



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-CompartirIgual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA
ÁREA DE MEJORAMIENTO Y PROTECCIÓN DE CULTIVOS



TESIS

**“EFECTO DE CUATRO DOSIS DE ÁCIDO- 3- INDOL BUTÍRICO
EN EL ENRAIZAMIENTO DE ÁPICES Y SEGMENTOS NODALES
DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)”**

PRESENTADO POR LA BACHILLER:

MAR ASUNCIÓN GÁRATE NAVARRO

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGRÓNOMO**

TARAPOTO - PERÚ
2009

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

ÁREA DE MEJORAMIENTO Y PROTECCIÓN DE CULTIVOS

TESIS

“EFECTO DE CUATRO DOSIS DE ÁCIDO- 3-INDOL BUTÍRICO EN EL ENRAIZAMIENTO DE ÁPICES Y SEGMENTOS NODALES DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.).”

PRESENTADO POR LA BACHILLER:

MAR ASUNCIÓN GÁRATE NAVARRO



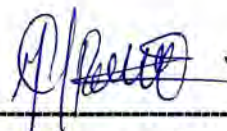
Ing. SEGUNDO DARIO MALDONADO VÁSQUEZ
PRESIDENTE



Ing. EYBIS JOSÉ FLORES GARCÍA
MIEMBRO



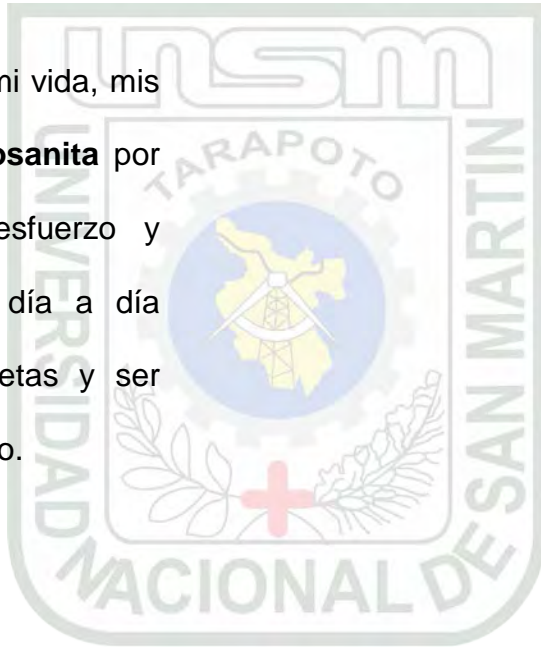
Ing. M.Sc. GUILLERMO VÁSQUEZ RAMÍREZ
MIEMBRO



Ing. MARÍA EMILIA RUÍZ SÁNCHEZ
ASESOR

DEDICATORIA

A los arquitectos de mi vida, mis padres: **Ruperto** y **Rosanita** por la confianza, gran esfuerzo y sacrificio que hacen día a día para alcanzar mis metas y ser una profesional de éxito.



A mis hermanos **Karen** y **Hans**, por el apoyo incondicional y porque al igual que mis padres son el motivo que me permite seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por la vida y la salud que nos concede cada día y por permitirme cumplir lo que me he trazado.

A la Universidad Nacional de San Martín y a los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias que contribuyeron en la formación de mi carrera profesional.

A la Ing. María Emilia Ruíz Sánchez asesora del presente trabajo de investigación.

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de investigación en su prestigiosa institución y por todo el apoyo brindado.

Al Ing. Juan Carlos Guerrero Abad, por la confianza, el apoyo técnico y el tiempo que ocupó en impartirme parte de su conocimiento en la realización del presente trabajo.

A mis padres, hermanos, amigos, técnicos del Laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales y a todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron en mi formación profesional.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVO	3
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO	4
3.1.1.- Origen Y Distribución.	4
3.1.2.- Clasificación Botánica	5
3.1.3.- Morfología General	5
3.1.4.- Condiciones Edafoclimáticas Para Su Cultivo	6
3.2. CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES IN VITRO	7
3.2.1.- Generalidades	7
3.2.2.- Fases De La Propagación In Vitro	7
3.2.3. Regeneración De Plantas Mediante Organogénesis	9
3.2.4. Cultivo De Meristemas Apicales	11
3.2.5. Medios Nutritivos Para Cultivo In Vitro De Plantas	12
3.3. HORMONAS DE LAS PLANTAS	13
3.3.1. Generalidades	13
3.3.2. Auxinas	14
3.3.2.1. Ácido Indol Butírico (AIB)	15
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	
4.1. METODOLOGÍA	17
4.1.1. Ubicación del Experimento.	17
4.1.1.1. Ubicación Política.	17
4.1.1.2. Ubicación Geográfica.	17

4.1.1.3. Duración del trabajo experimental	18
4.1.2. Descripción del Experimento	18
4.1.3. Componentes en Estudio	18
4.1.4. Combinación de Tratamientos	19
4.1.5. Desarrollo de Estudio Para La Prueba De Enraizamiento	19
4.1.5.1. Selección y Preparación de las Plantas Madres	19
4.1.5.2. Medio De Cultivo y Preparación.	20
4.1.5.3. Recolección del Material Vegetativo	21
4.1.5.4. Desinfestación e Introducción Del Mat. Vegetal.	22
4.1.5.5. Siembra de Explantes	23
4.1.5.6. Incubación de Explantes.	24
4.1.5.7. Preparación del Medio de Cultivo	24
4.1.5.8. Siembra de Explantes.	26
4.1.5.9. Incubación de Explantes	26
4.2. PARAMETROS EVALUADOS	27
V. RESULTADOS	30
VI. DISCUSIONES	46
VII. CONCLUSIONES	63
VIII. RECOMENDACIONES	64
IX. BIBLIOGRAFÍA	67
RESÚMEN	
SUMMARY	
ANEXO	

I. INTRODUCCIÓN

El Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), es una planta oriunda del Perú, por ser utilizada desde nuestro incanato como sustituto alimenticio y por encontrarse en forma silvestre conviviendo con las comunidades nativas y zonas rurales de la región San Martín.

En la actualidad esta especie, está considerado dentro del grupo de las oleaginosas más importantes porque sus semillas contienen más del 57% de aceite, y potencialmente es un cultivo alternativo para los agricultores de la Región San Martín, gracias a su importancia alimenticia, cultural e histórica, y a la buena adaptación a las condiciones de clima y suelo.

El cultivo de sachá inchi, carece de semillas seleccionadas que aseguren una buena producción de grano seco, altos rendimientos de aceite con buenos contenidos de ácidos grasos y tolerancia al complejo nemátodo – Fusarium que es el principal patógeno que afecta su normal desarrollo, poniendo en riesgo la sostenibilidad del cultivo. A nivel de la Amazonía Peruana, existe alta variabilidad genética entre los genotipos, que ocasionan los problemas antes mencionados.

Debido a la gran importancia y a la problemática que afecta al cultivo, es necesario realizar trabajos de investigación que contribuyan al manejo agronómico y a su mejoramiento genético. Presentando al cultivo *In Vitro* de tejidos vegetales, como una alternativa de reproducción y conservación en condiciones totalmente asépticas;

a partir de un pequeño segmento inicial de tejido es posible regenerar en poco tiempo grandes volúmenes de plantas genéticamente iguales a la planta madre, en espacios reducidos, libres de patógenos, por medio de variables físicas y químicas controladas en un medio de cultivo (Delgado y Rojas, 1999).

El Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) dentro del marco del Sub proyecto: “Desarrollo de Tecnologías en Propagación Clonal de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en San Martín”, en convenio con la Universidad Nacional de San Martín a través de su Laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales se propuso el presente trabajo de investigación en la prueba de diferentes dosis de Ácido-3-indol butírico en el enraizamiento de ápices y segmentos nodales.

El establecimiento de esta metodología contribuirá con la facilitación de un protocolo de propagación clonal in vitro de sachá inchi, lo cual permitirá disponer de semilla clonada selecta, para la ampliación y mejoramiento de áreas productivas de la Región San Martín y otras regiones del Perú. Contribuyendo a la mejora de los ingresos económicos para los productores.

II. OBJETIVO

- 2.1. Determinar el efecto de cuatro dosis de Ácido - 3 - Indol butírico en el enraizamiento de ápices y segmentos nodales de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.).



III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO

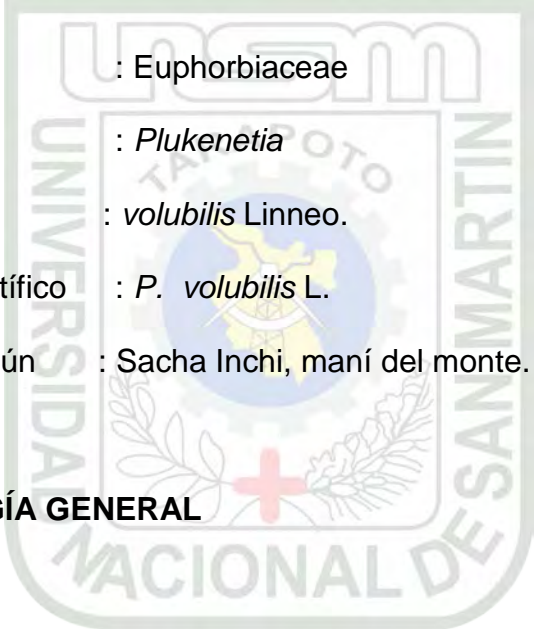
3.1.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.

El género *Plukenetia* comprende 17 especies de distribución pantropical (12 de América, 3 de África, 1 de Madagascar y 1 de Asia), Gillespie (1993), Jiménez (1993) y Webster, (1994), en México se encuentran *P. carabiasiae* J. Jiménez Ram., *P. penninervia* Müell. Arg. y *P. stipellata* L.:J. Gillespie (1993), mencionado por, (Galluser, 2004).

El Sacha Inchi es una planta voluble, trepadora y semileñosa; fue descrita en 1753, botánicamente pertenece a la Familia Euphorbiaceae; está distribuída en el trópico latinoamericano por el sur de México, Indias Occidentales, la Amazonía y el Acre de Bolivia, en nuestro país se ha recolectado en Madre de Dios, Huanuco, Oxapampa, San Martín, Rodríguez de Mendoza, Ucayali (Pucallpa, Contamana y Requena), Putumayo, Iquitos, Junín, Cuzco y Caballococha, (Valles, 1991).

3.1.2. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

Clasificación botánica mencionada por (Mostacero *et al.*, 2002).



Familia	: Euphorbiaceae
Género	: <i>Plukenetia</i>
Especie	: <i>volubilis</i> Linneo.
Nombre científico	: <i>P. volubilis</i> L.
Nombre común	: Sacha Inchi, maní del monte.

3.1.3. MORFOLOGÍA GENERAL

La planta de sachá inchi es trepadora, voluble, semileñosa, de crecimiento indeterminado; las hojas son alternas, de color verde oscuro, oval-elípticas, aseruladas, el ápice es puntiagudo y la base es plana o semiarriñonada; las flores masculinas, son pequeñas, blanquecinas dispuestas en racimos; las femeninas se encuentran en la base del racimo y ubicadas lateralmente de una a dos flores; los frutos son cápsulas dehiscentes de 3,5 a 4,5 cm. de diámetro, con cuatro lóbulos aristados (tetralobados) dentro de las cuales se encuentran cuatro semillas, aunque algunos ecotipos presentan cápsulas con cinco a siete lóbulos; la semilla en la mayoría de los ecotipos es ovalada, de color marrón oscuro, ligeramente abultada en el centro y aplastadas hacia el borde. Según los ecotipos, el diámetro fluctúa entre 1,3 y 2,1 cm (Manco, 2006).

3.1.4. CONDICIONES EDAFOCLIMATICAS PARA SU CULTIVO

El Sacha Inchi se adapta desde los 100 a 2 000 m.s.n.m; registrándose así mismo las mejores semillas (> 12mm) en plantaciones establecidas desde los 600 m.s.n.m., así mismo se menciona que los parámetros de temperaturas adaptables a esta planta está entre 10 y 36°C, las temperaturas altas son desfavorables porque ocasiona aborto en flores y la conformación de semillas pequeñas (Manco, 2005).

Uno de los factores ecológicos importantes en esta especie es la luz, mientras más luz reciba la cubierta vegetal mayor es la población de brotes, flores y frutos. En tanto la disponibilidad del agua al inicio es importante en el marco de la siembra directa y dentro del transplante si se hace mediante vivero, es indispensable también en su etapa de giamiento y dentro de la floración y fructificación, al efectuar los riegos tratar de hacer a su capacidad de campo y no encharcarlos para evitar el riesgo de favorecer condiciones que permiten elevar altas poblaciones del Nemátodo del nudo (*Meloidogyne spp.*) (Guerrero, 2006).

Esta planta se adapta a suelos ácidos con contenidos muy significativos en aluminio, así mismo prospera en áreas pobladas por shapumba (*Pteridium aquilinun*) y Cashucsha (*Imperata brasiliensis*) (Valles, 1991).

3.2.- CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES IN VITRO

3.2.1.- GENERALIDADES

El cultivo de tejidos en su acepción amplia es un grupo heterogéneo de técnicas que consiste esencialmente en aislar una porción de la planta (explante) y proporcionarle artificialmente las condiciones físicas y químicas apropiadas para que las células expresen su potencial intrínseco o inducido. Además la investigación en cultivos de tejidos vegetales incluye un rango amplio, desde la investigación básica sobre los procesos fisiológicos ocurridos *in vitro*, hasta llegar a las investigaciones aplicadas y al desarrollo de tecnologías en la propagación clonal o en el mejoramiento genético de plantas (Roca y Mroginski, 1991).

3.2.2.- FASES DE LA PROPAGACIÓN IN VITRO

Murashige (1974), menciona que las fases del cultivo in vitro de plantas es la siguiente, mencionado por (Delgado y Rojas, 1999).

FASE 0: SELECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA PLANTA MADRE

En esta fase se debe tener en cuenta que la planta a propagar deberá representar a la especie, no debe presentar signos de enfermedad y se debe seleccionar una modalidad de pre-tratamiento para volver funcional la estrategia que se adopte.

FASE I: CULTIVO ASÉPTICO Y ESTABLECIMIENTO

Fase muy importante ya que de ella dependerá que los cultivos que se estén manejando no se contaminen, garantizando su supervivencia en las nuevas condiciones de cultivo.

FASE II: PRODUCCIÓN DE PROPÁGULOS (MULTIPLICACIÓN)

En este estado las semillas, callos, raíces, meristemos, etc., entran en desarrollo acelerado ya sea en su desarrollo en sí o en su producción de protocormos, después de los cuales se inicia la diferenciación de estas nuevas plántulas.

FASE III: ENRAIZAMIENTO Y PREPARACIÓN PARA EL CRECIMIENTO EN EL MEDIO AMBIENTE

Lo que se busca en esta etapa, es lograr que las plántulas ya diferenciadas inicien su enraizamiento y desarrollo con la cual estas plántulas estarán aptas para ser sometidas a la etapa de aclimatación.

FASE IV: ACLIMATACIÓN Y TRANSFERENCIA AL MEDIO AMBIENTE NATURAL

Referido a plántulas que van a iniciar un proceso en el cual serán introducidas progresivamente a condiciones de cultivo y/o campo definitivo, es una etapa donde los porcentajes de pérdidas pueden ser elevados, pero que con un manejo

adecuado estas plántulas podrán ser acondicionadas para crecer en el medio natural.

FASE V: CRECIMIENTO EN EL CAMPO DEFINITIVO

Las plántulas en esta etapa ya pueden producir hojas y demás órganos, soportando con facilidad los cambios bruscos del ambiente.

3.2.3. REGENERACIÓN DE PLANTAS MEDIANTE ORGANOGÉNESIS

Todas las células de los vegetales tienen la capacidad de poder formar plantas completas, quiere decir que estas plantas tienen un grado de totipotencialidad, mencionado por Haberlandt (1902), citado por Krikorian *et al.*, (1969).

La organogénesis *in vitro* describe una variedad de secuencias complejas de desarrollo que resultan de la manipulación experimental de partes de una planta. El resultado es la formación de yemas, raíces y flores, directamente a partir del explante o indirectamente a partir del callo. El proceso organogénico depende no solo de las características inherentes del explante sino también de la influencia que sobre él ejercen los componentes del medio de cultivo y los factores ambientales de incubación (Delgado y Rojas, 1999).

Muchos factores influyen en la conducta del explante en el medio de cultivo (Murashige, 1962). Estos incluyen (1) el órgano que está sirviendo como la fuente de tejido, (2) la edad fisiológica y ontogénica del órgano, (3) la estación en que el explante es obtenido, (4) el tamaño del explante y (5) las cualidades globales de la planta de la cual se ha obtenido el explante (Torres *et al.*, 1998).

La formación y el desarrollo de raíces a partir de estacas puede dividirse en cuatro etapas: inducción y diferenciación de un grupo de células meristemáticas (inicio de división celular); aumento de las divisiones celulares para formar los primordios iniciales (aún no determinados); organización de estos grupos en primordios radicales (cuando hay aproximadamente 1500 células en cada primordio inicial) y crecimiento, diferenciación y emergencia de las nuevas raíces, incluyendo la ruptura de tejidos superficiales para permitir su salida y la conexión con los tejidos vasculares de la estaca (Botti, 1999).

Para explicar el proceso de inducción de raíces, normalmente se recurre a la teoría desarrollada por Bouillene, la cual establece que un compuesto fenólico (posiblemente dehidroxifenol) actúa como cofactor del enraizamiento. Dicho cofactor es producido en hojas y yemas de la estaca, siendo translocado posteriormente a la región de enraizamiento, donde en presencia de un cofactor no específico (auxinas), y de una enzima específica localizada en las células de ciertos tejidos (polifenol oxidasas), completan un complejo (rizocalina) que actúa como

estimulante de la rizogénesis. Los factores que componen este complejo, junto con otros determinantes de naturaleza endógena y ambiental, harían posible el enraizamiento, mientras que la ausencia de algunos de ellos la impediría (Gutierrez, 1995).

3.2.4. CULTIVO DE MERISTEMOS APICALES

El meristema apical está conformado por una cúpula diminuta, brillante, de color blanco cremoso a blanco verdoso, de 0,1 a 0,3 mm de diámetro y 0,25 mm de altura, que ha sido denominada como ápice; ésta región está a su vez acompañada por dos pequeñas estructuras foliares o esbozos foliares (Delgado y Rojas, 1999).

El método por esquejes de segmentos nodales, consiste en el aislamiento de una yema, junto con una porción de tallo, para obtener un vástago a partir de una yema. Este es el método más natural de propagación vegetativa de plantas *In Vitro*. Cada una de las yemas que se encuentran en las axilas de las hojas, idénticas a las del ápice del tallo, pueden ser aislados sobre un medio nutritivo, intentándose así su desarrollo *In Vitro*, realizándose los repicados cuando son necesarios (Lucas, 2001).

3.2.5. MEDIOS NUTRITIVOS PARA CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS

El crecimiento de las células y tejidos cultivados a nivel *In Vitro*, requieren de compuestos orgánicos e inorgánicos dispuestos en diversas concentraciones de macro y micro sales, compuestos carbonados, vitaminas, hormonas, aminoácidos; participando en una forma responsable y activa en el crecimiento de los explantes introducidos (Krikorian, 1991). 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 planta intacta, generalmente se derivan de las células verdes (Pierik, 1990).

El éxito que se obtenga de un cultivo de tejidos vegetales depende el uso del medio nutritivo adecuado, como también el empleo de tejidos viables, incubación, calidad de reactivo, etc. Usando las sustancias químicas necesarias y las combinaciones apropiadas de nutrientes, así como su forma química adecuada ha sido posible establecer cultivos para casi todas las partes de la planta en diversas especies vegetales (Hurtado y Merino, 1994).

Probablemente las fórmulas estándares mejores conocidas son aquellas desarrolladas por Murashige y Skoog (1962). Este medio fue formado inicialmente para desarrollar brotes de plantas herbáceas en las todas las fases de cultivo (Mejía, 1994).

3.3. HORMONAS DE LAS PLANTAS

3.3.1. Generalidades

El desarrollo normal de una planta depende de la interacción de factores externos (luz, nutrientes, temperatura) e internos (hormonas). Los reguladores de crecimiento son compuestos orgánicos distintos de los nutrientes, que en pequeñas cantidades estimulan, inhiben o modifican de algún modo cualquier proceso fisiológico en las plantas, los cuales son producidos en una parte de ella y transferidos a otras, en la cual influyen un proceso específico, mencionado por Hurtado y Merino (1994). Las fitohormonas pertenecen a cinco grupos conocidos de compuestos, se incluyen al etileno, auxinas, giberelinas, citoquininas y el ácido abscísico, cada uno con una estructura particular y activos a muy bajas concentraciones dentro de la planta cada una de las cuales exhiben propiedades fuertes de regulación de crecimiento en plantas y secciones cortadas de éstas (Gonzales y Raciman, 2003).

El efecto de la aplicación exógena de los reguladores de crecimiento sobre el crecimiento y desarrollo de células, tejidos y órganos está fuertemente influenciado por otros factores como las condiciones ambientales de cultivo, el tipo de explante y el genotipo, (Delgado y Rojas, 1999).

3.3.2. AUXINAS

Se sintetiza principalmente en el ápice del tallo y las ramas jóvenes, en las yemas y hojas jóvenes, y en general en los meristemos (Roca y Mroginski, 1991). Tienen la capacidad de producir alargamiento celular, sin embargo se ha encontrado al mismo tiempo que promueven la división celular en el cultivo de tejidos. Frecuentemente fomentan el desarrollo de callos y generalmente ejercen el control primario en el crecimiento de tallos y raíces (Hurtado y Merino, 1994).

Las auxinas son los únicos reguladores de crecimiento que aumentan consistentemente la formación de primordios radicales, pero menos en tejidos que naturalmente presentan cierta predisposición al enraizamiento (Haissig, 1974). Además, las auxinas intervienen en el crecimiento del tallo, inhibición de yemas laterales, abscisión de hojas y de frutos, activación de las células del cambium y otras (Salisbury, 2000).

Todas las formas de crecimiento de la raíz inicial o en longitud, o en la forma de raíces cortas o gruesas, se desarrollan por un tratamiento hormonal apropiado. Muchas especies requieren auxinas fuertes como Ácido Naftalen Acético (ANA) y el Ácido -3- Indol Butírico (AIB), para estimular la formación de raíces (Gonzales y Raciman, 2003). Las bases fisiológicas para la iniciación de los primordios radicales, parecen estar correlacionados con el nivel de auxina presente en los tejidos o un

balance entre auxina y otros constituyentes. En algunos casos se ha observado que concentraciones relativamente altas podrían estar relacionadas con deficiencias en la absorción, transporte o modo de acumulación de la auxina (Devlin, 1980).

Las yemas pueden ser una fuente de inhibidores de enraizamiento y su efecto se ve incrementado con el uso de reservas por la aceleración en la emisión de brotes, que genera una gran actividad metabólica dejando en déficit a las necesidades para la emisión de raíces, (Hartman y Kester, 1991).

La falla de enraizado puede atribuirse a una concentración excesiva de las sustancias promotoras de iniciación radical, pudiendo esta provocar un crecimiento desordenado de las células precursoras de raíces, produciendo una formación callosa, parecida a un tumor. Si aplicamos auxinas a la base de los segmentos, se provocará una hinchazón de color blanco amarillento en la zona de contacto con la auxina. Esta hinchazón es debida al desarrollo de callo, producida por la rápida división de las células (Audus, 1975).

3.3.2.1. Ácido Indol Butírico (AIB)

El Ácido -3- indol butírico, es una auxina sintética químicamente similar al Ácido Indol Acético (AIA), auxina producida naturalmente por las plantas, que en la mayoría de las especies

ha demostrado ser más efectiva que cualquier otra y es actualmente la de mayor uso como sustancia promotora de enraizamiento. Tiene la ventaja de que no es tóxica en un amplio rango de concentraciones, no es degradada fácilmente por la luz o microorganismos y al ser insoluble en agua, permanece por más tiempo en el sitio de aplicación donde puede ejercer un mayor efecto (Mesén, 1998).

El Ácido -3- indol butírico no tiene la misma acción sobre la rizogénesis con respecto a otras y la causa radica en las prioridades secundarias de su molécula: facilidad de penetración y rapidez de conducción dentro de la planta (Beaulieu, 1973).

El sachá inchi se propaga comúnmente por semilla, aunque también se puede realizar la propagación asexual (Estacas, injertos, cultivo in Vitro, etc). Según ensayo preliminar realizado en la Estación Experimental El Porvenir, indica que el mayor número de raíces se obtuvo con la dosis 0,2% de Ácido -3- indol butírico (AIB), con 25,94 raíces emitidas, aumentando en 86% con respecto a los valores observados con el testigo (sin hormona) (Ruiz, 2003).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. METODOLOGÍA

4.1.1. Ubicación del Experimento.

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto; perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias.

4.1.1.1. Ubicación Política.

Departamento : San Martín

Provincia : San Martín

Distrito : Morales

4.1.1.2. Ubicación Geográfica.

Longitud Oeste : 76° 21'

Latitud Sur : 6° 29'

Altitud : 350 m.s.n.m.m.

4.1.1.3. Duración del trabajo experimental

Tuvo una duración de 13 meses.

4.1.2. Descripción del Experimento

El desarrollo del presente trabajo de investigación comprendió una Prueba de enraizamiento, para esta prueba se usó un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 2 x 4; con 8 tratamientos y 4 repeticiones por tratamiento, evaluándose las respuestas de 2 tipos de explante (ápices y segmentos nodales), tanto de explantes obtenidos de condiciones *in vitro* y *ex vitro* a las diferentes concentraciones hormonales de Ácido -3- indol butírico (25; 50; 100 y 200 ppm).

4.1.3. COMPONENTES EN ESTUDIO

Cuadro 1: Niveles de Ácido 3 Indol butírico (AIB) para el enraizamiento de ápices y segmentos nodales.

Factor A	Tipo de Explante	a ₁	a ₂		
		ápice	Segmento nodal		
Factor B	AIB: ppm	b ₁	b ₂	b ₃	b ₄
		25	50	100	200

4.1.4. COMBINACION DE TRATAMIENTOS

Cuadro 2: Combinación de Tratamientos para la prueba de enraizamiento.

Niveles del Factor A	Niveles del Factor B	Clave	Tipo de explante	Dosis AIB ppm
a ₁	b ₁	a ₁ b ₁	Ápice	25
	b ₂	a ₁ b ₂	Ápice	50
	b ₃	a ₁ b ₃	Ápice	100
	b ₄	a ₁ b ₄	Ápice	200
a ₂	b ₁	a ₂ b ₁	Seg. nodal	25
	b ₂	a ₂ b ₂	Seg. nodal	50
	b ₃	a ₂ b ₃	Seg. nodal	100
	b ₄	a ₂ b ₄	Seg. nodal	200

4.1.5. DESARROLLO DE ESTUDIO PARA LA PRUEBA DE ENRAIZAMIENTO

4.1.5.1. SELECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS PLANTAS MADRES

Las plantas donantes se seleccionaron de 1 accesión selecta, del campo de multiplicación de sachá inchi en el Centro Experimental "Pucayacu" – Bello Horizonte, perteneciente al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP-San Martín). El cual se encuentra

ubicado a 9.0 Km de la ciudad de Tarapoto. Para las cuales se estableció un calendario de control fitosanitario y nutricional con la finalidad de preparar al material parental.



Fig. 1: Fertilización de sachá inchi.



Fig. 2: Acondicionamiento de plantas.

4.1.5.2.- MEDIO DE CULTIVO Y PREPARACIÓN

Primera Etapa

La primera etapa consistió en la inducción del enraizamiento, para lo cual se preparó un volumen inicial de 0.8 l de solución (M&S y B5)*, al cual se le adicionó, 10mg/l de ácido cítrico, 20g/l de sucrosa, 7 g/l de Agar - Agar fraccionada en 4 partes (de 200 ml cada una), al cual se les agregó diferentes concentraciones de Ácido – 3 indol butírico (AIB) (25; 50; 100 y 200 ppm), realizando la combinación de tratamientos puesto en estudio en el cuadro 2; calibrando el pH a 5,7 para todos los tratamientos. Estos fueron dispensados en frascos de 15 onzas con un volumen de 50 ml por frasco, los cuales fueron

tapados con papel aluminio, luego con papel reciclado y autoclavados a una presión de 15 lb por 20 minutos hasta alcanzar una temperatura de 121 °C; siendo posteriormente enfriados a temperatura ambiente y almacenados en refrigeración a una temperatura de 10 grados centígrados. Para la preparación de este medio se utilizó el procedimiento sugerido por George (1992).



Fig. 3: Autoclavando Medio de



Fig. 4: Preparando Stocks.

4.1.5.3. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Luego de haber preparado las plantas donantes, con ayuda de una tijera quirúrgica y una pinza mediana de punta roma, previamente desinfectadas con alcohol a 96°, se colectaron brotes terminales de 2 cm de longitud en un erlenmeyer de 150 ml, conteniendo agua destilada estéril para evitar el estrés producto del corte efectuado.

En esas condiciones fueron conducidas al Laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, para su tratado y desinfestación correspondiente.



Fig. 5: Ápice de Sacha inchi.



Fig. 6: Recolección del Material vegetal.

4.1.5.4. DESINFESTACIÓN E INTRODUCCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Se acondicionó en la cámara de flujo laminar los equipos y materiales necesarios para el proceso de desinfestación, así mismo los explantes colectados se sumergieron en una solución de alcohol a 70° por espacio de 10 segundos, luego en la solución de Hipoclorito de Sodio al 0.5 %.

Una vez terminada el proceso de desinfestación se realizó 4 enjuagues con agua destilada estéril por lapso de 1 minuto por enjuague y en constante agitación, luego se separaron de

los explantes esterilizados, segmentos nodales y ápices de 5 mm cada uno, los mismos se colocaron en una placa petri estéril conteniendo una fina película de agua destilada estéril para evitar la deshidratación de los explantes extraídos.



Fig. 7: Desinfestación del mat. vegetal



Fig. 8: Enjuague de los explantes.

4.1.5.5. SIEMBRA DE EXPLANTES

Primera etapa

Se inocularon ápices y segmentos en frascos de 15 onzas conteniendo el medio de cultivo preparado para la Prueba de Enraizamiento.

En este primer medio nutritivo permanecieron 7 días que fue el tiempo para inducir para el enraizamiento de los explantes.

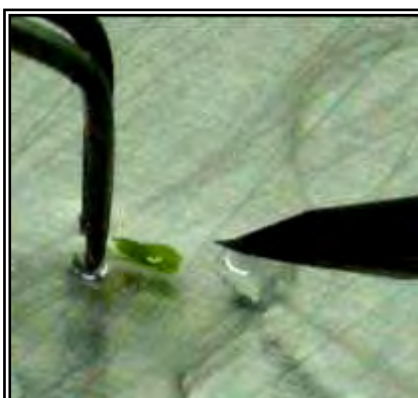


Fig. 9: Ápice separado del segmento.



Fig. 10: Segmento sembrado

4.1.5.6. INCUBACIÓN DE EXPLANTES

Los explantes fueron incubados a una temperatura promedio de 24°C, H.R: 46%, intensidad luminosa 700 lux y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad.



Fig. 11: Segmentos nodales



Fig. 12: Segmento nodal.

4.1.5.7. Preparación del Medio de Cultivo

Segunda Etapa

Luego de haber permanecido todos los explantes en el medio de inducción de enraizamiento, distribuidos según los tratamientos,

se pasaron a un medio líquido, en la cual permanecieron para la iniciación y alargamiento de las raíces.

Con todos los tratamientos anteriores se trabajó para iniciar el enraizamiento de ápices y segmentos nodales en un medio de cultivo líquido, para ello se preparó un volumen inicial de 1.4 l de solución (Murashige & Skoog 1962 y B5), al cual se le adicionó 100 mg/l de myo-inositol, 10mg/l de ácido cítrico, 20g/l de sucrosa, sin agente gelificante, ni carbón activado, calibrando el pH a 5,3. Estos fueron dispensados en frascos de 15 onzas a un volumen de 15 ml por frasco, conteniendo una doble capa de papel toalla y una capa de papel filtro Watman N° 01, los cuales sirvieron de puente entre el explante y el medio de cultivo líquido, luego fueron tapados con papel aluminio, luego con papel reciclado y autoclavados a una presión de 15 lb por 15 minutos a una temperatura de 121 °C; siendo posteriormente enfriados a temperatura ambiente y almacenados en refrigeración a una temperatura de 24 °C.



Fig13:Preparación del medio líquido



Fig14: Medios de cultivo para plantas

4.1.5.8. SIEMBRA DE EXPLANTES

Segunda etapa

Pasado 7 días que fue el tiempo de inducción para el enraizamiento de los explantes y teniendo en cuenta la distribución de los tratamientos, se pasaron a un medio líquido, para propiciar la iniciación y salida de las raíces.



Fig. 15: Explantes enraizados

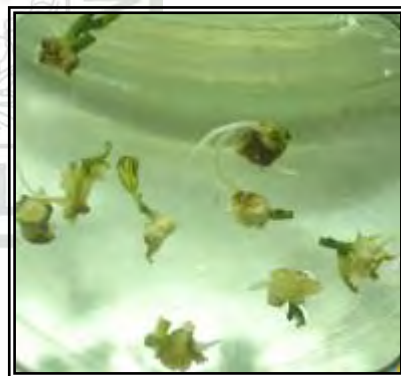


Fig.16 Explantes a los 15 días.

4.1.5.9. INCUBACIÓN DE EXPLANTES

Los explantes fueron incubados a una temperatura promedio de 24°C, H.R: 46%, intensidad luminosa 700 lux y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad.



Fig. 17: Incubación de explantes.



Fig. 18: Incubación de explantes.

4.2. PARAMETROS EVALUADOS

4.2.1. PRUEBA DE ENRAIZAMIENTO

Las evaluaciones para la prueba de enraizamiento de los ápices y segmentos nodales se realizaron a los 15 días considerando los siguientes parámetros:

- Número de raíces

Con ayuda de una pinza de punta roma se sacaron los ápices y segmentos nodales del frasco, se levantaron lentamente y mediante la observación directa se contó el número total de raíces producidas por explante, ya sea producida directamente por el tejido vascular o indirectamente producida por la formación de callo.



Fig.19:Segmentos enraizados

- Longitud de Raíces

Las plántulas se retiraron del frasco y se colocaron en placas petri, debajo de estas se colocó 1 papel milimetrado, y se evaluó todas las raíces midiendo en milímetros desde la base hasta el ápice de la raíz.



Fig 20: Rhizogénesis en ápices (03 días en papel filtro)



Fig. 21:Segmento enraizado

- Número de raíces producidas del callo

Se contó sólo las raíces formadas a partir del callo.



Fig N° 22: Ápice con estructuras callosas internas



Fig. 23: Raíces formadas a partir de callo.

- Número de raíces producidas del tejido vascular

Se contó sólo las raíces producidas directamente por el tejido vascular.



Fig. 24: Raíz producida de tejido vascular.

V. RESULTADOS

5.1. Enraizamiento de ápices y segmentos nodales con explantes tomados de condiciones *In Vitro*.

Cuadro 3: Análisis de varianza para el número de raíces en ápices y segmentos nodales a los 15 días de evaluación,

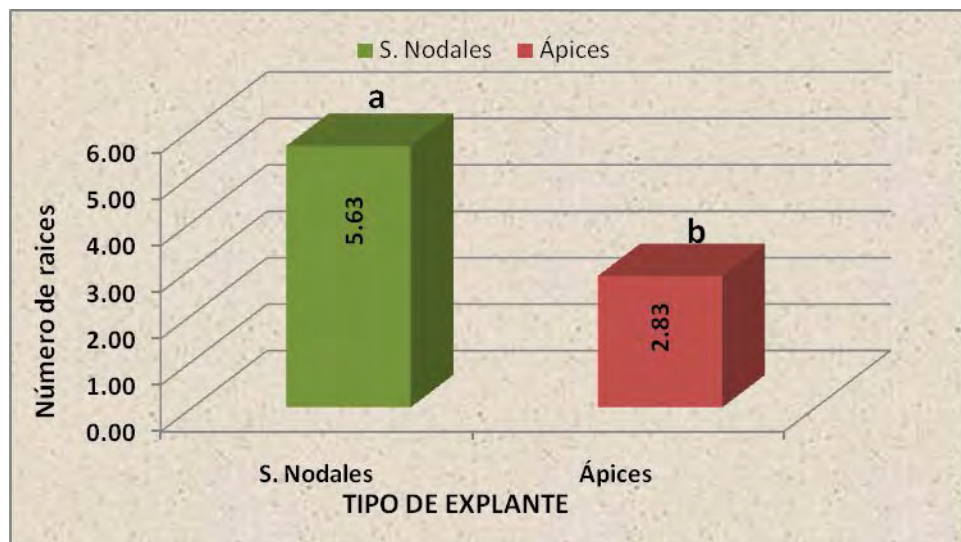
F.V	G.L	SC	CM	Fc	Ft(0,05 - 0,01)	Signf,
Factor A	1	62,36	62,36	321,49	(4,26 - 7,82)	**
Factor B	3	21,24	7,08	36,5	(3,01 - 4,72)	**
Factor A*Factor B	3	66,55	22,18	114,38	(3,01 - 4,72)	**
Error	24	4,66	0,19			
Total	31	154,8				

**= Altamente significativo,

Promedio = 4, 22 raíces

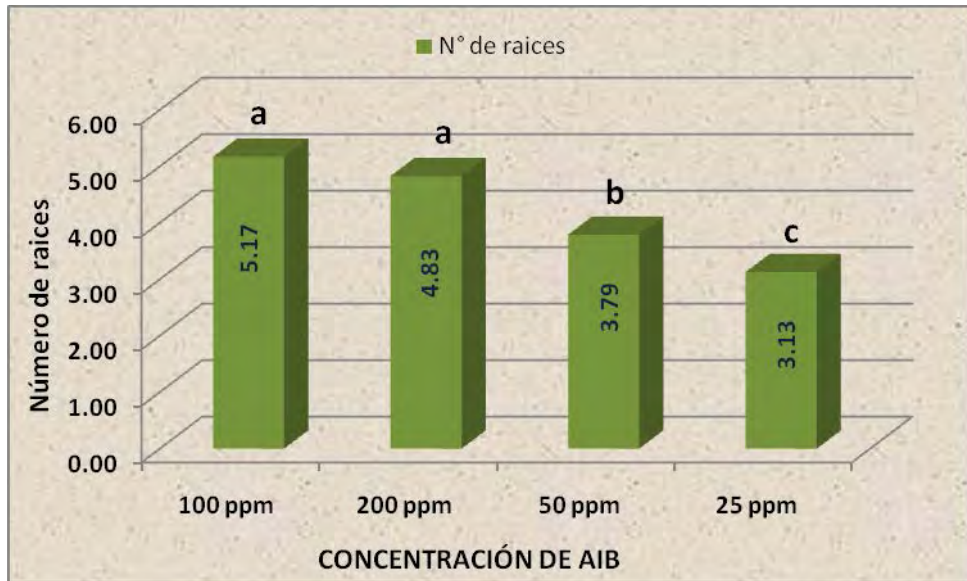
$R^2 = 96,00\%$

C.V. = 10,41%



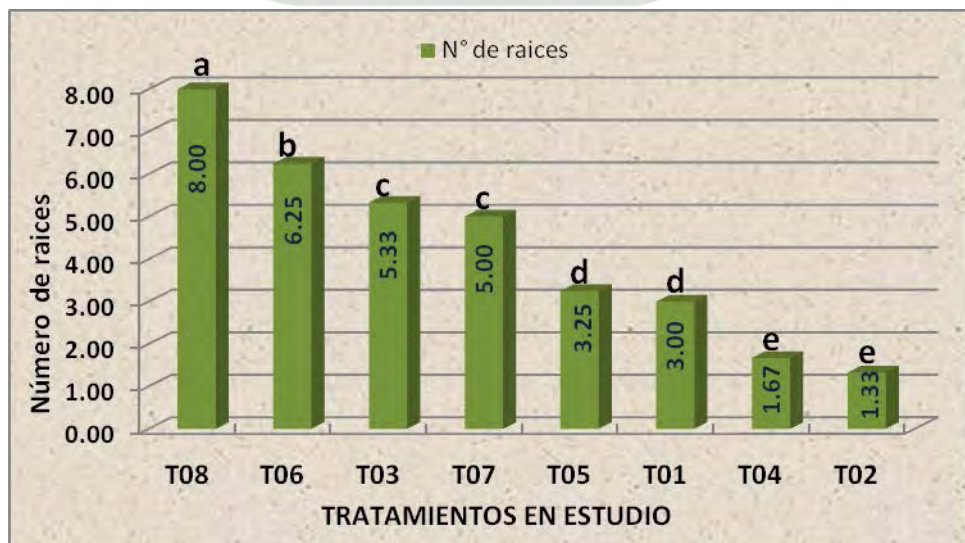
Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b) difieren estadísticamente entre sí.

Gráfico 1: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal tipo de explante (A), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 2: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 3: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante (A) x concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.

Cuadro 4: Análisis de varianza para la longitud de raíces (mm) en ápices y segmentos nodales a los 15 días de evaluación.

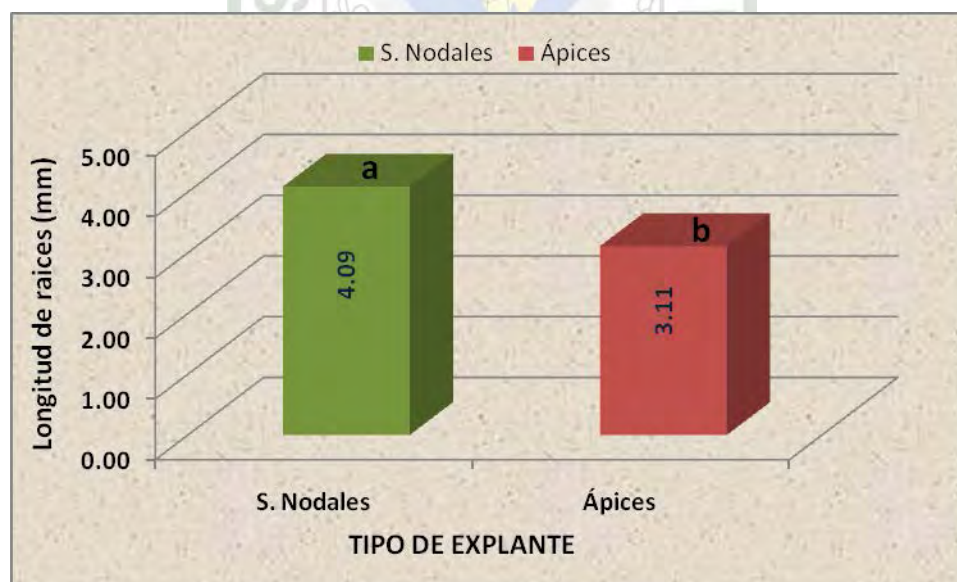
F.V	G.L	SC	CM	Fc	Ft(0,05 - 0,01)	Signf,
Factor A	1	7,66	7,66	267,57	(4,26 - 7,82)	**
Factor B	3	8,17	2,72	95,11	(3,01 - 4,72)	**
Factor A*Factor B	3	3,61	1,2	42,05	(3,01 - 4,72)	**
Error	24	0,69	0,03			
Total	31	20,14				

**= Altamente significativo,

Promedio =3,60 mm

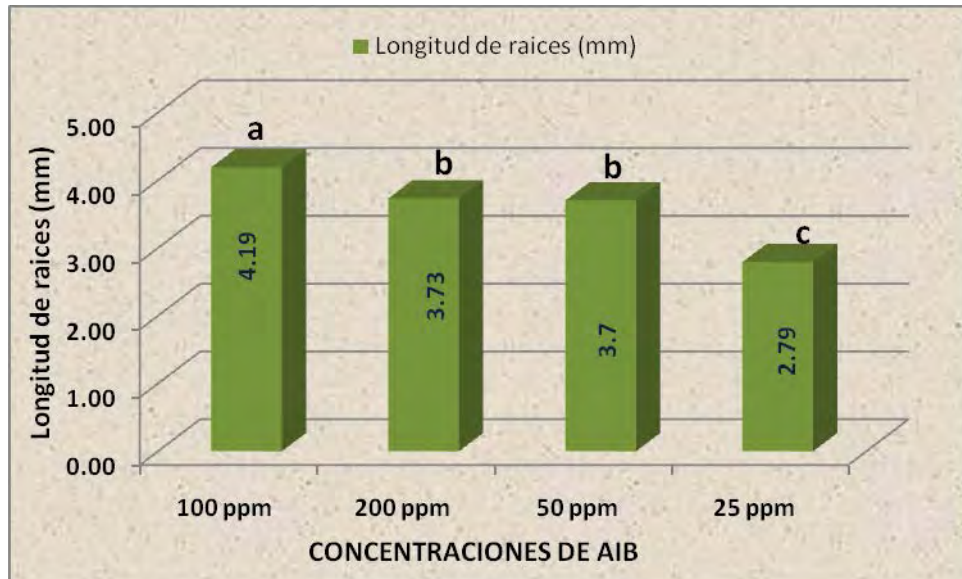
$R^2= 96,00 \%$

C.V=4,7%



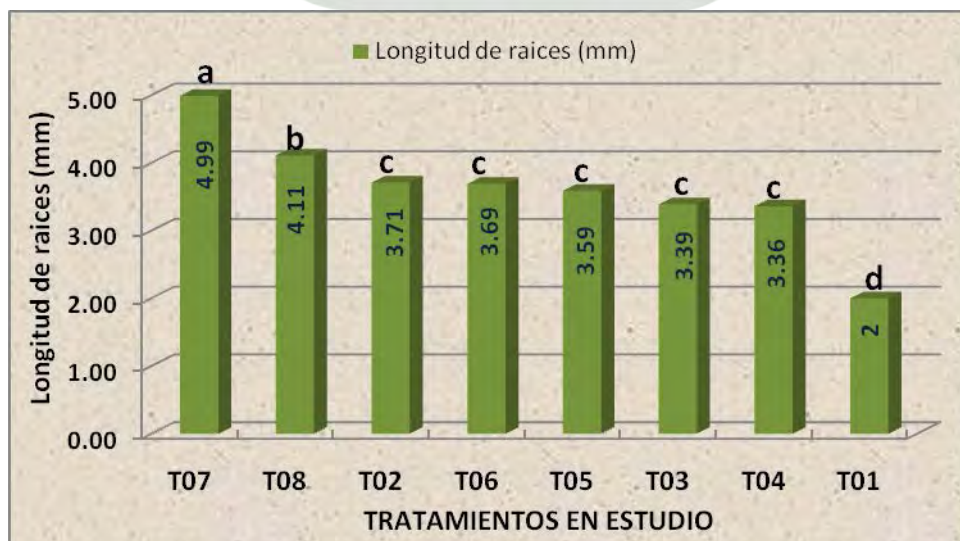
Prueba de Duncan ($p<0,01$) letras diferentes (a, b) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 4: Prueba de Duncan ($p<0,01$) para el efecto principal tipo de explante (A), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 5: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 6: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante (A) x concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.

Cuadro 5: Análisis de varianza para el número de raíces originadas de callo en ápices y segmentos nodales a los 15 días de evaluación.

F.V	G.L	SC	CM	Fc	Ft(0,05 - 0,01)	Signf,
Factor A	1	86,68	86,68	56,26	(4,26 - 7,82)	**
Factor B	3	12,82	4,27	2,77	(3,01 - 4,72)	N.S
Factor A*Factor B	3	79,82	26,61	17,27	(3,01 - 4,72)	**
Error	24	36,97	1,54			
Total	31	216,29				

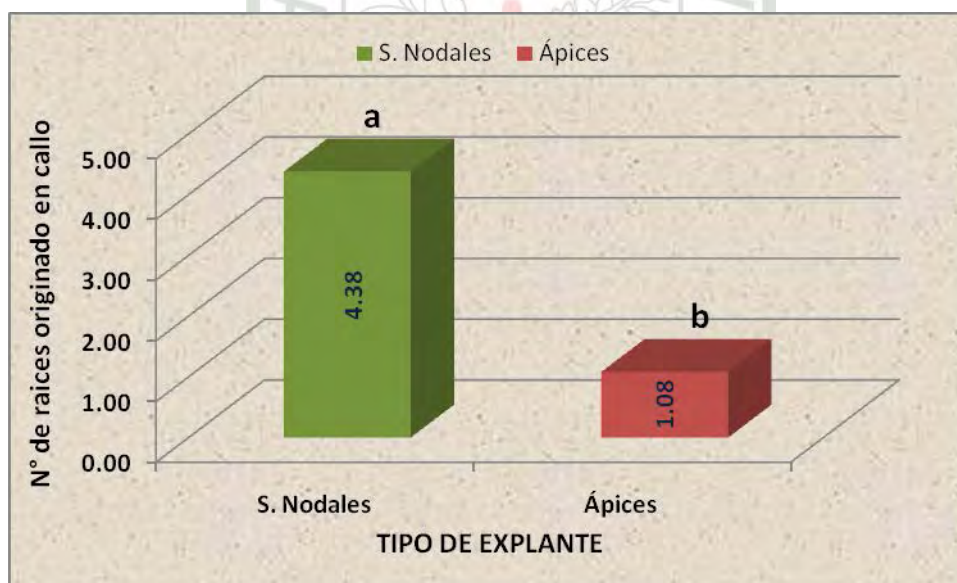
N.S.= No significativo

**= Altamente significativo,

Promedio =2,72 raíces

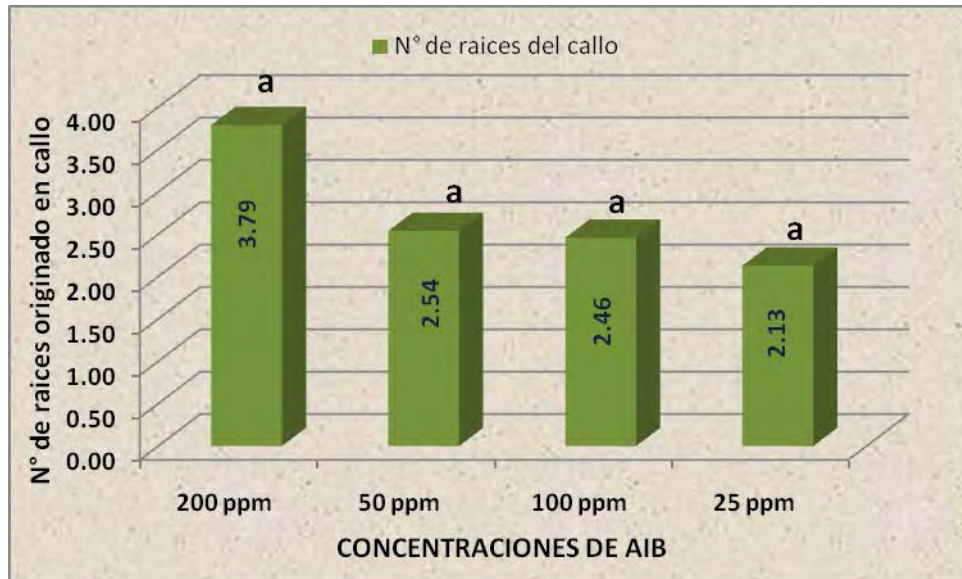
$R^2 = 83,00\%$

C.V=45,48%



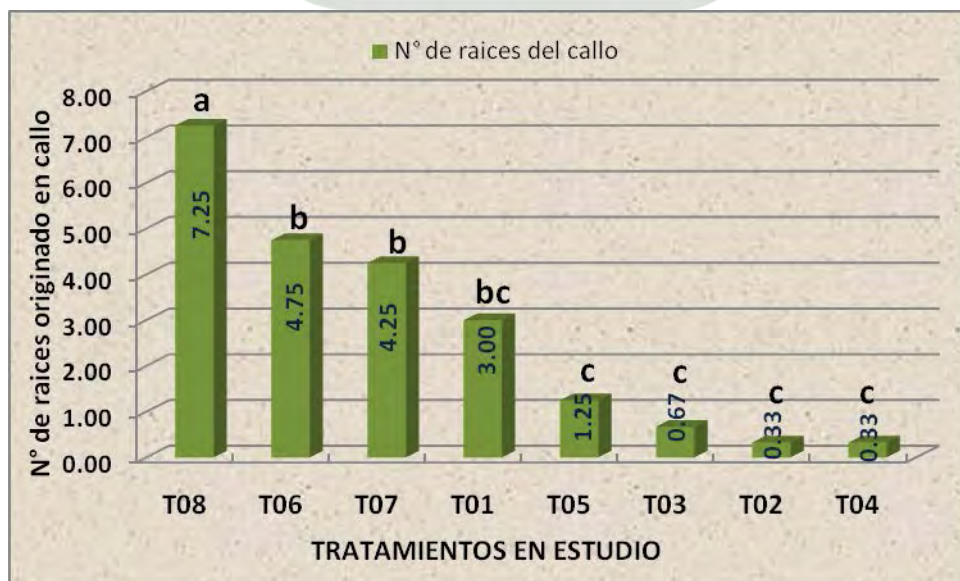
Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 7: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal tipo de explante (A), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 8: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 9: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante (A) x concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.

Cuadro 6: Análisis de varianza para el número de raíces originadas del tejido vascular en ápices y segmentos nodales a los 15 días de evaluación.

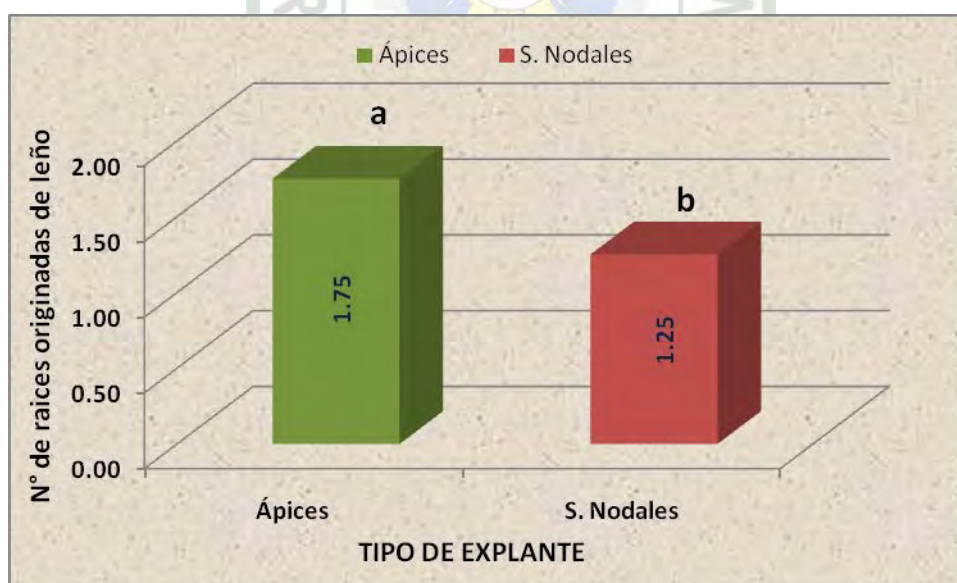
F.V	G.L	SC	CM	Fc	Ft(0,05 - 0,01)	Signf,
Factor A	1	2	2	163,64	(4,26.-7,82)	**
Factor B	3	15,86	5,29	432,58	(3,01.- 4,72)	**
Factor A*Factor B	3	37,86	12,62	1032,58	(3,01.- 4,72)	**
Error	24	0,29	0,01			
Total	31	56,02				

**= Altamente significativo,

Promedio =1,5 raíces

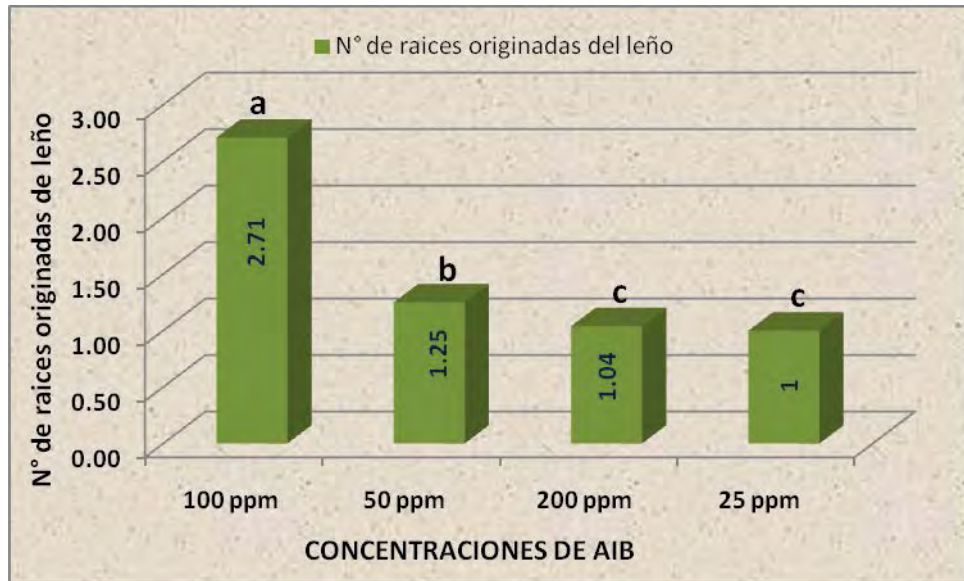
$R^2 = 99,00\%$

C.V.=7,37%



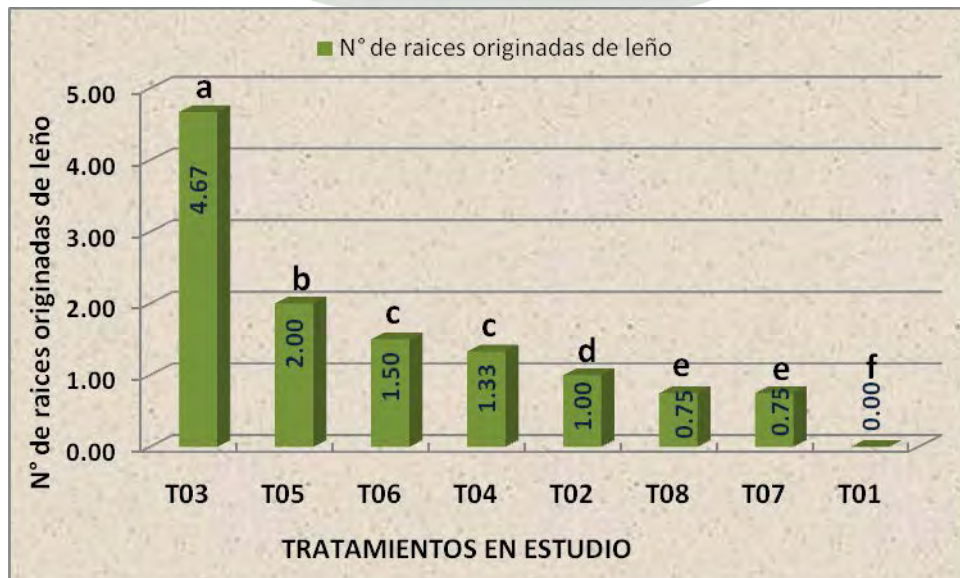
Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 10: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal tipo de explante (A), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 11: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 12: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante (A) x concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.

5.2. Enraizamiento de ápices y segmentos nodales con explantes tomados de condiciones *Ex Vitro*.

Cuadro 7: Análisis de varianza para el número de raíces en ápices y segmentos nodales a los 15 días de evaluación.

F.V	G.L	SC	CM	Fc	Ft(0,05-0,01)	Signf,
Factor A	1	20,59	20,59	95,5	(4,26.- 7,82)	**
Factor B	3	61,03	20,34	94,36	(3,01.- 4,72)	**
Factor A*Factor B	3	2,03	0,68	3,14	(3,01.- 4,72)	*
Error	24	5,17	0,22			
Total	31	88,84				

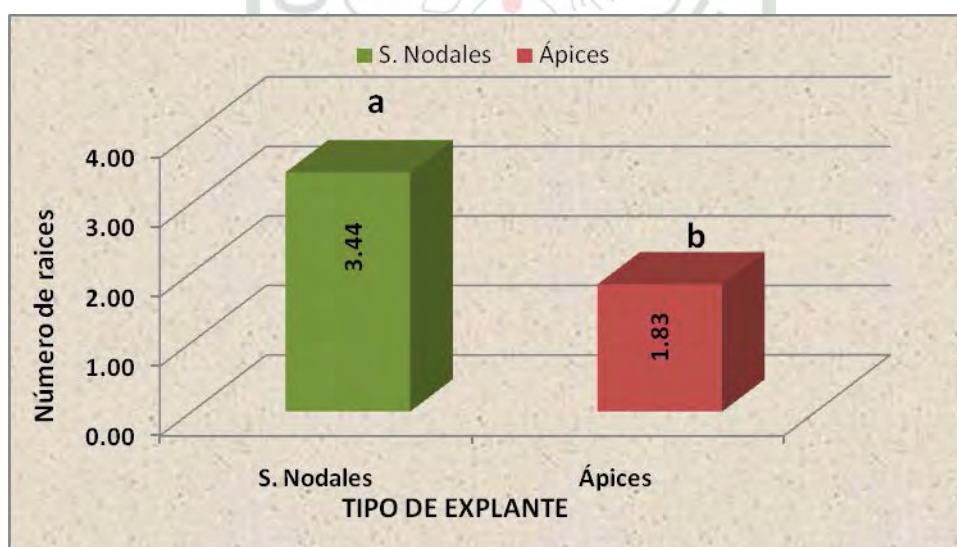
*=Significativo

**= Altamente significativo,

promedio=2,63 raíces

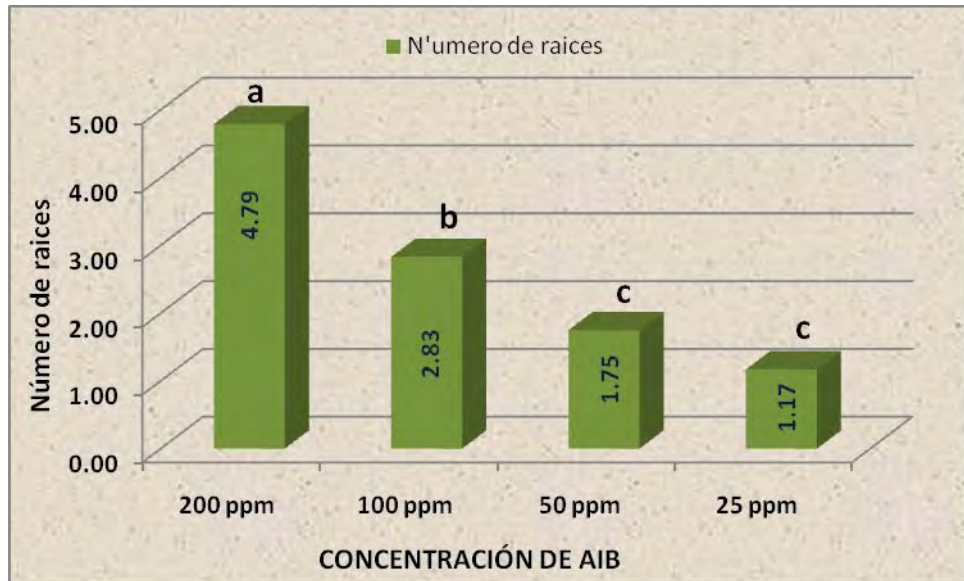
$R^2 = 92,00\%$

C.V=17,62%



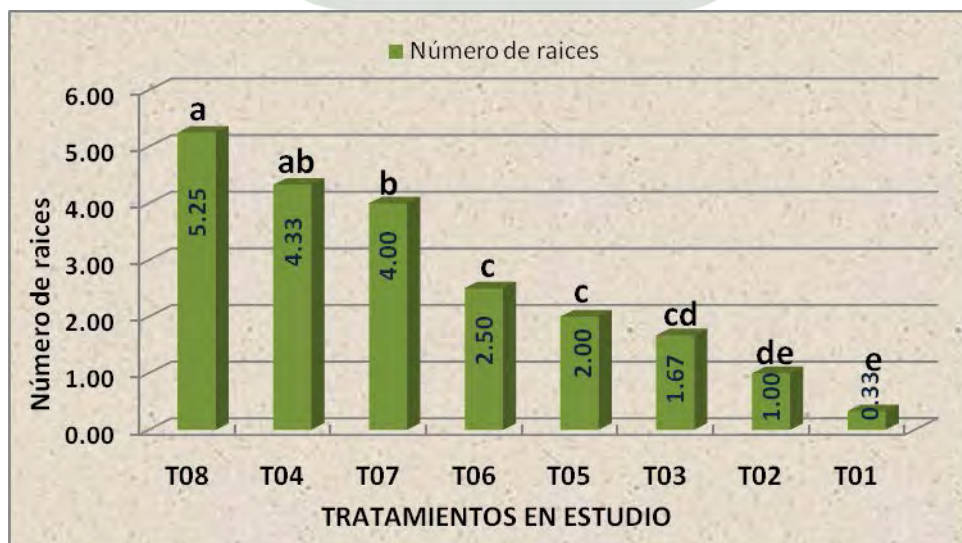
Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b) difieren estadísticamente entre sí.

Gráfico 13: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal tipo de explante (A), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 14: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 15: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante (A) x concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días

Cuadro 8: Análisis de varianza para la longitud de raíces (mm) en ápices y segmentos nodales a los 15 días de evaluación.

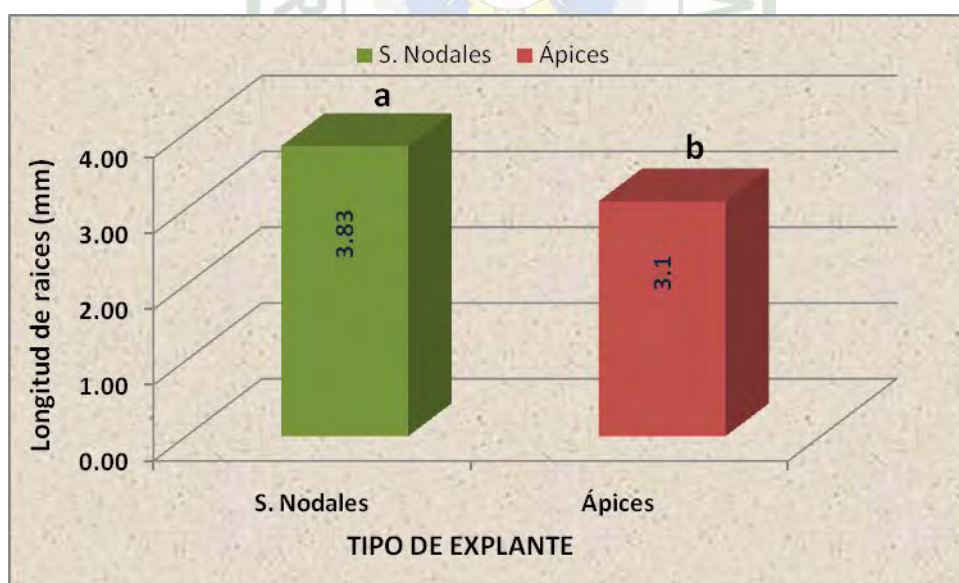
F.V	G.L	SC	CM	Fc	Ft(0,05-0,01)	Signf,
Factor A	1	4,25	4,25	30,93	(4,26.-7,82)	**
Factor B	3	26,21	8,74	63,59	(3,01.- 4,72)	**
Factor A*Factor B	3	51,81	17,27	125,67	(3,01.- 4,72)	**
Error	24	3,3	0,14			
Total	31	85,57				

**= Altamente significativo

Promedio =3,46 mm

R²= 95,00 %

C.V=10,69%



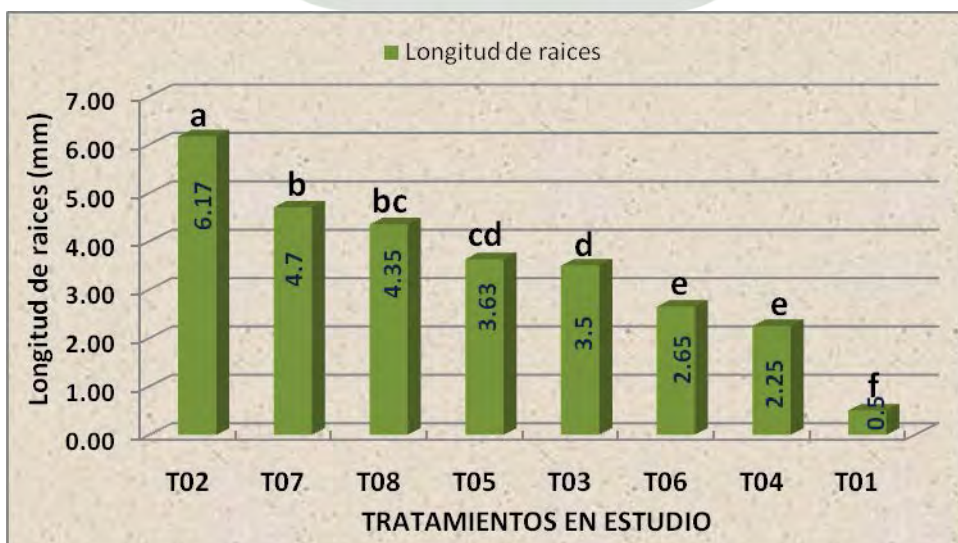
Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 16: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal tipo de explante (A), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 17: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 18: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante (A) x concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.

Cuadro 9: Análisis de varianza para el número de raíces originadas de callo en ápices y segmentos nodales a los 15 días de evaluación.

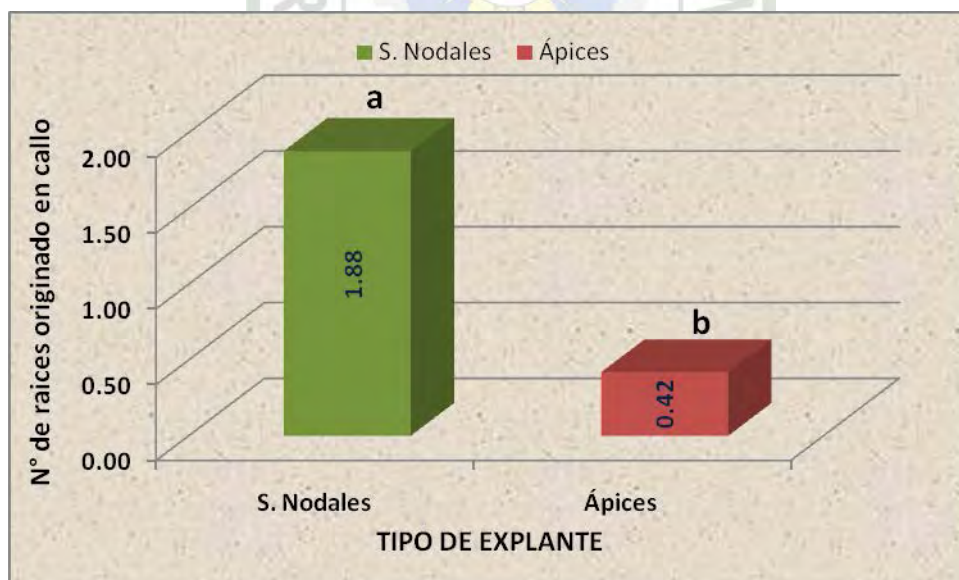
F.V	G.L	SC	CM	Fc	Ft(0,05-0,01)	Signf,
Factor A	1	17,01	17,01	1353,59	(4,26.-7,82)	**
Factor B	3	20,96	6,99	555,8	(3,01.- 4,72)	**
Factor A*Factor B	3	25,29	8,43	670,72	(3,01.- 4,72)	**
Error	24	0,3	0,01			
Total	31	63,57				

**= Altamente significativo,

Promedio =1,14 raíces

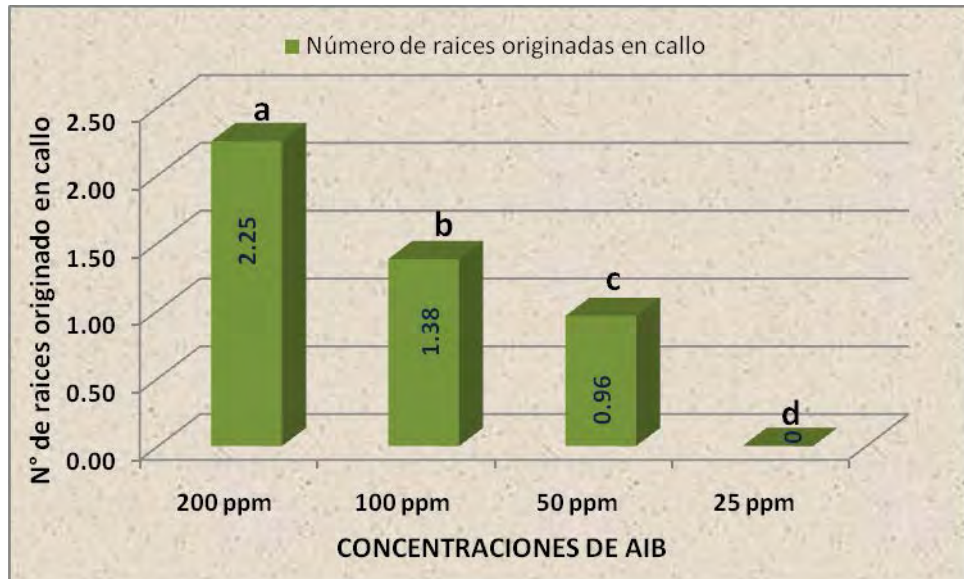
$R^2 = 99,00 \%$

C.V.=9,78%



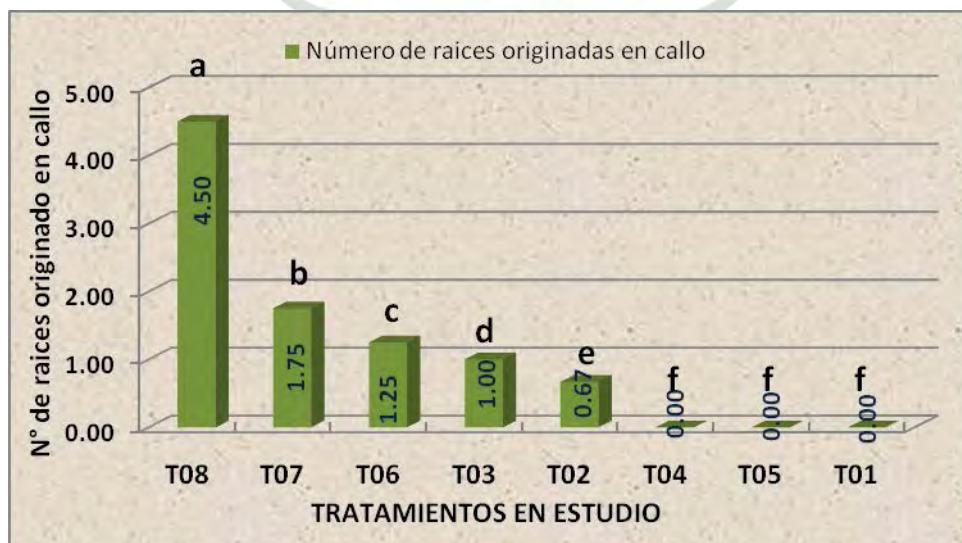
Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b) difieren estadísticamente entre sí.

Gráfico 19: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal tipo de explante (A), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 20: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 21: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante (A) x concentraciones de AIB (B), evaluado a los 15 días.

Cuadro 10: Análisis de varianza para el número de raíces originadas de leño en ápices y segmentos nodales a los 15 días de evaluación.

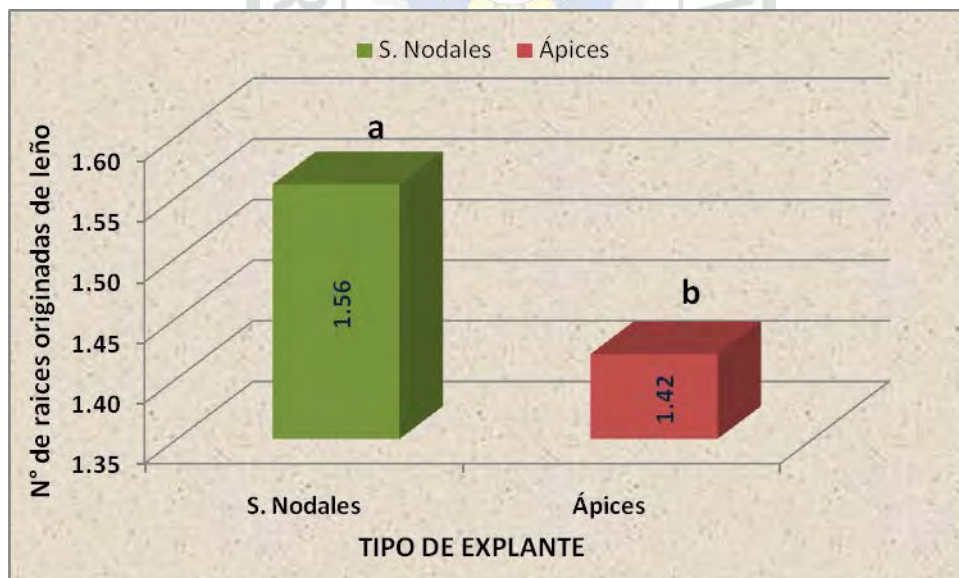
F.V	G.L	SC	CM	Fc	Ft(0,05-0,01)	Signf,
Modelo	7	51,52	7,36	405,25	(4,26.-7,82)	**
Factor A	1	0,17	0,17	9,37	(3,01.- 4,72)	**
Factor B	3	13,59	4,53	249,47	(3,01.- 4,72)	**
Factor A*Factor B	3	37,76	12,59	692,98		
Total	31	51,96				

**= Altamente significativo,

Promedio =1,48 raíces

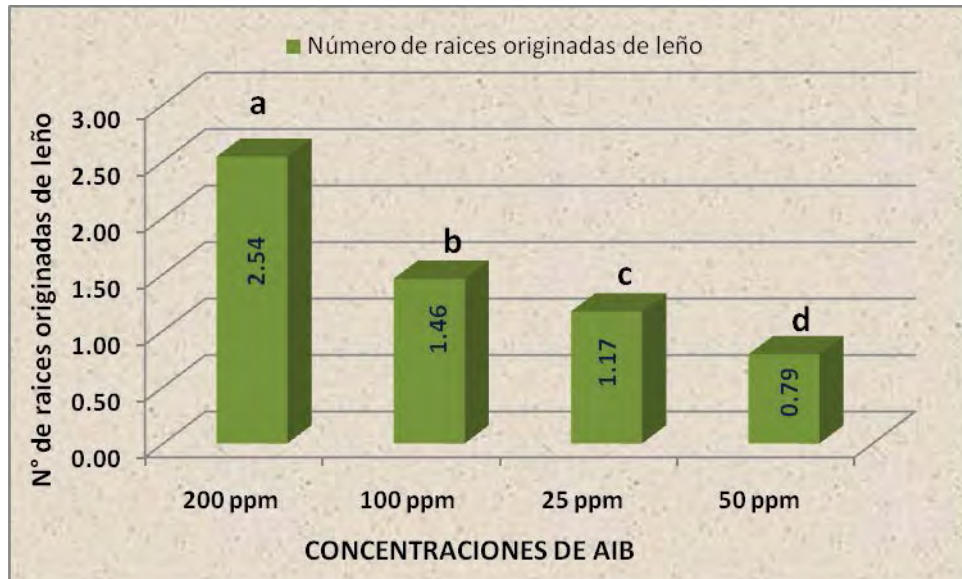
$R^2= 99,00 \%$

C.V=9,05%



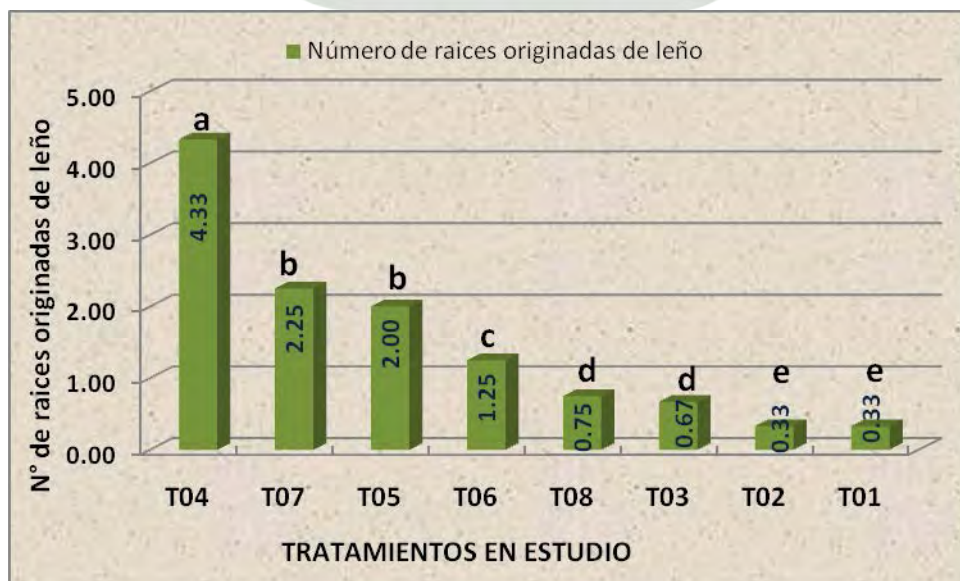
Prueba de Duncan ($p<0,01$) letras diferentes (a, b) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 22: Prueba de Duncan ($p<0,01$) para el efecto principal tipo de explante (A), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 23: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.



Prueba de Duncan ($p < 0,01$) letras diferentes (a, b, c) difieren estadísticamente entre si.

Gráfico 24: Prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante (A) x concentraciones de AIB (B), evaluados a los 15 días.

VI. DISCUSIONES

6.1. ENRAIZAMIENTO DE ÁPICES Y SEGMENTOS NODALES DE EXPLANTES TOMADOS DE CONDICIONES *IN VITRO*

Esta etapa del proceso de micropropagación tiene como función desarrollar en la planta micropropagada los mecanismos necesarios para subsistir sin suplementos externos mediante el desarrollo y funcionamiento de un sistema radical eficiente, (Suarez, 2006).

Se establecieron ápices y segmentos nodales primero en un medio de inducción de enraizamiento por 7 días con adición de la auxina Ácido -3- indol butírico (AIB), luego fueron pasados a un medio líquido sin adición de Ácido -3- indol butírico para iniciar el crecimiento de las raíces. Por otra parte al pasar de un medio con reguladores a otro sin reguladores, se favorece en mayor medida la formación de raíces. Resultados similares obtuvieron Drew *et al.*, (1991), al estimular, la iniciación radical en un medio suplementado con 10 mM de AIB por 3 días, y posteriormente transferidas las plantas a un medio libre de reguladores de crecimiento, citado por (Delgado y Rojas, 1999).

Los medios líquidos ofrecen ventajas en esta fase ya que además de 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. También el uso de medios líquidos trae consigo una serie de ventajas que reflejan fundamentalmente en la disminución

de los costos por concepto de medio de cultivo al eliminarse el agar.

6.1.1. Número de raíces por explante.

El análisis de varianza (**cuadro 3**), para el número de raíces obtenidos en los 8 tratamientos, indica que estadísticamente existen diferencias altamente significativas, para los tipos de explantes probados (A), para dosis de Ácido -3- indol butírico (B) y la interacción de ambos factores (A x B), aceptándose por tanto que el desarrollo de raíces adventicias en sachá inchi dependen, entre otras condiciones, del tipo de explante y la dosis de AIB aplicado. Se obtuvo una media de 4,22 raíces; con un coeficiente de variabilidad de 10,41% y un coeficiente de determinación de 96,00% resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada (1982).

La prueba de Duncan ($p < 0,01$), para el efecto principal tipo de explante (A) (**Gráfico 1**), muestran que existe diferencias estadísticas significativas entre los dos tipos de explantes (Ápice y Segmento nodal), siendo los Segmentos nodales (5,63 raíces) superiores a los Ápices (2,83 raíces).

De igual forma para el efecto Concentraciones de Ácido 3 indolbutírico (B) (**Gráfico 2**), muestra que existen diferencias significativas del tratamiento enriquecido con 100 ppm de AIB respecto a las demás; ya

que este superó con 5,17 raíces a la de 200ppm; 50ppm y 25 ppm, con 4,83; 3,79 y 3,13 raíces respectivamente.

La interacción tipo del explante (A) y concentraciones de AIB (B) **(Gráfico 3)**, muestra que el tratamiento T₈ (segmento nodal y 200 ppm), presentó un mejor comportamiento en el número de raíces (8,00 raíces), seguido del tratamiento T₆ (segmento nodal y 50 ppm), tratamiento T₃ (ápice con 100 ppm), T₅ (segmento nodal y 25 ppm) y T₄ (ápice y 200 ppm); con promedios de 6,25; 5,33, 3,25 y 1,67 raíces respectivamente. Este mayor número de raíces se debe probablemente a una concentración hormonal adecuada y un equilibrio entre los procesos fisiológicos y de respiración del explante, provocando la formación y desarrollo de nuevas raíces, (Delgado y Rojas, 1999).

El resultado más bajo con respecto a esta variable se obtuvo con los tratamiento T₅, T₁, T₄ y T₂ obteniéndose promedios de 3,25; 3,0; 1,67 y 1,33 raíces respectivamente. El número de raíces producido por los segmentos es altamente influenciado por la habilidad de este a suplir carbohidratos, ya sea de reserva o producidos mediante fotosíntesis, al área donde surgen las raíces, Moe y Anderson (1988), Veirskov y Anderson (1982), citado por Mesén (1997). De igual modo Salisbury (2000), menciona existen diferentes respuestas a la acción del Ácido -3-Indol butírico, 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 pueden tener es satisfecha por su capacidad de sintetizarla.

El efecto de la aplicación exógena de reguladores de crecimiento sobre el crecimiento y desarrollo de células, órganos y tejidos en cultivo, está fuertemente determinado por otros factores como las condiciones ambientales del cultivo, el tipo de explante y el genotipo, (Delgado y Rojas, 1999).

6.1.2. Longitud de raíces

El análisis de varianza (**cuadro 4**) para la longitud de raíces obtenidos en los 8 tratamientos, muestra que existe diferencias significativas para el tipo de explante (A), ni para las Concentraciones de AIB aplicadas (B). De igual forma para la interacción tipo de explante (A) y dosis de AIB (B), no mostraron efectos significativos. Se presentó una media de 3,60 mm, con un coeficiente de variabilidad de 4,70% y un coeficiente de determinación de 96,00% resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable por Calzada (1982).

La prueba de Duncan ($p < 0,01$), para el efecto principal tipo de explante (A), (**Gráfico 4**), muestran que existen diferencias estadísticas significativas, en la cual los segmentos nodales con 4,09 mm superó ligeramente a los ápices con 3,11 mm de longitud. Por otro lado se puede sumar a la alta respuesta de enraizamiento en segmentos, el

estado nutricional de la planta madre donante, los mismos que dentro del campo experimental recibieron fertilización; ya que las condiciones nutritivas adecuadas de la planta madre es un factor determinante para lograr el mejor enraizamiento en las estacas tomadas de ellas, (Rojas *et al.*, 2004).

De igual forma para el efecto Concentraciones de Ácido -3- indolbutírico (B) (**Gráfico 5**) muestra que existen diferencias significativas del tratamiento enriquecido con 100 ppm de AIB respecto a las demás; ya que este superó con 4,19 mm a la de 50ppm y 25 ppm, con 3,7 y 2,79 mm de longitud respectivamente.

Para la interacción tipo de explante y Concentraciones de AIB (A x B) (**Gráfico 6**), se muestra que existe diferencias significativas en los tratamientos T₇; T₈ y T₁, el tratamiento T₇ (Segmento nodal y 100 ppm) presentó el mejor comportamiento lográndose una mayor longitud de raíz (4,99 mm), seguido del tratamiento T₈ (segmento nodal con 200 ppm) ;tratamiento T₂ (ápice con 50 ppm) y T₁ (ápice con 25 ppm) con promedios de 4,11 mm]; 3,71 y 2,00 mm respectivamente. Los resultados más bajos con respecto a esta variable se obtuvo con el tratamientos T₁ (ápice con 25 ppm) reportando raíces con un promedio de 2,0 mm de longitud.

6.1.3. Número de raíces originadas a partir de callo

El análisis de varianza (**cuadro 5**), para el número de raíces obtenidas en los 8 tratamientos, muestra que existen diferencias altamente significativas para el tipo de explante (A), pero no existe diferencias significativas para las dosis de AIB aplicadas (B). De modo contrario para la interacción tipo de explante y dosis de AIB (A x B), muestra efectos altamente significativos. Se presentó una media de 2,72 raíces, con un coeficiente de variabilidad de 45,48% y un coeficiente de determinación de 83,00% resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable por Calzada (1982).

La prueba de Duncan ($p < 0,01$), para el efecto principal tipo de explante (A), para el número de raíces originadas de callo (**Gráfico 7**), muestra que existen diferencias estadísticas significativas entre los dos tipos de explante, en la cual los segmentos nodales superaron a los ápices con 4,38 raíces y 1,08 raíces respectivamente.

El crecimiento de raíces a partir de callos, que provienen de la zona de iniciación radical, no logra una adecuada conexión vascular con la parte aérea. Este tipo de raíces no son funcionales. La adición de carbón activado al medio absorbe los excesos de hormonas y otros compuestos, lo que impide la formación de callos. En la inducción de callos es preferible el uso de tejidos jóvenes, provenientes de plantas en pleno crecimiento, rebrote de plantas adultas en campo, (Krikorian, 1995).

Para el efecto Concentraciones de Ácido -3- indolbutírico (B) (**Gráfico 8**), muestra que no existen diferencias significativas del tratamiento enriquecido con 200 ppm de AIB con 3,79 raíces respecto a las demás, 50 ppm; 100 ppm y 25 ppm, reportando 2,54; 2,46 y 2,13 raíces respectivamente.

Para la interacción tipo de explante y Concentraciones de AIB (A x B) (**Gráfico 9**), muestra que existe diferencias significativas entre los tratamientos T₈; T₁; T₅, el tratamiento T₈ (Segmento nodal y 200 ppm) presentó el mejor comportamiento lográndose un mayor número de raíces (7,25 raíces); seguido del tratamiento T₁ (ápice con 25 ppm) y el T₅ (segmento nodal con 25 ppm), con promedios de 3,00 y 1,25 raíces respectivamente. Los resultados más bajos con respecto a esta variable se obtuvo con los tratamientos T₃ (ápice con 100 ppm), T₂ (ápice con 50 ppm) y T₄ (ápice con 200 ppm) reportando raíces con promedios de 0,67; 0,33 y 0,33 respectivamente.

6.1.4. Número de raíces originadas del tejido vascular

El análisis de varianza (**cuadro 6**) para el número de raíces obtenidos en los 8 tratamientos, muestra que no existe diferencias significativas para el tipo de explante (A), ni para las dosis de AIB aplicadas (B). De igual forma para la interacción tipo de explante y dosis de AIB (A x B), mostraron efectos significativos. Se presentó una media de 1,5 raíces, con un coeficiente de variabilidad de 7,37% y un coeficiente de

determinación de 99,00% resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable por Calzada (1982).

La prueba de Duncan ($p < 0,01$), para el número de raíces originadas de callo, para el efecto principal tipo de explante (A) (**Gráfico 10**), muestra que existen diferencias estadísticas significativas entre los dos tipos de explante, en la cual los ápices (1,75 raíces) superaron ligeramente a los segmentos nodales (1,25 raíces). Al respecto Bidwell (1979), menciona que las actividades de las auxinas incluyen tanto la estimulación como inhibición del crecimiento, y la misma célula o estructura puede exhibir respuestas opuestas dependiendo de la concentración, (Pierik, 1990), menciona que un desarrollo pobre del sistema radical hace que el crecimiento *in vivo* se haga muy difícil.

La variación en respuesta de los explantes también está en relación con el estado de desarrollo y edad ontogénica de los mismos; lo cual concuerdan con Trewavas (1981;1991), el cual menciona que si las células son competentes y están determinadas hacia una ruta morfogénica específica, basta un estímulo muy poco intenso, sea físico u hormonal, para orientar su respuesta, citado por (Delgado y Rojas, 1999).

La prueba de Duncan ($p < 0,01$), para el efecto Concentraciones de Ácido 3 indolbutírico (B) (**Gráfico 11**), muestra que existen diferencias significativas entre el tratamiento enriquecido con 100 ppm de AIB

reportando 2,71 raíces respecto a las demás concentraciones, 50 ppm y 200 ppm, reportando 1,25 y 1,04 raíces respectivamente.

Para la interacción tipo de explante y Concentraciones de AIB (A x B) **(Gráfico 12)**, muestra que existe diferencias significativas entre los tratamientos T₃; T₅; T₆; T₂; T₈, el tratamiento T₃ (ápice y 100 ppm) presentó el mayor número de raíces (4,67 raíces); seguido del tratamiento T₅ (segmento nodal con 25 ppm), T₆ (segmento nodal con 50 ppm); T₄ (ápice con 25 ppm); T₈ (segmento nodal con 200 ppm), con promedios de 2,0; 1,50; 1,00; 0,75 y 0,0 raíces respectivamente. Los resultados más bajos con respecto a esta variable se obtuvo con los tratamientos T₈ (segmento nodal con 200 ppm), T₂ (ápice con 50 ppm) y T₇ (ápice con 200 ppm) reportando raíces con promedios de 0,75; 0,75 y 0,00 raíces respectivamente.

6.2 ENRAIZAMIENTO DE ÁPICES Y SEGMENTOS NODALES DE EXPLANTES TOMADOS DE CONDICIONES *EX VITRO*

6.2.1. Número de raíces por explante.

El análisis de varianza **(cuadro 7)** para el número de raíces obtenidos en los 8 tratamientos, indica que estadísticamente existen diferencias altamente significativas, para los tipos de explantes probados (A), de igual forma para dosis de AIB (B) y una significancia para la interacción de ambos factores (A x B), aceptándose por tanto que el desarrollo de

raíces adventicias en sachá inchi dependen, entre otras condiciones, del tipo de explante y la dosis de AIB aplicado. Se obtuvo una media de 2,63 raíces; con un coeficiente de variabilidad de 17,62% y un coeficiente de determinación de 92,00% resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada (1982).

Las pruebas de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal tipo de explante (A) (**Gráfico 13**), muestran que existe diferencias estadísticas altamente significativas entre los dos tipos de explantes (Ápice y Segmento nodal), siendo los Segmentos nodales superiores a los Ápices con 3,44 y 1,83 raíces respectivamente. El número de raíces producido por los segmentos es altamente influenciado por la habilidad de este a suplir carbohidratos, ya sea de reserva o producidos mediante fotosíntesis, al área donde surgen las raíces (Moe y Anderson, 1988; Veirskov y Anderson, 1982), citado por Mesén (1997). Las actividades de las auxinas, incluye tanto estimulación como inhibición del crecimiento y la misma célula o estructura puede exhibir respuestas opuestas dependiendo de la concentración (Bidwel, 1979).

De igual forma la prueba de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto Concentraciones de Ácido 3 indolbutírico (B) (**Gráfico 14**) muestra que existen diferencias altamente significativas del tratamiento enriquecido con 200 ppm de AIB respecto a las demás; ya que este superó con 4,79 raíces a las concentraciones de 100ppm y 50ppm, con 2,83 y 1,75 raíces respectivamente.

La interacción tipo del explante (A) y concentraciones de AIB (B) **(Gráfico 15)** muestra que el tratamiento T₈ (segmento nodal y 200 ppm), presentó un mejor comportamiento en el número de raíces (5,25 raíces), seguido del tratamiento T₄ (ápice y 200 ppm); tratamiento T₇ (segmento nodal con 100 ppm); T₆ (segmento nodal con 50 ppm); T₃ (ápice con 100 ppm); con promedios de 4,33; 4,00; 2,50; 1,67 y 2,00 raíces respectivamente. El mayor número de raíces se debe probablemente a una concentración hormonal adecuada y un equilibrio entre los procesos fisiológicos y de respiración del explante, provocando la formación y desarrollo de nuevas raíces (Delgado y Rojas, 1999).

El resultado más bajo con respecto a esta variable se obtuvo con los tratamientos T₂ (ápice con 50 ppm) y el T₁ (ápices con 25 ppm), con promedios de 1,00 y 0,33 raíces respectivamente. De igual modo Salisbury (2000), menciona que existen diferentes respuestas a la acción del Ácido 3 Indol butírico, 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 pueden tener es satisfecha por su capacidad de sintetizarla. Probablemente dosis menores a estas son insuficientes para reactivar los primordios radicales. Por otro lado un desarrollo pobre del sistema radical hace que el crecimiento in vivo se haga muy difícil (Pierik, 1990).

6.2.2. Longitud de raíces

El análisis de varianza (**cuadro 8**) para la longitud de raíces obtenido en los 8 tratamientos, muestra que existe diferencias altamente significativas para el tipo de explante (A), también para las Concentraciones de AIB aplicadas (B). y de igual forma para la interacción tipo de explante (A) y dosis de AIB (B). Se presentó una media de 3,46mm, con un coeficiente de variabilidad de 10,69% y un coeficiente de determinación de 95,00% resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable por Calzada (1982).

La prueba de Duncan ($p < 0,01$), para el efecto principal tipo de explante (A), (**Gráfico 16**), muestran que existen diferencias estadísticas altamente significativas, en la cual los segmentos nodales con 3,83 mm superó ligeramente a los ápices con 3,10 mm de longitud. Se puede sumar a la alta respuesta de enraizamiento en segmentos, el estado nutricional de la planta madre donante, los mismos que dentro del campo experimental recibieron fertilización; ya que las condiciones nutritivas adecuadas de la planta madre es un factor determinante para lograr el mejor enraizamiento en las estacas tomadas de ellas (Rojas *et al.*, 2004).

De igual forma para el efecto Concentraciones de Ácido 3 indolbutírico (B) (**Gráfico 17**) muestra que existen diferencias altamente significativas del tratamiento enriquecido con 50 ppm de AIB respecto a las demás; ya

que este superó con 4,41 mm a las concentraciones de 200 ppm y 25 ppm, con; 3,3 y 2,07 mm de longitud respectivamente.

La prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante y Concentraciones de AIB (A x B) (**Gráfico 18**) muestra que existe diferencias significativas entre el tratamiento T_2 y los demás tratamientos, el T_2 (ápice y 50 ppm) presentó el mejor comportamiento lográndose una mayor longitud de raíz (6,17 mm), seguido del tratamiento T_7 (segmento nodal con 100 ppm), tratamiento T_8 (segmento nodal y 200 ppm), T_5 (segmento nodal con 25 ppm); T_6 (segmento nodal con 50 ppm) y T_1 (ápice con 25 ppm), con promedios de 4,7; 4,35; 3,63; 2,65 y 0,5 mm respectivamente. Los resultados más bajos con respecto a esta variable se obtuvo con los tratamientos T_6 (segmento nodal y 50 ppm); T_4 (ápice y 200 ppm) y el T_1 (ápice con 25 ppm) reportando raíces con un promedio de 2,65; 2,25 y 0,5 mm de longitud. Muchas raíces pueden crecer durante días o semanas a nivel in vitro sin la necesidad de agregar auxinas, lo cual indica que cualquier necesidad que pueden tener es satisfecha por su capacidad de sintetizarla (Salisbury, 2000).

6.2.3. Número de Raíces Originadas de Callo

El análisis de varianza (**cuadro 9**) para el número de raíces obtenidas en los 8 tratamientos, muestra que existen diferencias altamente significativas para el tipo de explante (A), de igual manera diferencias

significativas para las dosis de AIB aplicadas (B). Para la interacción tipo de explante y dosis de AIB (A x B), muestra efectos altamente significativos. Se presentó una media de 1,14 raíces, con un coeficiente de variabilidad de 9,78% y un coeficiente de determinación de 99,00% resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable por Calzada (1982).

Las pruebas de Duncan ($p < 0,01$) para el efecto principal tipo de explante (A), para el número de raíces originadas de callo (**Gráfico 19**), muestra que existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los dos tipos de explante, en la cual los segmentos nodales superaron a los ápices con 1,88 raíces y 0,42 raíces respectivamente. Esto concuerda con Hicks (1980), el cual consideró que se pueden formar órganos (hojas, raíces) directamente del explante, previo al sistema de órganos (ápices y flores) o la formación de callo del explante y finalmente el sistema de órganos (Delgado y Rojas, 1999).

Al respecto Krikorian (1991), señala que la adición de carbón activado al medio absorbe los excesos de hormonas y otros compuestos, lo que impide la formación de callos. En la inducción de callos es preferible el uso de tejidos jóvenes, provenientes de plantas en pleno crecimiento, rebrote de plantas adultas en campo.

Para el efecto Concentraciones de Ácido-3- indolbutírico (B) (**Gráfico 20**) muestra que existen diferencias altamente significativas del

tratamiento enriquecido con 200 ppm de AIB con 2,25 raíces respecto a las demás concentraciones, 100 ppm; 50 ppm y 25 ppm, reportando 1,38; 0,96 y 0,00 raíces respectivamente.

La prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante y Concentraciones de AIB (A x B) (**Gráfico 21**), muestra que existe diferencias significativas entre los tratamientos T₈; T₇; T₆; T₃; T₂ y T₄ el tratamiento T₈ (Segmento nodal y 200 ppm) presentó el mejor comportamiento lográndose un mayor número de raíces (4,50 raíces); seguido del tratamiento T₇ (segmento nodal con 100 ppm); T₆ (segmento nodal con 50 ppm); T₃ (ápice con 100 ppm), el T₂ (segmento nodal con 50 ppm) y T₄ (ápice y 200 ppm), con promedios de 1,75; 1,25; 1,00; 0,67 y 0,00 raíces respectivamente. Los resultados más bajos con respecto a esta variable se obtuvo con los tratamientos T₄ (ápice con 200 ppm), T₅ (Segmento nodal y 25 ppm) y T₁ (ápice con 25 ppm) los cuales no reportaron formación de raíces. A esto se puede sumar a la alta respuesta de enraizamiento en los explantes, al estado nutricional de la planta madre donante, los mismos que dentro del campo experimental recibieron fertilización; ya que las condiciones nutritivas adecuadas de la planta madre es un factor determinante para lograr el mejor enraizamiento en las estacas tomadas de ellas (Rojas *et al.*, 2004). Generalmente una simple adición de AIB, constituye un estímulo hormonal suficiente para la inducción de callo (Pierik, 1990).

6.2.4. Número de Raíces Originadas del tejido vascular

El análisis de varianza (**cuadro 10**) para el número de raíces obtenidas en los 8 tratamientos, muestra que existe diferencias altamente significativas para el tipo de explante (A), de igual modo para las dosis de AIB aplicadas (B). y también para la interacción tipo de explante y dosis de AIB (A x B), en la que mostraron efectos altamente significativos. Se presentó una media de 1,48 raíces, con un coeficiente de variabilidad de 9,05% y un coeficiente de determinación de 99,00% resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable por Calzada (1982).

Las pruebas de Duncan ($p < 0,01$) para el número de raíces originadas de leño, para el efecto principal tipo de explante (A) (**Gráfico 23**), muestra que existen diferencias estadísticas significativas entre los dos tipos de explante, en la cual los segmentos nodales (1,56 raíces) superaron a los ápices (1,42 raíces). Al respecto Bidwell (1979), menciona que las actividades de las auxinas incluyen tanto la estimulación como inhibición del crecimiento, y la misma célula o estructura puede exhibir respuestas opuestas dependiendo de la concentración, (Pierik, 1990), menciona que un desarrollo pobre del sistema radical hace que el crecimiento *in vivo* se haga muy difícil.

La variación en respuesta de los explantes también está en relación con el estado de desarrollo y edad ontogénica de los mismos; lo cual

concuerdan con Trewavas (1981; 1991), el cual menciona que si las células son competentes y están determinadas hacia una ruta morfogénica específica, basta un estímulo muy poco intenso, sea físico u hormonal, para orientar su respuesta, citado por (Delgado y Rojas, 1999).

La prueba de Duncan ($p < 0,01$), para el efecto Concentraciones de Ácido 3 indolbutírico (B) (**Gráfico 24**) muestra que existen diferencias significativas entre el tratamiento enriquecido con 200 ppm de AIB reportando 2,54 raíces respecto a las demás concentraciones, 100 ppm; 25 ppm y 50 ppm, reportando 1,46; 1,17 y 0,79 raíces respectivamente.

La prueba de Duncan ($p < 0,01$) para la interacción tipo de explante y Concentraciones de AIB (A x B) (**Gráfico 30**), muestra que existe diferencias significativas entre los tratamientos T_4 ; T_7 ; T_6 ; T_8 y T_2 , el tratamiento T_4 (ápice y 200 ppm) presentó el mayor número de raíces (4,33 raíces); seguido del tratamiento T_7 (segmento nodal con 100 ppm) , T_6 (segmento nodal con 50 ppm); T_8 (segmento nodal y 200 ppm); T_2 (ápice con 50 ppm), con promedios de 2,25; 1,25; 0,75 y 0,33 raíces respectivamente. Los resultados más bajos con respecto a esta variable se obtuvo con los tratamientos T_2 (ápice con 50 ppm) y T_1 (ápice con 25 ppm) reportando raíces con promedios de 0,33 para ambos casos. Las 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 (Bidwel, 1979).

VII. CONCLUSIONES

- 7.1.** Se logró estandarizar una metodología de enraizamiento *in Vitro* utilizando Ácido -3-Indol butírico, que ha permitido el desarrollo de ápices y segmentos nodales de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Ambos tipos de explantes son inducibles a ser enraizados, siendo los segmentos nodales los mejores para lograr dicha inducción.
- 7.2.** El enraizamiento para los explantes extraídos de condiciones *in vitro* el mayor número de raíces por explante se observó en el T₈ con un promedio de 8 raíces; la mayor longitud de raíces se logró en el T₇ con un promedio de 4,99 mm; en tanto para el mayor número de raíces por explante formadas a partir de callo se observó en el T₈ con un promedio de 7,25 raíces , y el mayor número de raíces por explante producidas directamente del tejido leñoso, se observó en el T₃ con un promedio de 4,67 raíces.
- 7.3.** En tanto el enraizamiento para los explantes extraídos de condiciones *ex vitro*, el mayor número de raíces por explante se observó en el T₈ reportando un promedio de 5,25 raíces; la mayor longitud de raíces se logró en el T₂ con un promedio de 6,17 mm; en tanto para el mayor número de raíces por explante formadas a partir de callo se observó en el T₈ con un promedio de 4,50 raíces y el mayor número de raíces por explante producidas directamente del tejido leñoso, se observó en el T₄ con un promedio de 4,33 raíces.

VIII. RECOMENDACIONES

- 8.1.** Dado que es uno de los primeros trabajos de investigación en Micropropagación de *sacha inchi*, es necesario realizar más estudios para ajustar la utilidad de esta metodología hasta llegar a la adaptación *ex Vitro* (Fase IV); y de esa manera realizar la regeneración completa de plantas a partir de segmentos nodales.
- 8.2.** Evaluar otras concentraciones de Ácido -3- Indol butírico (AIB), más altas a lo experimentado en el enraizamiento de ápices y segmentos nodales de *sacha inchi*, ya sea solo o en acción combinada con otras hormonas.

RESÚMEN

Con la finalidad de aportar al desarrollo de un protocolo de propagación clonal in Vitro de sachá inchi (*Plukenetia volúbilis* L.), se ha logrado mediante ápices y segmentos nodales extraídos tanto de condiciones *in vitro* como *ex vitro*, establecer y determinar el efecto de cuatro dosis de Ácido - 3- Indol butírico (AIB) (25; 50; 100 y 200 ppm), en el proceso de enraizamiento *in Vitro* de esta especie. Los cuales fueron distribuidos en un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 2x4. En todos los tratamientos se observó un buen número y conformación de raíces lo que indica que esta especie tiene un gran potencial de desarrollo y buena respuesta al cultivo in Vitro.

El enraizamiento para los explantes extraídos de condiciones *in vitro* el mayor número de raíces por explante se observó en el T₈ con un promedio de 8 raíces; la mayor longitud de raíces se logró en el T₇ con un promedio de 4,99 mm; en tanto para el mayor número de raíces por explante formadas a partir de callo se observó en el T₈ con un promedio de 7,25 raíces , y el mayor número de raíces por explante producidas directamente del tejido leñoso, se observó en el T₃ con un promedio de 4,67 raíces.

En tanto, el enraizamiento para los explantes extraídos de condiciones *ex vitro*, el mayor número de raíces por explante se observó en el T₈ con un promedio de 5,25 raíces; la mayor longitud de raíces se logró en el T₂ con un promedio de 6,17 mm; el mayor número de raíces por explante formadas a partir de callo se observó en el T₈ con promedio de 4,50 raíces y el mayor número de raíces por explante producidas directamente del tejido leñoso, se observó en el T₄ con un promedio de

4,33 raíces.

SUMMARY

Aiming to contribute to the development of a protocol for in vitro clonal propagation of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), has been achieved through apices and nodal segments taken from in vitro conditions as ex vitro, establishing and determining the effect of four dose of acid - 3 - Indole butyric acid (IBA) (25, 50, 100 and 200 ppm) in the process of in vitro rooting of this species. Which were distributed in a completely randomized design with 2x4 factorial arrangement. All treatments showed a good number and root formation indicating that this species has great potential for development and good response to in vitro culture.

Rooting for explants derived from in vitro conditions the highest number of roots per explant was observed at the T8 with an average of 8 roots, the longest root was at T7 with an average of 4.99 mm, while for the greatest number of roots per explant formed from callus was observed in T8 with an average of 7.25 roots, and the largest number of roots per explant produced directly from the woody tissue was observed at T3 (mean 4, 67 roots).

Meanwhile, rooting for explants derived from ex vitro conditions, the highest number of roots per explant was observed at the T8 with an average of 5.25 roots, the longest roots were in the T2 with an average of 6,17 mm for the largest number of roots per explant formed from callus was observed in T8 with an average of 4.50 roots and the highest number of roots per explant produced directly from the woody tissue was observed with the T4 an average of 4.33 roots.

IX. LITERATURA CONSULTADA

1. **AUDUS, L, G. 1975.** Plant Growth Substances. Ed. Leonard – Hills. S.A. Londres. pp 85- 89.
2. **BEAULIEU, R. 1973.** Reguladores de Crecimiento. Ed. Oikos- Tau. .S.A. Barcelona – España, pp 235.
3. **BIDWEL , L, R. 1979.** Fisiología Vegetal. 2ª Edición. Ed. A.G.T. Editor S.A. Mexico, pp 173.
4. **BOTTI, C. 1999.** Principios de la Propagación y Técnicas de Propagación por Estacas. En: Manejo Tecnificado de Invernaderos y Propagación de Plantas. Departamento de Producción Agrícola. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. Santiago, Chile. pp 72-82.
5. **CALZADA, B. 1982.** Métodos Estadísticos para la Investigación. Editorial Milagros S.A. Lima-Perú. 644 pp.
6. **DEVLIN, R M. 1980.** Fisiología Vegetal 3ª Edición. Ed Omega S.A. Barcelona – España, pp 516.
7. **DREW, RA., SIMPSON, B.W., OSBORNE, W. J. 1991.** Degradation of exogenous indole – 3 butiric acid, and rivoflavin and their influence on

rooting response of papaya in vitro. Plant cell tissue organ culture. Pp 26; 29; 34.

8. **DELGADO G., ROJAS C. 1999.** Fundamentos y Aplicaciones del Cultivo de Tejidos Vegetales. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque – Perú, pp. 55 – 170.
9. **GALLUSER, E. 2004.** Informe Preliminar. Caracterización e Identificación de Ecotipos del género *Plukenetia*. Tarapoto-Perú. Pp 4.
10. **GONZALES y RACIMAN. 2003.** “Fitorreguladores de Crecimiento”. Consultado el 21 de Marzo del 2008. Disponible en : <http://persowanadoo.es/pedrogruen/hormonasvegetalesyreguladores.htm>
11. **GEORGE, D. J. M. PUTTOCK., H. J. GEORGE. 1992.** “Plant Culture Media, Formulations and Uses”. Pp 364.
12. **GUERRERO, J. 2006.** Boletín Técnico N°01. investigaciones realizadas en sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en la Región San Martín. Pp. 9;9.
13. **GUTIÉRREZ, B. 1995.** Consideraciones sobre la Fisiología y el Estado de Madurez en el Enraizamiento de Estacas de Especies Forestales. Santiago, Chile. Ciencia e Investigación Forestal. 9 (2): pp 261 – 277.

14. **HAISSIG, E. B. 1974.** Origin of adventitious roots. New Zealand Journal of Forestry Science (Nueva Zelanda) 4 (2): pp 299-310.
15. **HARTMAN Y KESTER. 1991.** Propagación De Plantas.Ed. Continental. S.A. México. Pp. 550.
16. **HURTADO y MERINO. 1994.** "Cultivo de Tejidos Vegetales". 3ra Edición. Ed. Trillas S.A. México, pp. 45- 160.
17. **KRIKORIAN, A. 1991.** Medios de Cultivo. "Generalidades Composición y Formulación". Department of Biochemistry of New York – EE.UU. Pp 42.
18. **LUCAS, C. 2001.** "BIOTECH-Biotecnología Vegetal".
19. **MANCO, E.2005.** Informes de Resultados de Investigación. Programa Nacional De Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología. E.E. "El Porvenir". Años 1996-2005.
20. **MANCO, E. 2006.** Cultivo de Sacha Inchi. Estación Experimental Agraria "El Porvenir", INIEA. Tarapoto. 11 pp.
21. **MEGIA, R. 1994.** Propagación comercial 312 especies de plantas por cultivo in vitro. Agrobiotecnología: Fundamentos y aplicaciones. Lima-Perú.

22. **MESÉN, F. 1998.** Enraizamiento de Estacas Juveniles de Especies Forestales: uso de Propagadores de Subirrigación. Turrialba, Costa Rica. 35 pp.
23. **MESÉN, F. 1997.** Propagación vegetativa del San Juan (*Vochysia guatemalensis*) mediante enraizamiento de estacas juveniles. Revista Forestal Centroamericano N° 21: 19-24.
24. **MOSTACERO, MEJIA, GAMARRA. 2002.** Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. Ed. Normas Legales. CONCYTEC. Vol I y II. Trujillo, Perú. 674 pp.
25. **PIERIK, R. 1990.** Cultivo In Vitro de Plantas Supiores. Ediciones Mundi – Prensa, Madrid España. pp 326.
26. **ROCA, W y L. MROGINSKI 1991.** Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. CIAT. 499 - 553 –554 pp.
27. **ROJAS, S. GARCÍA, J. ALARCÓN, M. 2004** Propagación asexual de plantas. Conceptos básicos y experiencias con especies amazónicas. CORPOICA / PRONATA / MADR. Colombia. 55 pp.
28. **RUÍZ A. 2003.** “Micropropagación y determinación cromosómica del género *Crotón* productoras de látex”.

29. **SALISBURY, F. y ROSS, W. 2000.** Fisiología de las plantas. Ed. Paraninfo. Madrid, España. 988 pp.
30. **SUAREZ et al.2006.** “Desarrollo de um Protocolo para la Propagación In Vitro de Roble (Tabebuia rósea Bertol DC.)” Montería – Colombia.
31. **TORRES, A., STYLER, L. y AMAURI, J. 1998.** “cultura de Tecidos e Transformacao Genetica de Plantas”. EMBRAPA. CIP – Brasil. pp. 276; 277.
32. **VALLES, R. 1991.** Potencial agroalimentario Industrial del “Sacha Inchi” para la selva alta. P.O. Box. 239. 1-8 pp.

RESÚMEN

Con la finalidad de aportar al desarrollo de un protocolo de propagación clonal *in Vitro* de sachá inchi (*Plukenetia volúbilis* L.), se ha logrado mediante ápices y segmentos nodales extraídos tanto de condiciones *in vitro* como *ex vitro*, establecer y determinar el efecto de cuatro dosis de Ácido - 3- Indol butírico (AIB) (25; 50; 100 y 200 ppm), en el proceso de enraizamiento *in Vitro* de esta especie. Los cuales fueron distribuidos en un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 2x4. En todos los tratamientos se observó un buen número y conformación de raíces lo que indica que esta especie tiene un gran potencial de desarrollo y buena respuesta al cultivo *in Vitro*.

El enraizamiento para los explantes extraídos de condiciones *in vitro* el mayor número de raíces por explante se observó en el T₈ con un promedio de 8 raíces; la mayor longitud de raíces se logró en el T₇ con un promedio de 4,99 mm; en tanto para el mayor número de raíces por explante formadas a partir de callo se observó en el T₈ con un promedio de 7,25 raíces, y el mayor número de raíces por explante producidas directamente del tejido leñoso, se observó en el T₃ con un promedio de 4,67 raíces.

En tanto, el enraizamiento para los explantes extraídos de condiciones *ex vitro*, el mayor número de raíces por explante se observó en el T₈ con un promedio de 5,25 raíces; la mayor longitud de raíces se logró en el T₂ con un promedio de 6,17 mm; el mayor número de raíces por explante formadas a partir de callo se observó en el T₈ con promedio de 4,50 raíces y el mayor número de raíces por explante producidas directamente del tejido leñoso, se observó en el T₄ con un promedio de

4,33 raíces.

SUMMARY

Aiming to contribute to the development of a protocol for in vitro clonal propagation of *sacha inchi* (*Plukenetia volubilis* L.), has been achieved through apices and nodal segments taken from in vitro conditions as ex vitro, establishing and determining the effect of four dose of acid - 3 - Indole butyric acid (IBA) (25, 50, 100 and 200 ppm) in the process of in vitro rooting of this species. Which were distributed in a completely randomized design with 2x4 factorial arrangement. All treatments showed a good number and root formation indicating that this species has great potential for development and good response to in vitro culture.

Rooting for explants derived from in vitro conditions the highest number of roots per explant was observed at the T8 with an average of 8 roots, the longest root was at T7 with an average of 4.99 mm, while for the greatest number of roots per explant formed from callus was observed in T8 with an average of 7.25 roots, and the largest number of roots per explant produced directly from the woody tissue was observed at T3 (mean 4, 67 roots).

Meanwhile, rooting for explants derived from ex vitro conditions, the highest number of roots per explant was observed at the T8 with an average of 5.25 roots, the longest roots were in the T2 with an average of 6 , 17 mm for the largest number of roots per explant formed from callus was observed in T8 with an average of 4.50 roots and the highest number of roots per explant produced directly from the woody tissue was observed with the T4 an average of 4.33 roots.



ANEXOS

Anexo N° 01. Composición del medio de cultivo para la iniciación del Enraizamiento de ápices y segmentos nodales de sachá inchi.

ITEM	Composición	Concentración	Vol/L	Unid
Macro y micro nutrientes(compuestos inorgánicos):				
1	Stock A		20,00	ml
2	Stock B		20,00	ml
3	Stock G		20,00	ml
4	Stock C		5,0	ml
5	Stock D		5,0	ml
6	Stock E		5,0	ml
7	Stock F		5,0	ml
Vitaminas				
8	Ac. Nicotínico	1000 ppm	1,0	ml
9	Tiamina	1000 ppm	10,0	ml
10	Mioinositol:	1000 ppm	100,0	ml
11	Sucrosa 3%	2,0%	20	G
13	Ac. Cítrico	1000 ppm	10,0	ml

→ M&S

pH : 5,3

M&S: Murashige y Skoog (1962).

Anexo Nº 02. Composición del medio de cultivo para inducción de enraizamiento de ápices y segmentos nodales de sachá inchi.

ITEM	Composición	Concentración	Vol/L	Unid
Macro y micro nutrientes(compuestos inorgánicos):				
1	Stock A		20,00	ml
2	Stock B		20,00	ml
3	Stock G		20,00	ml
4	Stock C		5,0	ml
5	Stock D		5,0	ml
6	Stock E		5,0	ml
7	Stock F		5,0	ml
Vitaminas				
8	Ac. Nicotínico	1000 ppm	1,0	ml
9	Tiamina	1000 ppm	10,0	ml
10	Sucrosa 3%	3,0%	30g	g
11	Agar - Agar	7.5%	7.5g	g
12	Ac. Cítrico	1000 ppm	10,0	ml
13	Carbón Activado	2	2	g
14	AIB	Concentraciones Cuadro Nº 01		



pH : 5,7 - 5,8

M&S: Murashige y Skoog (1962).