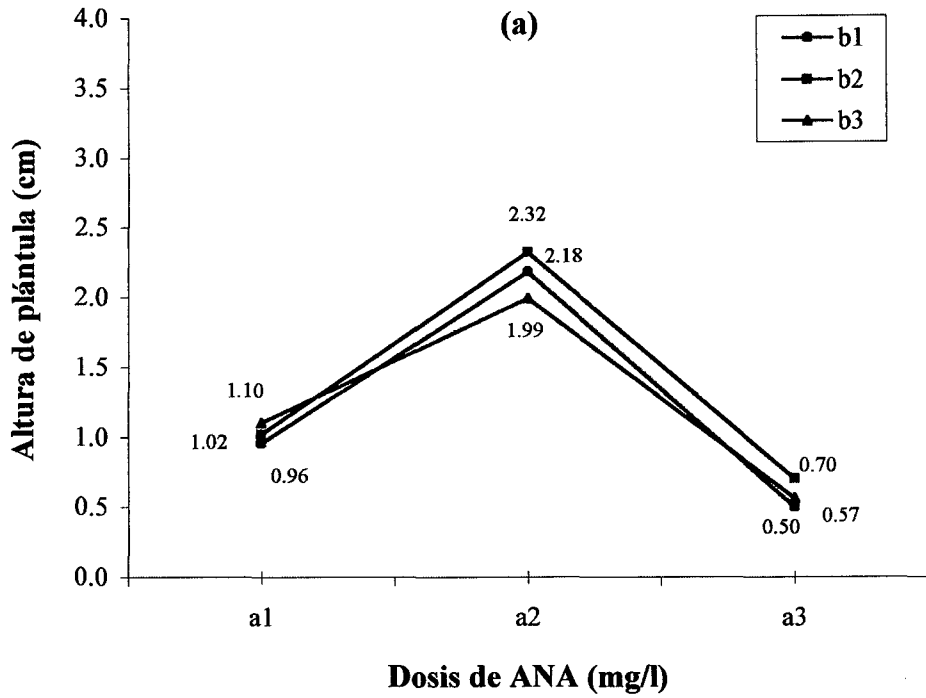


Figura 1. Efecto de la interacción dosis de ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en la altura de plántula a los (a) 30 días y (b) 60 días.

En el Cuadro 5 y la Figura 1 se observa que:

- Cuando aplicamos la primera concentración del ácido indolbutírico (b_1); se observan diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético, siendo el segundo nivel a_2 , el que estadísticamente causó un mejor efecto en la altura de plántula promedio, tanto a los 30 como a los 60 días.
- Existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones del ácido naftalenacético siendo la concentración a_2 , la que mejor efecto causó en la altura de plántula de piña respecto a las demás, cuando se combinó con la segunda concentración del ácido indolbutírico.
- Al aplicar la tercera concentración del ácido indolbutírico (b_3); se observa que existen diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético siendo la segunda concentración a_2 , la que mejor efecto causó en la altura de plántula respecto a los otros niveles cuando se combinó con la tercera concentración del ácido indolbutírico.

Cuadro 6. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.I.B] ^{1/}	Altura de plántula (cm)	
	mg/l	A los 30 días	A los 60 días
B en a ₁			
a ₁ b ₁	0.2	0.96 b	1.91 b
a ₁ b ₂	0.3	1.02 a b	2.00 b
a ₁ b ₃	0.4	1.10 a	2.47 a
B en a ₂			
a ₂ b ₁	0.2	2.18 b	3.55 b
a ₂ b ₂	0.3	2.32 a	3.88 a
a ₂ b ₃	0.4	1.99 c	3.22 c
B en a ₃			
a ₃ b ₁	0.2	0.50 b	0.89 b
a ₃ b ₂	0.3	0.70 a	1.23 a
a ₃ b ₃	0.4	0.57 b	0.91 b

^{1/} Ácido indolbutírico

En el Cuadro 6 y Figura 1 se observa que:

- En la comparación entre los niveles del ácido indolbutírico: b_3 vs b_2 , y b_2 vs b_1 , aplicando la misma concentración del ácido naftalenacético ($a_1 = 0.5$ mg/l), no se encontraron diferencias estadísticas significativas para el carácter altura de plántula los 30 días. Sin embargo al comparar el nivel b_3 vs b_1 ; se encontró diferencias estadísticas significativas siendo éste último el que mejor efecto causó en la altura de plántula promedio a los 30 y 60 días.
- Cuando se aplicó la segunda concentración del ácido naftalenacético (1.0 mg/l), se encontraron diferencias estadísticas significativas en la comparación de los niveles del factor B entre sí; siendo el segundo nivel del ácido indolbutírico el que combina mejor con la segunda concentración del ácido naftalenacético en la altura de plántula de piña en la evaluación tanto a los 30 como a los 60 días.
- Al aplicar la tercera concentración del ácido naftalenacético a_3 , en la comparación de los niveles b_3 vs b_1 no existen diferencias estadísticas significativas; mientras que los niveles b_2 vs b_3 y b_2 vs b_1 presentan diferencias estadísticas significativas, siendo el nivel b_2 , el que mejor efecto causó en la altura de plántula de piña, a los 30 y 60 días.

Cuadro 7. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Altura de plántula (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
a ₁	0.5	1.03 b	2.13 b
a ₂	1.0	2.16 a	3.55 a
a ₃	1.5	0.59 c	1.01 c

^{1/} Ácido naftalenacético.

En el Cuadro 7 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones del ácido naftalenacético: a₁, a₂ y a₃; siendo la segunda concentración (1.0 mg/l) la que mejor efecto causó en la altura de plántula de piña con 2.16 cm a los 30 días y 3.55 cm a los 60 días.
- La tercera concentración causó un menor efecto en el carácter con 0.59 cm y 1.01 cm a los 30 días y 60 días respectivamente.

Cuadro 8. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a la altura de plántula evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.I.B] ^{1/} mg/l	Altura de plántula (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
b ₁	0.2	1.21 b	2.12 c
b ₂	0.3	1.35 a	2.37 a
b ₃	0.4	1.22 b	2.20 b

^{1/} Ácido indolbutírico

En el Cuadro 8 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas en la comparación de la segunda concentración de ácido indolbutírico con b₁ y b₃ siendo el nivel b₂ el que mostró un mejor efecto con un promedio de con 1.35 cm, a los 30 días y 2.37 cm, a los 60 días.
- No se pudo probar estadísticamente diferencias entre la comparación del nivel b₃ vs b₁, a los 30 días, sin embargo a los 60 días para esta comparación última sí se encontró diferencias estadísticas.

4.2 DIÁMETRO DE PLÁNTULA

Cuadro 9. Análisis de variancia para el diámetro de plántula evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
		A los 30 días	A los 60 días
Tratamientos	9	0.00362 AS	0.00422 AS
Factorial	8	0.00380 AS	0.00471 AS
A [ANA] ^{1/}	2	0.01358 AS	0.01778 AS
B [AIB] ^{2/}	2	0.00039 NS	0.00027 NS
AxB	4	0.00063 NS	0.00039 NS
Factorial Vs Testigo	1	0.00217 S	0.00031 NS
Error experimental	60	0.00053	0.00118
Total	69		
	C.V =	11.17%	9.37%

^{1/} Ácido naftalenacético.

^{2/} Ácido indolbutírico.

S Significación estadística al 5% de probabilidad.

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

N.S No existe significación estadística.

Del Cuadro 9 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas para el efecto de las concentraciones del ácido naftalenacético (A), sin embargo no se pudo probar diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido indolbutírico (B) y para la interacción A x B; mientras que para el contraste factorial vs testigo, se encontró diferencias estadísticas significativas a los 30 días; más no así a los 60 días para este carácter.
- Se encontró un coeficiente de variabilidad de 11.17% a los 30 días, y 9.37% a los 60 días, denotando muy buena y excelente homogeneidad de los resultados experimentales respectivamente.

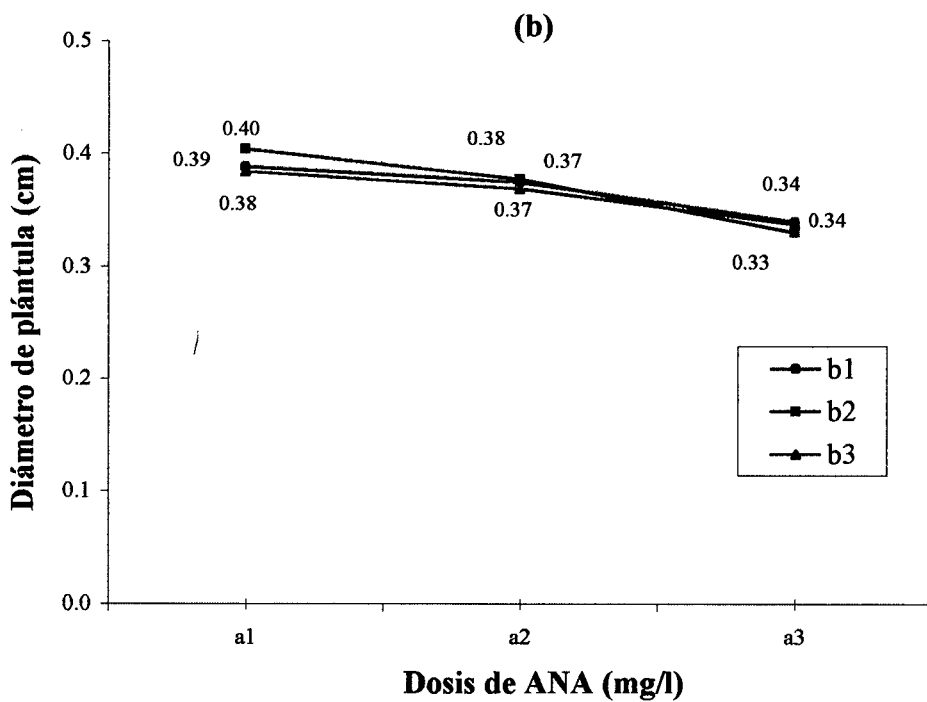
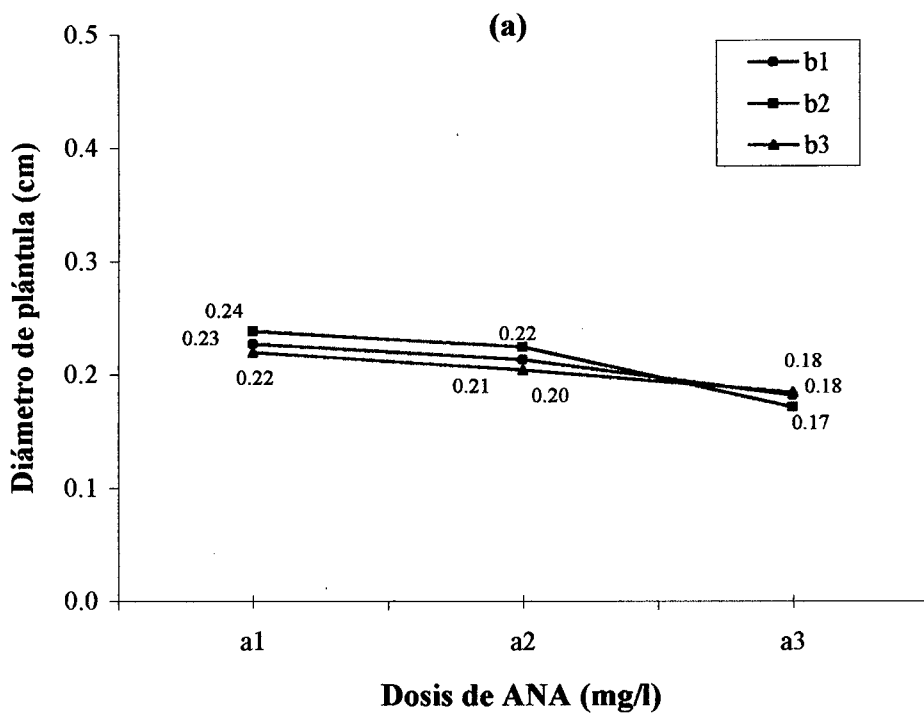


Figura 2. Efecto de la interacción dosis de ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en el diámetro de plántula a los (a) 30 días y (b) 60 días.

Cuadro 10. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al diámetro de plántula evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Diámetro de plántula (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
a ₁	0.5	0.23 a	0.39 a
a ₂	1.0	0.21 b	0.37 a
a ₃	1.5	0.18 c	0.34 b

^{1/} Ácido naftalenacético.

En el Cuadro 10 y Figura 2 se observa que:

- A los 30 días existieron diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético siendo el nivel a₁ el que mejor efecto causó en el diámetro de plántula en promedio de los niveles del factor B (ácido indolbutírico).
- A los 60 días los niveles a₁ y a₂, mostraron el mayor diámetro de plántula.

4.3 NÚMERO DE HOJAS

Cuadro 11. Análisis de variancia para el número de hojas evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
		A los 30 días	A los 60 días
Tratamientos	9	3.52143 AS	11.36667 AS
Factorial	8	3.93973 AS	12.72321 AS
A [ANA] ^{1/}	2	13.36905 AS	44.04464 AS
B [AIB] ^{2/}	2	1.09226 AS	3.33036 AS
AxB	4	0.64881 S	1.75893 AS
Factorial Vs Testigo	1	0.17500 NS	0.51429 NS
Error experimental	60	0.18304	0.32946
Total	69		
	C.V =	11.72 %	8.73 %

^{1/} Ácido naftalenacético.

^{2/} Ácido indolbutírico.

S Significación estadística al 5% de probabilidad.

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

N.S No existe significación estadística.

Del Cuadro 11 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas para el efecto de las concentraciones del ácido naftalenacético (A), y ácido indolbutírico (B); tanto a los 30 y 60 días, mientras que para la interacción entre dichas hormonas (A x B) se encontró diferencias estadísticas al 5 y 1% de probabilidad a los 30 y 60 días respectivamente; sin embargo no se pudo probar diferencias estadísticas para el contraste factorial vs testigo.

- Se encontró un coeficiente de variabilidad de 11.72% a los 30 días y 8.73% a los 60 días, denotando muy buena y excelente homogeneidad de los resultados experimentales.

Cuadro 12. Análisis de los efectos simples para el número de hojas evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
		A los 30 días	A los 60 días
Efecto simple del factor A			
A en b_1	2	4.51190 AS	15.55655 AS
A en b_2	2	8.14286 AS	24.14583 AS
A en b_3	2	2.01190 AS	7.86012 AS
Efecto simple del factor B			
B en a_1	2	1.21726 AS	3.05655 AS
B en a_2	2	1.04464 AS	3.68155 AS
B en a_3	2	0.12798 NS	0.11012 NS
Error experimental	60	0.18304	0.32946

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

N.S No existe significación estadística.

Del Cuadro 12 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los niveles del factor A (concentraciones del ácido naftalenacético) en cada una de los niveles del factor B (concentraciones del ácido indolbutírico): b_1 (0.2 mg/l), b_2 (0.3 mg/l) y b_3 (0.4 mg/l), tanto a los 30 y 60 días para el carácter en estudio.

- Existen diferencias estadísticas al 1% de probabilidad entre los niveles del factor B en el primer y segundo nivel del factor A (concentraciones del ácido naftalenacético): a_1 (0.5 mg/l) y a_2 (1.0 mg/l), mientras que en el nivel a_3 (1.5 mg/l) no se pudo encontrar diferencias estadísticas significativas tanto a los 30 como a los 60 días.

Cuadro 13. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al número de hojas evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Número de hojas (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
A en b_1			
a_1b_1	0.5	4.39 a	8.11 a
a_2b_1	1.0	3.32 b	6.04 b
a_3b_1	1.5	2.82 c	5.21 c
A en b_2			
a_1b_2	0.5	4.93 a	8.75 a
a_2b_2	1.0	4.07 b	7.36 b
a_3b_2	1.5	2.79 c	5.07 c
A en b_3			
a_1b_3	0.5	4.11 a	7.43 a
a_2b_3	1.0	3.54 b	6.18 b
a_3b_3	1.5	3.04 c	5.32 c

^{1/} Ácido naftalenacético.

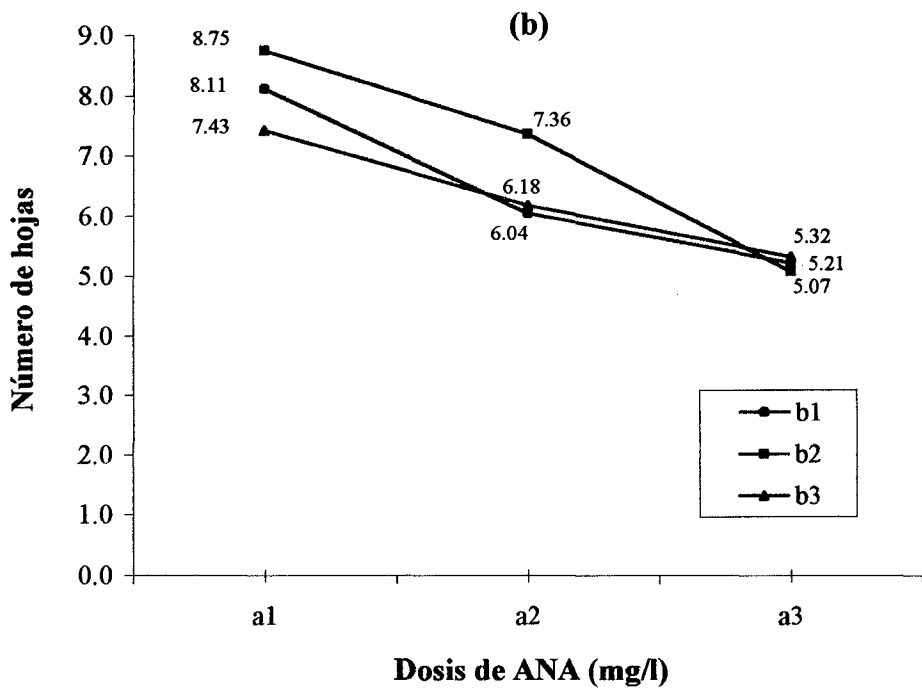
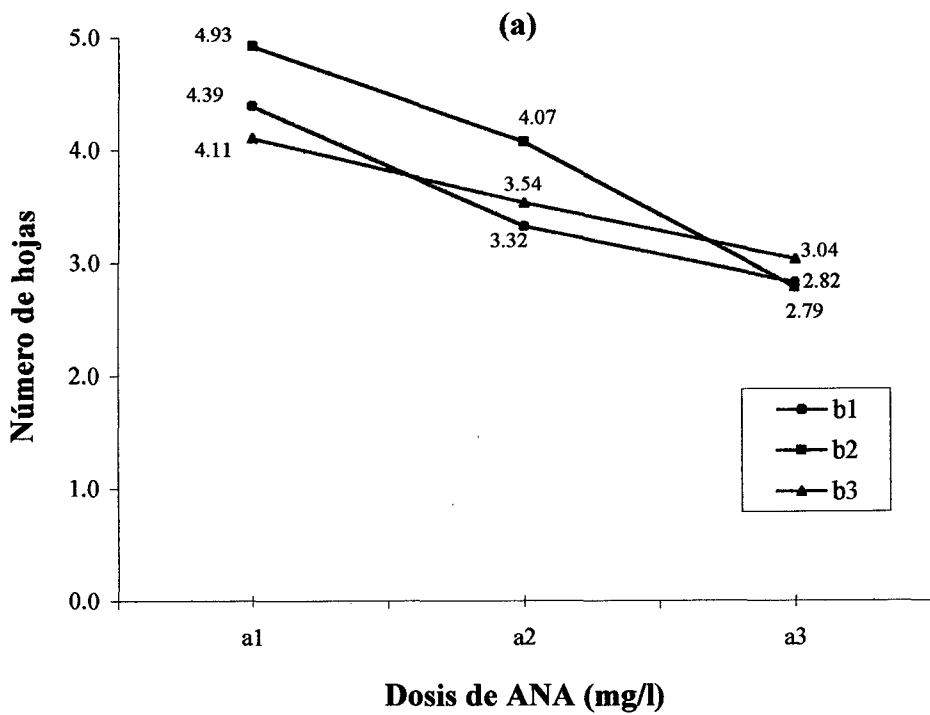


Figura 3. Efecto de la interacción dosis de ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en el número de hojas a los (a) 30 días y (b) 60 días.

En el Cuadro 13 y Figura 3 se observa:

- Cuando aplicamos la primera concentración del ácido indolbutírico (b_1); se observan diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético siendo el primer nivel el que estadísticamente causó un mejor efecto en el número de hojas tanto a los 30 como a los 60 días.
- Cuando aplicamos la segunda concentración del ácido indolbutírico (b_2), se observan diferencias estadísticas entre las concentraciones, del ácido naftalenacético siendo la concentración a_1 , la que mejor efecto causó en el número de hojas al combinarse con la segunda concentración del ácido naftalenacético, tanto a los 30 como a los 60 días.
- Al aplicar la tercera concentración del ácido indolbutírico (b_3) se observan diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético siendo la concentración a_1 , la que mejor efecto causó en el número de hojas a los 30 y 60 días.

Cuadro 14. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente al número de hojas evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.I.B] ^{1/} mg/l	Número de hojas (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
B en a ₁			
a ₁ b ₁	0.2	4.39 b	8.11 b
a ₁ b ₂	0.3	4.93 a	8.75 a
a ₁ b ₃	0.4	4.11 b	7.43 c
B en a ₂			
a ₂ b ₁	0.2	3.32 b	6.04 b
a ₂ b ₂	0.3	4.07 a	7.36 a
a ₂ b ₃	0.4	3.54 b	6.18 b
B en a ₃			
a ₃ b ₁	0.2	2.82 a	5.21 a
a ₃ b ₂	0.3	2.79 a	5.07 a
a ₃ b ₃	0.4	3.04 a	5.32 a

^{1/} Ácido indolbutírico.

En el Cuadro 14 y Figura 3 se observa:

- Que en la comparación entre los niveles del ácido indolbutírico b_2 vs b_1 y b_2 vs b_3 , aplicando la misma concentración del ácido naftalenacético ($a_1 = 0.5$ mg/l), se encontraron diferencias estadísticas significativas, tanto a los 30 como a los 60 días; sin embargo no se pudo encontrar diferencias estadísticas significativas entre los niveles b_1 vs b_3 a los 30 días pero a los 60 días sí existen diferencias significativas.
- Al aplicar la segunda concentración del ácido naftalenacético ($a_2 = 1.0$ mg/l), se encontraron diferencias estadísticas significativas en la comparación de los niveles b_2 vs b_3 y b_2 vs b_1 ; siendo el nivel b_2 , el que causó un mejor efecto en el número de hojas, sin embargo no se pudo encontrar diferencias estadísticas entre los niveles b_3 vs b_1 , tanto a los 30 como a los 60 días.
- Al aplicar la tercera concentración del ácido naftalenacético ($a_3 = 1.5$ mg/l), se observan que no existen diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido indolbutírico, tanto a los 30 como a los 60 días.

Cuadro 15. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al número de hojas evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Número de hojas (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
a ₁	0.5	4.48 a	8.10 a
a ₂	1.0	3.64 b	6.52 b
a ₃	1.5	2.88 c	5.20 c

^{1/} Ácido naftalenacético.

En el Cuadro 15 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones del ácido naftalenacético: a₁, a₂ y a₃, siendo la primera concentración (0.5 mg/l) la que mejor efecto causó en el número de hojas tanto a los 30 días como a los 60 días.
- La tercera concentración fue la que menor efecto causó en el número de hojas tanto a los 30 como a los 60 días.

Cuadro 16. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente al número de hojas evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.I.B] ^{1/} mg/l	Número de hojas (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
b ₁	0.2	3.51 b	6.45 b
b ₂	0.3	3.93 a	7.06 a
b ₃	0.4	3.56 b	6.31 b

^{1/} Ácido indolbutírico.

En el Cuadro 16 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas en la comparación de la segunda concentración del ácido indolbutírico; con b₁ y b₃, siendo el nivel b₂, el que mejor efecto causó en el número de hojas tanto a los 30 como a los 60 días.
- No se pudo encontrar diferencias estadísticas en la comparación de los niveles b₁ vs b₃, tanto a los 30 como a los 60 días.

4.4 DÍAS A LA FORMACIÓN DE RAÍCES

Cuadro 17. Análisis de variancia para los días a la formación de raíces.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
Tratamientos	9	165.88558	AS
Factorial	8	173.28894	AS
A [ANA] ^{1/}	2	462.38790	AS
B [AIB] ^{2/}	2	47.69742	AS
AxB	4	91.53522	AS
Factorial Vs Testigo	1	106.65874	AS
Error experimental	60	1.49259	
Total	69		

C.V = 6.42%

^{1/} Ácido naftalenacético.

^{2/} Ácido indolbutírico.

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

Del Cuadro 17 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas para el efecto de las concentraciones del ácido naftalenacético (A), ácido indolbutírico (B), para la interacción entre dichas hormonas (A x B) y para el contraste factorial vs testigo.
- Se encontró un coeficiente de variabilidad de 6.42%, denotando excelente homogeneidad de los resultados experimentales.

Cuadro 18. Análisis de los efectos simples para los días a la formación de raíces.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
Efecto simple del factor A			
A en b_1	2	239.08333	AS
A en b_2	2	98.43750	AS
A en b_3	2	307.93750	AS
Efecto simple del factor B			
B en a_1	2	95.08333	AS
B en a_2	2	14.64583	AS
B en a_3	2	121.03869	AS
Error experimental	60	1.49259	

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

Del Cuadro 18 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los niveles del factor A (concentraciones del ácido naftalenacético), en cada uno de los niveles del factor B (concentraciones del ácido indolbutírico): b_1 , b_2 y b_3 .
- Existen diferencias estadísticas al 1% de probabilidad entre los niveles del factor B (concentraciones del ácido indolbutírico), en cada uno de los niveles del factor A (concentraciones del ácido naftalenacético): a_1 , a_2 y a_3 .

Cuadro 19. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a los días a la formación de raíces.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Días a la formación de raíces	
A en b ₁			
a ₁ b ₁	0.5	21.04	b
a ₂ b ₁	1.0	13.82	c
a ₃ b ₁	1.5	25.39	a
A en b ₂			
a ₁ b ₂	0.5	19.75	a
a ₂ b ₂	1.0	12.79	b
a ₃ b ₂	1.5	18.68	a
A en b ₃			
a ₁ b ₃	0.5	14.11	c
a ₂ b ₃	1.0	15.64	b
a ₃ b ₃	1.5	26.29	a

^{1/} Ácido naftalenacético.

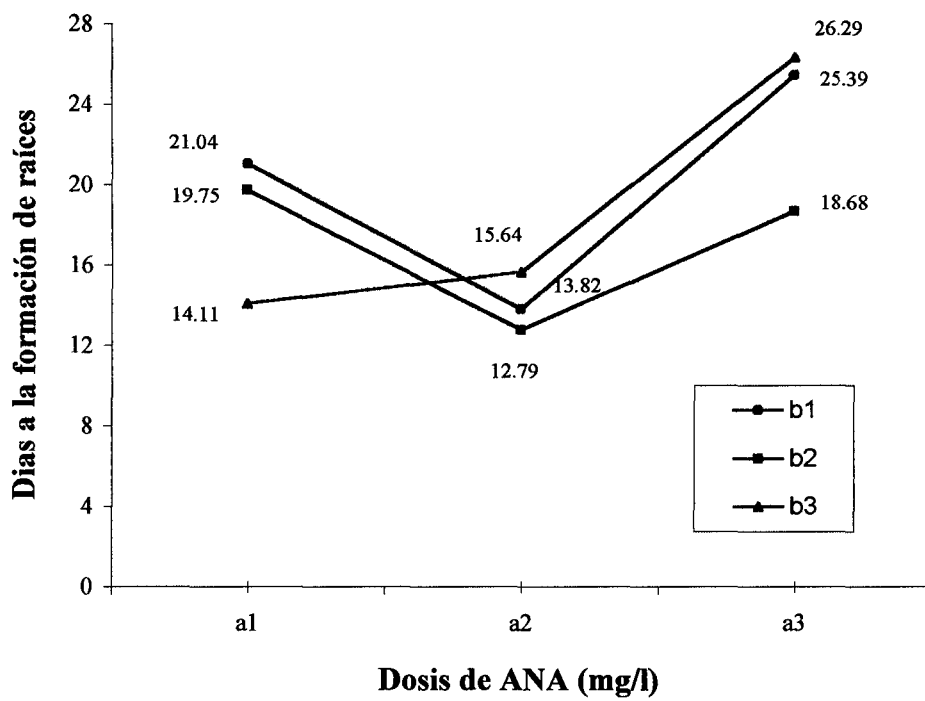


Figura 4. Días a la formación de raíces por efecto de la interacción del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B).

En el Cuadro 19 y Figura 4 se observa que:

- Al aplicar la primera concentración del ácido indolbutírico (b_1), observamos que hay diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones del ácido naftalenacético siendo el nivel a_3 , el que obtuvo un mayor promedio de días para formar raíces; mientras que para el nivel a_2 la formación de raíces sucedió en menor promedio de días.
- Al aplicar la segunda concentración del ácido indolbutírico (b_2), en la comparación de los niveles a_1 vs a_3 , no se observan diferencias estadísticas significativas, siendo el primero el que obtuvo un mayor promedio de días en la formación de raíces, mientras que la concentración a_2 , mostró un menor promedio en días a la formación de raíces.
- Al aplicar la tercera concentración del ácido indolbutírico (b_3), observamos que hay diferencias estadísticas significativas entre los niveles del ácido naftalenacético siendo a_3 el nivel que mostró un mayor promedio en días a la formación de raíces. La concentración a_1 , obtuvo el menor promedio en días a la formación de raíces.

Cuadro 20. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a los días a la formación de raíces.

Clave	[A.I.B] ^{1/} mg/l	Días a la formación de raíces	
B en a ₁			
a ₁ b ₁	0.2	21.04	a
a ₁ b ₂	0.3	19.75	a
a ₁ b ₃	0.4	14.11	b
B en a ₂			
a ₂ b ₁	0.2	13.82	b
a ₂ b ₂	0.3	12.79	b
a ₂ b ₃	0.4	15.64	a
B en a ₃			
a ₃ b ₁	0.2	25.39	a
a ₃ b ₂	0.3	18.68	b
a ₃ b ₃	0.4	26.29	a

^{1/} Ácido indolbutírico.

En el Cuadro 20 y Figura 4 se observa que:

- Cuando aplicamos la primera concentración del ácido naftalenacético (a_1), no se observan diferencias estadísticas en la comparación de los niveles: b_1 vs b_2 , siendo el nivel b_1 , el que obtuvo un mayor promedio en días a la formación de raíces, mientras que para el nivel b_3 , la formación de raíces sucedió en menor promedio de días.
- En la comparación de los niveles del ácido indolbutírico: b_3 vs b_1 y b_3 vs b_2 , aplicando la misma concentración del ácido naftalenacético (a_2), se observan diferencias estadísticas significativas, siendo el nivel b_3 , el que mostró un mayor promedio en días a la formación de raíces; sin embargo al comparar el nivel b_1 vs b_2 , no se encontró diferencias estadísticas significativas siendo el segundo nivel el que obtuvo un menor promedio en días a la formación de raíces.
- Al aplicar la tercera concentración del ácido naftalenacético (a_3), se observa que en la comparación del nivel b_3 vs b_1 , no existen diferencias estadísticas significativas, siendo el primero de ellos (b_3) el que mostró un mayor promedio de días para formar raíces. El nivel b_2 , obtuvo un menor promedio de días en la formación de raíces.

Cuadro 21. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a los días a la formación de raíces.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Días a la formación de raíces	
a ₁	0.5	20.12	b
a ₂	1.0	14.26	c
a ₃	1.5	23.45	a

^{1/} Ácido naftalenacético.

En el Cuadro 21 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético: a₁, a₂ y a₃, siendo la tercera concentración (1.5 mg/l) la que obtuvo un mayor promedio en días a la formación de raíces.
- La concentración a₂, mostró un menor promedio en días para formar raíces.

Cuadro 22. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a los días a la formación de raíces.

Clave	[A.I.B] ^{1/} mg/l	Días a la formación de raíces	
b ₁	0.2	20.08	a
b ₂	0.3	17.07	c
b ₃	0.4	18.68	b

^{1/} Ácido indolbutírico.

En el Cuadro 22 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones del ácido indolbutírico: b₁, b₂ y b₃, siendo la concentración b₁, la que obtuvo un mayor promedio en días a la formación de raíces .
- La concentración b₂, mostró un menor promedio en días para formar raíces.

4.5 LONGITUD DE RAÍCES

Cuadro 23. Análisis de variancia para la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
		A los 30 días	A los 60 días
Tratamientos	9	16.18341 AS	54.38115 AS
Factorial	8	18.19460 AS	61.16315 AS
A [ANA] ^{1/}	2	42.01555 AS	125.60573 AS
B [AIB] ^{2/}	2	6.18505 AS	23.90847 AS
AxB	4	12.28890 AS	47.56919 AS
Factorial Vs Testigo	1	0.09387 S	0.12517 S
Error experimental	60	0.01803	0.01967
Total	69		

C.V = 5.97 % 3.68 %

^{1/} Ácido naftalenacético.

^{2/} Ácido indolbutírico.

S Significación estadística al 5% de probabilidad.

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

Del Cuadro 23 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas para el efecto de las concentraciones del ácido naftalenacético (A), ácido indolbutírico (B), y para la interacción entre dichas hormonas (A x B), tanto a los 30 como a los 60 días; el contraste factorial vs testigo mostró diferencias estadísticas al 5% de probabilidad, tanto a los 30 como a los 60 días.

- El coeficiente de variabilidad fue de 5.97% a los 30 días y 3.68% a los 60 días, denotando excelente homogeneidad de los resultados experimentales.

Cuadro 24. Análisis de los efectos simples para la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
		A los 30 días	A los 60 días
Efecto simple del factor A			
A en b ₁	2	18.97806 AS	53.01063 AS
A en b ₂	2	27.04213 AS	101.78780 AS
A en b ₃	2	20.57316 AS	65.94568 AS
Efecto simple del factor B			
B en a ₁	2	18.22763 AS	57.24100 AS
B en a ₂	2	7.57939 AS	46.77223 AS
B en a ₃	2	4.95583 AS	15.03361 AS
Error experimental	60	0.01803	0.01967

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

Del Cuadro 24 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los niveles del factor A (concentraciones del ácido naftalenacético) en cada una de los niveles del factor B (concentraciones del ácido indolbutírico): b₁ = 0.2 mg/l , b₂ = 0.3 mg/l y b₃ = 0.4 mg/l, tanto a los 30 y 60 días para el carácter en estudio.

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los niveles del factor B en cada uno de los niveles del factor A (concentraciones del ácido naftalenacético): $a_1 = 0.5$ mg/l, $a_2 = 1.0$ mg/l y $a_3 = 1.5$ mg/l, en la evaluación a los 30 días y 60 días.

Cuadro 25. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Longitud de raíces (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
A en b ₁			
a ₁ b ₁	0.5	0.82 b	1.55 b
a ₂ b ₁	1.0	3.56 a	5.85 a
a ₃ b ₁	1.5	0.61 c	0.72 c
A en b ₂			
a ₁ b ₂	0.5	1.22 c	2.11 c
a ₂ b ₂	1.0	4.95 a	9.20 a
a ₃ b ₂	1.5	2.00 b	3.22 b
A en b ₃			
a ₁ b ₃	0.5	3.80 a	6.76 a
a ₂ b ₃	1.0	2.91 b	4.11 b
a ₃ b ₃	1.5	0.48 c	0.64 c

^{1/} Ácido naftalenacético.

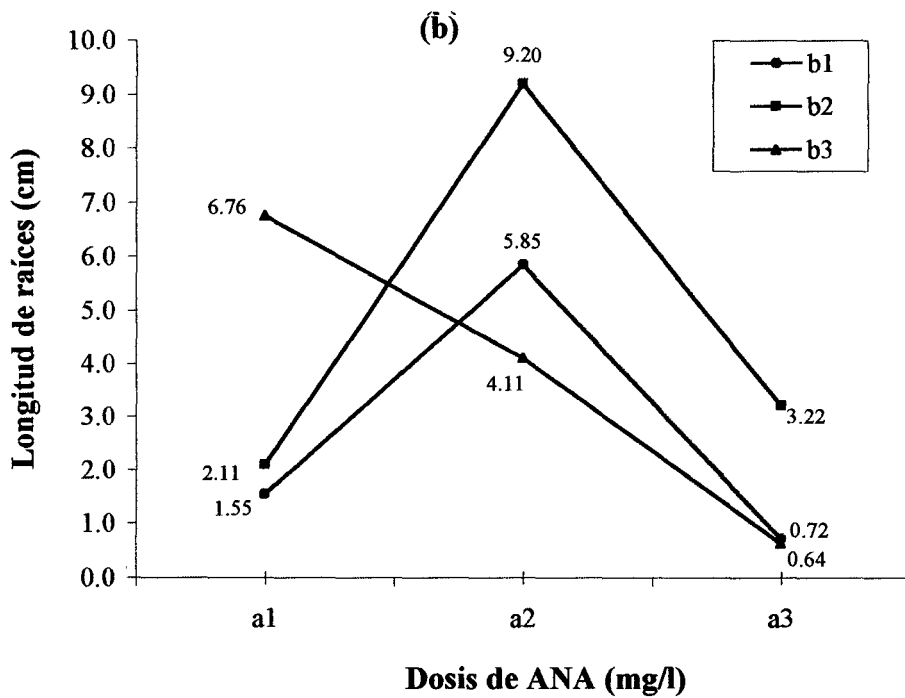
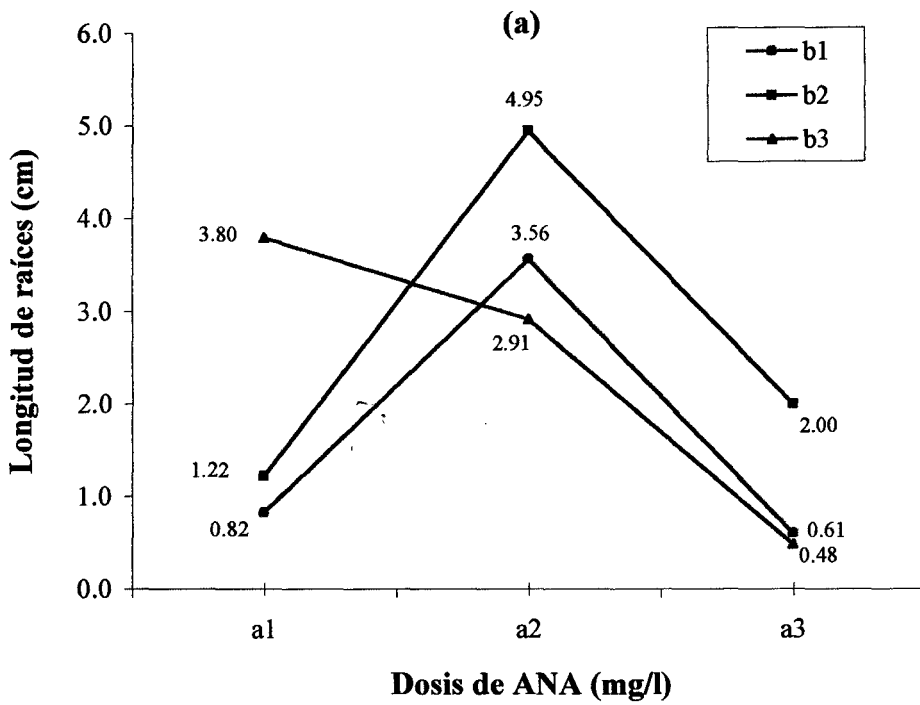


Figura 5. Efecto de la interacción dosis del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en la longitud de raíces a los (a) 30 días y (b) 60 días.

En el Cuadro 25 y Figura 5 se observa que:

- Al aplicar la primera concentración del ácido indolbutírico (b_1) se observan diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético, siendo el segundo nivel el que estadísticamente causó un mejor efecto en la longitud de raíces, tanto a los 30 como a los 60 días.
- Existen diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético, cuando aplicamos la segunda concentración del ácido indolbutírico (b_2); siendo el nivel a_2 , del ácido naftalenacético el que mejor efecto causó en la longitud de raíces, tanto a los 30 como a los 60 días.
- Al aplicar la tercera concentración del ácido indolbutírico (b_3), se observa que existen diferencias estadísticas en la comparación de los niveles del ácido naftalenacético; siendo el nivel a_1 , el que mejor efecto causó en la longitud de raíces, tanto a los 30 como a los 60 días.

Cuadro 26. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.I.B] ^{1/} mg/l	Longitud de raíces (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
B en a ₁			
a ₁ b ₁	0.2	0.82 c	1.55 c
a ₁ b ₂	0.3	1.22 b	2.11 b
a ₁ b ₃	0.4	3.80 a	6.76 a
B en a ₂			
a ₂ b ₁	0.2	3.56 b	5.85 b
a ₂ b ₂	0.3	4.95 a	9.20 a
a ₂ b ₃	0.4	2.91 c	4.11 c
B en a ₃			
a ₃ b ₁	0.2	0.61 b	0.72 b
a ₃ b ₂	0.3	2.00 a	3.22 a
a ₃ b ₃	0.4	0.48 b	0.64 b

^{1/} Ácido indolbutírico.

En el Cuadro 26 y Figura 5 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas significativas al aplicar la primera concentración del ácido naftalenacético (a_1), en la comparación de los niveles del ácido indolbutírico, siendo el nivel b_3 , el que estadísticamente causó un mejor efecto en la longitud de raíces tanto a los 30 y 60 días.
- Al aplicar la segunda concentración del ácido naftalenacético existen diferencias estadísticas significativas entre los niveles del ácido indolbutírico, siendo el nivel b_2 el que mejor efecto causó en la longitud de raíces, a los 30 y 60 días.
- En la comparación entre los niveles del ácido indolbutírico: b_2 vs b_1 y b_2 vs b_3 , aplicando la misma concentración del ácido naftalenacético (a_3), existen diferencias estadísticas significativas; más no así en la comparación de los niveles b_1 vs b_3 , los cuales resultaron tener estadísticamente valores similares; el nivel b_2 , causó un mejor efecto en la longitud de raíces tanto a los 30 como a los 60 días.

Cuadro 27. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Longitud de raíces (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
a ₁	0.5	1.95 b	3.47 b
a ₂	1.0	3.81 a	6.38 a
a ₃	1.5	1.03 c	1.53 c

^{1/} Ácido naftalenacético.

En el Cuadro 27 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones del ácido naftalenacético: a₁, a₂, y a₃, siendo la segunda concentración (1.0 mg/l), la que mejor efecto causó en la longitud de raíces, con 3.81 cm a los 30 días y 6.38 cm a los 60 días.
- La concentración a₃ causó un menor efecto en la longitud de raíces tanto a los 30 como a los 60 días.

Cuadro 28. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a la longitud de raíces evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.I.B] ^{2/} mg/l	Longitud de raíces (cm)	
		A los 30 días	A los 60 días
b ₁	0.2	1.66 c	2.71 c
b ₂	0.3	2.72 a	4.84 a
b ₃	0.4	2.40 b	3.83 b

^{1/} Ácido indolbutírico.

En el Cuadro 28 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido indolbutírico: b₁, b₂ y b₃, siendo la segunda concentración (0.3 mg/l), la que mejor efecto causó en la longitud de raíces con 2.72 cm a los 30 días y 4.84 cm a los 60 días.
- La concentración b₁, causó un menor efecto en la longitud de raíces tanto a los 30 como a los 60 días.

4.6 NÚMERO DE RAÍCES

Cuadro 29. Análisis de variancia para el número de raíces evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
		A los 30 días	A los 60 días
Tratamientos	9	41.71046 AS	124.64683 AS
Factorial	8	42.00864 AS	127.07168 AS
A [ANA] ^{1/}	2	50.40671 AS	192.00694 AS
B [AIB] ^{2/}	2	82.24778 AS	195.64385 AS
AxB	4	17.19004 AS	60.31796 AS
Factorial Vs Testigo	1	39.32502 AS	105.24802 AS
Error experimental	60	0.41074	1.02708
Total	69		
	C.V =	9.92%	7.43%

^{1/} Ácido naftalenacético.

^{2/} Ácido indolbutírico.

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

Del Cuadro 29 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas para el efecto de las concentraciones del ácido naftalenacético (A), ácido indolbutírico (B), para la interacción entre dichas hormonas (A x B) y para el contraste factorial vs testigo; tanto a los 30 como a los 60 días.

- Se encontró un coeficiente de variabilidad de 9.92% a los 30 días y 7.43% a los 60 días, denotando excelente homogeneidad de los resultados experimentales.

Cuadro 30. Análisis de los efectos simples para el número de raíces evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
		A los 30 días	A los 60 días
Efecto simple del factor A			
A en b ₁	2	23.78869 AS	57.16369 AS
A en b ₂	2	12.74512 AS	57.33333 AS
A en b ₃	2	48.25298 AS	198.14583 AS
Efecto simple del factor B			
B en a ₁	2	30.87190 AS	79.40179 AS
B en a ₂	2	40.86012 AS	110.43750 AS
B en a ₃	2	45.89583 AS	126.44048 AS
Error experimental	60	0.41074	1.02708

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

Del Cuadro 30 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los niveles del factor A (concentraciones del ácido naftalenacético) en cada una de los niveles del factor B (concentraciones del ácido indolbutírico): b₁ = 0.2 mg/l, b₂ = 0.3 mg/l y b₃ = 0.4 mg/l, tanto a los 30 y 60 días para el carácter en estudio.

- Existen diferencias estadísticas al 1% de probabilidad entre los niveles del factor B en cada uno de los niveles del factor A (concentraciones del ácido naftalenacético): $a_1 = 0.5$ mg/l, $a_2 = 1.0$ mg/l y $a_3 = 1.5$ mg/l, tanto a los 30 como a los 60 días, para el número de raíces.

Cuadro 31. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al número de raíces evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Número de raíces	
		A los 30 días	A los 60 días
A en b ₁			
a ₁ b ₁	0.5	4.89 b	11.39 b
a ₂ b ₁	1.0	7.36 a	15.00 a
a ₃ b ₁	1.5	3.75 c	9.36 c
A en b ₂			
a ₁ b ₂	0.5	8.59 b	16.50 b
a ₂ b ₂	1.0	10.50 a	20.79 a
a ₃ b ₂	1.5	7.89 c	15.36 c
A en b ₃			
a ₁ b ₃	0.5	8.46 a	17.75 a
a ₂ b ₃	1.0	5.75 b	13.18 b
a ₃ b ₃	1.5	3.21 c	7.14 c

^{1/} Ácido naftalenacético.

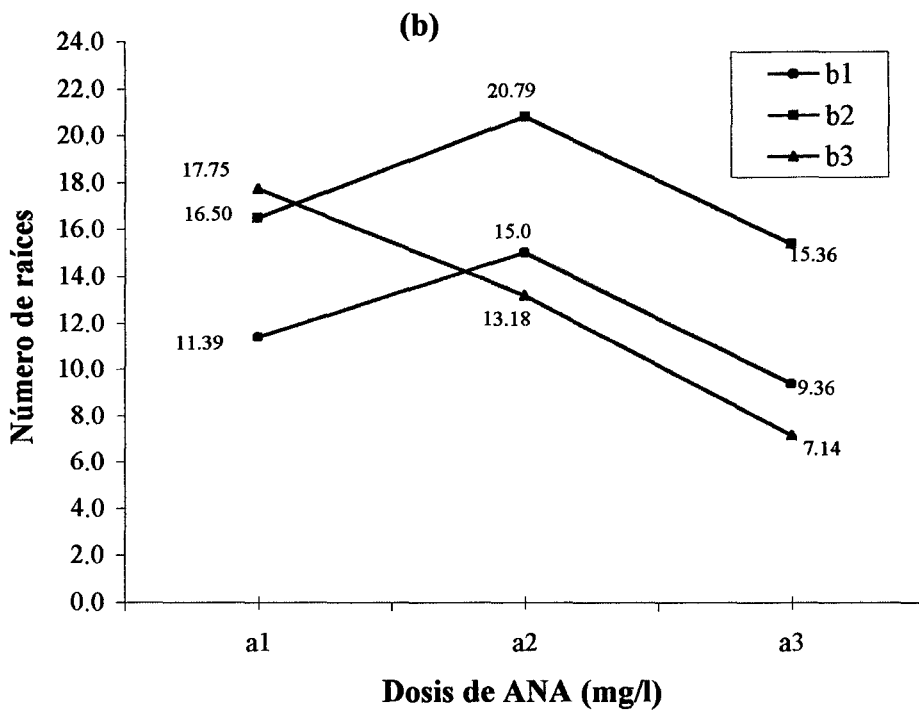
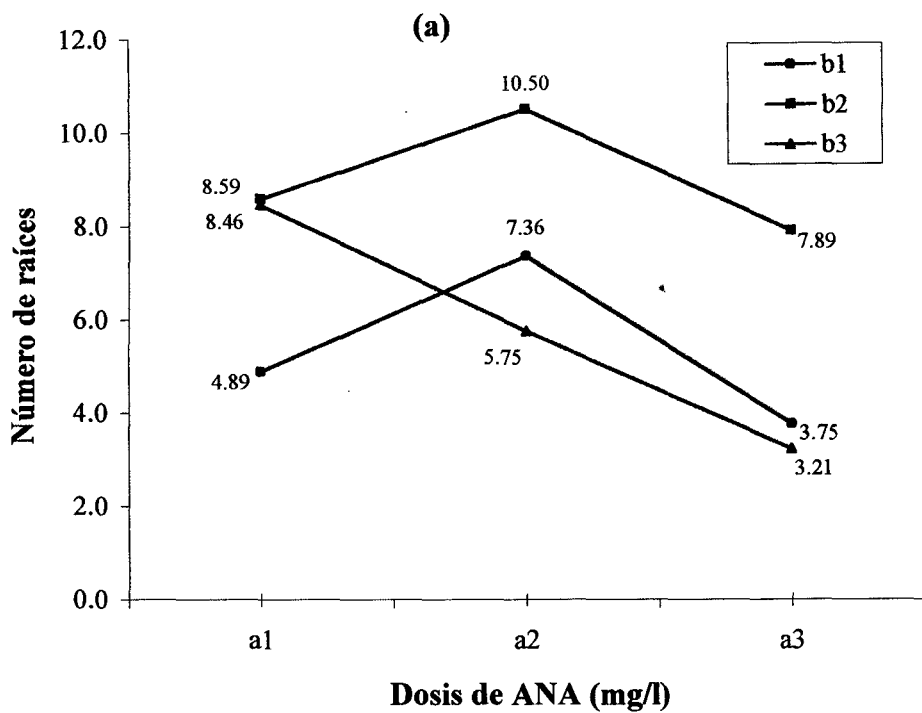


Figura 6. Efecto de la interacción dosis del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en el número de raíces a los (a) 30 días y (b) 60 días.

En el Cuadro 31 y Figura 6 se observa que:

- Cuando aplicamos la primera concentración del ácido indolbutírico (b_1); se observan diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético siendo el segundo nivel (a_2), el que superó estadísticamente a los otros niveles en el número de raíces tanto a los 30 como a los 60 días.
- Al aplicar la segunda concentración del ácido indolbutírico (b_2); existen diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético, siendo el nivel a_2 , el que mejor efecto causó en el número de raíces, tanto a los 30 como a los 60 días, con respecto a los otros niveles.
- Al aplicar la tercera concentración del ácido indolbutírico (b_3), existen diferencias estadísticas significativas entre los niveles del ácido naftalenacético, siendo el nivel a_1 , el que superó estadísticamente a los otros, tanto a los 30 como a los 60 días.

Cuadro 32. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto simple de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente al número de raíces evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.I.B] ^{1/} mg/l	Número de raíces	
		A los 30 días	A los 60 días
B en a ₁			
a ₁ b ₁	0.2	4.89 b	11.39 c
a ₁ b ₂	0.3	8.59 a	16.50 b
a ₁ b ₃	0.4	8.46 a	17.75 a
B en a ₂			
a ₂ b ₁	0.2	7.36 b	15.00 b
a ₂ b ₂	0.3	10.50 a	20.79 a
a ₂ b ₃	0.4	5.75 c	13.18 c
B en a ₃			
a ₃ b ₁	0.2	3.75 b	9.36 b
a ₃ b ₂	0.3	7.89 a	15.36 a
a ₃ b ₃	0.4	3.21 c	7.14 c

^{1/} Ácido indolbutírico.

En el Cuadro 32 y Figura 6 se observa que:

- En la comparación entre los niveles del ácido indolbutírico: b_2 vs b_3 , aplicando la misma concentración del ácido naftalenacético (a_1), no se encontró diferencias estadísticas significativas para el carácter número de raíces a los 30 días, sin embargo al comparar los niveles b_2 vs b_1 y b_3 vs b_1 , se encontraron diferencias estadísticas significativas, siendo el nivel b_3 , el que mejor efecto causó en el número de raíces tanto a los 30 días como a los 60 días.
- Al aplicar la segunda concentración del ácido naftalenacético (a_2); existen diferencias estadísticas altamente significativas entre las concentraciones del ácido indolbutírico siendo el nivel b_2 , el que mejor efecto causó en el número de raíces con respecto a los otros niveles.
- Existen diferencias altamente significativas cuando aplicamos la tercera concentración del ácido naftalenacético (a_3) en cada uno de los niveles del ácido indolbutírico siendo el segundo nivel b_2 , el que causó un mejor efecto en el número de raíces tanto a los 30 como a los 60 días.

Cuadro 33. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al número de raíces evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Número de raíces	
		A los 30 días	A los 60 días
a ₁	0.5	7.32 b	15.21 b
a ₂	1.0	7.87 a	16.32 a
a ₃	1.5	4.95 c	10.62 c

^{1/} Ácido naftalenacético.

En el Cuadro 33 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones del ácido naftalenacético: a₁, a₂ y a₃, siendo la segunda concentración (1.0 mg/l), la que mejor efecto causó en el número de raíces a los 30 y 60 días.
- La concentración a₃, causó un menor efecto en el número de raíces tanto a los 30 como a los 60 días.

Cuadro 34. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente al número de raíces evaluados a los 30 y 60 días.

Clave	[A.I.B] ^{1/} mg/l	Número de raíces	
		A los 30 días	A los 60 días
b ₁	0.2	5.33 c	11.92 c
b ₂	0.3	9.00 a	17.55 a
b ₃	0.4	5.81 b	12.69 b

^{1/} Ácido indolbutírico.

En el Cuadro 34 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido indolbutírico: b₁, b₂ y b₃, siendo la segunda concentración (0.3 mg/l), la que mejor efecto causó en el número de raíces a los 30 y 60 días.
- La concentración b₁, estadísticamente mostró un menor promedio tanto a los 30 días como a los 60 días.

4.7 DÍAS A LA FORMACIÓN DE BROTES

Cuadro 35. Análisis de variancia para los días a la formación de brotes.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
Tratamientos	9	140.29665	AS
Factorial	8	157.36161	AS
A [ANA] ^{1/}	2	542.58036	AS
B [AIB] ^{2/}	2	83.86012	AS
AxB	4	1.50298	NS
Fact. Vs Test.	1	3.77697	NS
Error experimental	60	1.80134	
Total	69		

C.V = 5.50%

^{1/} Ácido naftalenacético.

^{2/} Ácido indolbutírico.

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

N.S No existe significación estadística

Del Cuadro 35 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas para el efecto de las concentraciones del ácido naftalenacético (A), y del ácido indolbutírico (B); mientras que la interacción entre dichas hormonas (A x B), y el contraste factorial vs testigo resultó no tener significación estadística.
- Se encontró un coeficiente de variabilidad de 5.50%, denotando excelente homogeneidad de los resultados experimentales.

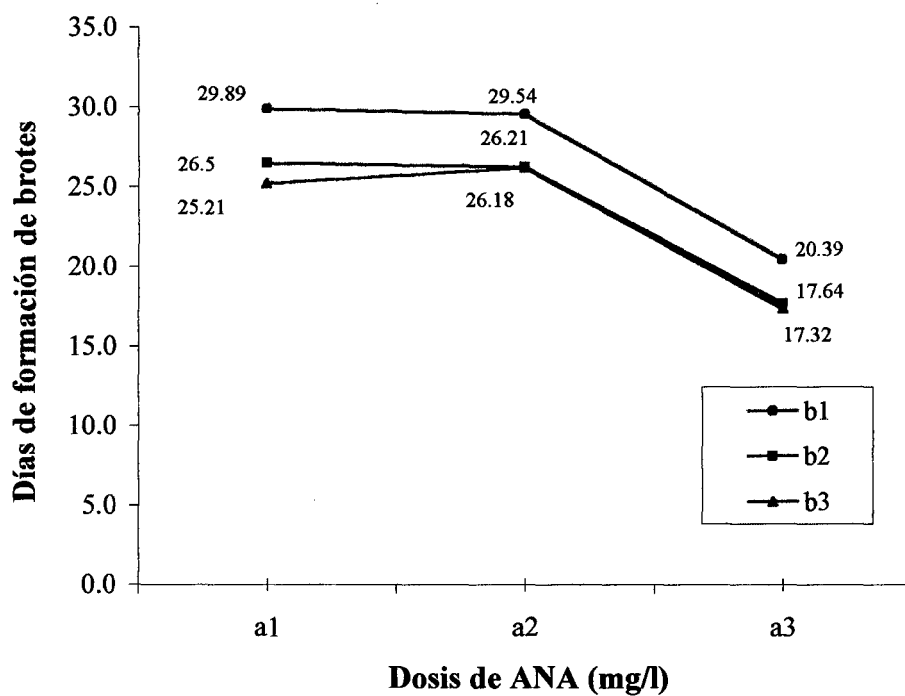


Figura 7. Días de formación de brotes por efecto de la interacción del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B).

Cuadro 36. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente a los días a la formación de brotes.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Días a la formación de brotes	
a ₁	0.5	26.20	a
a ₂	1.0	27.31	a
a ₃	1.5	18.45	b

^{1/} Ácido naftalenacético.

En el Cuadro 36 se observa que:

- No existen diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético: a₁ y a₂, siendo la concentración a₂, la que obtuvo numéricamente un mayor promedio en días para formar brotes.
- La concentración a₃, mostró un menor promedio en días a la formación de brotes.

Cuadro 37. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente a los días a la formación de brotes.

Clave	[A.I.B] ^{1/} mg/l	Días a la formación de brotes	
b ₁	0.2	26.61	a
b ₂	0.3	23.45	b
b ₃	0.4	22.90	b

^{1/} Ácido indolbutírico.

En el Cuadro 37 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones del ácido indolbutírico: b₁, vs b₂ y b₁ vs b₃ siendo la concentración b₁, la que obtuvo un mayor promedio en días a la formación de brotes.
- La concentración b₃, mostró un menor promedio en días para formar brotes.

4.8 NÚMERO DE BROTES

Cuadro 38. Análisis de variancia para el número de brotes evaluados a los 30 y 60 días de siembra en el medio de cultivo. Datos transf. a \sqrt{x} .

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios			
		A los 30 días		A los 60 días	
Tratamientos	9	2.41689	AS	2.68492	AS
Factorial	8	2.66663	AS	2.74109	AS
A [ANA] ^{1/}	2	9.61529	AS	9.28227	AS
B [AIB] ^{2/}	2	0.89754	AS	0.93707	AS
AxB	4	0.07684	NS	0.07931	NS
Factorial Vs Testigo	1	0.41898	AS	0.00016	NS
Error experimental	60	0.05935		0.05908	
Total	69				

C.V = 14.80% 13.72%

^{1/} Ácido naftalenacético.

^{2/} Ácido indolbutírico.

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

N.S No existe significación estadística.

Del Cuadro 38 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas altamente significativas para el efecto de las concentraciones del ácido naftalenacético (A) y ácido indolbutírico (B); para la interacción entre dichas hormonas (A x B) no se encontró diferencias estadísticas, tanto a los 30 como a los 60 días; mientras que el contraste factorial vs testigo a los 30 días mostró diferencias estadísticas al 1% de probabilidad y a los 60 días no presentó significación estadística.

- Se encontró un coeficiente de variabilidad de 14.80% a los 30 días y 13.72% a los 60 días, denotando muy buena homogeneidad de los resultados experimentales.

Cuadro 39. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al número de brotes evaluados a los 30 y 60 días. Datos transf. a \sqrt{x} .

Clave	[A.N.A] ^{1/}	Número de brotes			
	mg/l	A los 30 días		A los 60 días	
a ₁	0.5	1.23	b	1.39	b
a ₂	1.0	1.23	b	1.30	b
a ₃	1.5	2.40	a	2.62	a

^{1/} Ácido naftalenacético.

En el Cuadro 39 se observa que:

- En la comparación de los niveles del ácido naftalenacético: a₃ vs a₁ y a₃ vs a₂ existen diferencias estadísticas significativas siendo el nivel a₃, el que obtuvo un mayor promedio en número de brotes; mientras que al comparar el nivel a₁ vs a₂ no existen diferencias estadísticas significativas siendo a₂ el que numéricamente mostró un menor promedio en cuanto al número de brotes, tanto a los 30 como a los 60 días.

Cuadro 40. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de B (concentraciones del ácido indolbutírico) correspondiente al número de brotes evaluados a los 30 y 60 días. Datos transf. a \sqrt{x} .

Clave	[A.I.B] ^{1/} mg/l	Número de brotes	
		A los 30 días	A los 60 días
b ₁	0.2	1.40 c	1.51 c
b ₂	0.3	1.65 b	1.85 a
b ₃	0.4	1.81 a	1.96 a

^{1/} Ácido indolbutírico.

En el Cuadro 40 se observa que:

- Existen diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido indolbutírico, siendo la concentración b₃, la que mostró un mayor promedio en el número de brotes a los 30 días, sin embargo a los 60 días las concentraciones b₂ y b₃, presentaron valores similares estadísticamente.
- La concentración b₁, obtuvo un menor promedio en el número de brotes tanto a los 30 como a los 60 días.

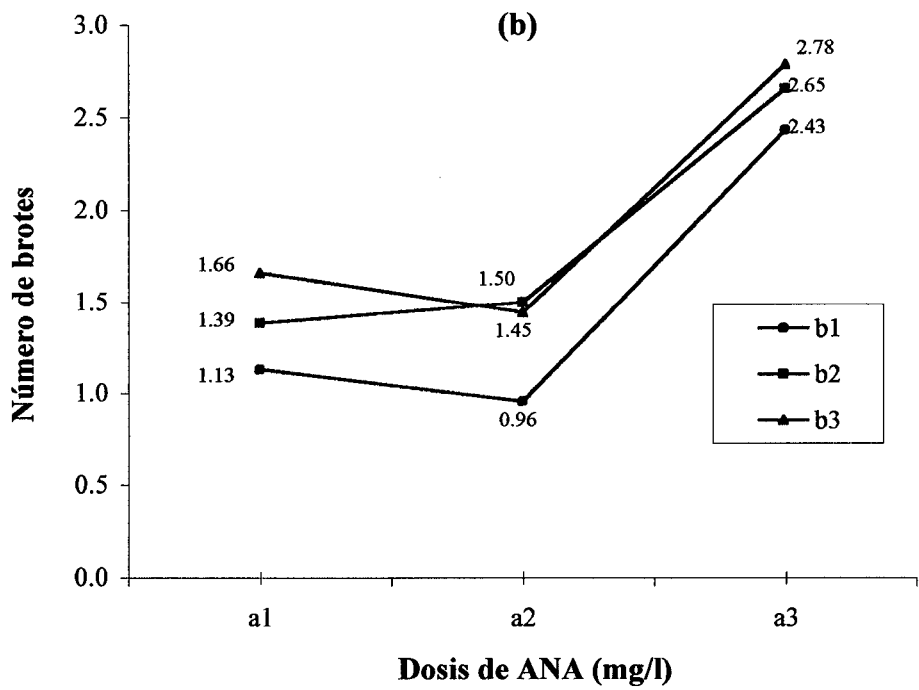
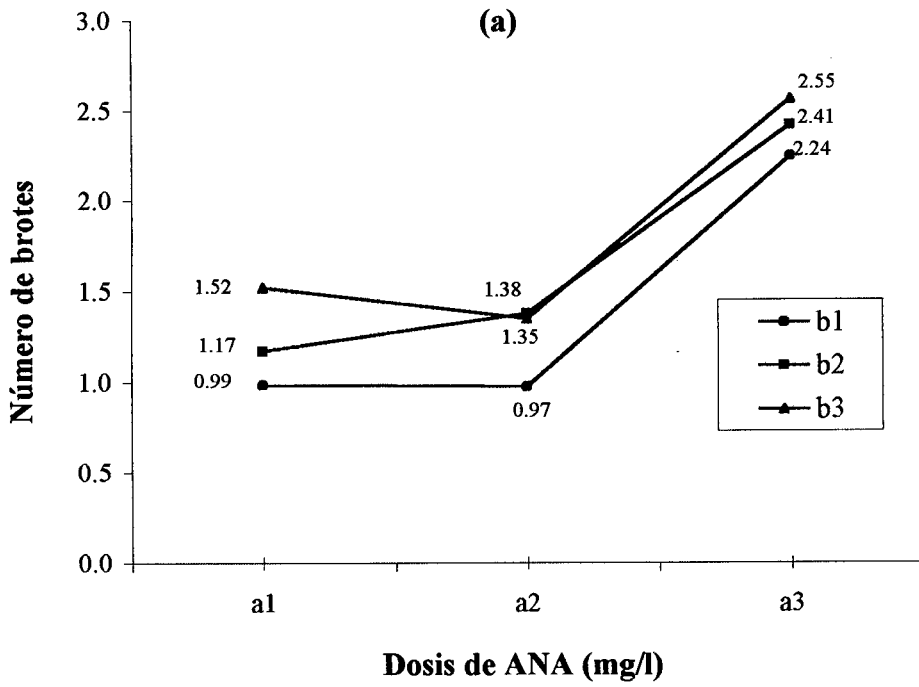


Figura 8. Efecto de la interacción dosis del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en el número de brotes a los (a) 30 días y (b) 60 días.

4.9 PORCENTAJE DE ENRAIZAMIENTO

Cuadro 41. Análisis de variancia para el porcentaje de enraizamiento

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios	
Tratamientos	9	1609.44127	AS
Factorial	8	1691.46825	AS
A [ANA] ^{1/}	2	5248.01587	AS
B [AIB] ^{2/}	2	724.20635	NS
AxB	4	396.82540	NS
Factorial Vs Testigo	1	953.22540	S
Error experimental	60	237.09365	
Total	69		

C.V = 17.65%

^{1/} Ácido naftalenacético.

^{2/} Ácido indolbutírico.

S Significación estadística al 5% de probabilidad.

AS Significación estadística al 1% de probabilidad.

N.S No existe significación estadística.

Del Cuadro 41 se deduce que:

- Existen diferencias estadísticas al 1% de probabilidad para el efecto de las concentraciones del ácido naftalenacético (A); mientras que para el efecto de las concentraciones del ácido indolbutírico (B); y la interacción entre dichas hormonas (A x B) no existe significación estadística; el contraste factorial vs testigo mostró significación estadística al 5%.

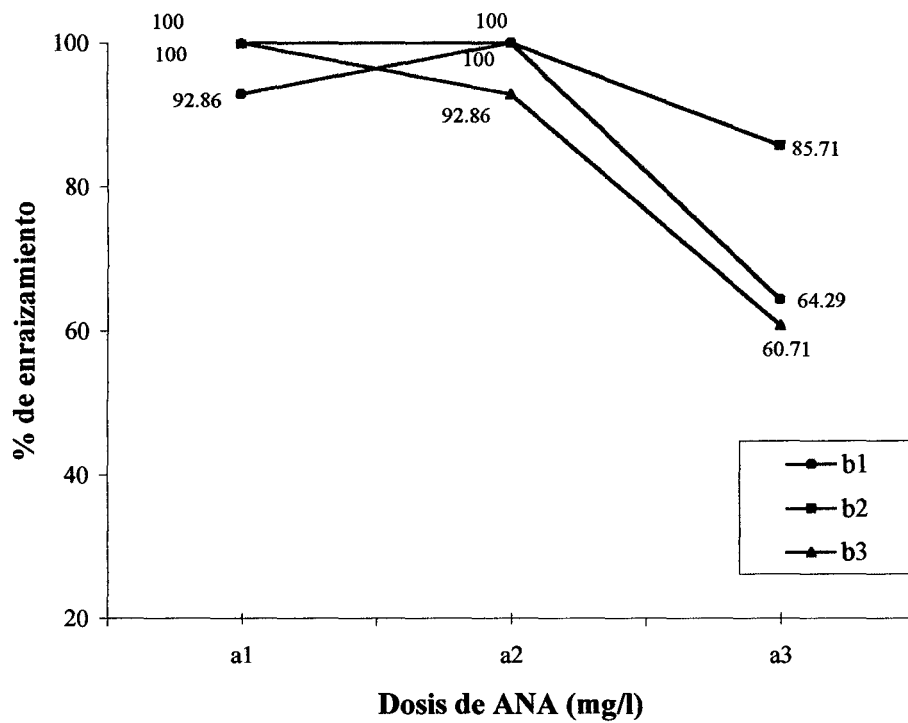


Figura 9. Efecto de la interacción dosis del ácido naftalenacético (A) por ácido indolbutírico (B) en el porcentaje de enraizamiento.

- Se encontró un coeficiente de variabilidad de 17.65%, denotando buena homogeneidad de los resultados experimentales.

Cuadro 42. Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para el efecto principal de A (concentraciones del ácido naftalenacético) correspondiente al porcentaje de enraizamiento.

Clave	[A.N.A] ^{1/} mg/l	Porcentaje de enraizamiento
a ₁	0.5	97.62 a
a ₂	1.0	97.62 a
a ₃	1.5	70.24 b

^{1/} Ácido naftalenacético.

En el Cuadro 42 se observa que:

- No se encontraron diferencias estadísticas entre las concentraciones del ácido naftalenacético: a₁ y a₂ ambos mostraron el mayor promedio en cuanto a porcentaje de enraizamiento, mientras que a₃, obtuvo un menor promedio, en cuanto a este carácter en estudio.

4.10 FORMACIÓN DE CALLO Y PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA

Cuadro 43. Resultados de la formación de callo y porcentaje de sobrevivencia.

Tratamiento	Clave	Descripción ANA+AIB (mg/l)	F.C	% F.C	N.F.C	% N.F.C	% Sobrevivencia
T ₁	a ₁ b ₁	0.5 + 0.2	2	7.14	26	92.86	100
T ₂	a ₁ b ₂	0.5 + 0.3	2	7.14	26	92.86	100
T ₃	a ₁ b ₃	0.5 + 0.4	3	10.21	25	89.29	100
T ₄	a ₂ b ₁	1.0 + 0.2	2	7.14	26	92.86	100
T ₅	a ₂ b ₂	1.0 + 0.3	4	14.29	24	85.71	100
T ₆	a ₂ b ₃	1.0 + 0.4	6	21.43	22	78.57	100
T ₇	a ₃ b ₁	1.5 + 0.2	21	75.00	7	25.00	100
T ₈	a ₃ b ₂	1.5 + 0.3	19	67.86	9	32.14	100
T ₉	a ₃ b ₃	1.5 + 0.4	28	100	0	0	100
T ₁₀	a ₀ b ₀	0 + 0	3	10.21	25	89.29	100

F.C Formó callo
N.F.C No formó callo

V. DISCUSIÓN

5.1 DE LA ALTURA DE PLÁNTULA

Hay diferencias estadísticas altamente significativas para el efecto tratamiento, factor concentraciones del ácido naftalenacético (A), concentraciones del ácido indolbutírico (B) y para la interacción entre dichas hormonas A x B, tanto a los 30 como a los 60 días; para el contraste factorial versus testigo se encontró diferencias estadísticas al 1 y 5 % de probabilidad a los 30 y 60 días respectivamente, a través de la prueba de F nos indica que la mezcla hormonal (ANA x AIB), en sus diferentes concentraciones tienen comportamientos fisiológicos diversos frente a ésta característica .

Las diferencias altamente significativas entre los niveles del factor A en cada cada uno de los niveles del ácido indolbutírico: b_1 , b_2 y b_3 ; así como las diferencias altamente significativas en cada uno de los niveles del ácido naftalenacético: a_1 , a_2 y a_3 , nos permiten señalar que el tipo y la velocidad de crecimiento dependen no solo de la presencia de dichas hormonas, sino del balance entre ellas (3).

De acuerdo a la prueba de Duncan para el efecto simple de A (Cuadro 5). se observa que las mejores alturas de plántulas se obtienen con las dosis de 1.0 mg/l de ácido naftalenacético, ya sea cuando se combina con 0.2, 0.3 y 0.4 mg/l de ácido indolbutírico tanto a los 30 como a los 60 días; dosis menores de ácido

naftalenacético (0.5 mg/l) no lograron desarrollar una altura adecuada debido probablemente a que esta dosis es muy baja para lograr una elongación celular.

Se ha comprobado que las auxinas actúan de modo diverso en el crecimiento por alargamiento celular, como es incrementando el contenido osmótico de la célula y la permeabilidad del agua, reduciendo la presión de pared o aumentando la síntesis de ARN, proteínas específicas (enzimas), y aun de la misma pared, lo que provoca un aumento en la plasticidad de la pared celular, que trae como consecuencia su extensión y con ello un crecimiento por alargamiento (12).

Por otro lado dosis mayores (1.5 mg/l), provocaron una menor altura de plántula, al mismo tiempo se observaron otras características como excesivas formaciones de brotes y callos además de una emisión radicular tardía y poco desarrollada que influenciaron en el crecimiento de las plántulas. Al realizar la prueba de Duncan de los efectos principales del factor A (Cuadro 7) comprobamos que efectivamente la concentración que mejor efecto causó en la altura de planta fue a_2 , con 1.0 mg/l, dosis menores y mayores a ésta inactivan su crecimiento; en algunos casos se ha observado que concentraciones relativamente elevadas de auxinas podrían estar relacionadas con deficiencias en la absorción, transporte o modo de acumulación de la auxina (21).

De la prueba de Duncan de los efectos simples del factor B (Cuadro 6) podemos decir que al aplicar la dosis de 0.5 mg/l de ácido naftalenacético se

observa que se consiguen mejores alturas de plántula con 0.4 mg/l de ácido indolbutírico, sin embargo al ir subiendo las concentraciones del ácido naftalenacético (1.0 y 1.5 mg/l), observamos que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos, resultando mejor aquellas plántulas que fueron tratadas con 0.3 mg/l de ácido indolbutírico (Figura 1). Para corroborar esto se realizó la prueba de los efectos principales del factor B (Cuadro 8), donde se tiene que el segundo nivel del ácido indolbutírico causó un mejor efecto en la altura de plántula tanto a los 30 como a los 60 días.

El ácido indolbutírico es un regulador que no produce efectos tóxicos en las plantas, debido a que tiene un desplazamiento más lento, es por eso que es usado con mayor frecuencia.

5.2 DEL DIÁMETRO DE PLÁNTULA

La prueba de Duncan de los efectos principales del factor A (Cuadro 10) nos muestra que la mejor dosis para el diámetro de plántula fue 0.5 mg/l a los 30 días, sin embargo a los 60 días la dosis de 0.5 y 1.0 mg/l mostraban valores estadísticamente similares, esto se debe probablemente a que las plántulas que fueron tratadas con 0.5 mg/l se quedaron pequeñas originando tallos más gruesos debido a la poca elongación celular que tuvieron. Las actividades de las auxinas incluyen tanto estimulación como inhibición del crecimiento, y la misma célula o estructura puede exhibir respuestas opuestas dependiendo de la concentración (3).

5.3 DEL NÚMERO DE HOJAS

Para la comparación de medias de los efectos simples (Cuadro 12) del factor A existen diferencias altamente significativas en cada uno de los niveles del ácido indolbutírico, mientras que en los efectos simples del factor B solo resultaron ser altamente significativos los dos primeros niveles del ácido naftalenacético, mientras que el tercer nivel resultó no tener significancia estadística; para explicar mejor éstas diferencias realizamos la prueba de Duncan, para el efecto simple del factor A (Cuadro 13) donde observamos que el mayor número de hojas se obtiene con la dosis de 0.5, mg/l de ácido naftalenacético; ya sea cuando se combina con 0.2, 0.3 y 0.4 mg/l de ácido indolbutírico (Figura 3), pero a su vez se notó que a ésta dosis las hojas no lograron un crecimiento longitudinal permaneciendo muy pequeñas; mientras que las plántulas que fueron tratadas con 1.0 mg/l de ácido naftalenacético sí mostraron hojas bien desarrolladas aunque con un menor número; la hoja es afectada por varios factores que incluyen intensidad y calidad de la luz, concentraciones de oxígeno y de dióxido de carbono que controlan la longitud de las hojas (3).

Al realizar la prueba de Duncan para el factor B (Cuadro 14) no se encontraron diferencias estadísticas entre las dosis con 0.2 y 0.4 mg/l de ácido indolbutírico, al aplicar la primera y segunda concentración del ácido naftalenacético; pero difieren estadísticamente de la dosis con 0.3 mg/l de ácido indolbutírico, la cual resultó la más adecuada en lo que respecta a este carácter.

El efecto de la auxina se inhibe en presencia de CO_2 , y de otros inhibidores de la respiración (26); asimismo se indica que las auxinas poseen un efecto estimulador sobre la respiración, hecho correlacionado con el aumento de crecimiento; probablemente elevadas concentraciones de CO_2 , redujo el crecimiento del material vegetal e hizo que algunas plántulas no desarrollaran sus órganos adecuadamente (12).

Para la prueba de Duncan de los efectos principales del factor A (Cuadro 15), y B (Cuadro 16), observamos que efectivamente se logra un mayor número de hojas a la concentración de 0.5 mg/l de ácido naftalenacético, y 0.3 mg/l de ácido indolbutírico. Las auxinas participan ampliamente en la organización de los procesos vegetales, incluyendo la regulación de las proporciones del crecimiento diferencial y la regulación de fenómenos de diferenciación los cuales son estimulados o inhibidos según la concentración auxínica presente en la célula o estructura vegetal (12).

5.4 DÍAS A LA FORMACIÓN DE RAÍCES

En la comparación de medias de los efectos simples (Cuadro 18), observamos que existen diferencias altamente significativas en cada uno de los niveles del factor A y del factor B, lo cual nos lleva a realizar la prueba de Duncan de los efectos simples (Cuadro 19), y principales (Cuadro 21) del Factor A, donde tenemos que la dosis de 1.0 mg/l de ácido naftalenacético formó raíces en menor

tiempo; mientras que la dosis de 1.5 mg/l demoró mucho más tiempo en formar raíces, esto se debe posiblemente a la presencia de callos que mostraban las plántulas que fueron tratadas con esta dosis. Los fenómenos de callogénesis compiten con las raíces (12).

Al realizar la prueba de Duncan de los efectos simples (Cuadro 20), y principales (Cuadro 22) del factor B observamos que la dosis de 0.3 mg/l de ácido indolbutírico logró formar raíces en menor tiempo; esto nos permite señalar que el crecimiento de la raíz esta bajo el control de la concentración de la auxina, el tipo y la velocidad del crecimiento depende del balance entre ellas (3).

5.5 DE LA LONGITUD DE RAÍCES

Al realizar el análisis de variancia (Cuadro 23) para la característica longitud de raíces observamos que existen diferencias altamente significativas para el factor concentraciones del ácido naftalenacético (A), concentraciones del ácido indolbutírico (B) y para la interacción entre dichas hormonas A x B; mientras que el contraste factorial versus testigo resultó ser significativo, esto se debe probablemente a la presencia de auxinas endógenas, las cuales se producen de forma natural en todas las plantas. Muchas raíces pueden crecer durante días o semanas *in vitro* sin necesidad de agregar auxina, lo cual indica que cualquier necesidad que puedan tener es satisfecha por su capacidad de sintetizarla (28), o debido probablemente a la luz blanca que en ausencia de auxinas promueven el enraizamiento (32).

En la comparación de medias de los efectos simples (Cuadro 24), se observan diferencias altamente significativas tanto para el efecto simple de A, como para el efecto simple del factor B, conllevando a efectuarse la prueba de Duncan para el efecto simple y principal de A (Cuadro 25 y 27 respectivamente), donde observamos que existen diferencias altamente significativas entre las dosis de 0.5, 1.0 y 1.5 mg/l de ácido naftalenacético, ya sea cuando se combina con las dosis de 0.2, 0.3 y 0.4 mg/l del ácido indolbutírico (Figura 5); donde se obtienen mejores longitudes de raíz al aplicar la segunda dosis (1.0 mg/l), estas diferencias se deben probablemente a la conducción dentro de la plántula de este regulador, el cual es de un empleo más delicado. Por lo tanto, debe evitarse usar el ácido naftalenacético en concentraciones altas por el peligro de provocar daños en las plantas, porque es muy tóxica (32). Por otro lado dosis menores y mayores a ésta, no mostraron un enraizamiento adecuado, por el contrario deprimen el proceso de desarrollo de la plántula dando lugar a otras características que impidieron el normal desarrollo de las raíces como la formación de callos, y excesiva aparición de brotes. Además, se hace referencia que no se produce enraizamiento supuestamente debido a la mayor actividad desplegada para la formación de brotes vegetativos (15).

Para la prueba de Duncan de los efectos simples y principales del factor B (Cuadro 26 y 28 respectivamente), al aplicar la menor dosis del ácido naftalenacético (0.5 mg/l), con 0.2, 0.3 y 0.4 mg/l de ácido indolbutírico, se obtiene una mayor elongación de raíces a la dosis de 0.4 mg/l.

Las auxinas afectan el proceso usual de formación de raíces que ayuda a balancear el crecimiento de la raíz y el sistema aéreo (28); a esta dosis también se consiguió una elongación del tallo; a medida que subimos la dosis del ácido naftalenacético (1.0 y 1.5 mg/l), se obtienen mejores resultados cuando aplicamos la dosis de 0.3 mg/l de ácido indolbutírico (Figura 5); ésta es la concentración requerida para la estimulación de raíces. El aumento del tamaño de las células se produce en dos etapas, primeramente ocurre un aflojamiento de las paredes celulares (proceso que requiere de la presencia de auxinas y oxígeno) seguido de una absorción de agua y de una expansión de las paredes. Las auxinas pueden funcionar mediante la activación de un tipo mensajero de RNA, que provoca la síntesis de enzimas específicas; dichas enzimas generan la inserción de nuevos materiales en las paredes celulares, lo cual da por resultado su expansión (32).

Estas hormonas no tienen la misma acción sobre la rizogénesis y las causas son las propiedades secundarias de sus moléculas: facilidad de penetración y rapidez de conducción dentro de la planta (3), además todas las formas de crecimiento de la raíz : inicial en longitud o en la formación de raíces cortas gruesas, se desarrollan por un tratamiento hormonal apropiado (28).

5.6 DEL NÚMERO DE RAÍCES

Al realizar la comparación de las medias de los efectos simples (Cuadro 30), se observan diferencias altamente significativas para los efectos simples tanto del factor A como del factor B, lo cual nos lleva a realizar la prueba de Duncan para

el efecto simple y principal de A (Cuadro 31 y 33 respectivamente), donde observamos que al aplicar la concentración de 0.2 y 0.3 mg/l de ácido indolbutírico se obtiene un mayor número de raíces a la concentración de 1.0 mg/l de ácido naftalenacético; sin embargo al aplicar la dosis de 0.4 mg/l del ácido indolbutírico observamos que se obtienen mayores números de raíces a la dosis de 0.5 mg/l de ácido naftalenacético. Un desarrollo pobre del sistema radical hace que el crecimiento in vivo se haga muy difícil, especialmente cuando hay una elevada transpiración (23).

Para el efecto simple y principal de B (Cuadro 32 y 34 respectivamente) observamos que al aplicar 0.5 mg/l de ácido naftalenacético no hay diferencias estadísticas significativas entre las dosis de 0.3 y 0.4 mg/l de ácido indolbutírico a los 30 días, pero a los 60 días la dosis de 0.4 mg/l obtuvo un mayor promedio, debido probablemente a que las moléculas de este regulador se mueven lentamente dentro de los tejidos de la plántula y dosis menores son insuficientes para reactivar los primordios radicales; sin embargo al aumentar la dosis del ácido naftalenacético observamos que la dosis de 0.3 mg/l del ácido indolbutírico influye más en lo que respecta a este carácter, probablemente dosis menores a ésta es insuficiente para reactivar los primordios radicales.

5.7 DE LOS DÍAS A LA FORMACIÓN DE BROTES

En la prueba de Duncan de los efectos principales (Cuadro 36), del factor A observamos que los tratamientos con la dosis de 0.5 y 1.0 mg/l de ácido

naftalenacético obtuvieron los más altos promedios en días para la formación de brotes; mientras que el tratamiento con la dosis de 1.5 mg/l formó brotes en un menor tiempo. Estos resultados posiblemente se debe a que el ácido naftalenacético en altas concentraciones ocasiona la división celular, producido por la rápida división de células del parénquima (23).

Al realizar la prueba de Duncan de los efectos principales (Cuadro 37) del factor B observamos que existen diferencias significativas, siendo el tratamiento con 0.4 mg/l del ácido indolbutírico el que formó brotes en menor tiempo. El ácido indolbutírico paralelo a la formación de raíces presenta una reactivación de las yemas (12).

5.8 DEL NÚMERO DE BROTES

En la prueba de Duncan de los efectos principales (Cuadro 39) del factor A observamos que se obtiene un mayor número de brotes a la dosis de 1.5 mg/l, esto se debe a que concentraciones relativamente altas de este ácido ocasiona una rápida división celular inclusive la formación de callo; existen auxinas que son usadas en altas concentraciones para la formación de este tipo de tejido, debido a que suprimen la morfogénesis y dan por resultado la rápida proliferación de células tipo callo (23); mientras que el efecto principal del factor B (Cuadro 43) nos muestra que la dosis que ocasionó un mayor número de brotes fue 0.4 mg/l de ácido indolbutírico, como ya se mencionó este regulador paralelamente a la formación de raíces presenta una reactivación de las yemas (12).

La aparición de los brotes vegetativos se puede atribuir al contenido de carbohidratos y demás nutrientes presentes, los que se traslocarían a los puntos de crecimiento, en este caso las yemas, logrando su desarrollo; hay que tener en cuenta que si el objetivo final es la multiplicación de plantas es factible una división celular pero lo que se busca en un medio de enraizamiento es la formación de raíces y que las plántulas alcancen el crecimiento adecuado de la parte aérea, para una mejor adaptación al medio ambiente (10).

5.9 DEL PORCENTAJE DE ENRAIZAMIENTO

En la prueba de Duncan de los efectos principales (Cuadro 42) del factor A, observamos que las dosis de 0.5 y 1.0 mg/l del ácido naftalenacético no presentan diferencias estadísticas significativas ambos mostraron los mayores promedios en cuanto porcentaje de enraizamiento, mientras que la dosis de 1.5 mg/l mostró un menor porcentaje de enraizamiento, ROJAS (26), menciona que estos reguladores producen una aceleración en la respiración que repercute en un intenso metabolismo, concentraciones que pasan del óptimo deprimen estos procesos.

5.10 DE LA FORMACIÓN DE CALLOS Y PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA

Los resultados de la formación de callo (Cuadro 43) muestran que los tratamientos T₇, T₈ y T₉, obtuvieron mayores números de plántulas con callo; este incremento fue debido a la dosis más alta del ácido naftalenacético (1.5 mg/l) y al aplicar la mayor dosis del ácido indolbutírico (0.4) estos mostraban un mayor

tamaño; generalmente una simple adición de auxina constituye un estímulo hormonal suficiente para la inducción de callo (23).

Se realizó un trabajo en el cual se encontró que al aumentar las concentraciones del ácido naftalenacético, las raíces se hacían más cortas y gruesas y la proliferación de callo fue mayor (18).

La producción de callo está íntimamente relacionada con la concentración y tipo de auxina empleada (7), lo que se puede apreciar al aplicar las mayores dosis de ambos reguladores donde observamos que los callos se mostraban como masas celulares compactas y duras con una coloración amarillo pálido. El crecimiento de un callo dentro de una misma especie vegetal depende de diversos factores, los desarrollos espontáneos de callos en los explantes cultivados in vitro en medios no inductores de callos se deben tal vez a factores endógenos o a un equilibrio gaseoso inadecuado en los explantes (12); probablemente fue lo sucedió con los demás tratamientos que mostraban un tejido calloso blando casi acuoso y de un color verde claro.

Así mismo los resultados del porcentaje de sobrevivencia revelan que no se obtuvo plántulas muertas por efecto de los tratamientos.

VI. CONCLUSIONES

1. Con la combinación de las dosis de 1.0 mg/l del ácido naftalenacético (ANA), más 0.3 mg/l de ácido indolbutírico se obtienen los mejores resultados en las características altura de plántula, longitud y número de raíces, número de hojas, menos días para la formación de raíces y un buen porcentaje de enraizamiento, pues dosis menores y mayores enraizan con mucha dificultad.
2. Las concentraciones del ácido indolbutírico (AIB), cuando interactúan a una dosis de 1.5 mg/l de ácido naftalenacético (ANA) muestran plántulas enanas, con escasas raíces, demasiados brotes y presencia de callos que impiden el normal desarrollo de la plántula.
3. El ácido naftalenacético (ANA) es un regulador de crecimiento, que en su concentración alta (1.5 mg/l) causa diversos efectos fisiológicos en la plántula (como escasa raíces y formaciones excesivas de brotes y callo) que impiden el normal desarrollo de la plántula debido a que es un regulador más fuerte y al interactuar con el ácido indolbutírico (AIB) estos efectos se ven estimulados sobre todo si aplicamos la dosis de 0.4 mg/l.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios sobre el enraizamiento in vitro en un medio líquido.
2. Realizar estudios sobre la influencia de la calidad de la luz en el enraizamiento in vitro de piña.

VIII. RESUMEN

Con la finalidad de determinar la influencia de dos reguladores de crecimiento en el proceso de rizogénesis in vitro de la piña y que dosis hormonales son las más óptimas en ésta fase; se realizó el presente experimento, el cual fue desarrollado en el Laboratorio de Micropropagación in Vitro de la Facultad de Agronomía de La Universidad Nacional Agraria de la Selva. El diseño experimental adoptado fue el completamente al azar con arreglo factorial 3A x 3B + 1 testigo adicional y 7 repeticiones. La duración de experimento fue de Junio a Octubre de 1999 con las siguientes evaluaciones: altura y diámetro de plántulas; número de hojas, longitud y número de raíces, número de brotes, días a la formación de brotes y raíces, % de enraizamiento, formación de callo y porcentaje de sobrevivencia. Se utilizó el medio de Murashige y Skoog con las siguientes dosis: 0.5, 1.0 y 1.5 mg/l de ácido naftalenacético; 0.2, 0.3 y 0.4 mg/l de ácido indolbutírico.

La selección de plantulas, preparación del medio, esterilización del material y demás operaciones se realizaron de acuerdo al plan establecido.

Los resultados obtenidos nos muestran que el ácido naftalenacético (ANA) y el ácido indolbutírico (AIB) son reguladores de crecimiento que estimulan la formación de raíces, que a su vez estimulan el crecimiento de las plántulas; y que en sus concentraciones más altas (1.5 y 0.4 mg/l respectivamente) producen

efectos fisiológicos diversos como la formación de callo, que impide el normal crecimiento de la plántula.

Se obtuvieron mejores resultados con 1.0 mg/l de ácido naftalenacético; con 0.5 mg/l se obtienen plántulas muy pequeñas, con poca longitud y número de raíces; con 1.5 mg/l las plántulas muestran un excesivo desarrollo de brotes y presencia de callos que impiden el desarrollo radicular; Asimismo con 0.3 mg/l de ácido indolbutírico, se obtienen los mayores promedios con respecto a las dosis de 0.2 y 0.4 mg/l, siendo el primero el que presenta el más bajo promedio en lo que respecta a altura de plántula, número de hojas, longitud de raíces, número de raíces, y número de brotes. Finalmente diremos la combinación de 1.0 mg/l de ácido naftalenacético + 0.3 mg/l de ácido indolbutírico causaron un mejor efecto en el estudio de las características ya mencionadas.

El testigo, mostró raíces, muy delgadas y frágiles, además las hojas fueron adquiriendo un color verde amarillento.

Las plántulas que fueron tratadas con 0.5 y 1.0 mg/l de ácido naftalenacético lograron el mayor porcentaje de enraizamiento (97.62%), en comparación con aquellas plántulas que fueron tratadas con 1.5 mg/l que alcanzó el 70.24%, ya sea cuando se combina con 0.2, 0.3 y 0.4 mg/l de ácido indolbutírico.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. AUDUS, L. G. 1975. Plant Growth Substances. Editorial Leonard-Hill S.A. Londres. Pp 85 - 89.
2. BEAULIEU, R. 1973. Reguladores de crecimiento Editorial Oikos-Tau S.A. Barcelona, España. 235 p.
3. BIDWELL, R.G.S. 1979. Fisiología vegetal. 2ª ed. Editorial A.G.T Editor S.A. México. 173 p.
4. CALZADA B, J. 1981. Métodos estadísticos para la investigación. 4ta edición. Editorial Jurídica. Lima, Perú. 645 p.
5. COMISIÓN NACIONAL DE FRUTICULTURA (CONAFRUT). 1997. El cultivo de la piña. Ministerio de Agricultura. Lima, Perú. 36 p.
6. CURSO DE AGROBIOTECNOLOGÍA TROPICAL. 1992. Cultivo de tejidos *in vitro* en piña. Traducido del Handbook of plant cell culture, por el Ing Luis García Carrión. Universidad Nacional Agraria de la Selva - Tingo María. Pp: 35-38.
7. DEVLIN, R. M. 1980. Fisiología vegetal. 3ª ed. Editorial OMEGA S.A. Barcelona, España. 516 p.
8. EPSTEIN, E. 1970. Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolis y transport. *Physiol Plant.* 88: 382 - 389.
9. EVANS, M. L. 1984. Hormonal regulation of development II. Editorial Springer-Verlang. Berlin, Alemania. Pp 23 - 79.

10. HARTMANN, M. y KESTER, D. 1990. Propagación de plantas; principios y prácticas. 3^{ra} ed. Editorial Continental S.A. México. 814 p.
11. HOPE, W. 1983. Biophysic. Editorial Springer-Verlag. Berling-Alemania. Pp 281 - 288.
12. HURTADO M, D. y MERINO M, María. 1987. Cultivo de tejidos vegetales. Editorial TRILLAS S.A. México. 232 p.
13. INRA. 1979. Normas técnicas del cultivo de piña. Instituto de libro N° 1002. La Habana, Cuba. 79p.
14. LEOPOLD, C. y KRIEDEMANN. 1975. Plant growth and development. Editorial Mc. Graw-Hill. U.S.A. 640 p.
15. LORZ, H.; LARKING, P. y SCOWCROFT, W. 1983. Improved protoplast culture and agarose media. plant cell tissue culture. Londres. Pp: 217 - 226.
16. MANRIQUE, T. S. 1997. Propagación *in vitro* en piña. Prensa Unasina. Edición N°22. Tingo María, Perú. Pp 34 - 35.
17. MEJÍA, A. 1994. Propagación comercial 312 especies de plantas por cultivo *in vitro*. La Molina. Perú. 364 p.
18. MOGOLLÓN, N. 1992. Propagación de *Mussaenda erythrophylla* Schum - 'Rosea' mediante cultivo *in vitro*. Agronomía Tropical. 42 (5-6):261-283.
19. MORÍN, CH. 1973. Fruticultura general I. Universidad Nacional Agraria La Molina. Departamento de Horticultura. Lima, Perú. Pp: 77 - 85.

20. MURASHIGE, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. *Ann Rev. Plant Physiol* 25. Pp:135 - 166.
21. MURASHIGE, T. Y SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15. Pp: 473-497.
22. NORMAH, M. 1997. Micropropagation of citrus helimii and endagered species of south-east Asia. *Plant cell, tissue en el org culture to*. Pp: 225 - 227.
23. PIERIK, R. 1990. Cultivo in vitro de las plantas superiores. Ediciones Mundi - Prensa. Madrid, España. 326 p.
24. RAMÍREZ, A. 1987. Micropropagación in vitro la piña (*Ananas Comosus* L. Merr). *Cultivos Tropicales*. Pp: 681 - 697.
25. ROCA, W. y MROGINSKI, L. 1991. Cultivo de Tejidos en la Agricultura (Fundamentos y Aplicaciones). CIAT. Colombia. Pp: 20 - 36.
26. ROJAS, G. y RAMÍREZ, H. 1993. Control hormonal del desarrollo de las plantas. Editorial LIMUSA, S.A. México. Pp: 13 - 87.
27. ROSSI, F. 1993. Photomorphogenic effects on in vitro rooting of *Prunus roostock*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* Pp 145 - 151.
28. SALISBURY, F. y ROSS, C. 1994. Fisiología vegetal. Editorial Iberoamérica S.A. México D.F. 759 p.
29. SERRANO, M. y PINOL, T. 1991. Biotecnología vegetal. Editorial SINTESIS S.A. España. Pp: 50- 70.

30. TENORIO, U. A. 1994. Efecto de tres dosis de 2,4-D y cuatro dosis de AIB en el enraizamiento de estacas de vainilla (*Vanilla fragans* mes) en Tingo María. Tesis Ing Agr. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú. 84 p.
31. TORREY, J. 1976. Root Hormones and Plant Growth. Ann. Rev. Plant Physiol. 27. Pp: 439 - 459.
32. WEAVER, R. J. 1976 Reguladores del Crecimiento de la planta en la agricultura. Ed. Trillas. México. D.F. 622 p.
33. ZOLLA, B. E. 1995 Efecto de la calidad de la luz y concentración de auxinas en la rizogénesis in vitro de *Gusmania lingulata* (L). mez. var. 'lingulata'. Tesis Ing Agr. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima - Perú. 65 p.

X. ANEXO

Cuadro 44. Composición del medio básico de Murashige y Skoog (1962).

Componente	Contenido MS en el medio (mg/l)
Macronutrientes	
NH ₄ NO ₃	1650.00
KNO ₃	1900.00
KH ₂ PO ₄	170.00
CaCl ₂ .2H ₂ O	440.00
MgSO ₄ .7H ₂ O	370.00
Micronutrientes	
KI	
H ₃ BO ₃	0.83
MnSO ₄ .4H ₂ O	6.20
ZnSO ₄ .7H ₂ O	22.30
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	8.60
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.25
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.025
Na ₂ EDTA	27.80
	37.30
Vitaminas	
Glicina	2.00
Tiamina-HCl	0.10
Piridoxina	0.50
Ácido nicotínico	0.50
Mioinositol	100.00
Azúcar	30000.00
Agar	8000.00
pH	5.7 – 5.8

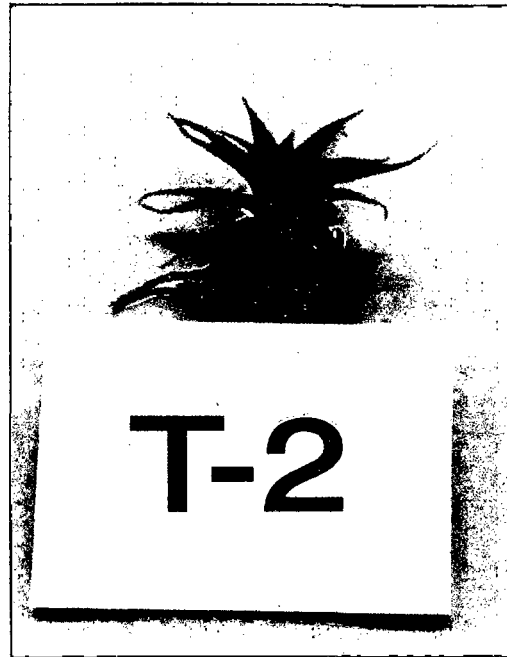
Fuente: Roca y Mroginski (1991).



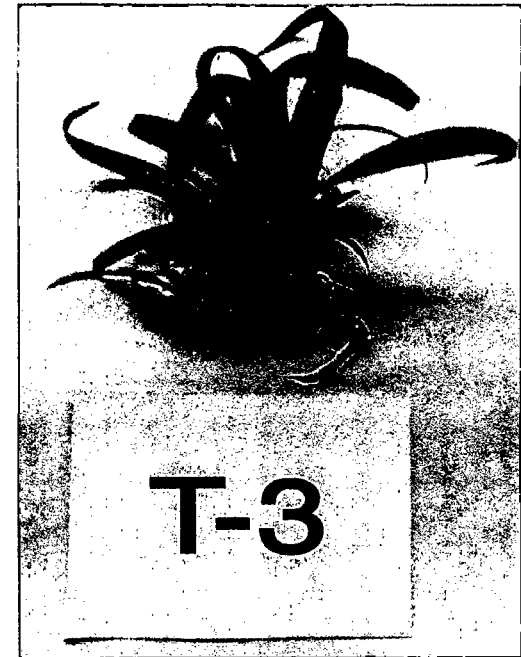
Figura 10. Instalación del experimento en la cámara de cultivo.



(a)

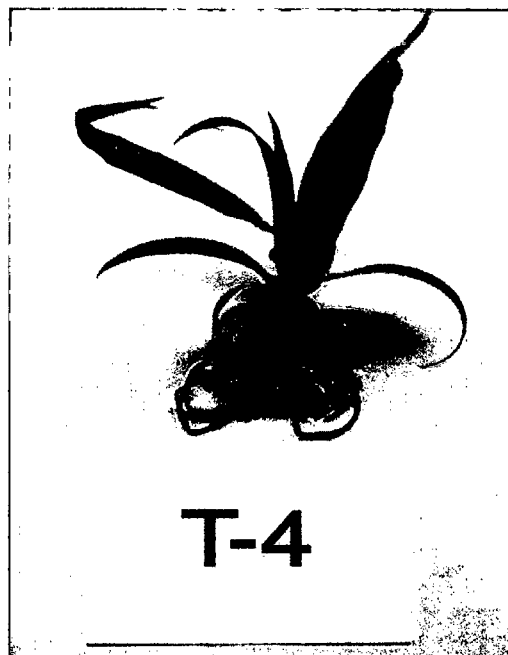


(b)

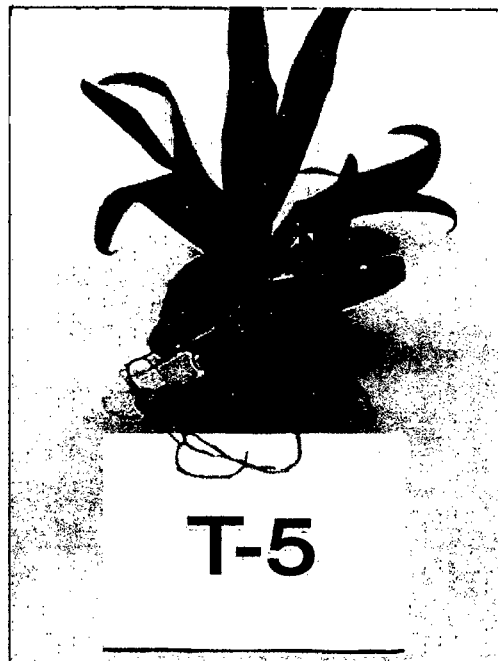


(c)

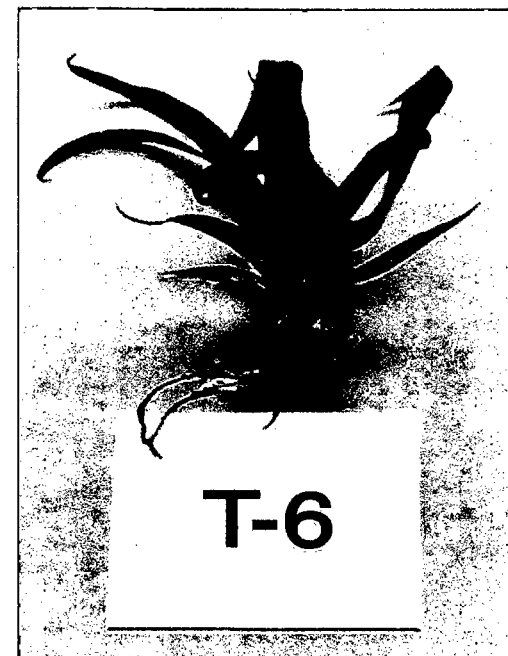
Figura 11. Plántula de piña a los 60 días dosificado con 0.5 mg/l de Ácido Naftalenacético + 0.2 (a); 0.3 (b) y 0.4 (c) mg/l de Ácido Indolbutírico.



(a)

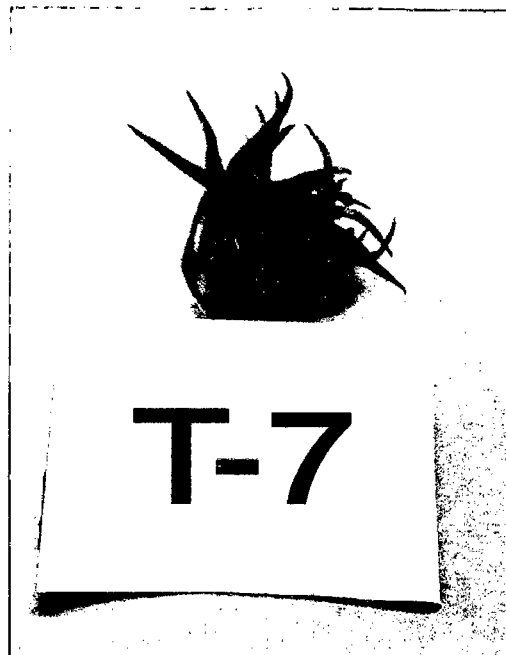


(b)

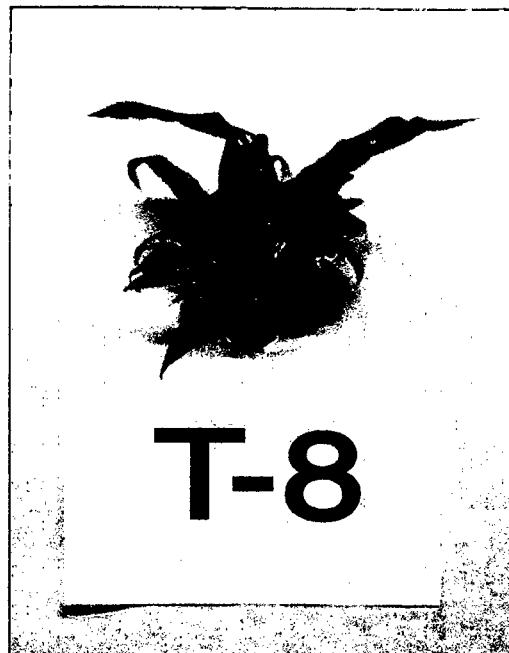


(c)

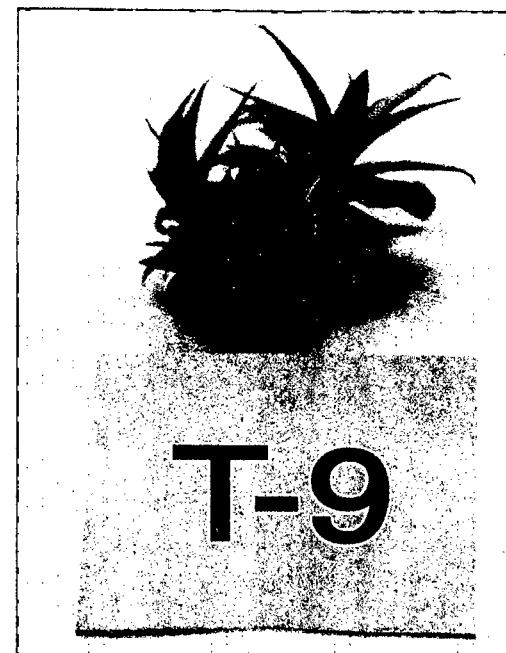
Figura 12. Plántula de piña a los 60 días dosificado con 1.0 mg/l de Ácido Naftalenacético + 0.2 (a); 0.3 (b) y 0.4 (c) mg/l de Ácido Indolbutírico.



(a)



(b)

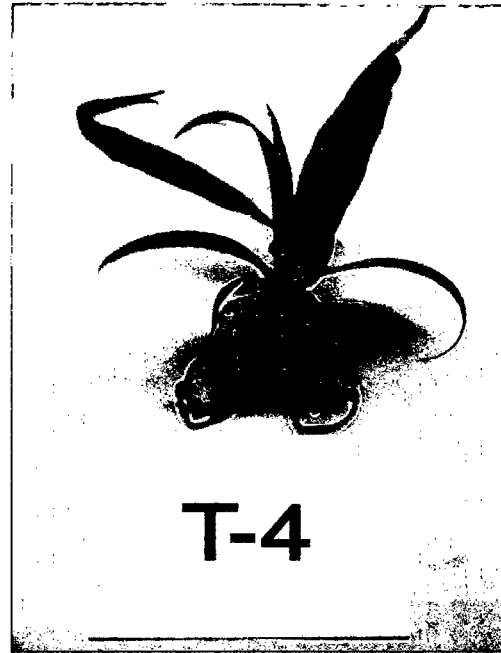


(c)

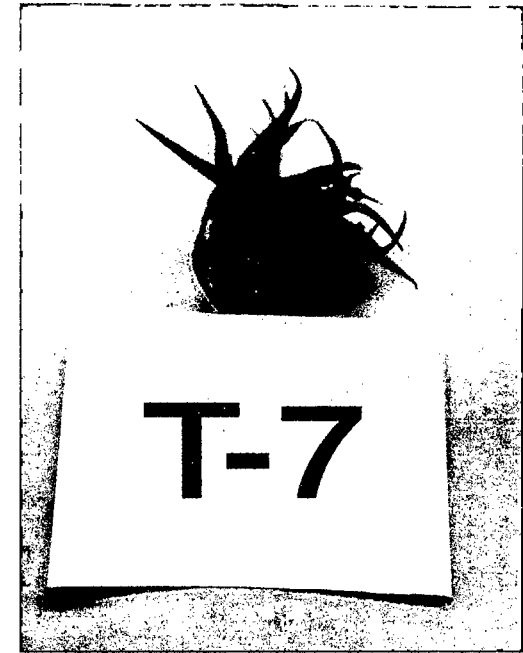
Figura 13. Plántula de piña a los 60 días dosificado con 1.5 mg/l de Ácido Naftalenacético + 0.2 (a); 0.3 (b) y 0.4 (c) mg/l de Ácido Indolbutírico.



(a)

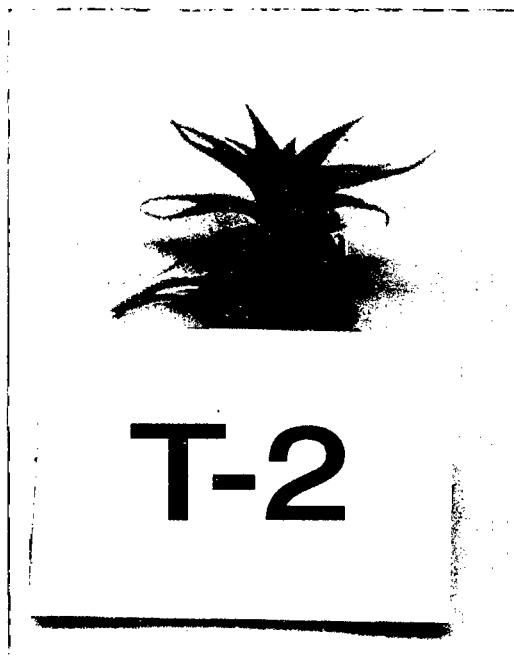


(b)

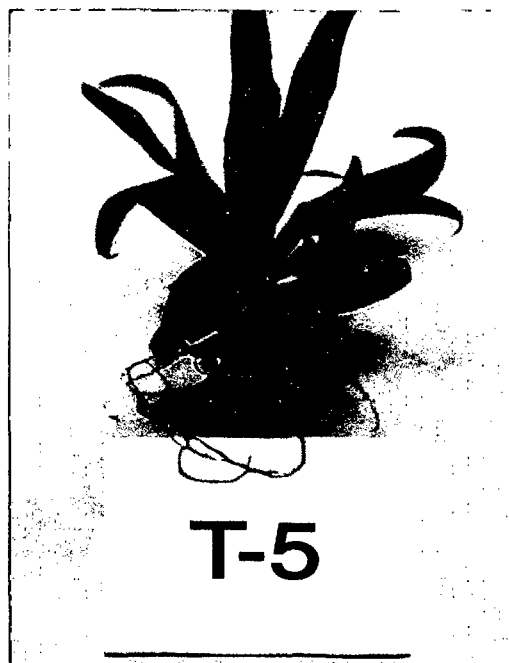


(c)

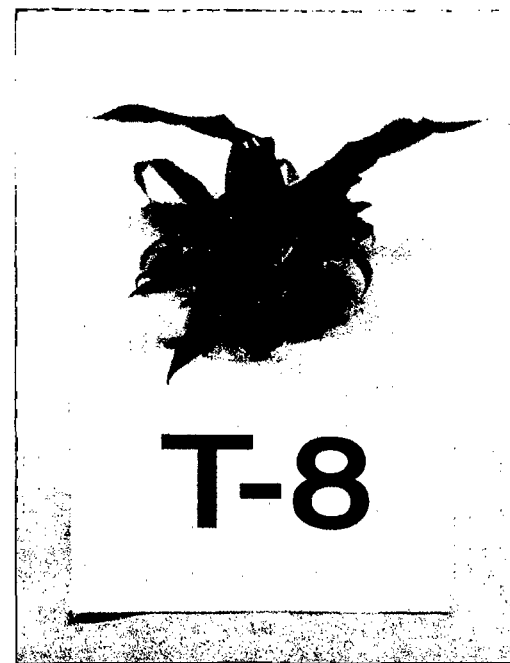
Figura 14. Plántula de piña a los 60 días dosificado con 0.2 mg/l de Ácido Indolbutírico + 0.5 (a); 1.0 (b) y 1.5 (c) mg/l de Ácido Naftalenacético.



(a)

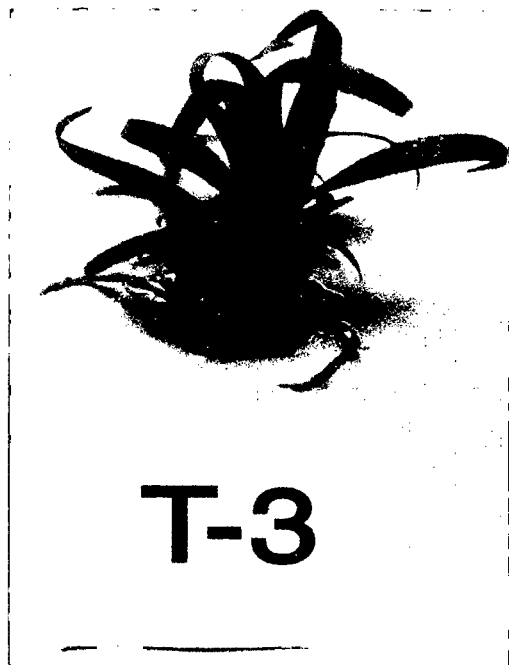


(b)

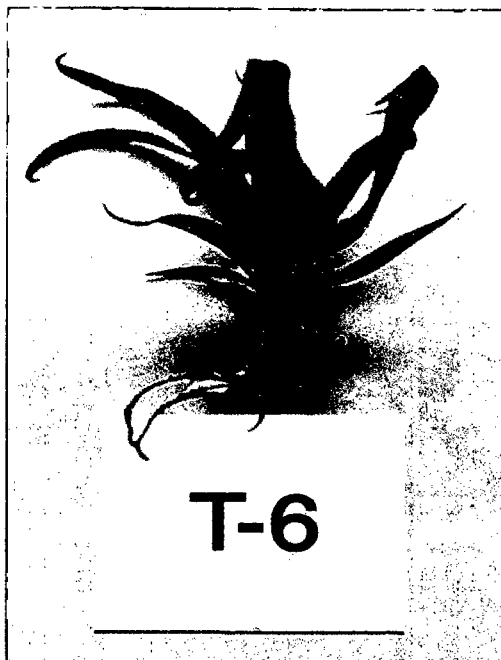


(c)

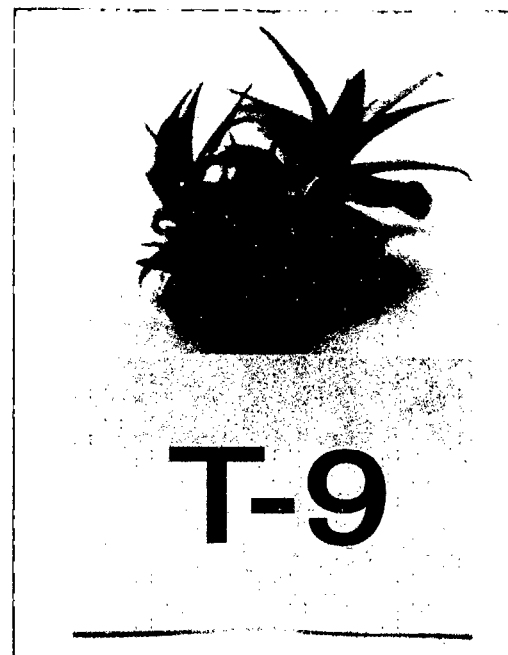
Figura 15. Plántula de piña a los 60 días dosificado con 0.3 mg/l de Ácido Indolbutírico + 0.5 (a); 1.0 (b) y 1.5 (c) mg/l de Ácido Naftalenacético .



(a)



(b)



(c)

Figura 16. Plántula de piña a los 60 días dosificado con 0.4 mg/l de Ácido Indolbutírico + 0.5 (a); 1.0 (b) y 1.5 (c) mg/l de Ácido Naftalenacético.

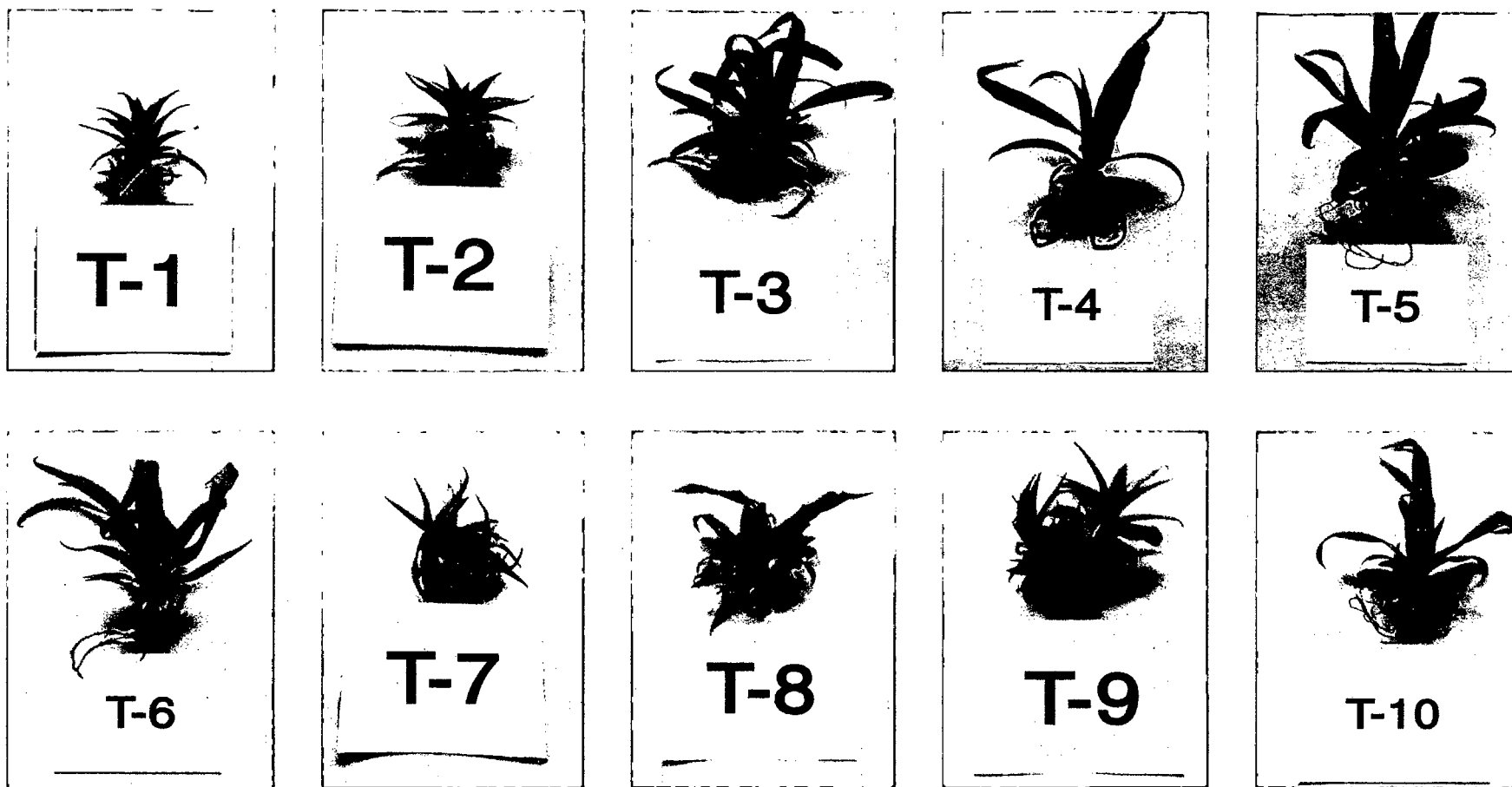


Figura 17. Efecto de las dosis del Ácido Naftalenacético y Ácido Indolbutírico en plántulas *in vitro* de piña. Fotografía tomada a los 60 días después de la siembra en el medio de enraizamiento.