

**EFFECTO DEL ACIDO NAFTALENACETICO (ANA) Y BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE LA  
REGENERACIÓN DE PLÁNTULAS DE TRES CLONES DE CAMOTE (*Ipomoea batata* L.),  
PARTIENDO DEL CULTIVO DE MERISTEMOS.**

**LUIS FERNANDO BALDETTI HERRERA**

**GUATEMALA OCTUBRE AÑO 2002**

## 1. INTRODUCCION

El camote (*Ipomoea batata* (L.) Lam.) pertenece a la familia de las Convolvuláceas, que contiene aproximadamente 50 géneros y 1200 especies. Varios miembros de esta familia tienen importancia económica ya sea como malezas o como plantas ornamentales; sólo la *Ipomoea batatas* se cultiva comercialmente como alimento, y la batata es la única especie del género que tiene raíces comestibles, que además de ser consumida por sus carbohidratos es una fuente importante de almidón para uso industrial, ya que sus raíces reservantes tienen un contenido de 30% de carbohidratos, proporciona un estimado de 113 cal/100g, mientras que la papa proporciona 75 cal/100g, además contiene 18 g de proteína, 6.6 g de grasa, 350 mg de calcio, 488 mg de fosfatos y 7 mg de hierro, por kg de porción comestible, superando en gran parte a la papa (18,3). Es un cultivo con gran versatilidad y adaptación que van desde los 0 a los 2000 msnm, resiste sequías y no requiere de técnicas de cultivo especiales. Sin embargo, en nuestro país su cultivo a decaído en los últimos años, debido a los escasos mercados, a enfermedades micóticas, virus, lo que ha ocasionado que muchos cultivares hayan ido desapareciendo con el tiempo (3).

Dado el gran potencial que el camote tiene como cultivo y su importancia alimenticia, su propagación a gran escala, utilizando, en este caso, el cultivo de meristemo, proporciona ciertas ventajas, como: control de la sanidad del material, propagación clonal rápida, alto índice de multiplicación en espacio y tiempo reducido, no depende de condiciones climáticas, conservación a largo plazo, uniformidad y ahorro de recursos.

Por lo que en la presente investigación se evaluó el cultivo de meristemas de 3 clones de camote, utilizando dos concentraciones de ácido Naftalenacético (ANA) y seis concentraciones de bencilaminopurina (BAP), con el fin de determinar los niveles adecuados de ambas hormonas para cada uno de los tres clones.

## **2. DEFINICION DEL PROBLEMA**

Aunque el Camote (*Ipomoea batata* L.) es un cultivo con un potencial bastante elevado debido a su alto rendimiento y su amplia resistencia a factores adversos (suelo, sequías, etc.), es escaso el trabajo que se ha llevado a cabo en nuestro país mediante técnicas de cultivo *in vitro* como el cultivo de meristemas, ya que además los diversos cultivares presentan para esta técnica en particular una fuerte interacción genotipo-hormona (20), interacción que se ha hecho evidente en pruebas preliminares realizadas por Kamada (13), investigador del ICTA, quien utilizando las dosis recomendadas por diversos organismos internacionales, encontró valores de regeneración demasiado bajos para los clones bajo estudio (morado, amarillo y anaranjado), por lo que para estos clones no se conocía con precisión su respuesta.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Tomando en cuenta el potencial del camote como cultivo y las ventajas que nos proporciona el cultivo de tejidos para propagar grandes cantidades de plantas en espacio y tiempo reducidos, manteniendo las características del material y garantizando en cierto modo la sanidad del mismo, el Instituto de Ciencia y Tecnología agrícola (ICTA) ha planteado un proyecto a largo plazo, cuyo objetivo es llevar genotipos micropropagados al campo de los agricultores.

Como primera fase de este proyecto, se planteó la investigación sobre la respuesta de los tres clones de camote al cultivo de meristemas, pero, en pruebas realizadas por Kamada (13), para los tres clones, utilizando la dosis recomendada por diversos organismos internacionales, se obtuvieron porcentajes de regeneración demasiado bajos (0, 25 y 40 %), lo que limitaba en cierta parte la ejecución del proyecto.

Por lo que cualquier estudio que pretenda incrementar la eficiencia de ésta técnica (optimizar la dosis de hormonas), es importante de evaluar y validar, para cumplir con la primera fase del proyecto planteado.

## 4. MARCO TEORICO

### 4.1 MARCO CONCEPTUAL

#### 4.1.1 Taxonomía de la planta de camote

Según Jones (12), la planta de camote es una planta dicotiledonea de la familia Convolvulaceae, o familia de las campanillas trepadoras, como se observa en el cuadro 1.

Cuadro 1. Taxonomía del Camote.

REINO	Plantae
DIVISION	Magnoliophyta
CLASE	Dicotiledoneas
SUBCLASE	Asteridae

ORDEN	Solanales
FAMILIA	Convolvulaceae
GENERO	Ipomoea
ESPECIE	<i>Ipomoea batata</i> (L). Lam

Fuente: Jones, 1988.

#### 4.1.2 Origen del Camote

Fersini (6) menciona que el nombre camote deriva del vocablo camotli de la antigua lengua Nahuatl.

El camote es conocido también con el nombre de batata, boniato y moniato en los países de habla castellana, además se designa en otros idiomas occidentales como; batata doce en portugués, patatodouce en francés, patata dolce en italiano, batate en alemán y sweet potato en inglés.

Según Roca y Mroginski (20) las pruebas disponibles indican que el centro de diversificación del camote se encuentra entre el sur de México y el norte de América del Sur . Sin embargo, todavía no se ha encontrado su ubicación exacta.

Menciona también que el camote fue domesticado en América Central y en las Islas tropicales del Pacífico antes de la era cristiana. En las Américas, tanto los Mayas como las civilizaciones peruanas de los Andes cultivaron el camote y diseminaron su cultivo al norte de México, a las Antillas occidentales, y a otras regiones de América del Sur. En el Pacífico, el cultivo del camote se extendió a Nueva Zelanda. Y en el siglo XVI los exploradores españoles llevaron esta raíz carnosa a España de donde se extendió a otros países de Europa, Africa y Asia (20).

#### 4.1.3 Importancia y utilización del Camote

Según Montaldo (18) considerando los grandes volúmenes de materia alimenticia que es capaz de producir una de las especies de raíces y tubérculos como lo es el camote y las necesidades para la alimentación humana y animal, hay que convenir que este tubérculo ofrece mayores posibilidades que los cereales y otros granos, que las leguminosas y otras hortalizas de suplir las necesidades de una creciente población del mundo hambriento en que vivimos; además, el desarrollo de los procesos industriales que permiten hoy día la fácil producción de harinas, almidones y otros productos abren un camino muy promisorio para el desarrollo del cultivo del camote y aumentar en el futuro su importancia en la producción de alimentos.

Según Folquer (7) la batata se encuentra en séptimo lugar a nivel mundial en términos de peso de cosecha, ya que puede llegar a producir hasta tres cosechas por año, por lo que supera por mucho a cultivos tropicales como el maíz , el arroz y la yuca, como se observa en el cuadro 2.

Cuadro 2. Rendimiento del camote comparado con otros cultivos tropicales.

<b>Cultivo</b>	<b>Rendimiento en Tons./ Ha. / año</b>
Camote	200
Maíz	50
Arroz	80
Yuca	140

Fuente: Folquer, 1978.

Las cifras indican por qué se considera al camote como básica para resolver el déficit de alimentos en los países orientales y demás regiones con grandes concentraciones humanas.

El camote tiene importancia como alternativa de diversificación de cultivos en los países en desarrollo y particularmente los ubicados en el área tropical y subtropical.

Muchas son las cualidades de la batata que cuentan para su prominencia y reciente resurgimiento del interés por este cultivo.

Resiste condiciones ambientales extremas como sequías, que muy pocos cultivos pueden tolerar. Cubre rápidamente el suelo reduciendo la necesidad de herbicidas, de labores culturales, protegiendo al suelo de la erosión. El uso de insecticidas es mínimo y crece muy bien con un pequeño suplemento de nitrógeno y bajo una amplia gama de pH del suelo sin la adición de cal (3).

Montaldo (18) menciona que sus propiedades alimenticias son extraordinarias ya que su contenido de calorías, carbohidratos y otros elementos superan por mucho a la papa como se observa en el cuadro 3.

Cuadro 3. Composición química del camote, comparado con la papa ( kg de porción comestible).

ELEMENTOS	RAIZ TUBEROSA DE CAMOTE	TUBERCULO DE PAPA
Calorías	12,547 U.	849 U
Proteínas	18 g	20 g
Grasas	6.6 g	1.1 g
Carbohidratos	279 g	191 g
Calcio	350 mg	79 mg
Fosfatos	488 mg	488 mg
Hierro	7 mg	7.5 mg
Tiamina	0.990 mg	0.9 mg
Riboflavina	0.704 mg	0.506 mg
Niacina	12.9 mg	11.9 mg

Acido Ascórbico	248.6 mg	99 mg
-----------------	----------	-------

Fuente: Montaldo, 1966.

Sin embargo Clark y Moyer (3) mencionan que la investigación que se ha registrado en camote ha sido mucho menor que en papa (*Solanum tuberosum*). Por ejemplo, en 1984 el *Annual Review of Plant Pathology* registró 409 citaciones de investigación en papa y sólo 16 en camote.

Es importante tomar en cuenta que el tubérculo de camote aparte de ser óptimo alimento para el humano, es también una importante materia prima para diversas industrias.

Pero no solamente se utiliza el tubérculo propiamente dicho, sino también en muchos países se consume el follaje (hojas y brotes tiernos), sobre esto, Montaldo (18) menciona que cuando el camote se introdujo en China, terminaron en ese país las grandes hambrunas, allí no sólo es común comer el tubérculo sino que también el follaje cocido.

Además, indica también que el follaje se utiliza en alimentación animal, tomándosele como un preciado forraje ( en verde o como ensilaje), merced a su riqueza en proteínas, que oscila entre 23 y 25% de materia seca. Se usa especialmente para las vacas lecheras pues estimulan notablemente la secreción láctea. Existen también antecedentes sobre el empleo del follaje de la batata en la alimentación animal, de porcinos, bovinos, aves, ovinos, etc.

#### **4.1.4 Producción mundial de Camote**

En lo que respecta a la producción mundial según el Production Yearbook de la FAO (5), el máximo productor de camote a nivel mundial es China , seguido de Indonesia, India, Corea, Brasil, Burundi, y Japón, como se observa en el cuadro 4.

**Cuadro 4. Máximos productores de Camote a nivel mundial.**

País	Producción en miles de Toneladas
China	113,100
Indonesia	2,180
India	1,800
Corea	1,670
Brasil	1,536
Burundi	1,200
Japón	1,024
Centro América	450

Fuente: FAO, 2001.

Es importante hacer notar que los países que más producción reportan para este cultivo son aquellos que poseen un gran número de habitantes, es decir, aquellos países que demandan cada día más alimentos y Centro América, uno de los centros de origen del camote se encuentra en los últimos lugares de producción.

#### **4.1.5 Conceptos generales del cultivo de tejidos**

Según Orozco (19) el cultivo de tejidos se fundamenta en varios principios, pero quizá los más importantes son :

A. Totipotencialidad celular: propuesta por Haberlandt en 1902, que indica que cada célula lleva la información genética para obtener una planta entera. Es decir que las células de varias partes de la planta pueden desarrollarse dando un nuevo individuo, dadas las condiciones apropiadas, es decir que estas células son totipotenciales; tienen todo el potencial de desarrollo que tiene el cigoto. Esto implica que cada célula viva de la planta lleva en su interior la totalidad de la información genética

necesaria para hacer esa planta. Lo que la célula pierde durante su desarrollo no es la información, sino la capacidad de usar esa información. Así que cada célula posee en forma innata toda la capacidad de crecimiento, o potencial morfogénico, del cigoto. Esto es una consecuencia natural del hecho de que todo el material genético se duplica y se reparte por igual entre las células hijas durante la mitosis (1).

B. Balance Hormonal: sugerida por Skoog en 1957 enuncia que la concentración de diferentes hormonas determina la diferenciación, y el desarrollo puede ser afectado o controlado por hormonas, que se sintetizan en un lugar del organismo y se transportan a otro, donde actúan regulando el crecimiento, desarrollo y metabolismo de modos específicos y a muy bajas concentraciones. Por lo que la variación en las concentraciones relativas de diferentes hormonas determina no sólo el crecimiento y desarrollo sino también la diferenciación de órganos y tejidos (1).

Además, el cultivo de tejidos consiste esencialmente en el aislamiento de un explante (parte separada de un vegetal), que se cultiva asépticamente en un medio de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas, la interacción de los distintos factores que intervienen en el cultivo de tejidos (explante, normas de asepsia, medios de cultivo y condiciones ambientales) determinará las respuestas que se obtengan *in vitro* (19).

#### **4.1.6 Explante**

La elección del explante apropiado constituye el primer paso para el establecimiento de los cultivo, lo cual está principalmente determinado por el objetivo perseguido y la especie vegetal utilizada. En relación a la especie vegetal utilizada es importante tener en cuenta la variabilidad asociada con el genotipo de las plantas (23).

#### **4.1.7 Condiciones asépticas**

La asociación explante-medio y las condiciones físicas en que normalmente se incuban los cultivos conforman un ambiente propio para la proliferación de microorganismos (bacterias, hongos), los cuales pueden destruir tales cultivos, competir con el explante por el medio de cultivo o modificarlo. Evitar las contaminaciones con microorganismos es un aspecto básico que se debe tener en cuenta para el éxito, no solamente en el establecimiento de los cultivos, sino en su posterior incubación y manipulación. Para establecer cultivos asépticos es conveniente:

- A. Trabajar en ambientes adecuados.
- B. Esterilizar los medios de cultivo.
- C. Desinfectar superficialmente los explantes, liberándolos de bacterias y hongos exógenos.
- D. Realizar los cultivos respetando las normas de asepsia básicas.

#### **4.1.8 Medio de cultivo**

Una vez definido el objetivo perseguido con el cultivo *in vitro* de un determinado explante, es necesario elegir un medio apropiado de cultivo, el cual debe poseer los componentes nutritivos básicos y su soporte, que incluyen, generalmente, agua, nutrimentos minerales, vitaminas, carbono, agentes gelificantes y sustancias reguladoras del crecimiento. Diferentes medios de cultivo han sido desarrollados de acuerdo a los objetivos y la especie, como por ejemplo el medio Murashige y Skoog o MS que es el más utilizado y el medio B5 desarrollado por Gamborg y colaboradores (19).

#### **4.1.9 Agua**

Los medios de cultivo de tejidos están constituidos en su mayor parte por agua, por lo tanto, es necesario utilizar agua de intercambio iónico o agua destilada, ya que el agua natural incluye algunas sustancias que pueden causar alguna influencia negativa para el crecimiento de las plantas *in vitro* (23).

#### **4.1.10 Componentes inorgánicos**

Los componentes inorgánicos son importantes para el crecimiento de las plantas. Si escasean estos elementos, aparecen los síntomas característicos correspondientes a la deficiencia de cada elemento.

##### **A. Nitrógeno**

El nitrógeno es componente de aminoácidos, proteínas, vitaminas y ácidos nucleicos. Mientras la planta está en crecimiento activo, necesita gran cantidad de nitrógeno. Este se encuentra en forma de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y  $\text{KNO}_3$ , y en cantidad adecuada según la especie de planta. Existen varias influencias del nitrógeno. En concentraciones altas promueve el enraizamiento. Mientras que, en concentraciones bajas, promueve el desarrollo de callo.

##### **B. Fósforo**

El fósforo es uno de los elementos necesarios para el metabolismo de las plantas. Principalmente es utilizado para sintetizar el ATP como fuente de energía. Dentro de los medios de cultivo las plantas lo absorben en forma de  $\text{PO}_4^{3-}$ .

##### **C. Potasio**

Existe relación entre el potasio iónico y la diferenciación de órganos.

#### **D. Calcio**

El calcio es componente de la pared celular.

#### **E. Magnesio**

El magnesio es un componente importante de la molécula de clorofila.

#### **F. Hierro**

Para los vegetales, el hierro es importante particularmente ya que es un componente de la clorofila. Normalmente se da en forma de quelato (Fe- EDTA) en los medios de cultivo, en otra forma se precipitaría.

#### **G. Microelementos**

Se adicionan manganeso, cobre, zinc, molibdeno y boro a los medios de cultivo como microelementos (23).

### **4.1.11 Componentes orgánicos**

#### **A. Vitaminas**

Según la especie de planta así se adicionan tiamina ( vitamina B1), pyridoxina (vitamina B<sub>6</sub>) y ácido nicotínico.

## **B. Mio-inositol**

Se sabe que el agua de coco incluye componentes que promueven la producción de células u órganos y la diferenciación de las mismas. Mio-inositol es uno de estos componentes.

## **C. Aminoácidos**

Acerca de la función de los aminoácidos, se sabe que estos promueven la producción y diferenciación de células y tejidos. Sin embargo, algunas veces pueden ocurrir inhibiciones en el crecimiento de las vitroplantas cuando se adiciona uno solo al medio de cultivo. En tal caso, se deben incluir combinaciones de varias clases para que activen conjuntamente.

## **D. Componentes Naturales**

Como componentes naturales, principalmente se utilizan agua de coco, caseína hidrolizada y extracto de malta. En varios casos, estos compuestos inducen diferenciación, y la diferenciación de células y tejidos eficazmente. Sin embargo, debido a que son componentes muy complejos, además no son productos estables ni homogéneos, es mejor evitar su uso, sobre todo en trabajos de investigación.

### **4.1.12 Reguladores de crecimiento**

En cuanto a los reguladores de crecimiento, generalmente estos son del tipo de las auxinas y las citocininas. Lo más importante es la proporción y cantidad de las mismas.

#### Funciones

1. Para formación de yemas adventicias

Promoción:  $\text{auxina} < \text{citocinina}$

Inhibición:  $\text{auxina} > \text{citocinina}$

2. Para formación de raíces adventicias

Promoción:  $\text{auxina} > \text{citocinina}$

Inhibición:  $\text{auxina} < \text{citocinina}$

3. Para diferenciación de Callo

Promoción:  $\text{auxina} > \text{citocinina}$

Inhibición:  $\text{auxina} < \text{citocinina}$

#### A. Auxinas

Según George (8) las auxinas son extensamente utilizadas en los trabajos de micropropagación y son incorporadas al medio nutritivo para promover la división celular, la diferenciación de raíces, el crecimiento de callo, suspensiones celulares de órganos y para regular la morfogénesis, especialmente junto con las citoquininas. Los compuestos a utilizar y la concentración requerida dependerá de:

- a. El tipo de crecimiento o desarrollo sugerido.
- b. Los niveles naturales de auxinas del explante.

- c. La capacidad de los tejidos cultivados de sintetizar auxinas naturalmente.
- d. La interacción, si existe, entre auxinas sintéticas aplicadas y las sustancias endógenas naturales.

Los compuestos son llamados auxinas si son capaces de controlar varios procesos como crecimiento celular y elongación celular. Las auxinas son capaces de iniciar la división celular y están envueltas en el origen de los meristemas u órganos definidos.

En cuanto a su modo de acción, se observa que las auxinas son promotoras del crecimiento en dos vías:

- a. Por la inducción de secreción de iones de hidrógeno entre y a través de la pared celular. Ligado a las auxinas está, la inducción de la destrucción de los lípidos y la acidificación de la pared celular, incrementando su extensibilidad. Los iones de potasio son llevados dentro de la célula para contrarrestar la exportación de iones  $H^+$  (protones) y esto produce la disminución del potencial de agua de la célula por lo que el agua entra y la célula se expande. Esta expansión es ahora comúnmente aceptada para explicar la rápida estimulación del crecimiento por parte de las auxinas.
- b. Por un efecto sobre el metabolismo del ARN ( por lo tanto, en la síntesis protéica), posiblemente por la inducción de la transcripción específica de moléculas de ARN mensajero (ARNm). Las moléculas de ARN mensajero son consideradas las encargadas de codificar las proteínas que son requeridas para el crecimiento.

La exportación de protones de la células, causa una acelerada acidificación del medio externo cuando los explantes son tratados con auxinas. El intercambio de iones ocurre posiblemente porque la auxina indirectamente estimula la enzima ATPasa localizada en la membrana celular, la cual es la responsable

de el transporte de  $H^+$   $OH^-$  dentro y fuera de las células, o porque el regulador de crecimiento estimula la permeabilidad de la membrana celular a protones y otros iones (8).

Las auxinas se sintetizan característicamente en el ápice del tallo, en el meristemo terminal o cerca de el, en tejidos jóvenes, y se mueven principalmente hacia abajo del tallo.

Las máximas concentraciones de auxinas se encuentran en los ápices en crecimiento, yemas y en los ápices de crecimiento de las hojas y las raíces, sin embargo, se encuentran también auxinas ampliamente distribuidas por toda la planta, sin duda algunas procedentes de las regiones meristemáticas. La concentración de auxinas desciende a medida que pasamos desde el ápice a la base del coleóptilo, de modo que el contenido máximo se localiza en el ápice y el mínimo en la base. Continuando desde la base del coleóptilo en dirección al ápice de la raíz, encontramos un leve aumento del contenido de auxinas, hasta llegar al punto máximo correspondiente al ápice de la raíz. Sin embargo, la concentración de auxinas que se encuentra en este punto no llega a ser comparable a la que se encuentra en el ápice del coleóptilo.

El transporte de la auxina es polar, basípeto (del ápice a la base), solamente un tercio del transporte de auxinas es acrópeto (de la base al ápice) (8).

Normalmente, se usan los compuestos siguientes como fuente de auxina

AIA (ácido indolacético)

ANA(ácido naftalenacético)

AIB ( ácido indolbutírico)

2,4- D( 2,4- ácido diclorofenoxiacético)

La estructura de la molécula de ácido naftalenacético que se usará en la presente investigación se presenta en la figura 1.

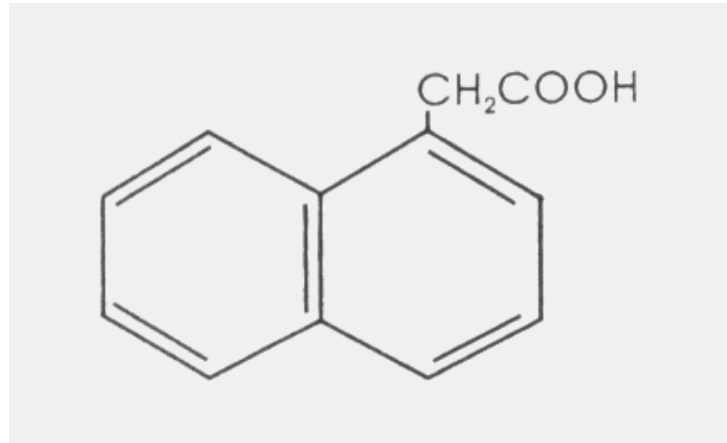


Figura 1. Estructura de la molécula de ácido naftalenacético.

Fuente: George, 1993.

## B. Citocininas

Según George (8) las citocininas se adicionan al medio de cultivo para promover la división celular y la diferenciación de yemas y brotes adventicios de callos y órganos, además influye notablemente en el control de la morfogénesis.

En cuanto a sus síntesis, las citoquininas aparecen como moléculas libres en las plantas y también pueden ser encontradas en el ARN de transferencia del citoplasma y de los cloroplastos. En la mayor parte de las plantas, las raíces parecen ser el sitio donde ocurre mayor biosíntesis, pero también existe

producción de citocininas en otros tejidos de división como lo es el cambium del tallo. El ápice radical parece ser un importante sitio de síntesis de citocininas.

Las citocininas se producen en las raíces de las plantas y normalmente se transportan en el xilema a otras regiones, por lo que la savia de las plantas es rica en citocininas y ha sido demostrado que promueve el crecimiento *in vitro*.

Con respecto al modo de acción de las citocininas, todavía es incierto, pero algunas han sido encontradas en el ARN de transferencia. En ciertas circunstancias las citocininas han demostrado activar la síntesis de ARN y estimular la síntesis protéica y la actividad de las enzimas. También ha sido encontrado que la acción de las citocininas depende en gran parte de la luz. Además parecen estar implicadas en el metabolismo del azúcar. Se han reportado tanto las disminuciones como los aumentos en la actividad específica de las rutas de pentosa y fosfato glicolíticos y oxidativos.

En el cultivo de tejidos, las citocininas son necesarias, en su ausencia, la metafase, pero no la profase de la mitosis es considerablemente atrasada y ha sido sugerido que las citocininas son requeridas también para regular la síntesis de proteínas envueltas en la formación y función del aparato mitótico.

Se usan los compuestos siguientes como fuente de citocininas:

Cinetina

BAP (6- bencilaminopurina)

2ip (N-isopentenilaminopurina)

Zeatina

Para conocer la molécula de bencilaminopurina, la fuente de citocinina que será utilizada en el presente trabajo se presenta la figura 2.

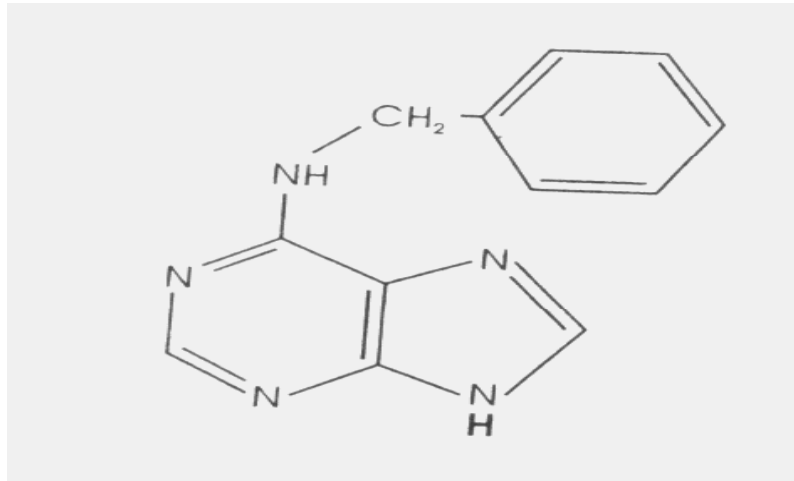


Figura 2. Estructura de la bencilaminopurina.

Fuente: George, 1996.

#### 4.1.13 Otros componentes

##### A. Fuente de carbono

Originalmente, las plantas pueden producir azúcar como fuente de energía a través de la fotosíntesis. Sin embargo, las vitroplantas casi no realizan fotosíntesis debido a la baja intensidad de luz en la que se desarrollan, y aunque lo hagan, producirán muy poca azúcar. A causa de esto, es necesario adicionar cierta cantidad de azúcar como fuente de energía. Por lo general, esta cantidad varía entre 1 y 3% de sacarosa o glucosa que se agrega al medio de cultivo.

##### B. Agentes gelificantes

El agar es el más utilizado y se agrega normalmente entre 0.6 a 1% al medio de cultivo.

##### C. pH (concentración del ion hidrógeno)

La concentración del ion H (pH) produce un efecto en la absorción iónica, en los medios de cultivo. La acidez y la alcalinidad extremas inhiben el crecimiento de las vitroplantas. Por lo general se estabiliza el pH apropiado entre 5.4 a 6.0.

#### **4.1.14 Condiciones de incubación**

Las condiciones ambientales son de suma importancia en el cultivo de tejidos. Para propósitos generales, se usa en el establecimiento de los cultivos una fuente luminosa compuesta de lámparas fluorescentes (del tipo luz del día) y lámparas incandescentes que brinden entre 1000 y 4000 lux de iluminación. Comúnmente se utiliza un ciclo de fotoperíodo/escotoperíodo de 16/8 horas. En lo que respecta a la temperatura, en general, 25 y 28°C se consideran adecuadas para el establecimiento de los cultivos (22).

#### **4.1.15 Aplicaciones del cultivo de tejidos**

Las aplicaciones del cultivo de tejido en agricultura son numerosas y diferentes, pero podrían resumirse en los siguientes aspectos:

- A. Propagación de plantas (micropropagación).
- B. Obtención de plantas libres de patógenos.
- C. Mejoramiento genético de los cultivos.
- D. Conservación e intercambio de germoplasma (18).

Además, el CIP (15), menciona que el cultivo de tejidos nos permite la propagación clonal rápida de un gran número de plántulas en un periodo breve y la conservación de germoplasma bajo condiciones controladas, en espacios pequeños y con poca mano de obra. Y que el mantenimiento *in vitro* nos proporciona las siguientes ventajas:

- A. Menores costos de mano de obra
- B. Ausencia de infecciones de campo.
- C. Protección contra condiciones ambientales desfavorables.
- D. Acceso oportuno al material en conservación.
- E. Acceso oportuno al material para eliminación de patógenos, y
- F. Disponibilidad permanente de material para propagación y exportación (cuando está libre de patógenos).

#### **4.1.16 Aislamiento y cultivo de meristemos**

Usui, Okabe, Vítores y Ramírez (23) mencionan que de todos los tipos de cultivo de tejidos, el cultivo de meristemos es la técnica que más aplicaciones tiene, ya que puede ser utilizado para distintos fines como: producción, mejoramiento, desinfección, uniformización y banco de germoplasma.

Mencionan también que generalmente la parte del meristemo es activa y los cromosomas celulares no se han especializado para cada órgano, por eso el cultivo de meristemos es adecuado como material para producción. En las células diferenciadas en órganos, ya varios cromosomas se han desactivado por la proteína histona. Bidwell (1) indica que los meristemos apicales contienen dos zonas principales: la **túnica**, con una o varias capas de células organizadas en hileras normales en la superficie del meristemo, y el **cuerpo**, una masa de células, dispuesta con menos orden, por abajo de la túnica. Las células de la túnica se dividen usualmente en planos perpendiculares a la superficie del meristemo,

mientras que las células del cuerpo los hacen en muchos planos diferentes. La túnica por lo general da origen al tejido epidérmico; y el cuerpo a la masa de tejido interno de tallos y hojas.

Al respecto, Lizarraga, Panta, Espinoza y Dodds (15) mencionan que el meristemo es un tejido compuesto por células en división y constituye el punto activo de crecimiento de las yemas. El domo de la yema contiene las células meristemáticas y está rodeada por primordios foliares y hojas primaria, como se observa en la figura 3.

Las células del meristemo se dividen y forman los nuevos tejidos. La nutrición de la sección disectada es proporcionada por el medio artificial.

El aislamiento de la zona meristemática en condiciones asépticas y su cultivo en un medio nutritivo adecuado permite el desarrollo de plántulas, siguiendo un patrón de diferenciación similar al que presenta una planta normal. De seis a ocho semanas después de la incubación se obtienen plántulas y pueden ser transplantadas a macetas con musgo y después a macetas con suelo estéril en un invernadero para su evaluación de presencia o ausencia de patógenos y/o virus.

Al respecto Orozco (19) indica que el cultivo de meristemos es actualmente utilizado para la eliminación de enfermedades en plantas.

Asimismo Lizarraga, Panta, Espinoza y Dodds (15) mencionan que existen dos razones por las cuales es necesario estudiar el cultivo de meristemos como base para la eliminación de patógenos:

A. Si el material va a ser distribuido internacionalmente,

B. Y porque ha sido demostrado que en muchos cultivos los patógenos, incluyendo los virus reducen significativamente el rendimiento y la calidad de la cosecha y el cultivo de meristemas permite la posterior eliminación de los patógenos y virus.

Al respecto Clark y Moyer (3) indican que es necesario confirmar la ausencia de los patógenos y virus conocidos por medio de un ensayo diseñado específicamente para las enfermedades de interés previamente identificadas.

## **4.2 MARCO REFERENCIAL**

### **4.2.1 Antecedentes del cultivo de meristemas en Camote (*Ipomoea batata* L. Lam)**

Love y Rhodes (17) investigadores del CIAT reportaron varios adelantos que fueron realizados en el medio usado para el cultivo de meristemos del camote. El medio básico reportado fue el de Murashige y Skoog (1962), la concentración de sacarosa de 30 g/l resultando en un marcado incremento en la sobrevivencia de los meristemos y en el porcentaje de regeneración, además de reducir el periodo medio de regeneración.

Indican también que las concentraciones óptimas de reguladores de crecimiento, bajo un amplio conjunto de genotipos fue determinada a ser 0.3 mg/l de BAP y 0.03 mg/l de ANA. Además, la transferencia a un medio libre de hormonas siguiente a la formación de brotes aceleró la regeneración. La respuesta de la concentración de BAP fue en su mayoría dependiente del genotipo, mientras que ANA dio mejores resultados que AIA. Pequeñas diferencias fueron detectadas entre BAP y 2-iP. Por último indican que el pH óptimo para la regeneración fue cercano a 5.2 y los cambios en las concentraciones de sales no tuvieron efectos.

En un estudio realizado en ICTA, Kamada (13) realizó pruebas preliminares, sobre el cultivo de meristemos de 3 clones (morado, amarillo y anaranjado) obteniendo que para los tres clones la concentración 0.1 mg/l de ANA combinado con 1.0 mg/l de BA es la que mejor porcentaje de regeneración presenta luego de tres meses de cultivo: Morado 100%, Amarillo 40% y Anaranjado 40 %.

Moyer y Collins citados por George, Puttock y George (10) indican que obtuvieron desarrollo de brotes al cultivar meristemos apicales en un medio MS (1962) complementado con 30 g/litro de sacarosa y diferentes concentraciones de BAP (no especificada la concentración).

Por otro lado Nielsen, citado por Roca y Mroginski (20) reportó el cultivo de meristemas de camote en un medio carente de reguladores del crecimiento. El desarrollo avanzó lentamente y sólo se recuperaron las plántulas 3 a 10 meses después.

Más tarde, Elliot, citado por Roca y Mroginski (20) indicó que cultivó meristemas y ápices de brotes de cuatro clones de camote en diversos medios de cultivo, pero el medio Murashige y Skoog (1962), uno de los ensayados, estimuló más el explante como se observó en la supervivencia y ulterior crecimiento de los tejidos de éste. Sin embargo, se observó que el ácido nicotínico, la piridoxina-HCl y la glicina no eran esenciales para la supervivencia del explante o para el desarrollo de la plántula. También experimentó con meristemas cultivados en un medio semisólido obteniendo una cantidad levemente mayor de callo a diferencia de aquellos cultivados en puentes de papel filtro. Además, las raíces adventicias se formaron con mayor frecuencia en los meristemas cultivados en un medio semisólido. Tanto el ácido giberélico como el agua de coco reprimieron el crecimiento de los brotes y raíces. La formación de raíces y el desarrollo de la planta fueron más rápidos en el medio que contenía ácido naftalenacético (ANA) como único regulador del crecimiento.

Por otro lado, Over de Linden y Elliot citados por Roca y Mroginski (20) cultivaron meristemas apicales de varios cultivares de *Ipomoea*, los explantes se cultivaron en el medio MS complementado con 1 mg/l de ANA, cuando se partió de meristemas, o con 1 mg/l de ácido indol-3- butírico (AIB) cuando se partió de las puntas de los brotes.

En otro estudio realizado por Alconero, citado por Roca y Mroginski (20) cultivó meristemas de 0.4 a 0.8 mm de largo aislados de yemas axilares, en el medio basal MS modificado. Se informó que el ácido 3-indolacético (AIA) fue más efectivo que el ANA como fuente de auxina, sólo o en combinación con N-6-furfurilaminopurina (cinetina).

Reportó que las plántulas fueron producidas bajo una amplia gama de combinaciones de AIA/cinetina y la existencia de una interacción significativa del tipo genotipo/hormona se hizo evidente. Algunos de los brotes regenerados se hicieron atípicos; sin embargo, la producción de brotes atípicos se redujo a un mínimo cuando los meristemas se cultivaron en un medio MS complementado con 2 mg/litro de cinetina y 1 mg/litro de AIA.

También Liz y Conover, citados por Roca y Mroginski (20) investigaron la capacidad de varios medios de cultivo para sostener el crecimiento de ápices meristemáticos de camote, con miras a utilizar la técnica para lograr una rápida propagación clonal. Los dos cultivares investigados fueron White Star y P315343. Las puntas de brote de las yemas axilares y apicales (3.0 mm de longitud) se cultivaron en medio MS basal que se complementó con 10 g/litro de carbón activado y 0.5-2.0 mg/litro de AIB ó 0.5-0.2 de cinetina combinados con 0.05-2.0 mg/litro de AIA. Una semana después se observó la formación de callo en la superficie cortada de los explantes, el cual desde entonces, se removió periódicamente. Los explantes de White Star se regeneraron en un medio basal que contenía 1 mg/litro de AIB. La regeneración de los brotes, a partir de las puntas de explante, tomó unas cinco semanas; los cultivos que se iniciaron a partir de yemas axilares en cambio, requirieron varias semanas más. Frecuentemente, las raíces adventicias se formaban a partir del callo, en la superficie cortada del explante y en la base de las plántulas en desarrollo. Las pequeñas plántulas se establecieron en unas ocho semanas cuando se usaron puntas de brote como explantes, y en dos a tres semanas más cuando se utilizaron explantes de yemas laterales.

Además Chandler y Haque, citados por George (11) indicaron resultados positivos en el cultivo de meristemas al adicionar al medio 0.2 mg/litro de AIA, más 0.5 mg/litro de BAP. Igualmente, Rey y Mroginski, citados por George (11) utilizaron 0.1 mg/litro de ANA, 0.1 mg/litro de cinetina y 1 mg/litro de AG<sub>3</sub>. Ambos estudios obtuvieron resultados positivos al obtener múltiples brotes.

Asimismo, Liao y Chung, citados por Roca y Mroginski (20) disectaron meristemas de 0.3 a 0.6 mm de largo de plantas de camote, los meristemas se cultivaron en un medio MS complementado con 4-6 mg/litro de BAP y se incubaron durante 30-50 días en las siguientes condiciones: 25 °C, intensidad de luz débil y fotoperiodo de 16 horas. Los brotes desarrollados se trasladaron a un medio MS modificado con 2 mg/litro de cinetina, lo que estimuló un desarrollo adicional; las plántulas completas se recuperaron en un lapso de 65 a 120 días.

Por otro lado Kartha citado por George, Puttock y George (10) obtuvo múltiples brotes al cultivar meristemas en un medio elaborado por él mismo (sin referencia) y con concentraciones de 0.2-1 mg/litro de ANA o AIA más 0.2-1 mg/litro de BAP o zeatina.

En otro ensayo el investigador Kuo, citado por Roca y Mroginski (20) reportó el siguiente procedimiento para el cultivo de meristemas en camote: se cortaron meristemas de 0.2-0.4 mm de longitud de ápices obtenidos de raíces que habían sido almacenadas y que retoñaron a 30-35° C. Los meristemas se cultivaron en un medio basal MS modificado que se complementó con 1 mg/litro de AIA y 1 mg/litro de cinetina, y se incubaron a 23 W. m<sup>-2</sup> en un fotoperiodo de 15 horas a 22-32 °C. Aunque se observó alguna variación entre los genotipos, las plántulas se recuperaban generalmente de 40 a 60 días después de iniciado el cultivo.

#### **4.2.2 Propagación por nudos individuales**

Roca y Mroginski (20) investigadores del CIAT, mencionan que después de la regeneración de la plántula, los cultivos pueden o bien mantenerse, o propagarse mediante la excisión y cultivo individual

de los nudos que contengan una yema axilar, en medio basal MS, en presencia o ausencia de reguladores del crecimiento.

Lizarraga, Panta, Espinoza y Dodds (15 ) investigadores del CIP, recomiendan usar el cultivo de nudos individuales luego del cultivo de meristemos , ya que esto permite obtener un gran número de plantas clonales en un periodo corto (2-6 semanas). El medio utilizado es el MS libre de hormonas siendo las condiciones de incubación las mismas que para el cultivo de meristemos.

## **5. OBJETIVOS**

### **General**

1. Establecer un procedimiento para la propagación de 3 clones de camote (*Ipomoea batata* L.) a partir del cultivo de meristemos.

### **Específico**

1. Determinar el efecto de seis niveles de bencil aminopurina (BAP) en combinación con dos niveles de ácido naftalenacético (ANA) sobre la regeneración de plántulas de 3 clones de camote (morado, amarillo y anaranjado), partiendo del cultivo de meristemos.

## **6 . HIPOTESIS**

1. Al menos una combinación de BAP y ANA induce regeneración de plántulas de camote partiendo del cultivo de meristemos.

## **7. METODOLOGIA**

### **7.1 Area experimental**

El estudio se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), ubicado en Bárcenas , Villa Nueva, departamento de Guatemala.

## **7.2 Material experimental**

La investigación se realizó utilizando los siguientes clones de camote:

### **7.2.1 Clon morado**

- A. Tubérculo: este clon presenta tubérculos de color morado oscuro, con pulpa de color anaranjado.
- B. Tallos: el tallo presenta encorvamiento y la planta es extendida, su velocidad de crecimiento es rápida y el tallo presenta una pigmentación morada.
- C. Hoja: la hoja madura es de color verde mientras que inmadura presenta una coloración verde-morado. El color de la vena del envés de la hoja es verde. VER ANEXO.

### **7.2.2 Clon amarillo**

- A. Tubérculo: este clon presenta epidermis de color amarillo, su pulpa es de color amarillo claro.
- B. Tallos: en lo que respecta a los tallos este clon no presenta encorvamiento, la planta es compacta y su crecimiento es considerado lento, la pigmentación del tallo es medio morado y presenta vellosidades.
- C. Hoja: la hoja madura es de color verde, mientras que inmadura es de color verde-amarillo. El color de la vena del envés es mitad morado y mitad verde. VER ANEXO

### **7.2.3 Clon anaranjado**

- A. Tubérculo: este presenta epidermis de color anaranjado, la pulpa es de color anaranjado también.
- B. Tallos: el tallo no presenta encorvamiento considerable, la planta es compacta y la velocidad de crecimiento es lento, el tallo posee pigmentación verde y no presenta vellosidades.
- C. Hoja: el color de la hoja madura e inmadura, al igual que el color de la vena del envés de la hoja es verde. VER ANEXO

### **7.3 Manejo del experimento**

En esta investigación se evaluaron dos niveles de ácido naftalenacético y seis niveles de bencilaminopurina sobre el cultivo de meristemas de tres clones de camote, las técnicas que se siguieron se detallan a continuación:

#### **7.3.1 Elección del material *in vivo***

La planta madre *in vivo* tuvo entre uno a dos meses de edad, óptimas condiciones de sanidad, ya que fue esencial contar con material limpio para la siembra (15).

#### **7.3.2 Desinfección del material**

La disección aséptica del meristemo es un proceso delicado que exige práctica. La disección se muestra fotográficamente en la figura 4 y fue llevada a cabo de la siguiente manera:

- A. Se cortaron los tallos de la planta en segmentos y conteniendo cada uno un nudo con su yema axilar (15).
- B. Se colocaron las puntas de brotes cortadas sobre papel filtro humedecido o sobre toallas de papel, para evitar su deshidratación.

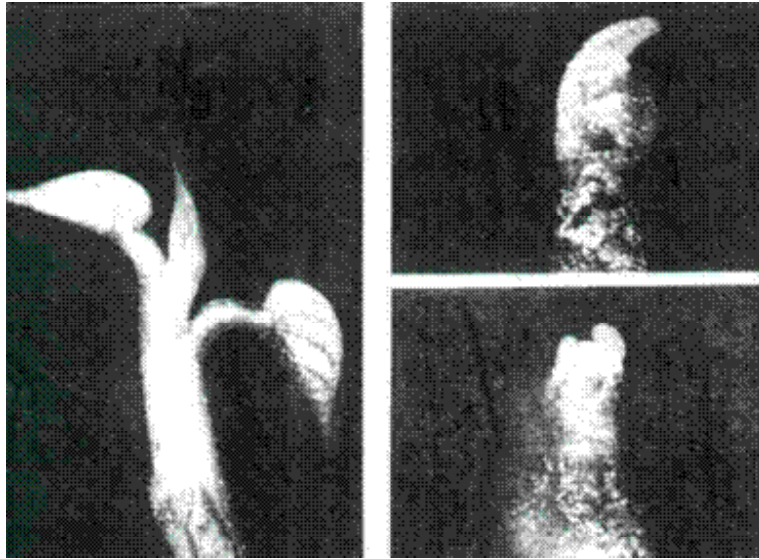
- C. Se quitaron las hojas de las puntas a excepción de las más pequeñas (las menores de un cm).
- D. Se esterilizaron superficialmente las puntas de los brotes mediante inmersión en una solución que contenía 10% (v/v) de blanqueador comercial (aproximadamente 5.25% de hipoclorito de sodio) y 2 gotas/100ml de Tween-20, durante 10 ó 15 minutos. Luego en un ambiente aséptico, se enjuagaron las puntas de los brotes tres veces en agua destilada estéril.
- E. Se trasladaron las puntas de los brotes a una caja Petri forrada con papel filtro humedecido (15).

### **7.3.3 Disección del meristemo (Fase I: Iniciación)**

- A. En una campana de flujo laminar y con ayuda de un estereoscopio de disección, se recortaron las hojas jóvenes restantes doblándolas hacia atrás y alejándolas del tallo. Durante este paso del procedimiento de aislamiento del explante, el ápice del brote se tomó con un par de pinzas de punta fina, mientras que las hojas se cortaron con un bisturí (20).
- B. Se removió cuidadosamente el primordio foliar así: se bordeó la cúpula meristemática mientras se raspó con el lado cortante del bisturí, hasta que sólo quedó la cúpula meristemática (0.1 mm de longitud), con un segundo bisturí, reservado para la remoción del meristemo, se cortó hasta la mitad transversalmente por debajo de la cúpula apical. Se dio vuelta al tallo y se hizo un corte similar en el lado opuesto. La secuencia de la disección se muestra fotográficamente en la figura 4.
- C. Por último, utilizando un bisturí, se levantó el meristemo separándolo de los tejidos subyacentes y se colocó inmediatamente en el medio de cultivo (20).

A.

B.



C.

Figura 4. Secuencia fotográfica de la disección meristemática

A: Meristemo con dos primordios foliares

B: Estado de la disección donde las hojas primarias han sido extraídas.

C: Yema apical aislada y desinfectada

Fuente: Lizarraga, 1990.

#### **7.3.4 Cultivo de nudos individuales (Fase II: propagación)**

Esta se realizó después de la fase de iniciación utilizando los nudos de las plántulas regeneradas mediante el cultivo de meristemas. Se llevó a cabo de la siguiente manera:

- A. Las plántulas regeneradas en la fase I se transfirieron de los tubos de cultivo a un plato de petri previamente desinfectado.
- B. En el plato de petri se cortaron esquejes con un solo nudo utilizando un bisturí y pinzas estériles.
- C. Cada nudo se colocó en un tubo de cultivo asegurándose de que cada nudo quedara sobre la superficie del agar con la yema axilar hacia arriba (15).

### 7.3.5 Medio de cultivo

Tanto en la fase de iniciación como en la de propagación se utilizó la fórmula de sales minerales de Murashige y Skoog (1962). En la fase de iniciación MS con diferentes combinaciones hormonales y en la fase de propagación libre de hormonas. El contenido del medio MS (1962) se detalla en el cuadro 5.

Cuadro 5 . Medio Murashige y Skoog, MS (1962).

COMPONENTES	REACTIVOS	mg/l
MACRO-ELEMENTOS	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
	KNO <sub>3</sub>	1900
	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
MICRO-ELEMENTOS	H <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	6.2
	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	16.9
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8.6
	KI	0.83
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.25
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.025
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.025
Fe-EDTA	Na <sub>2</sub> -EDTA.2H <sub>2</sub> O	37.25
	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27.85
VITAMINAS	Acido Nicotínico	0.5
	Piridoxina-HCl	0.5
	Tiamina-HCl	0.1
OTROS COMPONENTES	myo-inositol	100
	glicina	2
	Agar	7 g
	Sacarosa	30 g

Fuente: Laboratorio de Cultivo de Tejidos (ICTA)

### 7.3.6 Condiciones de incubación

Los cultivos se incubaron a 25 +- 2 °C, con iluminación fluorescente de 1000 lux y con fotoperiodo de 16 horas de luz (20).

#### 7.4 Tratamientos

Se evaluaron seis combinaciones de reguladores de crecimiento (marcados con una X en el cuadro 6), que fueron combinaciones de BAP y ANA, para cada uno de los tres clones, más un testigo, por lo que fueron un total de siete tratamientos por clon, los tratamientos con su respectivo código se observan detalladamente en el cuadro 7.

Cuadro 6. Tratamientos evaluados

			BAP (mg/l)					
			0.25	0.5	0.75	0.5	1.0	1.5
			B1	B2	B3	B4	B5	B6
ANA	0.05	A1	X	X	X			
(mg/l)	0.1	A2				X	X	X

Cuadro 7. Tratamientos codificados por clon

TRATAMIENTO		NUMERO DE TRATAMIENTO	CLONES		
			MORADO	AMARILLO	ANARANJADO
0.05	0.25	1	M1	A1	N1
0.05	0.5	2	M2	A2	N2
0.05	0.75	3	M3	A3	N3
0.1	0.5	4	M4	A4	N4
0.1	1.0	5	M5	A5	N5
0.1	1.5	6	M6	A6	N6
0.03	0.3	T	MT	AT	NT

#### 7.5 Unidad experimental

La unidad experimental la constituyó un tubo de cultivo de 25 X 150 mm y se sembraron 10 tubos por tratamiento ( repeticiones), lo que hace un total de 210 unidades experimentales. Cada tubo de cultivo contó con 10 ml de medio y se puso un meristemo por tubo.

## **7.6 Variables de respuesta**

### **7.6.1 Altura de brotes y número de nudos**

Se midió la longitud de los brotes y el número de nudos para determinar que tratamiento produce un mejor desarrollo de los brotes para cada clon.

### **7.6.2 Porcentaje de regeneración (%)**

Se calculó el porcentaje de regeneración, por tratamiento y por clon.

### **7.6.3 Tasa de propagación**

Se calculó para llegar a conocer el tiempo de regeneración de los explantes, es decir, cuantas plantas se regeneran por unidad de tiempo.

## **7.7 Análisis estadístico**

Se analizaron gráficamente las variables % de regeneración , altura de brotes y número de nudos y tasa de propagación.

Para las variables altura de brotes y número de nudos, por la naturaleza de los datos que se obtuvieron no se pudo aplicar el diseño en bloques completos al azar que se tenía planificado, debido a que existieron varias unidades perdidas por contaminación a lo largo de todo el proceso de investigación, por

lo que se realizó una prueba de bondad de ajuste, que es una prueba de estadística no paramétrica que se usa cuando no se puede aplicar el diseño en Bloques completos al azar. Siendo la prueba que se utilizó la de Friedman para la clasificación de dos vías como se tenía planificado.

## 8. RESULTADOS Y DISCUSION

Debido a que en la presente investigación se evaluó a cada uno de los clones por separado, su análisis y discusión se presentan individualmente:

### 8.1 Clon morado

#### 8.1.1 Porcentaje de regeneración

Siendo esta variable la parte medular de la investigación que sirvió para observar que tratamiento producía mayor número de brotes (plántulas), se pudo determinar que para este clon las diferentes combinaciones de ANA y BAP regeneran un número diferente de brotes con respecto al total de meristemas sembrados (repeticiones) como se observa en el cuadro 8. Además se debe tomar en cuenta que existieron pérdidas en cuanto a las 10 repeticiones iniciales, esto debido a la contaminación que se presentó (contaminación media 27.1 %) a lo largo de la investigación pero que no influye en gran medida en el análisis.

Cuadro.8 Tratamientos, repeticiones y número de brotes (clon morado)

TRATAMIENTO	REGULADORES DE CRECIMIENTO		REPETICIONES	BROTOS	REGENERACION (%)
	ANA(mg/l)	BAP(mg/l)			
1	0.05	0.25	9	4	44.4
2	0.05	0.5	6	4	66.7
3	0.05	0.75	10	3	30
4	0.1	0.5	8	5	62.5
5	0.1	1.0	6	6	100
6	0.1	1.5	5	2	40
7	0.03	0.3	7	4	57.1
			51	28	54.9

Además el cuadro 8 nos permite observar que el tratamiento 5 posee un total de 6 repeticiones, de las cuales las 6 generaron brotes , factor de interés , si observamos que ningún otro tratamiento generó brotes en la totalidad de sus repeticiones y por lo tanto un 100 % de regeneración. Esto se puede observar gráficamente a nivel de porcentaje en la figura 5, que muestra que, de los 7 tratamientos evaluados, el tratamiento 5 correspondiente a 0.1 mg/l de ANA y 1 mg/l de BAP es el tratamiento que alcanzó el punto máximo de 100% de regeneración, esto significa que de las muestras observadas, la totalidad de ellas produjo callos de los cuales se obtuvieron los brotes y posteriormente las plántulas, lo que no ocurrió con los 5 tratamientos restantes y el testigo los cuales alcanzaron valores máximos de 66.6% para el tratamiento 2 (0.05 mg/l de ANA + 0.5 mg/l de BAP), 62.5% para el tratamiento 4 (0.1 mg/l de ANA + 0.5 mg/l de BAP) y el testigo con 57.14%, esto debido a que solo se formó callo en muchas de las muestras y no se observó ningún brote salir del callo a los tres meses después de la siembra del meristemo.

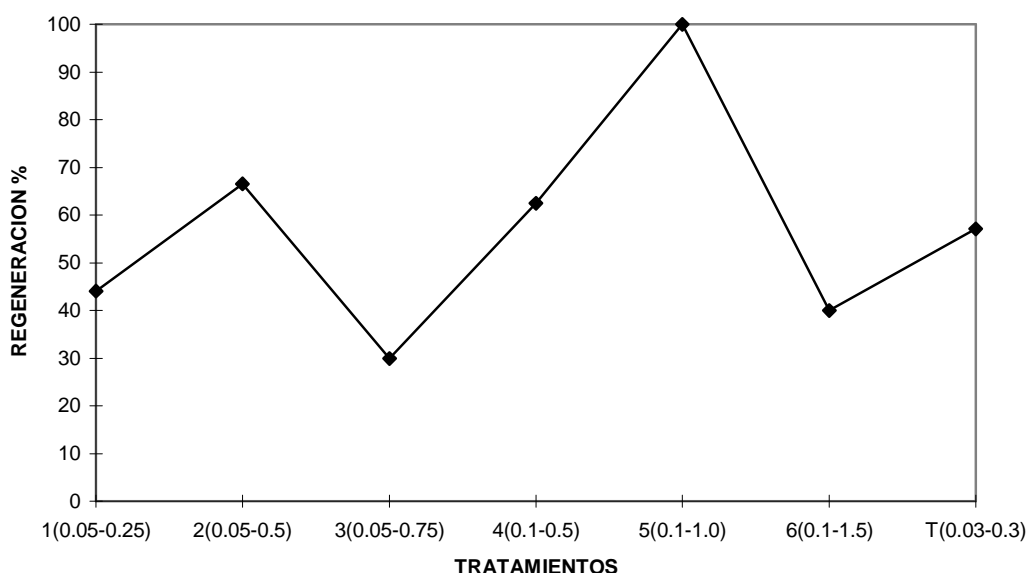


Figura 5. Porcentaje de regeneración (clon morado)

Es de importancia hacer notar que los valores máximos de regeneración se obtuvieron para este clon en las combinaciones de ANA y BAP que presentan una relación 1/10, es decir, el tratamiento 2 con 0.05 mg/l de ANA + 0.5mg/l de BAP que alcanzó el 66.6 % y el tratamiento 5 con 0.1 mg/l de ANA y 1.0 mg/l de BAP que fue el mejor tratamiento regenerando el 100% como se observa en la figura 5. Resulta de interés observar que el tratamiento T (testigo) también posee una relación de ANA y BAP de 1/10, que alcanzó el 57.14%, valor un poco bajo si lo comparamos con el 100% generado por el tratamiento 5 y el 62.5% del tratamiento 2, por lo que se puede inferir que para este clon las altas concentraciones de ANA y BAP promueven una mayor regeneración. Lo que concuerda con estudios preliminares realizados por Kamada (13) quien obtuvo el 100% de regeneración para este clon con la combinación de reguladores de crecimiento 0.1mg/ l de ANA y 1.0 mg/l de BAP.

### 8.1.2 Altura de brotes y número de nudos

En lo que respecta a la altura de los brotes y al número de nudos, debido a la naturaleza de la investigación, se contó con pocos resultados por lo que no se pudo realizar el análisis de varianza para el diseño en bloques al azar, en lugar del cual se utilizó una prueba de bondad de ajuste como se tenía planificado, la prueba que se utilizó fue la de Friedman para la clasificación de dos vías. Los resultados de la prueba para las variables altura y número de nudos se presentan en los cuadros 9 y 10.

Cuadro 9. Prueba de Friedman para la variable altura.

Hipotesis Alternativa	Grados de Libertad	Valor de Friedman	Pr > F
Row Mean Scores Differ	6	7.987	0.239

Cuadro 10. Prueba de Friedman para la variable número de Nudos

Hipotesis Alternativa	Grados de Libertad	Valor de Friedman	Pr > F
Row Mean Scores Differ	6	7.363	0.289

La prueba de Friedman tanto para altura de brotes como para número de nudos resultó en que los tratamientos no presentan diferencias significativas en ninguna de las dos variables ya que para la altura de brotes el nivel de significancia es de 23.9% mucho mayor al nivel establecido de 5%, y en la variable número de nudos el nivel de significancia es de 28.9 mucho mayor al nivel establecido (cuadros 9 y 10).

Lo que demuestra que ninguno de los tratamientos produce efectos estadísticamente distintos en cuanto a estas dos variables, ya que como se observa en el cuadro 11 y en la figura 6, los valores de las medias no difieren mucho entre si. Por lo cual se podría inferir que tanto para la altura de brotes como para el número de nudos, los tratamientos producen el mismo efecto y que sólo tienen un efecto en la estimulación del meristemo a brotar (regenerar).

Cuadro 11. Altura (cm) y número de nudos (clon morado)

TRATAMIENTO	REGULADORES DE CRECIMIENTO		REPETICIONES	ALTURA (cm)	NUMERO DE NUDOS
	ANA(mg/l)	BAP(mg/l)			
1	0.05	0.25	9	4.6	4.5
2	0.05	0.5	6	7.5	5.3
3	0.05	0.75	10	4.5	2.3
4	0.1	0.5	8	3.8	3.4
5	0.1	1.0	6	7.8	4.8
6	0.1	1.5	5	6.0	4.5
7	0.03	0.3	7	4.4	3.3

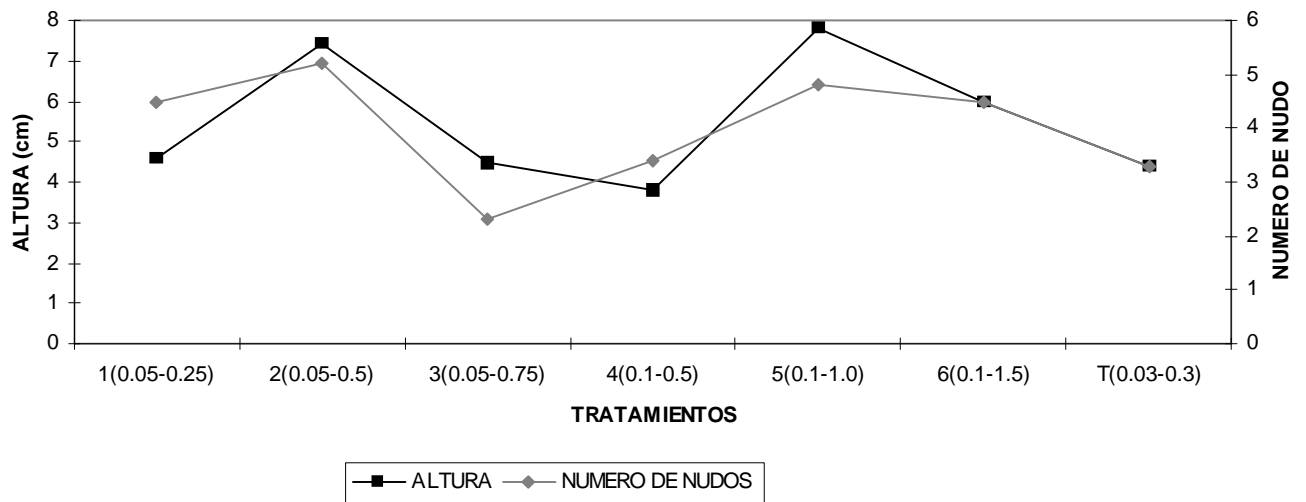


Figura 6. Altura (cm) y número de nudos (clon morado)

### 8.1.3 Tasa de propagación

Luego de la fase de iniciación a partir de meristemos, las plántulas regeneradas se propagaron a partir de nudos, tomando en cuenta el tratamiento del que provenían como se observa en el cuadro 12.

Cuadro.12 Número de plantas producidas luego de dos propagaciones (clon morado)

TRATAMIENTO	REG. CREC		INICIACION BROTOS (0-3er MES)	PRIMERA PROPAGACION (4to MES)	TASA	SEGUNDA PROPAGACION	TASA
	ANA	BAP					
1	0.05	0.25	4	18	4.5	89	4.9
2	0.05	0.5	4	21	5.2	110	5.2
3	0.05	0.75	3	7	2.3	20	2.9
4	0.1	0.5	5	17	3.4	105	6.2
5	0.1	1.0	6	29	4.8	186	6.4
6	0.1	1.5	2	9	4.5	17	1.9
7	0.03	0.3	4	13	3.2	68	5.2
			28	114	4.0	595	5.2

En el cuadro 12, podemos observar en la columna 4 los brotes regenerados a partir de meristemos, los cuales luego de tres meses de cultivo se propagaron por medio de nudos individuales obteniendo el

valor un poco más alto correspondiente a la columna 5 ( primera propagación), obteniendo un mes más tarde un valor mucho más alto correspondiente a la séptima columna (segunda propagación) donde el tratamiento 5, es el que mejor tasa de propagación posee con 6.4 plantas/mes produciendo un total de 186 plantas luego de 5 meses desde la iniciación, lo cual era de esperarse si tomamos en cuenta que este tratamiento fue el que presentó datos más altos de % de regeneración, es decir, el que mejor evolución presentó a lo largo de la investigación, como se puede observar gráficamente en la figura 7 , donde es posible observar la evolución de cada tratamiento en lo que se refiere al número de plantas generadas a partir de la iniciación (meristemos).

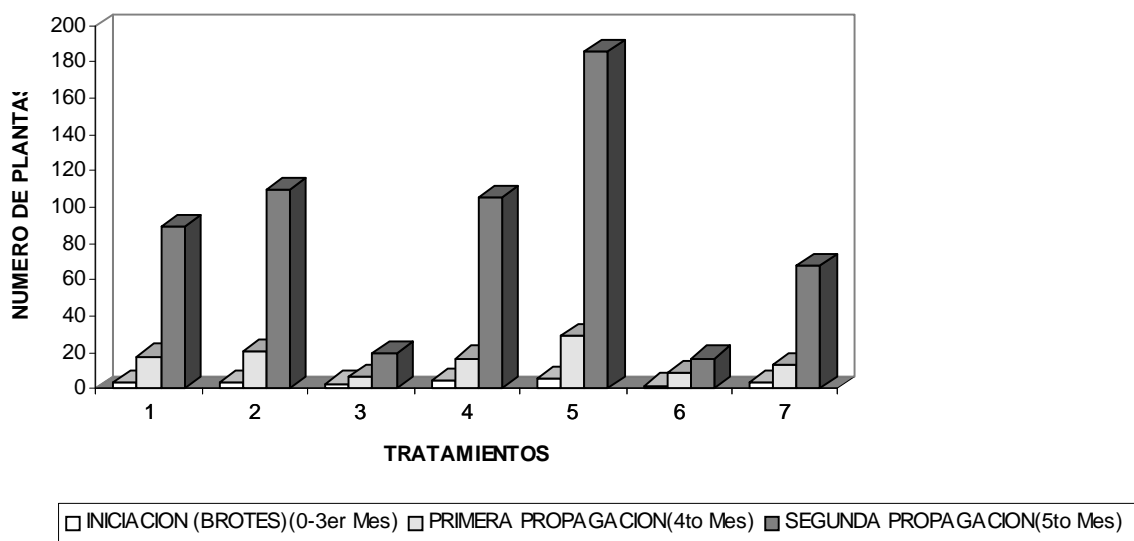


Figura 7. Evolución de cada tratamiento a partir de la iniciación (meristemos)

Se puede observar que el tratamiento 5 es el que mejor iniciación tuvo, siendo el que más plantas generó en la primera propagación, generando finalmente el nivel máximo de número de plantas en la

segunda propagación, seguido únicamente por el tratamiento dos que presenta valores altos de iniciación, primera y segunda propagación, pero que son inferiores al tratamiento 5.

## 8.2 Clon amarillo

### 8.2.1 Porcentaje de regeneración

En general, se pudo determinar que para el clon amarillo, los tratamientos producen la regeneración de los explantes en distintas proporciones, como se observa en el cuadro 13. Asimismo, puede observarse que el total de repeticiones aumentó en este clon comparado con el clon morado, esto indica que la contaminación (contaminación media de 10%) se redujo sustancialmente ya sea, por propiedades directamente asociadas al clon o por la incorporación de un jabón antibacterial al proceso de desinfección.

Cuadro.13 Tratamientos, muestras y número de brotes (clon amarillo)

TRATAMIENTO	REGULADORES DE CRECIMIENTO		REPETICIONES	BROTOS	REGENERACION (%)
	ANA(mg/l)	BAP(mg/l)			
1	0.05	0.25	9	5	55.6
2	0.05	0.5	8	3	37.5
3	0.05	0.75	9	4	44.4
4	0.1	0.5	10	1	10.0
5	0.1	1.0	8	3	37.5
6	0.1	1.5	9	3	33.3
7	0.03	0.3	10	1	10.0
			63	20	31.7

Asimismo, puede observarse que la cantidad de brotes para este clon bajó considerablemente, por ende el porcentaje de regeneración mostró niveles menores que para el clon morado. Lo que indica que existe una interacción genotipo-hormona como la encontrada en gran cantidad de genotipos por Alconero (20). Sin embargo, como se observa en la figura 8, los valores máximos de regeneración para este clon se alcanzaron con 0.05 mg/l de ANA y los 3 niveles correspondientes de BAP ( primeros tres

puntos de la gráfica), siendo el tratamiento 1 (0.05 mg/l ANA-0.25 mg/l BA) el que posee el máximo nivel de regeneración con 56%.

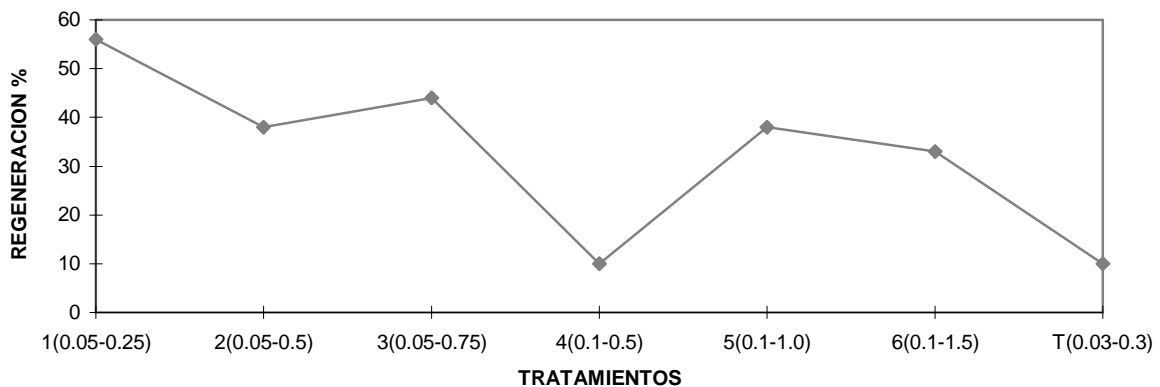


Figura 8. Porcentaje de regeneración (clon amarillo)

El nivel correspondiente a la relación exacta 1/10 es decir el tratamiento 2 (0.05 mg/l ANA + 0.5 mg/l BAP) regeneró un 38%, mientras que el tratamiento 3 produjo un 44%. Por lo tanto se hace evidente que el tratamiento 1 supera a los tratamientos restantes, incluyendo al testigo, que produjo 10% de regeneración, valor demasiado bajo si se toma en cuenta que este tratamiento es el recomendado por el CIAT (20) para regenerar meristemas bajo una amplia gama de genotipos, pero como ya se mencionó es evidente que existe una fuerte interacción genotipo/hormona en esta investigación.

En el gráfico también podemos observar que las dos relaciones 1/10 evaluadas, es decir el tratamiento 2 (0.05 mg/l ANA-0.5 mg/l BAP) y el tratamiento 5 (0.1 mg/l ANA-1.0 mg/l BAP) obtuvieron valores de regeneración exactamente iguales de 38% ,igualando el 40% de regeneración que obtuvo Kamada (13) para este mismo clon con la relación (0.1 mg/l ANA-1.0 mg/l BAP), por lo que con el 56% de regeneración del tratamiento 1 se mejoró la regeneración para este clon.

### 8.2.2 Altura de brotes y Número de Nudos

La prueba de Friedman para estas dos variables mostró que para la variable altura de brotes no existen diferencias significativas entre los distintos tratamientos ya que el valor de 15.6 % de Friedman es mucho mayor al nivel de significancia establecido del 5%, como se observa en el cuadro 14.

Cuadro 14. Prueba de Friedman para la variable altura.

Hipotesis Alternativa	Grados de Libertad	Valor de Friedman	Pr > F
Row Mean Scores Differ	6	9.336	0.156

Para la variable número de nudos no se pudo efectuar la prueba de Friedman debido a que el número de nudos para este clon en los distintos tratamientos era en su mayoría 1 , como se puede observar en el cuadro 15 y gráficamente en la figura 9.

Cuadro 15. Altura media (cm) Y número de nudos (Clon amarillo)

TRATAMIENTO	REGULADORES DE CRECIMIENTO		REPETICIONES	ALTURA (cm)	NUMERO DE NUDOS
	ANA(mg/l)	BAP(mg/l)			
1	0.05	0.25	9	3.3	3.4
2	0.05	0.5	8	1.0	1.0
3	0.05	0.75	9	0.9	1.0
4	0.1	0.5	10	1.3	1.0
5	0.1	1.0	8	0.8	1.0
6	0.1	1.5	9	2.3	1.7
7	0.03	0.3	10	0.5	1.0

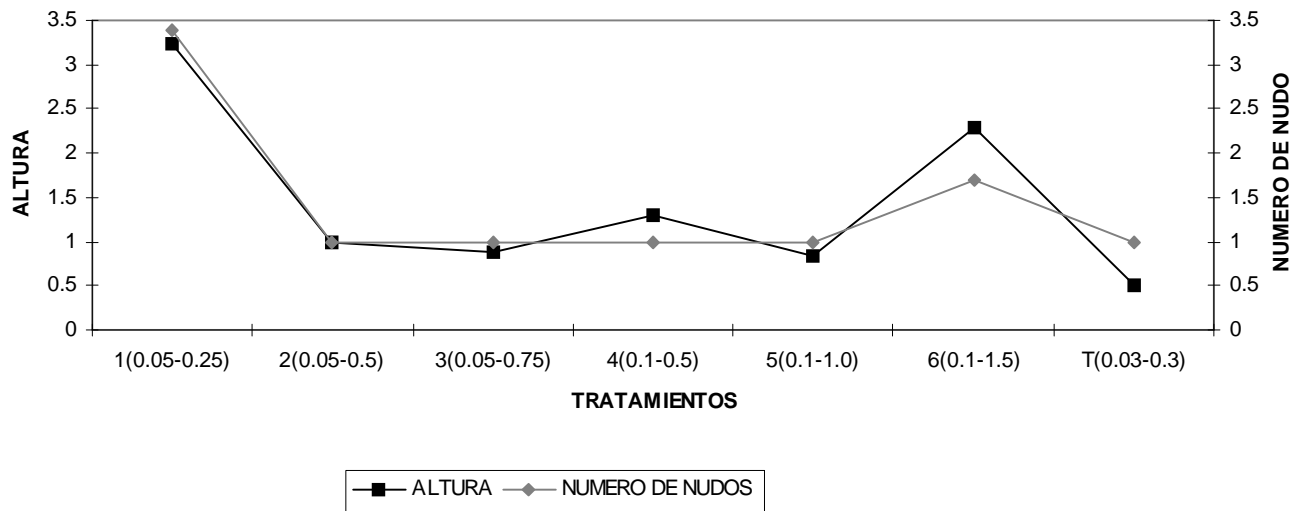


Figura 9. Altura media (cm) Y número de nudos (Clon amarillo)

En la figura 9 podemos observar que los rangos dentro de los cuales se presentan tanto la altura de brotes como el número de nudos es bastante pequeño y nos muestra de manera gráfica porque no existen diferencias significativas entre los tratamientos para estas dos variables, por lo cual, al igual que para el clon anterior (morado), los tratamientos tienen solamente una influencia en la regeneración del meristemo, es decir en la estimulación inicial y no en el desarrollo posterior.

### 8.2.3 Tasa de Propagación

En el cuadro 16, se puede observar el comportamiento de los tratamientos desde la iniciación (meristemas) hasta la segunda propagación, véase como se eleva el número de plantas producidas desde el inicio hasta la segunda propagación por medio del cultivo de nudos individuales.

Cuadro.16 Número de plantas producidas luego de dos propagaciones (clon amarillo)

TRATAMIENTO	REG. CREC	INICIACION BROTOS (0-3er MES)	PRIMERA PROPAGACION (4to MES)	TASA	SEGUNDA PROPAGACION	TASA

	ANA	BAP					
1	0.05	0.25	5	17	3.4	90	5.3
2	0.05	0.5	3	3	1.0	14	4.7
3	0.05	0.75	4	4	1.0	16	4.0
4	0.1	0.5	1	1	1.0	5	5.0
5	0.1	1.0	3	3	1.0	15	5.0
6	0.1	1.5	3	5	1.7	22	4.4
7	0.03	0.3	1	1	1.0	6	6.0
			20	34	1.7	168	4.9

Puede observarse también que el tratamiento 1 es el que produjo mayor número de plantas con 17 para la primera propagación (tasa de propagación de 3.4 plantas /mes) y con 90 para la segunda (tasa de propagación de 5.3 plantas /mes).

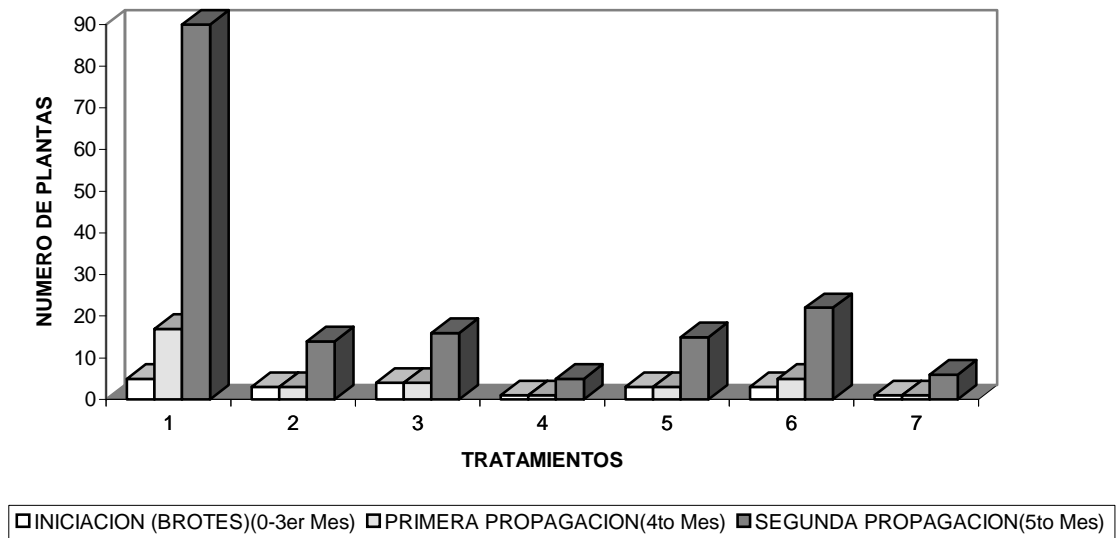


Figura 10. Evolución de cada tratamiento a partir de la iniciación

Como se observa en la figura 10, se determinó que el tratamiento 1 es el que mayor número de plantas presenta, con 90 plantas (tasa de propagación de 5.3 plantas / mes) luego de 5 meses a partir de la iniciación (meristemos), esto es lógico si observamos que este tratamiento fue el que nos proporcionó desde un inicio el mejor porcentaje de regeneración, además la gráfica nos permite observar como evolucionan los tratamientos desde el inicio hasta la segunda propagación; valores altos en la iniciación, generaron una primera propagación con niveles altos (número de plantas), y por ende niveles altos en la segunda propagación.

Es posible observar también que el tratamiento testigo (0.03 mg/l de ANA + 0.3 mg/l de BAP), el cual es recomendado por el CIAT (20), presenta para este clon un total de 6 plantas (tasa de propagación de 6 plantas/ mes), luego de cinco meses a partir de la iniciación, valor demasiado bajo si se toman en cuenta las 90 plantas que generó el tratamiento 1.

### 8.3 Clon Anaranjado

#### 8.3.1 Porcentaje de Regeneración

Para este clon (anaranjado), se pudo observar una regeneración mucho más baja que para los clones anteriores, es decir, se notó una disminución de los brotes en relación a la totalidad de repeticiones evaluadas como se observa en el cuadro 17. Resulta de importancia mencionar que la contaminación para este clon fue mucho menor que para los clones anteriores, esto se refleja en la totalidad de las repeticiones, ya que no hubo pérdidas de unidades experimentales por contaminación de las mismas, lo que ayuda para el análisis y la interpretación de los datos.

Cuadro.17 Tratamientos, muestras y número de brotes (clon anaranjado)

TRATAMIENTO	REGULADORES DE CRECIMIENTO		REPETICIONES	BROTOS	REGENERACION (%)
	ANA(mg/l)	BAP(mg/l)			
1	0.05	0.25	12	3	25
2	0.05	0.5	11	2	18.2
3	0.05	0.75	12	9	75
4	0.1	0.5	12	1	8.3
5	0.1	1.0	11	1	9
6	0.1	1.5	12	0	0
7	0.03	0.3	12	2	16.7
			82	18	21.9

Cabe mencionar que este clon fue el que más dificultades presentó en lo que respecta al porcentaje de regeneración, como se puede observar gráficamente en la figura 11.

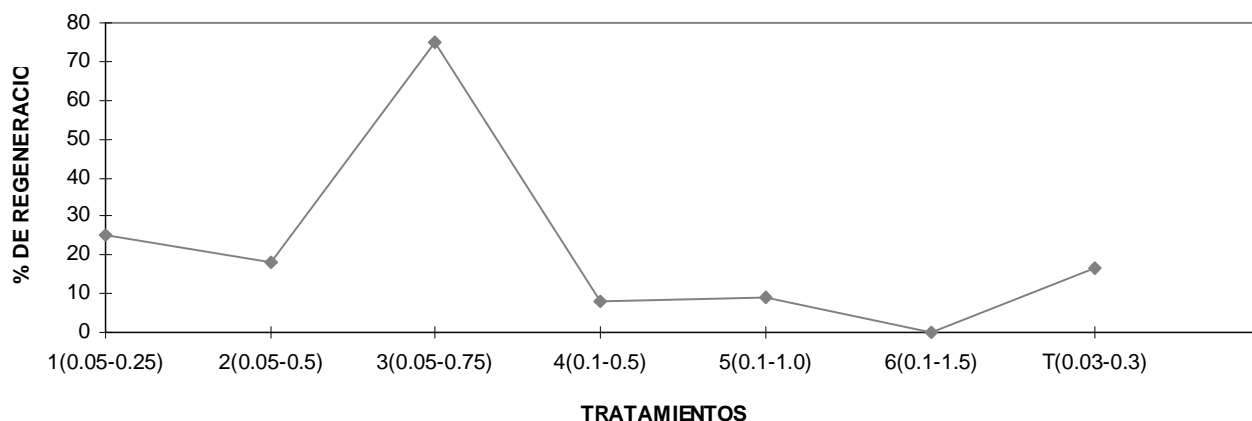


Figura 11. Porcentaje de regeneración (clon anaranjado)

Como se observa en la gráfica los tratamientos que alcanzaron los valores máximos de regeneración, son los correspondientes al nivel 0.05 mg/l de ANA, con los 3 distintos niveles de BAP, tratamientos identificados con los números 1,2 y 3, que presentan regeneración del 25,18 y 75% respectivamente, de los cuales el nivel máximo de regeneración se alcanzó con 0.05 mg/l ANA - 0.75 mg/l BAP, correspondiente al tratamiento 3.

El resto de los tratamientos presentó valores de regeneración demasiado bajos, incluyendo al testigo que solo alcanzó a regenerar el 16.7% del total de las muestras evaluadas, lo que sitúa al tratamiento 3 como el mejor tratamiento en cuanto a regeneración, mejorando el 40% de regeneración obtenido por Kamada (13), para el mismo clon, con los niveles 0.1 mg/l ANA-1.0 mg/l BAP, por lo cual se mejoró la dosis de estos dos reguladores de crecimiento en cuanto a regeneración se refiere.

Asimismo resulta de interés mencionar que los valores sumamente bajos obtenidos para los tratamientos 4, 5, 6 son dependientes de este clon en particular, ya que como se observa en la gráfica, la regeneración fue mínima hasta llegar al 0% , el cual corresponde al tratamiento 6, que presentó solamente un callo de color anaranjado que no poseía ningún brote , por lo que se infiere que para

este clon en particular , los niveles relativamente altos de ANA y BAP (trat 4,5,6) no producen una regeneración satisfactoria, lo que corrobora los valores bajos obtenidos por Kamada (13) para este clon, quien utilizó 0.1mg/l de ANA combinado con 1 y 2mg/l de BAP, obteniendo valores de 40% para la combinación 0.1 mg/l ANA-1.0 mg/l BAP y 0% para la combinación 0.1 mg/l ANA-2.0 mg/l BAP. Por lo que en cuanto a regeneración se refiere el tratamiento 3 (0.05ANA-0.75BAP) proporciona los resultados más satisfactorios.

### 8.3.2 Altura y número de nudos

La prueba de Friedman para la clasificación de dos vías para la variable altura de brotes mostró que no existen diferencias significativas, es decir que en cuanto a altura de brotes se refiere todos los tratamientos producen el mismo efecto, ya que el valor de Friedman de 22.1 % es mucho más grande que el nivel establecido del 5%, como se observa en el cuadro 18.

Cuadro 18. Prueba de Friedman para la variable altura.

Hipótesis Alternativa	Grados de Libertad	Valor de Friedman	Pr > F
Row Mean Scores Differ	5	7.000	0.221

Para la variable número de nudos, no se pudo aplicar la prueba de Friedman debido a que la mayoría de los datos para nudos eran iguales y por la naturaleza de la prueba era inaplicable. Esto debido a que como las alturas para este clon eran bastante pequeñas, el valor para el número de nudos en su mayoría era uno, como se observa en el cuadro 19 y gráficamente en la figura 12.

Cuadro 19. Altura (cm) y número de nudos (clon anaranjado)

TRATAMIENTO	REGULADORES DE CRECIMIENTO		REPETICIONES	ALTURA (cm)	NUMERO DE NUDOS
	ANA(mg/l)	BAP(mg/l)			
1	0.05	0.25	12	0.3	1.0
2	0.05	0.5	11	0.2	1.0
3	0.05	0.75	12	0.9	1.0
4	0.1	0.5	12	0.2	1.0
5	0.1	1.0	11	0.5	1.0
6	0.1	1.5	12	0	0
7	0.03	0.3	12	0.2	1.0

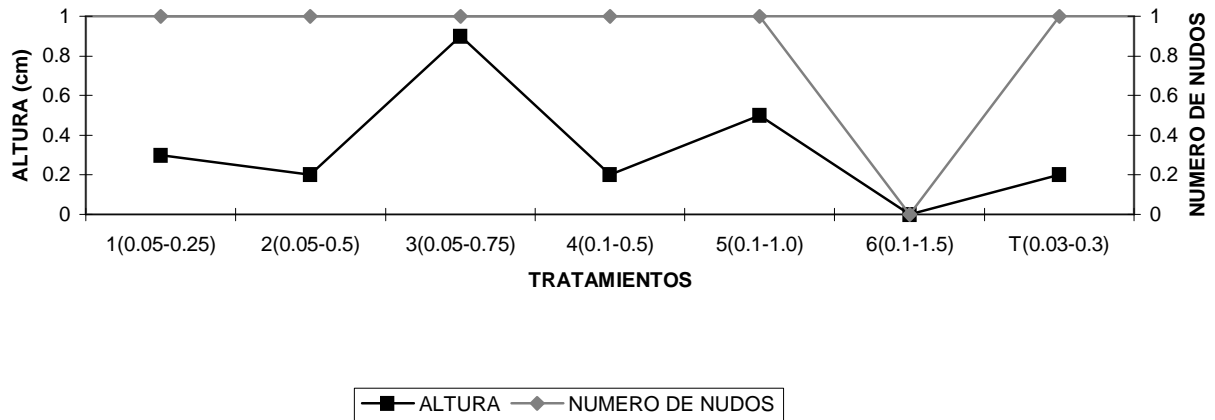


Figura 12. Altura (cm) y número de nudos (clon anaranjado)

Como se puede observar en la gráfica, los valores medios para altura de brotes son bastante pequeños en comparación con los dos clones anteriores, por lo tanto, al tener valores tan pequeños de altura, la variable número de nudos iba a ser siempre uno, es decir, que a los tres meses después de la iniciación por medio del cultivo de meristemos, siempre vamos a tener un valor constante de número de nudos, por lo que en este caso, para fines de propagación, el porcentaje de regeneración nos indica que

el tratamiento 3 que regenera el 75%, es el más indicado, ya que nos producirá más plantas partiendo de un valor alto en la iniciación (cultivo de meristemos).

### 8.3.3 Tasa de propagación

Cuadro.20 Número de plantas producidas luego de dos propagaciones (clon anaranjado).

TRATAMIENTO	REG. CREC		INICIACION BROTOS (0-3er MES)	PRIMERA PROPAGACION (4to MES)	TASA	SEGUNDA PROPAGACION	TASA
	ANA	BAP					
1	0.05	0.25	3	3	1.0	7	2.3
2	0.05	0.5	2	2	1.0	7	3.5
3	0.05	0.75	9	9	1.0	42	4.7
4	0.1	0.5	1	1	1.0	4	4.0
5	0.1	1.0	1	1	1.0	4	4.0
6	0.1	1.5	0	0	0	0	0
7	0.03	0.3	2	2	1.0	5	2.5
			18	18	1.0	69	3.8

Como se puede observar en el cuadro 20, la cantidad de plantas generadas luego de 5 meses es mucho mayor para el tratamiento número 3, ya que después de ese tiempo se generaron 42 plantas (tasa de propagación de 4.7 plantas / mes), cifra que supera por mucho a los demás tratamientos incluyendo al testigo, este último generando luego de dos propagaciones 5 plantas (tasa de propagación de 2.5 plantas / mes), cifra incluso un poco menor que las 7 plantas producidas por el tratamiento 1 y 2, lo que se puede observar gráficamente en la figura 13.

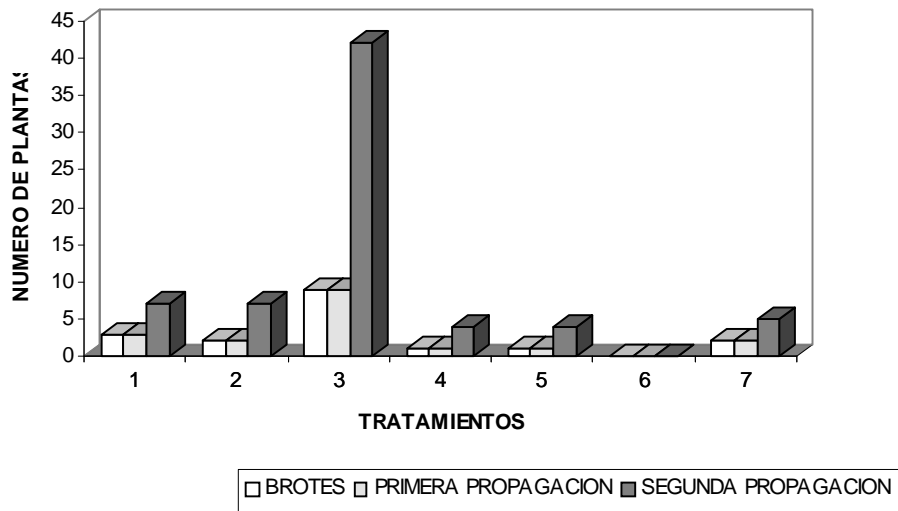


Figura 13. Evolución de cada tratamiento a partir de la iniciación

En la evolución de los tratamientos (figura 13), podemos observar que los valores, tanto de iniciación como de primera propagación son iguales para los 7 tratamientos, esto debido a que el número de nudos siempre fue 1, y la primera propagación tomo el valor de la iniciación. Cambiando esto en la segunda propagación donde ya se generaron plantas con más nudos, por lo que, como es evidente, los valores fueron más altos.

## 9. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se llevó a cabo esta investigación se puede concluir que:

1. Para el clon morado la combinación óptima de reguladores del crecimiento en la fase de iniciación es la de 0.1 mg/l de ANA y 1.0 mg/l de BAP que alcanzó el 100% de regeneración, una tasa de propagación de 6.4 plantas /mes y una producción de 186 plantas luego de dos propagaciones partiendo de 6 meristemos.
2. Para el clon amarillo la combinación de reguladores del crecimiento más eficiente en la fase de iniciación es la de 0.05 mg/l de ANA y 0.25 mg/l de BAP, la cual alcanzó el 56% de regeneración, una tasa de propagación de 5.3 plantas /mes y una producción de 90 plantas luego de dos propagaciones, partiendo de 9 meristemos.

3. Para el clon anaranjado la combinación de reguladores del crecimiento que produce mejores resultados es la de 0.05 mg/l de ANA y 0.75 mg/l de BAP, con 75% de regeneración, una tasa de propagación de 4.7 plantas/mes y una producción de 42 plantas luego de dos propagaciones, partiendo de 9 meristemos.
4. Para la variables altura de brotes y número de nudos, los tratamientos no producen diferencias significativas para los tres clones (morado, amarillo y anaranjado).

## **10. RECOMENDACIONES**

Basado en la experiencia que se adquirió durante todo el proceso de investigación, se recomienda :

1. Aclimatar las plantas generadas, para darle continuidad al proyecto.
2. En el proceso de desinfección en la fase de iniciación utilizar el jabón antibacterial que se vende comercialmente con el nombre de Olimpo ya que éste redujo sustancialmente la contaminación.
3. En futuras investigaciones para el clon amarillo, evaluar menores concentraciones de ANA y BAP para obtener niveles mayores de regeneración.
4. Hacer pruebas ELISA para determinar si hay presencia de los virus más importantes que afectan el camote.

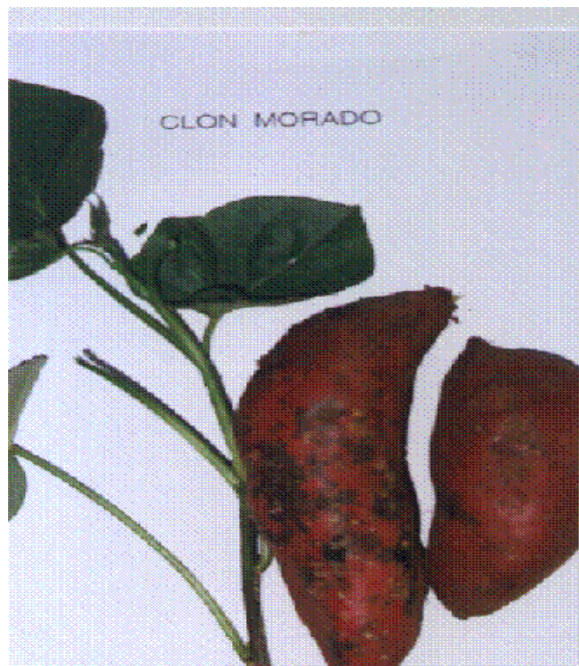
## 11. BIBLIOGRAFIA

1. BIDWELL, R. 1979. Fisiología vegetal. Trad. por Manuel Rojas. México, AGT. 784 p.
2. CLARK, C.A.; MOYER, J.W. 1991. Compendio de enfermedades de la batata. Trad. por Teresa Ames de Icochea. Perú, Centro Internacional de la Papa. 248 p.
3. CHALI SMILOX, J.G. 1986. Caracterización agromorfológica y bromatológica 30 cultivares nativos de camote (*Ipomoea batata* L., Lam), del norte y nororiente de Guatemala, en el valle de La Fragua, Zacapa, Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 82 p.
4. DODDS, J.H.; PANTA, A.; BRYAN, J.E. 1991. Transporte, recepción y propagación de plántulas de batata *in vitro*. Perú, Centro Internacional de la Papa. Guía de Investigación CIP no. 38, 17 p.
5. FAO. 2001. Anuario de producción 1999. Roma, Italia. 53:1-894.
6. FERSINNI, A. 1978. El cultivo de la batata (camote). México, Diana. 124 p.
7. FOLQUER, F. 1978. La batata (camote): estudio de la planta y su producción comercial. Buenos Aires, Hemisferio Sur. 145 p.
8. GEORGE, E.F. 1996. Plant Propagation by tissue culture; part. 1: the technology. Inglaterra, Exegetics. v. 1, 1361 p.
9. ----- . 1996. Plant propagation by tissue culture; part II: in practice. Inglaterra, Exegetics. v. 2, 878 p.

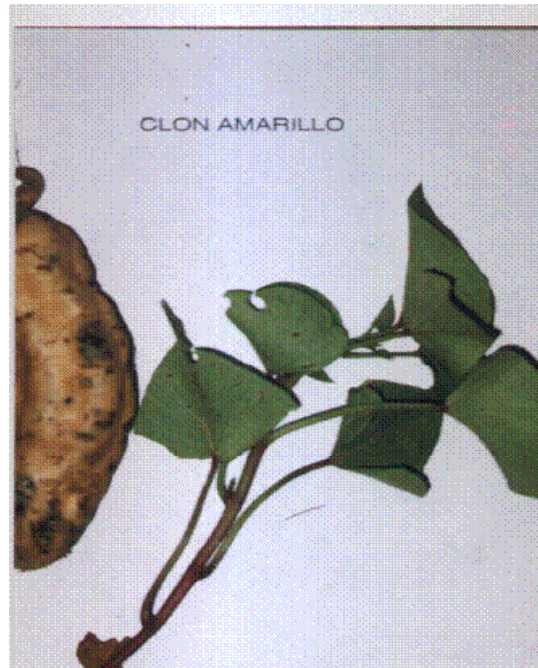
10. GEORGE, E.F.; PUTTOCK, D.J.M.; GEORGE, H.J. 1987. Plant culture media; formulations and uses. Inglaterra, Exegetics. v. 1, 567 p.
11. ----- . 1996. Plant culture media; commentary and analysis. Inglaterra, Exegetics. v. 2, 420 p.
12. JONES, S.B. 1988. Sistemática vegetal. Trad. por María Huesca. México, McGraw-Hill. 536 p.
13. KAMADA, K. 2002. Generación de camote (Ipomoea batata L.) libre de virus a través del cultivo de meristemos. Guatemala, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. Informe Final de Servicios. p. 31-32.
14. LANG DIAZ, H.E. 1988. Caracterización agronómica, morfológica y bromatológica de 30 cultivares de camote (Ipomoea batata L. Lam.) en Pueblo Nuevo, La Blanca, Ocós, San Marcos. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 87 p.
15. LIZARRAGA, R.; PANTA, A.; ESPINOZA, N.; DODDS, J.H. 1990. Cultivo de tejidos de Ipomoea batatas; micropropagación y conservación. Perú, Centro Internacional de la Papa. Guía de Investigación CIP no. 32. 22 p.
16. LOPEZ MORALES, C.I. 1999. Efecto de la bencilaminopurina (BA) y dos Métodos de micropropagación sobre dos cultivares de plátano (Musa balbisiana Colla). Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 75 p.
17. LOVE, S.; RHODES, B. 1985. Improved methods for meristem culture of sweet potato. Hort Science (EE.UU.) no. 20:655.
18. MONTALDO, A. 1966. Manual del cultivo de la batata Ipomoea batata. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía. 44 p.
19. OROZCO, C. 1996. Cultivo de tejidos y su aplicación en agricultura. In Simposio Nacional Sobre Cultivo de Tejidos Vegetales (1., 1996, Guatemala). Guatemala, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. 10 p.
20. ROCA, W.M.; MROGINSKI, L.A. 1993. Cultivo de tejidos en agricultura: fundamentos y aplicaciones. Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical. 970 p.
21. SEGURA GONGORA, G.A. 1990. Caracterización de 18 cultivares de camote (Ipomoea batata L. Poir) en San Jerónimo , Baja Verapaz. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 56 p.
22. SWEET POTATO PLANNING (1., 1987, Perú). 1988. Exploration, maintenance and utilization of Sweet Potato Genetic Resources. Perú, Centro Internacional de la Papa. 369 p.
23. USUI, K.; OKABE, K.; VICTORES, R.; RAMIREZ, A. 1996. Principios básicos del cultivo de tejidos vegetales. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. 166 p.

## 12. ANEXO

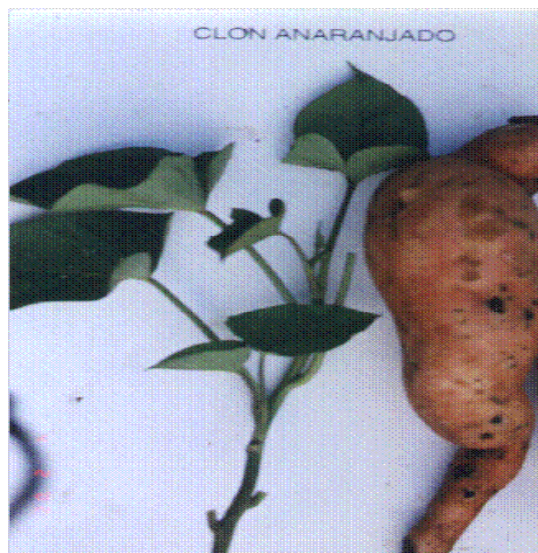
0.



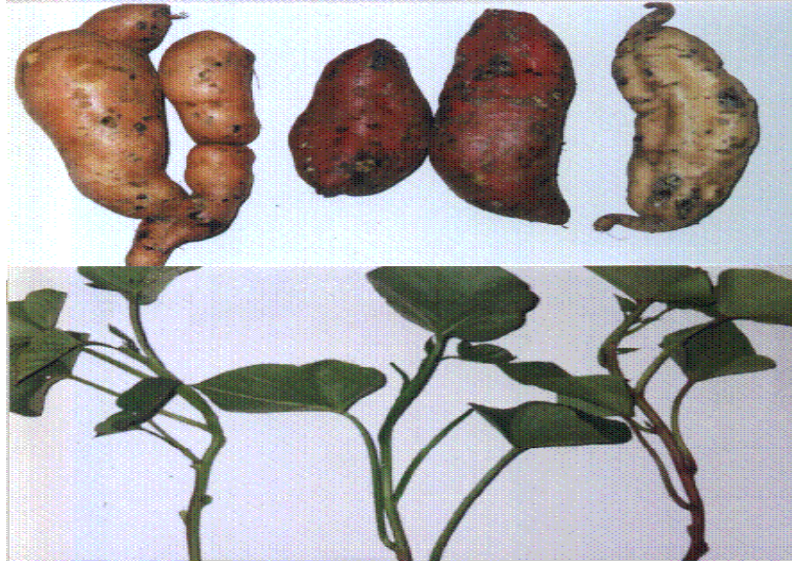
**Figura 14 A. Tubérculo y follaje del clon morado.**



**Figura 15 A. Tubérculo y follaje del clon amarillo.**



**Figura 16 A. Tubérculo y follaje del clon anaranjado.**



**Figura 17 A. Tubérculos y follaje de los 3 clones .**



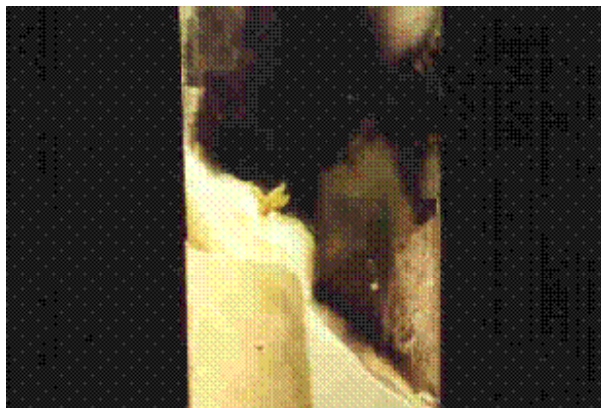
**Figura 18 A. Brote de clon morado (a partir de meristemo)**



**Figura 19 A. Brote en crecimiento del clon morado (a partir de meristemo)**



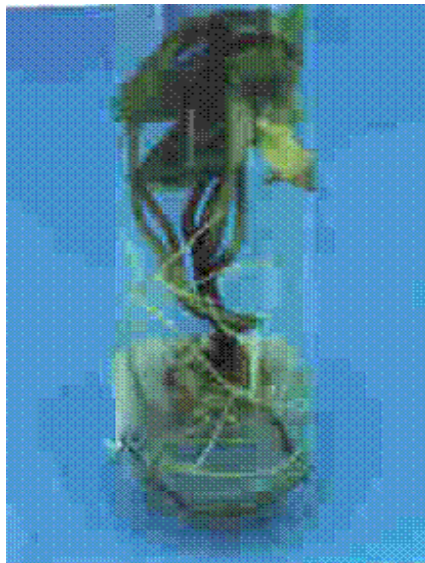
**Figura 20 A. Plántula desarrollada del clon morado (a partir de meristemo)**



**Figura 21 A. Brote de clon amarillo (a partir de meristemo)**



**Figura 22 A. Brote en crecimiento del clon amarillo (a partir de meristemo)**



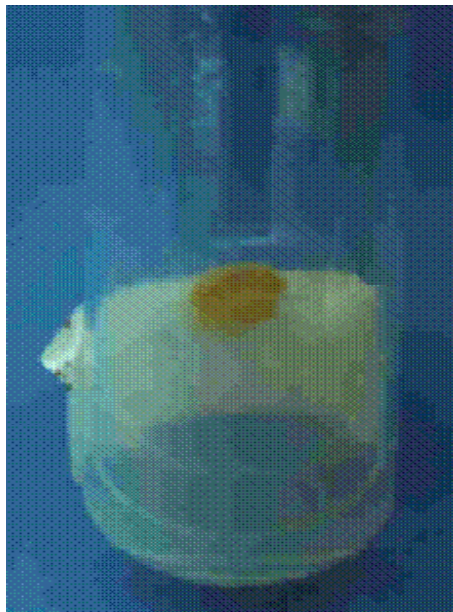
**Figura 23 A. Plantula desarrollada del clon amarillo (a partir de meristemo)**



**Figura 24 A. Brote de clon naranja (a partir de meristemo)**



**Figura 25 A. Plantula del clon naranja (a partir de meristemo)**



**Figura 26 A. Callo del clon anaranjado (a partir de meristemo)**



**Figura 27 A. plántulas propagadas por medio de nudos (Clon morado)**



**Figura 28 A. Plántulas propagadas por medio de nudos (clon amarillo)**



**Figura 29 A. Plántulas propagadas por medio de nudos (clon anaranjado)**

## Anexo 1. Conjunto de datos (clon morado)

OPTIONS LS=64 PS=500 NODATE;

DATA MORADO;

INPUT BLOQUES \$ TRATAM ALTURA NUDOS;

IF ALTURA = '0' THEN DELETE;

IF NUDOS = '0' THEN DELETE;

CARDS;

I 3 0 0

I 5 9.7 5

I 1 4.1 4

I 2 8.1 5

I 4 6.0 7

I 6 0 0

I 7 1.0 1

II 6 0 0

II 4 1 1

II 3 0 0

II 5 5.2 5

II 1 4.2 5

II 7 5.5 3

II 2 6.4 5

III 3 2.0 1

III 5 12.5 8

III 1 0 0

III 6 7.0 4

III 4 0 0

III 2 5.3 4

III 7 4.8 4

IV 1 0 0

IV 5 12.5 6

IV 6 . .

IV 4 2.5 3

IV 2 10.1 7

IV 7 6.2 5

IV 3 11.0 5

V 7 0 0

V 1 4.5 5

V 2 . .

V 3 0 0

V 6 . .

V 5 . .

V 4 5.0 3

VI 5 . .

VI 6 . .

VI 7 . .

VI 4 4.7 3

VI 3 0.5 1

VI 2 . .

VI 1 0 0

VII 3 0 0  
VII 4 0 0  
VII 2 0 0  
VII 6 0 0  
VII 7 . .  
VII 1 0 0  
VII 5 0 0

VIII 4 0 0  
VIII 6 . .  
VIII 7 0 0  
VIII 1 . .  
VIII 5 . .  
VIII 3 0 0  
VIII 2 0 0

IX 6 5.0 5  
IX 4 . .  
IX 5 4.0 4  
IX 7 0 0  
IX 2 . .  
IX 1 0 0  
IX 3 0 0

X 7 . .  
X 2 . .  
X 3 0 0  
X 5 2.8 1  
X 1 5.7 4  
X 4 . .  
X 6 0 0

PROC SORT; BY BLOQUES;

PROC RANK OUT=B;  
VAR ALTURA;  
BY BLOQUES;  
RANKS ALTRANK;

PROC FREQ DATA=B;  
TABLES BLOQUES\*TRATAM\*ALTRANK / NOPRINT CMH;  
RUN;

PROC SORT; BY BLOQUES;

PROC RANK OUT=B;  
VAR NUDOS;  
BY BLOQUES;  
RANKS NUDRANK;

PROC FREQ DATA=B;  
TABLES BLOQUES\*TRATAM\*NUDRANK / NOPRINT CMH;  
RUN;

**Cuadro 21 A. Salida de SAS de la prueba de Friedman para la variable altura de brotes (clon morado)**

SUMMARY STATISTICS FOR TRATAM BY ALTRANK  
CONTROLLING FOR BLOQUES

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	0.001	0.972
2	Row Mean Scores Differ	6	7.987	0.239
3	General Association	24	27.786	0.269

**Cuadro 22 A. Salida de SAS de la prueba de Friedman para la variable numero de nudos (clon morado)**

SUMMARY STATISTICS FOR TRATAM BY NUDRANK  
CONTROLLING FOR BLOQUES

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	0.960	0.327
2	Row Mean Scores Differ	6	7.363	0.289
3	General Association	36	27.802	0.834

**Cuadro 23 A. Medias por tratamiento (clon morado)**

----- TRATAM=1 -----

N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
5	ALTURA	4	4.1000000	5.7000000	4.6250000
	NUDOS	4	4.0000000	5.0000000	4.5000000

N Obs	Variable	Std Dev
5	ALTURA	0.7365460
	NUDOS	0.5773503

----- TRATAM=2 -----

N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
8	ALTURA	4	5.3000000	10.1000000	7.4750000
	NUDOS	4	4.0000000	7.0000000	5.2500000

N Obs	Variable	Std Dev
-------	----------	---------

8 ALTURA 2.0950338  
NUDOS 1.2583057

----- TRATAM=3 -----  
N Obs Variable N Minimum Maximum Mean  
-----  
3 ALTURA 3 0.5000000 11.0000000 4.5000000  
NUDOS 3 1.0000000 5.0000000 2.3333333

-----  
N Obs Variable Std Dev  
-----  
3 ALTURA 5.6789083  
NUDOS 2.3094011  
-----

----- TRATAM=4 -----  
N Obs Variable N Minimum Maximum Mean  
-----  
7 ALTURA 5 1.0000000 6.0000000 3.8400000  
NUDOS 5 1.0000000 7.0000000 3.4000000

-----  
N Obs Variable Std Dev  
-----  
7 ALTURA 2.0378911  
NUDOS 2.1908902  
-----

----- TRATAM=5 -----  
N Obs Variable N Minimum Maximum Mean  
-----  
9 ALTURA 6 2.8000000 12.5000000 7.7833333  
NUDOS 6 1.0000000 8.0000000 4.8333333

-----  
N Obs Variable Std Dev  
-----  
9 ALTURA 4.3356276  
NUDOS 2.3166067  
-----

----- TRATAM=6 -----  
N Obs Variable N Minimum Maximum Mean  
-----  
6 ALTURA 2 5.0000000 7.0000000 6.0000000  
NUDOS 2 4.0000000 5.0000000 4.5000000

-----  
N Obs Variable Std Dev  
-----  
6 ALTURA 1.4142136  
NUDOS 0.7071068  
-----

----- TRATAM=7 -----  
N Obs Variable N Minimum Maximum Mean  
-----

7	ALTURA	4	1.0000000	6.2000000	4.3750000
	NUDOS	4	1.0000000	5.0000000	3.2500000

```
-----
      N Obs Variable      Std Dev
-----
      7 ALTURA      2.3214579
      NUDOS      1.7078251
-----
```

## Anexo 2. Conjunto de datos (Clon Amarillo)

```
OPTIONS LS=64 PS=500 NODATE;
DATA AMARILLO;
INPUT BLOQUES $ TRATAM ALTURA NUDOS;
```

```
IF ALTURA = '0' THEN DELETE;
IF NUDOS = '0' THEN DELETE;
```

CARDS;

```
I 6 . 0
I 2 . 0
I 5 . 0
I 7 0 0
I 3 0 0
I 1 0 0
I 4 0 0

II 2 . 0
II 7 0 0
II 3 . 0
II 5 . 0
II 4 0 0
II 6 0 0
II 1 . 0

III 4 0 0
III 2 0 0
III 1 0.7 1
III 5 0 0
III 6 2 1
III 7 0 0
III 3 0 0

IV 5 1 1
IV 3 0.5 1
IV 7 0 0
IV 1 2 2
IV 2 0 0
IV 6 0 0
IV 4 1.3 1

V 7 0 0
V 3 0 0
V 1 0 0
V 5 1 1
V 4 0 0
```

V 2 1.5 1  
V 6 0 0

VI 2 0 0  
VI 6 0 0  
VI 7 0 0  
VI 5 0 0  
VI 1 4.5 5  
VI 3 0.5 1  
VI 4 0 0

VII 4 0 0  
VII 1 0 0  
VII 5 0 0  
VII 7 0 0  
VII 3 0.5 1  
VII 6 0 0  
VII 2 0 0

VIII 6 1.8 1  
VIII 4 0 0  
VIII 3 0 0  
VIII 1 3.5 3  
VIII 2 0.5 1  
VIII 7 0 0  
VIII 5 0.5 1

IX 1 0 0  
IX 7 0.5 1  
IX 4 0 0  
IX 6 0 0  
IX 3 2 1  
IX 2 0 0  
IX 5 0 0

X 6 3 3  
X 2 1 1  
X 3 0 0  
X 7 0 0  
X 1 5.5 6  
X 4 0 0  
X 5 0 0

PROC SORT; BY BLOQUES;

PROC RANK OUT=B;  
VAR ALTURA;  
BY BLOQUES;  
RANKS ALTRANK;

PROC FREQ DATA=B;  
TABLES BLOQUES\*TRATAM\*ALTRANK / NOPRINT CMH;  
RUN;  
PROC RANK OUT=B;  
VAR NUDOS;  
BY BLOQUES;  
RANKS NUDRANK;

```

PROC FREQ DATA=B;
  TABLES BLOQUES*TRATAM*NUDRANK / NOPRINT CMH;
RUN;

```

**Cuadro 24 A. Salida de SAS de la prueba de Friedman para la variable altura de brotes (clon amarillo)**

SUMMARY STATISTICS FOR TRATAM BY ALTRANK  
CONTROLLING FOR BLOQUES

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	1.199	0.274
2	Row Mean Scores Differ	6	9.336	0.156
3	General Association	24		

**Cuadro 25 A. Medias por tratamiento (clon amarillo)**

----- TRATAM=1 -----

N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
5	ALTURA	5	0.7000000	5.5000000	3.2400000
	NUDOS	5	1.0000000	6.0000000	3.4000000

N Obs	Variable	Std Dev
5	ALTURA	1.9204166
	NUDOS	2.0736441

----- TRATAM=2 -----

N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
3	ALTURA	3	0.5000000	1.5000000	1.0000000
	NUDOS	3	1.0000000	1.0000000	1.0000000

N Obs	Variable	Std Dev
3	ALTURA	0.5000000
	NUDOS	0

----- TRATAM=3 -----

N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
4	ALTURA	4	0.5000000	2.0000000	0.8750000
	NUDOS	4	1.0000000	1.0000000	1.0000000

N Obs	Variable	Std Dev
4	ALTURA	0.7500000
	NUDOS	0

----- TRATAM=4 -----					
N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
1	ALTURA	1	1.3000000	1.3000000	1.3000000
	NUDOS	1	1.0000000	1.0000000	1.0000000

N Obs	Variable	Std Dev
1	ALTURA	.
	NUDOS	.

----- TRATAM=5 -----					
N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
3	ALTURA	3	0.5000000	1.0000000	0.8333333
	NUDOS	3	1.0000000	1.0000000	1.0000000

N Obs	Variable	Std Dev
3	ALTURA	0.2886751
	NUDOS	0

----- TRATAM=6 -----					
N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
3	ALTURA	3	1.8000000	3.0000000	2.2666667
	NUDOS	3	1.0000000	3.0000000	1.6666667

N Obs	Variable	Std Dev
3	ALTURA	0.6429101
	NUDOS	1.1547005

----- TRATAM=7 -----					
N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
1	ALTURA	1	0.5000000	0.5000000	0.5000000
	NUDOS	1	1.0000000	1.0000000	1.0000000

N Obs	Variable	Std Dev
1	ALTURA	.
	NUDOS	.

### Anexo 3. Conjunto de datos (Clon Anaranjado)

```
OPTIONS LS=64 PS=500 NODATE;  
DATA ANARANJA;  
INPUT BLOQUES $ TRATAM ALTURA NUDOS;
```

```
IF ALTURA = '0' THEN DELETE;  
IF NUDOS = '0' THEN DELETE;
```

```
CARDS;
```

```
I 4 0 0  
I 7 0 0  
I 5 0.5 1  
I 3 0.7 1  
I 2 0.1 1  
I 1 0 0  
I 6 0 0
```

```
II 5 0 0  
II 1 0 0  
II 3 2 1  
II 4 0 0  
II 2 0 0  
II 7 0 0  
II 6 0 0
```

```
III 1 0 0  
III 7 0 0  
III 5 0 0  
III 2 0.2 1  
III 4 0 0  
III 6 0 0  
III 3 0.2 1
```

```
IV 2 0 0  
IV 4 0.2 1  
IV 1 0.2 1  
IV 7 0 0  
IV 6 0 0  
IV 3 0.5 1  
IV 5 0 0
```

```
V 4 0 0  
V 2 0 0  
V 1 0 0  
V 5 0 0  
V 7 0 0  
V 6 0 0  
V 3 0 0
```

```
VI 3 1.5 1  
VI 5 0 0  
VI 6 0 0  
VI 7 0 0  
VI 1 0 0  
VI 2 0 0  
VI 4 0 0
```

VII 6 0 0  
VII 7 0 0  
VII 3 0 0  
VII 2 0 0  
VII 1 0.3 1  
VII 4 0 0  
VII 5 0 0

VIII 2 0 0  
VIII 7 0.1 1  
VIII 1 0 0  
VIII 4 0 0  
VIII 6 0 0  
VIII 3 1 1  
VIII 5 0 0

IX 6 0 0  
IX 2 0 0  
IX 4 0 0  
IX 5 0 0  
IX 7 0 0  
IX 3 0 0  
IX 1 0 0

X 7 0.2 1  
X 4 0 0  
X 2 0 0  
X 6 0 0  
X 5 0 0  
X 1 0 0  
X 3 1 1

XI 5 0 0  
XI 1 0.3 1  
XI 2 . .  
XI 6 0 0  
XI 7 0 0  
XI 3 1 1  
XI 4 0 0

XII 4 0 0  
XII 7 0 0  
XII 3 0.3 1  
XII 1 0 0  
XII 6 0 0  
XII 2 0 0  
XII 5 . .

```
PROC SORT; BY BLOQUES;  
PROC RANK OUT=B;  
  VAR ALTURA;  
  BY BLOQUES;  
  RANKS ALTRANK;
```

```
PROC FREQ DATA=B;  
  TABLES BLOQUES*TRATAM*ALTRANK / NOPRINT CMH;  
RUN;
```

```

PROC SORT; BY BLOQUES;

PROC RANK OUT=B;
  VAR NUDOS;
  BY BLOQUES;
  RANKS NUDRANK;

PROC FREQ DATA=B;
  TABLES BLOQUES*TRATAM*NUDRANK / NOPRINT CMH;
RUN;

```

**Cuadro 26 A. Salida de SAS de la prueba de Friedman para la variable altura de brotes (clon amarillo)**

SUMMARY STATISTICS FOR TRATAM BY ALTRANK  
CONTROLLING FOR BLOQUES

Cochran-Mantel-Haenszel Statistics (Based on Table Scores)

Statistic	Alternative Hypothesis	DF	Value	Prob
1	Nonzero Correlation	1	0.131	0.717
2	Row Mean Scores Differ	5	7.000	0.221
3	General Association	15		

**Cuadro 27 A. Medias por tratamiento(clon anaranjado)**

----- TRATAM=1 -----					
N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
3	ALTURA	3	0.2000000	0.3000000	0.2666667
	NUDOS	3	1.0000000	1.0000000	1.0000000
-----					
N Obs	Variable	Std Dev			
3	ALTURA	0.0577350			
	NUDOS	0			
-----					
----- TRATAM=2 -----					
N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
3	ALTURA	2	0.1000000	0.2000000	0.1500000
	NUDOS	2	1.0000000	1.0000000	1.0000000
-----					
N Obs	Variable	Std Dev			
3	ALTURA	0.0707107			
	NUDOS	0			
-----					
----- TRATAM=3 -----					

N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
9	ALTURA	9	0.2000000	2.0000000	0.9111111
	NUDOS	9	1.0000000	1.0000000	1.0000000

N Obs	Variable	Std Dev
9	ALTURA	0.5754226
	NUDOS	0

----- TRATAM=4 -----

N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
1	ALTURA	1	0.2000000	0.2000000	0.2000000
	NUDOS	1	1.0000000	1.0000000	1.0000000

N Obs	Variable	Std Dev
1	ALTURA	.
	NUDOS	.

----- TRATAM=5 -----

N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
2	ALTURA	1	0.5000000	0.5000000	0.5000000
	NUDOS	1	1.0000000	1.0000000	1.0000000

N Obs	Variable	Std Dev
2	ALTURA	.
	NUDOS	.

----- TRATAM=7 -----

N Obs	Variable	N	Minimum	Maximum	Mean
2	ALTURA	2	0.1000000	0.2000000	0.1500000
	NUDOS	2	1.0000000	1.0000000	1.0000000

N Obs	Variable	Std Dev
2	ALTURA	0.0707107
	NUDOS	0

