



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 ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**ACLIMATACIÓN DE PLÁNTULAS DE PIÑÓN (*Jatropha curcas* L.) PROPAGADAS IN VITRO EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGRARIA EL PORVENIR
JUAN GUERRA**

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

**PRESENTADO POR EL BACHILLER:
ROBER ANSTRONG MAS GOLAC**

TARAPOTO - PERÚ

2013

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

TESIS

“ACLIMATACIÓN DE PLÁNTULAS DE PIÑÓN (*Jatropha curcas* L.) PROPAGADAS IN VITRO EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGRARIA EL PORVENIR JUAN GUERRA”

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR EL BACHILLER:
ROBER ANSTRONG MAS GOLAC



Ing. M.Sc. César E. Chappa Santa María
Presidente



Ing. Elías Torres Flores
Secretario



Ing. María Emilia Ruiz Sánchez
Miembro



Ing. Segundo D. Maldonado Vásquez
Asesor

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

**María Natividad Golac Ch Y Ciro
Moises Mas Maslucan**

Por el gran esfuerzo y apoyo incondicional al estar conmigo en cada salto de aprendizaje de mi vida profesional.

A MIS ABUELITOS:

Exequiel y Aquelina

Por ser mí guía en el camino de la vida.

A MIS HERMANOS:

Melvi, Exequiel y Ciro

Por brindarme el apoyo y comprensión en mi vida profesional.



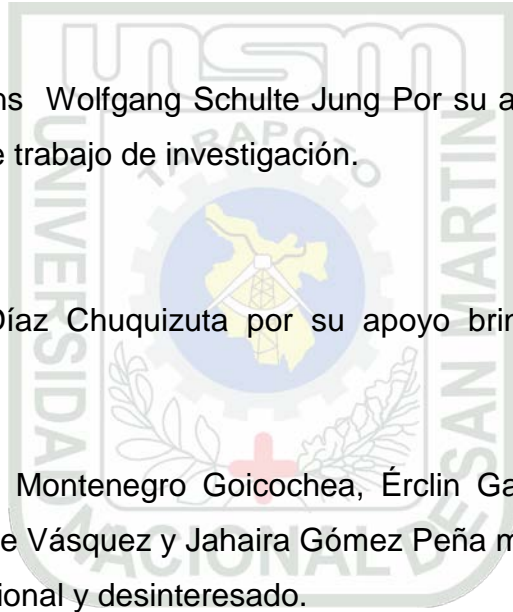
AGRADECIMIENTO

Al Ing. Jim Dickerson Vásquez Pinedo por la oportunidad de permitir realizar la tesis, las facilidades y el asesoramiento brindado durante el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Al Biólogo Rainer Hans Wolfgang Schulte Jung Por su asesoramiento brindado en la ejecución del presente trabajo de investigación.

Al Bach. César P. Díaz Chuquizuta por su apoyo brindado en la ejecución de la investigación.

A mis amigos: Auver Montenegro Goicochea, Ércilin García del Águila, Janeth Díaz Velásquez, Víctor More Vásquez y Jahaira Gómez Peña mi más sincero agradecimiento por su apoyo incondicional y desinteresado.



ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Origen	4
3.2 Clasificación Taxonómica	4
3.3 Descripción morfológica	5
3.4 Cultivo in vitro	5
3.5 Características de las plantas in vitro	6
3.6 Ambientes necesarios para la aclimatación	9
3.6.1 Sala de aclimatación	9
3.3.3 Invernadero o vivero	9
3.7 Aclimatación de vitro planta	10
3.7.1 Imp. De la aclimatación para el cultivo in vitro	17
3.8 Anatomía de las plantas cultivadas in vitro y su influencia sobre la aclimatación	18
3.8.1 Factores morfológicos que influyen en la aclimatación	18
3.8.2 Cutícula	21
3.8.3 Estomas	22
3.8.4 Morfología estomática	23
3.8.5 Raíces	25
3.9 Preparación del material a aclimatar	25
3.10 Técnicas de pre aclimatación	26
3.11 Desinfección del sustrato	28
3.12 Proceso de aclimatación	28
3.13 Manejo de plántulas en aclimatación	29
3.14 Control de las condiciones ambientales en la fase de aclimatación	30
3.15 Importancia de las condiciones ambientales en la fase de Aclimatación	31
3.16 Inductores de crecimiento	32
3.16.1 Las auxinas	32
3.17 Factores que influyen en la fertilización foliar	33
3.17.1 Relacionados con la formulación foliar	34
3.17.2 Relacionados con el ambiente	36
3.17.3 Relacionados con la planta	36
3.18 Propósitos de la fertilización foliar	37
3.19 Mecanismos de absorción de nutrimentos	37
3.20 Principios y aplicaciones fertilización foliar	39
3.20.1 El papel de los tallos en la nutrición mineral de las	

Plantas	41
3.20.2 Raíces gruesas y raíces finas, relaciones con la parte aérea	42
3.21 Determinación de la dosis apropiada de fertilizante foliar (20-20-20), para el desarrollo óptimo de <i>Epidendrum Schomburgkii</i> , en la fase de aclimatación	43
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	44
4.1 Ubicación del experimento	44
4.1.1 Ubicación política	44
4.1.2 Ubicación geográfica	45
4.2 Diseño experimental	45
4.3 Instalación del experimento	46
4.4 Protocolo de aclimatación de plántulas de piñón (<i>Jatropha curcas</i> L.) propagadas in vitro a través de Embriones cigóticos	47
4.4.1 Preparación de sustrato	47
4.4.2 Esterilización de sustrato (Mezcla)	50
4.4.3 Preparación de las bandejas	51
4.4.4 Elaboración de hoyos sobre el sustrato	53
4.4.5 Preparación de inductores de crecimiento	54
4.4.6 Preparación del material vegetal	54
4.4.7 Repique de las plántulas de piñón (<i>Jatropha curcas</i> L.)	68
4.4.8 Riego	69
4.4.9 Cámara húmeda	69
4.4.10 Control fitosanitario	70
4.4.11 Aplicación de fertilizante foliar	71
4.4.12 Frecuencia de riego	71
4.4.13 Plántulas de piñón (<i>Jatropha curcas</i> L.), aclimatadas	72
4.5 Variables evaluadas	72
a. Porcentaje de supervivencia	72
b. Altura de plántula	73
c. Diámetro de tallo	73
d. Área foliar	74
e. Longitud de raíces	75
f. Longitud de pedúnculo	75
g. Biomasa fresca	76
h. Materia seca	77
V. RESULTADOS	78
VI. DISCUSIONES	108
6.1 Del porcentaje de supervivencia	108
6.2 De la altura de planta	112
6.3 Del diámetro del tallo	113

6.4	Del área foliar	115
6.5	De la longitud de raíces	118
6.6	De la longitud del pedúnculo	122
6.7	de la biomasa fresca	126
6.8	de la materia seca	129
VII.	CONCLUSIÓN	134
VIII.	RECOMENDACIONES	138
IX.	BIBLIOGRAFÍA	139
	RESUMEN	
	SUMMARY	
	ANEXO	



ÍNDICE DE CUADROS

	Págs
Cuadro 1: Análisis de varianza para el porcentaje de supervivencia (datos transformados por \sqrt{x})	78
Cuadro 2: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto al porcentaje de supervivencia	78
Cuadro 3: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto al porcentaje de supervivencia	78
Cuadro 4: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto al porcentaje de supervivencia	79
Cuadro 5: Análisis de varianza para el estudio de efectos simples de los factores Ax B (porcentaje de supervivencia)	79
Cuadro 6: Análisis de varianza para la altura de planta en centímetros	80
Cuadro 7: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto a la altura de planta	81
Cuadro 8: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto a la altura de planta	81
Cuadro 9: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la altura de planta	81
Cuadro 10: Análisis de varianza para el estudio de efectos simples de los factores A x B (altura de planta)	82
Cuadro 11: Análisis de varianza para el diámetro del tallo	83
Cuadro 12: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto al diámetro del tallo	84
Cuadro 13: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles	

del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto al diámetro del tallo	84
Cuadro 14: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto al diámetro del tallo	84
Cuadro 15: Análisis de varianza para el área foliar	85
Cuadro 16: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto al área foliar	85
Cuadro 17: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto al área foliar	85
Cuadro 18: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto al área foliar	86
Cuadro 19: Análisis de varianza para la longitud de raíces	89
Cuadro 20: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto a la longitud de raíces	90
Cuadro 21: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto a la longitud de raíces	90
Cuadro 22: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la longitud de raíces	90
Cuadro 23: Análisis de varianza para la longitud del pedúnculo	94
Cuadro 24: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto a la longitud del pedúnculo	94
Cuadro 25: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de	

crecimiento y respecto a la longitud del pedúnculo	94
Cuadro 26: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la longitud del pedúnculo	95
Cuadro 27: Análisis de varianza para la biomasa fresca (g)	98
Cuadro 28: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto a la biomasa fresca	99
Cuadro 29: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto a la biomasa fresca	99
Cuadro 30: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la biomasa fresca	99
Cuadro 31: Análisis de varianza para la materia seca	103
Cuadro 32: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto a la materia seca	103
Cuadro 33: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto a la Materia seca	103
Cuadro 34: Prueba de Duncan (0.05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la materia seca	104

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Págs
Gráfico 1: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para el % de supervivencia	79
Gráfico 2: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para el % de supervivencia	80
Gráfico 3: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro para los inductores de crecimiento para la altura de crecimiento	82
Gráfico 4: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la altura	83
Gráfico 5: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para el área foliar	86
Gráfico 6: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para el área foliar	87
Gráfico 7: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento para el área foliar	87
Gráfico 8: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para el área foliar	88
Gráfico 9: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para el área foliar	88
Gráfico10: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de	

crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para el área foliar	89
Gráfico11: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para la longitud de raíces	91
Gráfico12: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la longitud de raíces	91
Gráfico 13:Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento para la longitud de raíces	92
Gráfico14: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la longitud de raíces	92
Gráfico 15: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la longitud de raíces	93
Gráfico16: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la longitud de raíces	93
Gráfico17: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para la longitud del pedúnculo	95
Gráfico18: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la longitud del pedúnculo	96
Gráfico19: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento para la longitud del pedúnculo	96
Gráfico20: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para	

la longitud del pedúnculo	97
Gráfico 21: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la longitud del pedúnculo	97
Gráfico 22: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la longitud del pedúnculo	98
Gráfico 23: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para la biomasa fresca	100
Gráfico 24: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la biomasa fresca	100
Gráfico 25: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento para la biomasa fresca	101
Gráfico 26: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la biomasa fresca	101
Gráfico 27: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la biomasa fresca	102
Gráfico 28: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la biomasa fresca	102
Gráfico 29: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para la materia seca	104

Gráfico 30: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la materia seca	105
Gráfico 31: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento para la materia seca	105
Gráfico 32: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la materia seca	106
Gráfico 33: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro para la materia seca	106
Gráfico 34: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la materia seca	107

ÍNDICE DE FOTOS

	Págs
Foto 1: Invernadero de biotecnología vegetal (INIA)	44
Foto 2: Tierra negra (INIA)	48
Foto 3: Arena de río (INIA)	48
Foto 4: Sustrato a una proporción 3:1 (INIA)	48
Foto 5: Mezcla del sustrato (INIA)	49
Foto 6: Zarandeo de la mezcla del sustrato 3:1 (INIA)	49
Foto 7: Sustrato listo para embolsar para su autoclavado (INIA)	50
Foto 8: Esterilización del sustrato (INIA)	50
Foto 9: Sustrato esteril (INIA)	50
Foto 10: Lavado de las bandejas de aclimatación (INIA)	51
Foto 11: Desinfección de las bandejas (INIA)	51
Foto 12: Enjuagado de las bandejas (INIA)	52
Foto 13: Colocación de tecnoport (INIA)	52
Foto 14: Llenado de las bandejas con el sustrato (INIA)	53
Foto 15: Hoyos para la siembra de las plántulas (INIA)	53
Foto 16: Ácido indol butírico	54
Foto 17: Ácido nafthalen acético	54
Foto 18: Stocks Ana y Aib a 1000 ppm	54
Foto 19: Frutos maduros de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	55
Foto 20: Frutos pintones de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	55
Foto 21: Frutos secos de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	55
Foto 22: Testa de <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	56
Foto 23: Semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	56
Foto 24: Secado de las semillas de <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	56

Foto 25: Escarificación de semillas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	57
Foto 26: Selección de almendras de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	57
Foto 27: Adicionamiento de la solución (INIA)	58
Foto 28: Desinfección de las almendras de piñón <i>Jatropha curcas</i> L.(INIA)	58
Foto 29: Enjuagado de las almendras de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	58
Foto 30: Hidratación de las almendras de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	59
Foto 31: Siembra de los embriones cigóticos de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	59
Foto 32: Incubación de los embriones cigóticos de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	60
Foto 33: Selección de las plántulas a pre aclimatar (INIA)	61
Foto 34: Pre aclimatación de plántulas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	62
Foto 35: Destapado de los potes con plántulas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	62
Foto 36: Extracción de las plántulas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	63
Foto 37: Lavado de las plántulas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	63
Foto 38: Plántulas de piñón (<i>Jatropha curcas</i> L.) con ápice activo (INIA)	64
Foto 39: Plántulas de piñón (<i>Jatropha curcas</i> L.) con tallo endurecido (INIA)	64
Foto 40: Plántulas con buena masa radicular (INIA)	65
Foto 41: Proceso de rizogénesis en la etapa de aclimatación (INIA)	66
Foto 42: Cortado de las hojas de pre aclimatación de plántulas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	66
Foto 43: Desinfección de las plántulas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	67
Foto 44: Plántulas de piñón (<i>Jatropha curcas</i> L.) sumergidas en inductores de crecimiento (INIA)	68
Foto 45: Repique de las plántulas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	68
Foto 46: Riego de las plántulas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	69

Foto 47: Plántulas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. en cámara húmeda (INIA)	70
Foto 48: Control fitosanitario (INIA)	70
Foto 49: Larva de <i>Spodoptera sp</i> (INIA)	70
Foto 50: Fertilizantes foliares (INIA)	71
Foto 51: Aplicación del fertilizante foliar (INIA)	71
Foto 52: Riego manual dirigido (INIA)	71
Foto 53: Riego por aspersion dirigido (INIA)	71
Foto 54: Plántulas aclimatadas de piñón <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA)	72
Foto 55: Porcentaje de supervivencia (INIA)	72
Foto 56: Medida de altura de planta (<i>Jatropha curcas</i> L.)(INIA)	73
Foto 57: Medida del diámetro de tallo (<i>Jatropha curcas</i> L.) (INIA)	73
Foto 58: Determinación del área foliar en (<i>Jatropha curcas</i> L.) (INIA)	74
Foto 59: Medida del largo de hoja (<i>Jatropha curcas</i> L.) (INIA)	74
Foto 60: Medida del ancho de hoja (<i>Jatropha curcas</i> L.)(INIA)	74
Foto 61: Medida de las raíces de piñón <i>Jatropha curcas</i> L.(INIA)	75
Foto 62: Medida de la longitud de pedúnculo (<i>Jatropha curcas</i> L.), (INIA)	76
Foto 63: Puesta del material vegetal (<i>Jatropha curcas</i> L.) (INIA)	76
Foto 64: Peso de biomasa fresca (<i>Jatropha curcas</i> L.)(INIA)	76
Foto 65: Secado de materia fresca de <i>Jatropha curcas</i> L. (INIA).	77
Foto 66: Pesado de materia seca de <i>Jatropha curcas</i> L.(INIA).	77

I. INTRODUCCIÓN

En nuestro país, la Región San Martín está haciendo los esfuerzos para ser productor de materia prima para la elaboración de biodiesel, que es un combustible alternativo producido a partir del aceite de las semillas de oleaginosas como la del Piñón Blanco (*Jatropha curcas* L.) que son fácilmente cultivables en las zonas tropicales de nuestro país. En tal sentido la Región San Martín tiene todas las condiciones para lograr el cultivo del Piñón.

Por esta razón el Laboratorio de Biotecnología de la Estación Experimental Agraria “El Porvenir” viene trabajando con la propagadas in vitro del Piñón blanco (*Jatropha curcas* L.). A diferencia de las técnicas tradicionales del cultivo, esta herramienta biotecnológica permite la propagación de grandes volúmenes de plantas en menor tiempo; así como el manejo de las mismas en espacios reducidos, la obtención de plantas libres de patógenos; la clonación de plantas homocigotas, en la multiplicación de plantas en peligro de extinción, facilita estudios de ingeniería genética. Una de las fases que comprende la propagación in vitro es la aclimatación de las plántulas.

Esta es la última fase e imprescindible en la propagación in vitro. En la aclimatación se busca la adaptación de las plántulas a las condiciones medio ambientales, con un alto porcentaje de supervivencia (mortalidad mínima) y un rápido crecimiento. En esta fase se proporcionan factores como nutrientes, humedad, temperatura e iluminación en forma gradual y controlada, para luego ser transferidas a condiciones de cultivo en vivero.

En la actualidad no se disponen de metodologías para la aclimatación a gran escala de plántulas de Piñón blanco (*Jatropha curcas* L.), propagadas in vitro. Por esta razón con este trabajo se pretende generar un protocolo de aclimatación que garantizará el éxito del cultivo in vitro en esta especie.



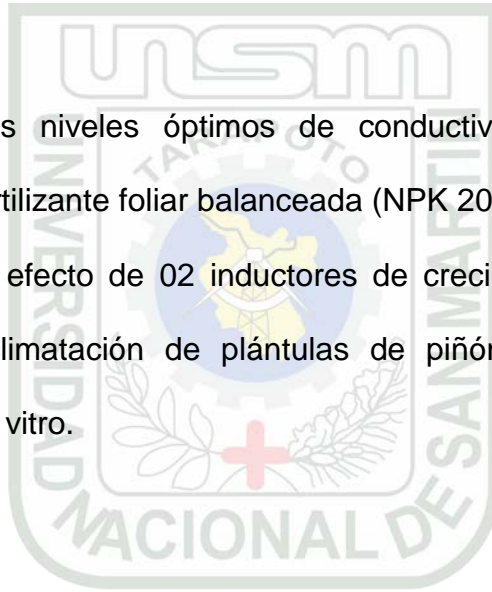
II. OBJETIVOS

2.1 General

- Generar un protocolo de aclimatación de plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.) propagadas in vitro.

2.2 Específicos

- Determinar los niveles óptimos de conductividad eléctrica de una solución de fertilizante foliar balanceada (NPK 20-20-20).
- Determinar el efecto de 02 inductores de crecimiento en el desarrollo óptimo de aclimatación de plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.) propagadas in vitro.



III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 Origen

Torres (2007), menciona: es una oleaginosa de porte arbustivo con más de 3500 especies agrupadas en 210 géneros. Es originaria de México y Centroamérica, pero crece en la mayoría de los países tropicales. Se la cultiva en América Central, Sudamérica, Sureste de Asia, India y África.

3.2 Clasificación taxonómica

Torres (2007), lo clasifica de la siguiente manera:

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub Clase: Rosidae

Orden : Euphorbiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Jatropha*

Especie: *curcas*

3.3 Descripción morfológica

Torres (2007), menciona que es un arbusto que crece más de 2 m., de altura con corteza blanco grisácea y exuda un látex translucido. Los tallos crecen con discontinuidad morfológica en cada incremento; las raíces son normalmente cinco, una central y cuatro periféricas. Tiene hojas de 5 a 7 lóbulos acuminados, pocos profundos y grandes con pecíolos largos de 10 a 15 cm. y de igual ancho. Las inflorescencias se forman terminalmente en el axial de las hojas en las ramas. Ambas flores, masculinas y femeninas, son pequeñas (6-8 mm), verdes o amarillo en el diámetro y pubescente. Cada inflorescencia rinde un manojito de aproximadamente 10 frutos ovoides o más. Los frutos son cápsulas drupáceas y ovoides, al inicio son carnosas pero dehiscentes cuando son secas. Las semillas están maduras cuando el fruto cambia de color del verde al Amarillo, cada semilla mide aproximadamente de 2 centímetro de largo y 1 centímetro en el diámetro.

3.4 Cultivo in vitro

El término cultivo in vitro se aplica a todo cultivo bajo cristal en medio aséptico, pero incluye diversas técnicas cuyos métodos y fines son muy diferentes. La técnica general consiste en tomar un fragmento de tejido vegetal, colocarlo en un medio nutritivo y provocar (gracias a un equilibrio adecuado de los elementos del medio) directamente o tras manipulación el desarrollo de una plántula. El conjunto de estas operaciones se desarrolla en condiciones estériles y se seguirá por una aclimatación en medio tradicional (Boutherin y Bron, 1994).

El cultivo in vitro es gracias a una propiedad de las células vegetales llamada totipotencia celular, que significa que: toda célula vegetal viva con núcleo, capaz, cual fuere su “especialización” del momento, de reproducir fielmente la planta entera de la cual proviene. Cada célula posee entonces la totalidad del patrimonio genético de la planta (Boutherin y Bron, 1994).

Hartmann y Kester (1995), señalan una clasificación general de los sistemas de cultivo in vitro, utilizando sistemas asépticos y este es el siguiente: cultivo de meristemas, micro injerto, ápices de tallos, cultivo de tejidos o células (callos, protoplastos, etc.), cultivo de anteras, polen, óvulos, embriones, semillas y esporas.

3.5 Características de las plantas in vitro

Una planta que se ha originado in vitro, difiere en muchos aspectos de las que se forman in vivo (Pierik, 1990), ya que sus condiciones tanto ambientales como del sustrato, la luz, nutrición, son muy diferentes. Además, es importante señalar que el crecimiento in vitro es heterótrofo e in vivo autótrofo. El ambiente in vitro, con una alta humedad relativa, bajo o nulo intercambio gaseoso, escasez de CO₂ durante casi todo el período, producción de etileno y baja densidad fotosintética, induce perturbaciones en las plantas desarrolladas bajo esa condición. Después de transferir las plantas al ambiente ex vitro, las plantas tienen que corregir todas esas anomalías para aclimatizarse al nuevo ambiente, ya sea en invernadero o campo (Kadlecek *et al.*, 2001).

Por otra parte, la anatomía de la hoja es influenciada por la luz y la humedad, diferenciándose anatómicamente de las originadas in vivo (Brainerd *et al.*, 1981).

Hurtado y Merino (1994), mencionan que no es necesaria la actividad fotosintética durante las primeras etapas de la planta en condiciones in vitro, puesto que a la planta se le suministran los elementos básicos para su desarrollo mediante un medio nutritivo, encontrándose así en un estado heterotrófico y pasándose a un estado autotrófico al ser trasplantado al suelo.

George *et al.*, 1984, (citado en Ruíz, 2003), menciona que la alta humedad y baja luminancia que prevalecen durante el cultivo in vitro provocan que la cutícula de las hojas sean delgadas, (Brainerd *et al.*, 1981), observaron que debido a ello las hojas presentan células empalizadas con grandes espacios intercelulares y baja frecuencia de estomas; esto hace que las plántulas producidas sean susceptibles a la desecación cuando se trasladan a condiciones externas (ex vitro). Los estomas de las plántulas in vitro son menos operativos y permanecen abiertos; por ello las plántulas al pasar a aclimatarse pueden presentar un importante estrés hídrico durante las primeras horas de la adaptación.

Como consecuencia cuando se transfiere una planta al suelo, se produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en las condiciones in vivo es más baja; las hojas producidas de una planta in vitro, son frecuentemente finas, blandas, fotosintéticamente poco activas, los estomas

no son lo suficientemente operativos, la conducción entre vástagos y raíces que se han originado in vitro no se establece adecuadamente, no tienen o tienen pocos pelos radicales, por lo que mueren rápidamente debiendo ser sustituidas por nuevas raíces.

Grout *et al.*, 1978 (citado en Ruiz, 2003), manifiesta que existen alteraciones en la anatomía de las plántulas in vitro, mostrando baja actividad fotosintética, incluso si la clorofila está presente en las hojas y es probable que las enzimas responsable de esta actividad están inactivas o ausentes.

Algunas veces las plantas cultivadas in vitro no sobreviven al ser trasladadas fuera del frasco hacia un medio ambiente de condiciones más rigurosas. Los principales cambios implican: disminución de la humedad, incremento de la intensidad luminosa, baja disponibilidad de nutrientes y la presencia de patógenos. Las plántulas sacadas de los frascos generalmente van de grandes hasta pequeñas y débiles, y muchas veces estas últimas mueren durante la aclimatación.

Valerin (2005), dice que las características de una planta in vitro son las siguientes:

1. Cultivadas bajo condiciones de asepsia.
2. Ambiente controlado.
3. Crecimiento requiere de carbono exógeno, o sea son plantas heterótrofas.

4. Pobre desarrollo del aparato fotosintético: clorofila presente en las hojas pero las enzimas responsables de la fotosíntesis están inactivas o ausentes.
5. Se han desarrollado a una humedad relativa alta: cerca del 100%; esto hace que las plántulas sean más sensibles a pérdidas de agua.
6. Disminución o ausencia total de ceras en la cutícula de las hojas. Esto produce más susceptibilidad a deshidratarse.

3.6 Ambientes necesarios para la aclimatación

3.6.1 Sala de aclimatación

En este ambiente se realiza el proceso de aclimatación del material vegetal para su transferencia a condiciones de vivero o campo. La intensidad luminosa, temperatura y fotoperiodo deben ser regulados de acuerdo con las necesidades de cada cultivo. Las plantas dentro del tubo de ensayo se encuentran bajo condiciones de esterilidad y con una alta humedad relativa; esta última debe reducirse progresivamente para proporcionar a la planta una mayor tolerancia a la baja humedad relativa del medio ambiente, facilitándole su posterior adaptación a condiciones externas (Girgebv ,1994).

3.6.2 Invernadero o vivero

Constituye el ambiente en el cual se termina el proceso de aclimatación del material vegetal para su pase definitivo a condiciones de campo y/o su mantenimiento y reproducción en el vivero (dependiendo de la especie). En este ambiente se debe mantener bajo un estricto control fitosanitario,

particularmente en aquellos casos donde el objetivo fundamental es la obtención de plantas libres de patógenos (Girgebv,1994).

Estas instalaciones son necesarias tanto para la fase anterior como posterior al cultivo in vitro. En el primer caso, muchos materiales vegetales necesitan ser preparados para que alcancen una mejor condición fisiológica y fitosanitaria antes de su utilización en el laboratorio. Un invernadero es un ambiente que casi siempre tiene un armazón de fierro o de madera, con base de concreto y ladrillo, paredes y techo de vidrio o materiales plásticos tipo calamina. En el caso de plantas recién liberadas del recipiente de vidrio se necesita, un periodo variable de 10 a 30 días de aclimatación, proporcionándole una alta humedad, temperatura constante ($\pm 22^{\circ}\text{C}$) y baja iluminación. Las plantas producidas in vitro rigurosamente necesitan una fase de endurecimiento o aclimatación antes de ser liberados a condiciones de campo (Delgado y Rojas ,1999).

3.7 Aclimatación de vitro plantas

La aclimatación es la etapa final necesaria en todos los esquemas de micro propagación. Las plantas deben adaptarse a nuevas condiciones ambientales tales como, baja humedad relativa, alta intensidad de luz, fluctuaciones de temperatura y constante estrés de resistencia a enfermedades. La calidad intrínseca de las plántulas in vitro es uno de los más importantes factores que gobierna estos sucesos durante la transición a ex vitro. Son de ellos la excesiva pérdida de agua por transpiración y un debilitado aparato fotosintético los mayores problemas que se tiene que superar (Luya ,1999).

El mayor porcentaje de pérdidas de plantas producidas In Vitro ocurren en su fase de transferencia al suelo cuando deben adaptarse a las nuevas condiciones del ambiente edáfico (Roca, 1991).

Casi todo el esfuerzo investigativo del cultivo de tejidos se perderían si las plantas que se regeneran murieran cuando se intenta desarrollarlas en un ambiente que en un comienzo les resulta desfavorable. El éxito de la propagación in vitro radica en lograr la aclimatación de las vitroplantas a las condiciones ambientales. Durante esta etapa se produce un retorno gradual al funcionamiento autotrófico de las vitroplantas, así como la recuperación de las características morfológicas y fisiológicas normales, asimismo en esta etapa las plántulas sufren un estrés provocado por el cambio de las condiciones de humedad y temperatura, por lo que la transferencia debe realizarse de forma gradual (Sotolongo, 2000).

La aclimatización de plantas in vitro a las condiciones naturales, es un paso crítico para muchas especies y requiere tiempo e instalaciones caras que restringen la aplicación comercial de los procesos de micro propagación. Estas plantas muestran un rápido marchitamiento cuando se transfieren a condiciones de invernadero, por lo tanto debe mantenerse una humedad relativa alta en el nuevo ambiente, para no dañar los mecanismos que mantienen el volumen de agua en la planta (Fila *et al.*, 1998).

Por su parte Ravindra y Thomas (1995), señalan que la aclimatación o endurecimiento de plantas de cultivos in vitro, es el paso más crítico en la

micro propagación y que la supervivencia de vides micro propagadas es relativamente baja comparada con otras especies leñosas.

Por otro lado, Mejía (1994), menciona que la aclimatación de las vitro plantas a condiciones ambientales naturales (ex vitro), es un proceso lento, que debe hacerse muy gradualmente para llevar un material vegetal de una condición de 100% de humedad relativa a valores muy inferiores, como 40 - 50%. Inicialmente a la plántula se le mantiene cubierta con un plástico, en forma hermética para luego ir poco a poco permitiendo la entrada de aire externo.

La aclimatación es un factor importante en la posterior supervivencia de la planta, ya que es una etapa crítica dentro del proceso, en la que se produce la mayor pérdida. En ella se debe comenzar reduciendo gradualmente la humedad relativa, para permitir con esto además del cierre estomático, una mejor formación de cutícula y disminuir la pérdida de agua. Por otra parte, para tener mejores resultados en el establecimiento in vivo es necesario el desarrollo radicular in vitro (Pierik ,1990).

Las plántulas in vitro requieren de un periodo para adaptarse a las condiciones "in vivo" y lograrse la aclimatación para ser transplantadas a terreno definitivo (Pierik,1990).

Los frascos, tubos de ensayo y matraces necesitan ser cerrados para impedir su deshidratación e infección, pero por otro lado, tiene que ser posible el

intercambio gaseoso con el exterior, para evitar una falta de oxígeno o el exceso de gases producidos como el CO₂ y el etileno (Pierik,1990).

Zobayed *et al.*, (2001), explican que la principal característica del ambiente gaseoso in vitro, en un sistema convencional de cultivo de tejido es la alta humedad relativa, gran fluctuación diurna de la concentración de CO₂ y la acumulación de etileno y de otras sustancias tóxicas, esto debido al restringido intercambio aéreo entre el tubo de cultivo y el ambiente.

Tradicionalmente el cultivo de tejidos ha involucrado recipientes cerrados con plantas creciendo heterotróficamente, en un medio con agar que contiene una fuente de carbono. Para mejorar la aclimatación de las plantas in vitro debe proporcionárseles un ambiente que se parezca al in vivo, especialmente durante la etapa III. Para estimular fotoautotofía, se reduce la concentración de hidratos de carbono en el medio, se incrementa la intensidad de luz y se eleva la concentración de CO₂. Además, es importante normalizar el ambiente gaseoso en los vasos de cultivo cerrados, ya que éstos difieren muy notablemente del ambiente, y puede provocar cambios significativos en el crecimiento y en la fisiología de la planta. Los valores de CO₂ son del orden de 0 – 12%, es decir menores a 10 ppm y los de la acumulación de etileno de 3 µl/l, además de una humedad relativa cercana al 100% (Murphy *et al.*, 1998), en cambio los valores existentes en la atmósfera de CO₂, bordean los 350 ppm (Puc, 2003).

Las concentraciones de etileno en los tubos de cultivo pueden afectar el crecimiento in vitro de las plantas (Santamaría *et al.*, 2000).

Las plantas cultivadas in vitro, tienen generalmente la cutícula escasamente desarrollada, debido a la alta humedad relativa (90%-100%). Como consecuencia, cuando se transfiere la planta al suelo, se produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en condiciones in vivo es más baja (Pierik, 1990).

El mismo autor (Pierik, 1990), señala que las hojas de una planta producida in vitro, son frecuentemente finas, blandas y fotosintéticamente poco activas, además tienen las células empalizadas que son las que deben utilizar la luz, más pequeñas y en menor cantidad. Indica además que los estomas pueden no ser suficientemente operativos, y permanecer abiertos al trasplantarse al suelo, originando un importante estrés hídrico en las primeras horas de aclimatación.

Thomas (1998), demuestra que la aclimatación de las plantas in vitro es a menudo difícil por que ellas poseen tallos y hojas suculentas, debido a la alta humedad dentro del vaso de cultivo, y el agua libre en el medio.

Fila *et al.*, (1998), señalan que la aclimatación puede ser mejorada modificando el microambiente durante el desarrollo in vitro, por ejemplo reduciendo la humedad relativa que causa un endurecimiento de la planta, mejorando los resultados durante el trasplante. También con el aumento de la

tasa de CO₂ en los tubos de cultivo o aumentando las intensidades de luz, para producir el establecimiento autotrófico in vitro.

Gribaudo *et al.*, (2001), indican que el costo de la fase de aclimatación es generalmente considerable. Es por ello que los procedimientos que lleven a un endurecimiento de la planta en la última etapa de la micropropagación, con menores costos de labor y equipamiento facilitan este manejo y para esto se recomienda el uso de tubos con baja humedad relativa.

Se entiende por aclimatación el proceso de adaptación de una planta a un área o zona climática de la cual no es nativa, o a un microclima distinto al que ha tenido lugar en una fase previa al cultivo (Hoyos y Palma, 1995; citado por Nieto, 2008).

Valerin (2005), también indica que la aclimatación: es el cambio gradual de las condiciones ambientales; en el caso concreto, es la transferencia de las plántulas de un ambiente aséptico cerrado a un vivero o campo, con menor humedad relativa y mayor intensidad de luz.

La aclimatación de plántulas en condiciones in vitro a condiciones ex vitro es el periodo más crítico en la micro propagación, ya que durante el cultivo in vitro tiene condiciones de alta humedad relativa(entre 85 y 100%), generalmente baja irradiación, carencia de CO₂, presencia de fuentes de carbono y reguladores de crecimiento en el mismo medio; mismas que inducen a la planta a desarrollar y estructura y fisiología anormales, ya que entre otros

aspectos, sus raíces son muy vulnerables a daño físico, la tasa fotosintética es muy baja y sus aparato estomacal es poco funcional, acompañado este último de cambios en el tamaño, la forma y la densidad estomacal (Pospisilová *et al.*, 1997) citado por (Ticha *et al.*, 1999), con estas características las plantas propagadas in vitro tienen poco éxito de adaptación en el ambiente exterior, en donde la humedad relativa es menor y muy variable (entre 30 y 80%, dependiendo de la hora del día y de la temporada del año) (Kozai,1991; Dami y Hughes,1995; citado por Pospisilova *et al.*, 1998), el sustrato es áspero y sin fuente de carbono.

Durante este cambio de condiciones tan drásticas las plantas mueren, principalmente debido a la elevada tasa de transpiración (Santa María *et al.*, 1993; citado por Pospisilova *et al.*, 1999), adicionalmente por la ausencia de la fuente de carbono, así como el daño mecánico de las raíces, ocasionada por el sustrato. La literatura reporta diversos estudios que demuestran la gran importancia que tiene la estructura, morfología y funcionalidad del aparato estomatal durante la aclimatización de las plantas producidas in vitro.

Entre los cambios observados se reporta variaciones en la densidad estomatal (reducción – incremento) y en forma de los estomas. Al respecto (Noe y Bonini, 1996), encontraron una densidad estomatal mas alta en condiciones ex vitro con respecto a las condiciones in vitro, en plantas de *vaccinium corymbosum*, mientras que (Jamison y Renfroe, 1998), observaron esa misma respuesta en *betula uber*, pero la densidad más baja fue reportada por (Brainerd *et al.*, 1981), en *Prunus insititia*. Con relación a la morfología de

los estomas (Dami y Hughes, 1997 y Ali –ahmad *et al.*, 1998), en sus estudios realizados con plantas de vid, observaron apertura estomatales mas grandes en las plántulas desarrolladas en condiciones in vitro que en las plantas aclimatadas o en aquellas tratadas con polietilen glicol durante la aclimatación de esta especie.

3.7.1 Importancia de la aclimatación para el cultivo in vitro.

Este proceso es fundamental ya que el uso exitoso de la micro propagación de especies de importancia económica depende, en gran manera, de una adecuada aclimatización (Peñalver *et al.*, 1998; Mogollón, 2003; citado por Nieto, 2008).

El establecimiento de plantas a condiciones ex vitro suele ser una limitante para el éxito de la micro propagación. El estrés hídrico de alta intensidad de luz va en detrimento en la sobrevivencia de las vitro plantas que son transferidas a un invernadero .Además de lo antes mencionado, el tiempo inmediatamente posterior al trasplante desde las condiciones ex vitro, las vitro plantas presentan baja capacidad fotosintética y alta susceptibilidad a la desecación debido al funcionamiento inadecuado de los estomas (Seon *et al.*, 2000; citado por Nieto, 2008).

3.8 Anatomía de las plantas cultivadas in vitro y su influencia sobre la aclimatación.

El ambiente in vitro es conocido por inducir modificaciones morfológicas, anatómicas y fisiológicas en las plantas micro propagadas. Esas plantas son generalmente susceptibles a la deshidratación rápida cuando se exponen a baja humedad relativa (Gribaudo *et al.*, 2001).

Por su parte Ritchie., *et al* (1991), indican que las plantas micro propagadas son cultivadas bajo altos niveles de humedad relativa, causando anomalías morfológicas, particularmente en el estoma y la cutícula, produciendo un alto porcentaje de mortalidad en la transferencia al invernadero.

Brainerd y Fuchigami (1981), señalan que las hojas de plantas micro propagadas pueden tener menos cera epicuticular, células en empalizada más pequeñas, y más espacios aéreos en el mesófilo.

3.8.1 Factores morfológicos que influyen en la aclimatación.

Brainerd *et al.*, (1981), demuestran que la anatomía de la hoja es influenciada por la luz y la humedad. Las hojas desarrolladas a altas intensidades de luz tienen células en empalizada en mayor cantidad y más grandes que aquellas en condiciones de sombra, situación que se asemeja al de las plantas in vitro. Las hojas desarrolladas en baja humedad relativa tienen espacios intercelulares pequeños. Las plantas crecidas en alta humedad relativa tienen

un pobre desarrollo de cera epicuticular, y altas tasas de transpiración en aire seco.

Plantas creciendo bajo condiciones heterotróficas *in vitro*, tienen bajas tasas de fotosíntesis. Esto es debido a las bajas intensidades de luz, bajas concentraciones de CO₂ (Infante, 1989), y la inhibición de la fotosíntesis por la alta concentración de azúcar en el medio. No obstante, después de transferirlas a las condiciones *ex vitro*, la mayoría de las plantas micro propagadas desarrollan un aparato fotosintético funcional, aunque el aumento en la intensidad de la luz no es linealmente traducido en un incremento de la fotosíntesis (Kozai, 1991).

En las plántulas *in vitro*, la respuesta a la fotosíntesis en condiciones de luz, es similar a la de las plantas de sombra, caracterizadas por tasas fotosintéticas y de compensación de luz bajas y puntos de saturación también bajos. La anatomía de las hojas es de acuerdo con las características fisiológicas mencionadas, ya que el efecto de la luz en el desarrollo del mesófilo, principalmente en el parénquima en empalizada, es ciertamente el factor determinante anatómicamente. Sin embargo, las deficiencias en las estructuras de los cloroplastos (desarrollo de grana), el nivel bioquímico y la baja en la actividad de la Rubisco, también contribuyen a limitar la actividad fotosintética (Amancio *et al.*, 1999).

Amancio *et al.*, (1999), confirman que cuando las plantas son transferidas a condiciones *in vivo*, a radiaciones más altas, puede ocurrir estrés de luz,

incluyendo la fotoinhibición, la fotooxidación de la clorofila, lo último siendo revelado por clorosis y manchas secas que aparecen en la hoja. No obstante, algunas especies toleran mayores radiaciones que aquellas In Vitro, sin mayor estrés. El control y la optimización de la luz, es entonces esencial para la aclimatización satisfactoria, aumentar la tasa de sobrevivencia y el desarrollo de nuevas estructuras. Por otra parte, existe la evidencia que un alto nivel de azúcar en las células puede inhibir la síntesis de clorofila. Los factores limitantes para la fotosíntesis de plantas cultivadas in vitro, son la baja concentración de CO₂ en la atmósfera del tubo de cultivo y la baja intensidad de luz.

El aumento simultáneo de estos factores generalmente hace posible mejorar la actividad de la fotosíntesis in vitro (Slavtcheva y Dimitrova, 2000).

La captación de CO₂ neto por parte de las plantas in vitro, es pequeña debido a la baja tasa de éste dentro del tubo de crecimiento. Es más, los azúcares que se suplementan al medio de crecimiento pueden causar una inhibición extensa de la fotosíntesis. Al aumentar la tasa de CO₂ y/o las intensidades de iluminación en el tubo de cultivo, se produce un establecimiento autotrófico en las plantas in vitro. Sin embargo estas técnicas son de poco uso comercial debido a su alto costo (Fila *et al.*, 1998).

Van Huylenbroeck y Debergh (1996), indican que lo importante en las plantas in vitro, son las reservas de hidratos de carbono para superar el estrés del trasplante. La pérdida de agua en plantas micro propagado durante la

aclimatación, se ha atribuido principalmente al mal funcionamiento de los estomas y a una reducida deposición de cera epicuticular (Gribaudo *et al.*, 2001).

3.8.2 Cutícula

Brainerd y Fuchigami (1981), señalan que el estrés hídrico de las plantas cuando son transferidas a baja humedad relativa, ha sido atribuido al pobre desarrollo de la cera cuticular y epicuticular.

Sutter y Langhans (1979), determinaron que la estructura de la cera epicuticular, aumenta en hojas de plantas micro propagadas de clavel durante 2,5 semanas en el invernadero. (Grout y Aston ,1977), observaron que una considerable y evidente capa de cera epicuticular, en ambas superficies de hojas de *Brassica oleracea*, 10 días después de transferirlas desde un cultivo aséptico a baja humedad relativa (H.R). Estos desarrollos de cera son parte del proceso de aclimatización. El desarrollo de cera ocurre a los 10 días o más después de transferirlos, pero no explica la diferencia en el contenido relativo de agua o el porcentaje de agua perdida entre un cultivo de manzano cultivado asépticamente y aquellos después de cuatro o cinco días de exponerlos a 30 a 40% de humedad relativa.

La deposición de la cera epicuticular, es un factor importante en el retardo de la deshidratación de la hoja, ésta es reforzada al disminuir la humedad relativa (Ritchie *et al.*, 1991).

Gribaudo *et al.*, (2001), observaron que la cantidad de cera de la hoja en plantas *in vitro* era baja, anormalmente estructurada y químicamente diferente de la cera de las plantas crecidas en invernadero. Además, evaluaron la presencia de cera epicuticular de la superficie adaxial de la hoja, para determinar si la pérdida de agua era influenciada por la cantidad de cera o por un problema estomático, concluyendo que la mayoría del agua se perdió a través de la superficie adaxial debido a un cierre estomático imperfecto.

La deshidratación de las hojas a través de la cutícula de la superficie adaxial es relativamente baja. Bajo sus condiciones experimentales una reducción de la H.R parece tener mayor efecto *in vitro*, reforzando el funcionamiento estomático y esto permite un mejor control de la pérdida de agua de las hojas (Sutter, 1984).

3.8.3 Estomas

Brainerd y Fuchigami (1981), observaron que un corto tiempo de aclimatación con humedad, involucra un cambio en el funcionamiento estomático, y ocurre en menos de cinco días después de exponerlo a esta baja humedad relativa. Otro tiempo más largo de aclimatación involucra desarrollo de cera, y reorientación de los cloroplastos, y esto ocurre después de 10 a 14 días.

Sutter y Langhans (1979) y Brainerd y Fuchigami (1981); han sugerido, sin embargo, que la lenta respuesta estomática puede contribuir también al estrés hídrico en plantas micro propagadas removidas desde el ambiente de cultivo.

Romano *et al.*, (1992), demuestran que los estomas de las plántulas in vitro están levantados, alrededor de las células de guarda comparados con los normales que son elípticos, y con las células de guarda hundidas.

Ritchie *et al.*, (1991), señalan que el mal funcionamiento de los estomas, es debido a la anormal disposición de las células de guarda.

3.8.4 Morfología estomática

La transpiración es la pérdida de agua en la planta en forma de vapor. Aunque una pequeña cantidad del vapor de agua se puede perder a través de aberturas pequeñas denominadas lenticelas, en la corteza del tallo y ramas jóvenes, la mayor proporción (más del 90%) se escapa por las hojas (Sánchez y Aguirreolea, 2000).

La atmósfera se encuentra tan alejada de la saturación de agua, que la planta corre peligro de deshidratación, es por esto que la cutícula sirve como barrera efectiva a la pérdida de agua (Sánchez y Aguirreolea, 2000). Los mismos autores señalan que la cutícula es un depósito céreo dispuesto en varias capas, que recubren la superficie externa de una hoja típica. Debido a que estas ceras cuticulares son muy hidrófobas, ofrecen una resistencia muy elevada a la difusión, tanto de agua líquida como de vapor de agua procedente de las células subyacentes. La integridad de la epidermis y de la cutícula que la recubre, es interrumpida por los estomas.

Sánchez y Aguirreolea (2000), señalan que los estomas proporcionan a las plantas un mecanismo fundamental para adaptarse a un ambiente continuamente cambiante, permitiendo el intercambio físico activo entre las partes aéreas de la planta y la atmósfera. El papel fundamental de los estomas es la regulación de la pérdida de agua (transpiración) y la absorción de CO₂ (asimilación fotosintética del carbono). Además explican que los factores más importantes que afectan la transpiración son: radiación, déficit de presión de vapor del aire, temperatura, velocidad del viento y suministro de agua, y entre los factores propios de la planta figuran: área foliar, estructura y exposición foliar, resistencia estomática y capacidad de absorción del sistema radical.

En cuanto a morfología estomática, (Wardle *et al.*, 1983), realizaron un estudio en crisantemo (*Chrysanthemum X moriflorum* Ramat.) y coliflor (*Brassica oleracea* L.) con remoción de epidermis de la superficie abaxial de las hojas manifestando que las plantas in vitro tienen los estomas abiertos, debido a la alta humedad relativa que presenta la condición in vitro.

Santamaría *et al.*, (2000), indican que normalmente los estomas cierran como respuesta a altas concentraciones de CO₂, pero esto no ocurre In Vitro, donde en tubos sellados, la densidad estomática y la apertura de los estomas son mayores que en las plantas que crecen bajo condiciones in vivo.

3.8.5 Raíces

El equilibrio del agua en tejidos de plantas micropropagadas no solo depende de regular la transpiración, sino de un suministro adecuado de agua a las raíces. Es por esto que las plantas cultivadas en agar tienen pobres conexiones raíz-tallo, la estructura de la raíz alterada, la absorción y transporte del agua es negativo. La captación de agua por parte de las raíces, junto con la pérdida de agua por los ápices, es de importancia primaria para el mantenimiento del equilibrio del agua durante la aclimatación de las plantas crecidas *in vitro*. Además, indican que el suministro de agua podría estar limitado, desde que estudios histológicos han mostrado una anatomía de raíz anormal en las plantas *in vitro* (Fila *et al.*, 1998).

Végvari (2001), mostró que las raíces de plantas propagadas *in vitro*, generalmente pierden sus pelos radicales durante la aclimatización, pero estas raíces son todavía importantes porque las nuevas raíces desarrolladas son totalmente funcionales a partir de ellas.

Mohammed y Videver (1990), aseguran, que la presencia de raíces en plantas leñosas garantizan alta supervivencia en la a climatización.

3.9 Preparación del material a aclimatar

Hurtado y Merino (1994); refiere que la plántula dentro del tubo de ensayo o frasco se encuentra bajo condiciones de esterilidad y con alta humedad relativa, esta última deberá reducirse eliminando el papel parafilm o cinta selladora (si se usa) unos cinco días antes del trasplante al suelo lo que dará

a la planta mayor tolerancia a la baja humedad relativa del medio ambiente, facilitándole su posterior adaptación a condiciones autótrofas, donde tendrá que regular adecuadamente sus procesos de absorción, traslocación y transpiración de agua. Para realizar el trasplante de plántulas de los tubos de ensayo se destapan totalmente y se sacan las plantas, debiendo lavarse cuidadosamente con agua desionizada, de manera que no quede agar adherido en las raíces.

La supervivencia de las vitroplantas regeneradas durante el periodo de adaptación depende fundamentalmente de las peculiaridades fisiológicas, estructurales y anatómicas que las plántulas presentan producto del desarrollo in vitro, lo cual permite una elevada humedad relativa en el interior de los frascos, baja intensidad luminosa, bajo intercambio gaseoso, abundante disponibilidad de nutrientes y carbono (generalmente en forma de sacarosa) y una pequeña variación de temperatura en un rango considerado óptimo para el cultivo (Preece y Sutter, 1991 ; Teixeira *et al.*, 1995).

3.10 Técnicas de pre aclimatación

Murphy *et al.*, (1998), demostraron que con la inclusión de aperturas en los tubos de cultivo, redujeron la frecuencia estomática y la apertura del estoma en *Delphinium*. Se estableció un beneficio positivo de la ventilación en el crecimiento de esta especie, pero es claramente importante determinar si el factor crítico es el aumento en el movimiento del agua a través de la planta, o si es la reducción en la concentración de algún componente gaseoso por debajo de una concentración de estrés.

El usar aberturas en los tubos durante la fase III, en el enraizamiento, reduce la densidad y apertura de los estomas, por consiguiente, una probable explicación a la mejor sobrevivencia en la aclimatización es por el mejoramiento en la estructura y función estomática (Santamaría *et al.*, 2000).

Wardle *et al.*, (1983), señalan que la reducción en el nivel de humedad de la atmósfera dentro del tubo de cultivo, puede obviar la necesidad de un período de aclimatación. Algunas especies de plantas crecidas por métodos *in vitro*, pueden ser aclimatadas con niveles reducidos de humedad relativa dentro de cinco días, esto sería beneficioso en la producción a gran escala de plantas, para eliminar el tiempo de consumo y la labor intensiva de la fase de aclimatación.

Thomas (1998), utilizó sachet plásticos en la aclimatación, como barrera para el aire reduciendo así el efecto de la deshidratación, así como la pérdida de agua en la planta y en el medio. Concluyó que tres semanas con el sachet cerrado y una con el sachet abierto, era suficiente para completar la aclimatación de plantas de *in vitro* con una humedad de 68-75%.

Figuroa (2003), con cubiertas de polipropileno, consiguió disminuir la humedad relativa al interior de los tubos de cultivo, teniendo en consideración que, según la literatura, el papel aluminio mantiene una humedad relativa al interior del tubo de cultivo cercana al 100%. Al pre aclimatar, utilizando cubiertas de polipropileno, se logró una mejor aclimatación de las plantas *in vitro* de violeta africana que al utilizar cubiertas de papel aluminio, ya que se disminuyó la mortalidad obteniendo plantas terminadas de gran desarrollo.

Para lograr la adecuada adaptación de las vitro plantas al ambiente ex vitro es necesario valerse de técnicas que proporcionen condiciones ambientales que gradualmente las “endurezcan”. De tal forma que, una vez finalizado este período las mismas presenten características que las faculten para crecer en el vivero. Entre estas resaltan el uso del propagador de neblina y la cámara húmeda en sus diferentes modalidades, las cuales pueden combinarse con tratamientos de endurecimiento durante la fase final de desarrollo in vitro (Torres, 2006 citado por Nieto, 2008).

3.11 Desinfección del sustrato

Hurtado y Merino (1994), mencionan que antes de efectuar el trasplante es recomendable que el sustrato sea esterilizado en una autoclave a una temperatura de 100° C, por 30 a 60 minutos (dependiendo de la cantidad de sustrato), lo cual reducirá la incidencia de patógenos, particularmente aquellos que causan la pudrición de la raíz.

3.12 Proceso de aclimatación

Trasladar los frascos con plántulas por lo menos un mes al vivero para su pre adaptación Sacar las plántulas del frasco y lavarlas con abundante agua, eliminando el medio de cultivo adherido a las raíces. Sumergir las plántulas en solución fungicida (benomil 1g/L) por 5 min.

Trabajos realizados por (Quinteros, 2003), indican que, para la etapa de aclimatación de vitro plantas de ñame, se deben emplear plantas con un buen número de raíces con el propósito de asegurar la supervivencia de las

mismas al medio externo. Las plantas deben tener de dos a tres nudos y un sistema radicular desarrollado para ser trasplantadas al suelo (Hurtado, 1994).

3.13 Manejo de plántulas en aclimatación

En el manejo de vitro plantas en el invernadero o sala de aclimatación, se debe tener mucho cuidado, puesto que estas son muy sensibles a los cambios ambientales, en especial al adecuado suministro de agua, su escasez provoca además del estrés hídrico (que puede ser irreversible) condiciones favorables para la aparición de plagas y enfermedades (Pinedo, 2000).

Se tiene que utilizar fungicidas para prevenir el ataque de hongos durante el proceso de adaptación, el cual se aplica directamente al sustrato o bien a las plántulas antes y/o después del trasplante (Granada, 1990; citado en Ruiz, 2003).

Lane (1979), citado en Ruiz (2003), asegura que la aplicación foliar de nutrientes puede ser muy útil, pues además de proporcionar nutrientes a las plantas ayuda a prevenir la deshidratación.

Respecto a la temperatura las plantas se desarrollan mejor entre los 20 y 29°C por lo que es importante manejar estos rangos durante la aclimatación (Ruiz, 2003). El fotoperiodo debe mantenerse similar al del laboratorio durante el periodo de adaptación (Granada, 1990).

3.14 Control de las condiciones ambientales en la fase de aclimatación.

El mantener una alta humedad en los primeros días de la transferencia ex vitro es un factor crítico para la sobrevivencia de las vitro plantas, ya que por sus condiciones fisiológicas y anatómicas, son muy sensibles a presentar desequilibrio en el mecanismo estomático y en consecuencia, las células de las regiones más tiernas manifestaran estrés hídrico. De allí que una de las principales técnicas para la aclimatización es el utilizar sistemas que proporcionen alta humedad relativa y que permitan su reducción gradual hasta el final del proceso (Wetzstein *et al.*, 2002; citado por Nieto, 2008).

Por la razón anterior, Trujillo *et al.*, (1999) y Mogollón (2002); citado por Nieto (2008), mencionan que la mayoría de los laboratorios disponen de sistemas de nebulizadores, también denominados “mist” o “fog”, humidificadores o ambientes cerrados, que retienen vapor de agua como los túneles, tiendas, cámaras húmedas o cámaras de endurecimiento.

Las plantas cultivadas in vitro crecen a bajos niveles de luz, por lo que desarrollan hojas muy delgadas, y con alteraciones anatómicas y funcionales. Por tal motivo, ante estas condiciones, sufren clorosis y quemaduras (Mogollón, 2002; citado por Nieto, 2008).

Las vitro plantas son generalmente aclimatizadas durante 4 semanas a 90% de sombra. Esta reducción de la intensidad luminosa en condiciones de invernadero es un factor fundamental en los procesos de aclimatización (Riquelme *et al.*, 1991; citado por Nieto, 2008).

De acuerdo a lo señalado por Ziv (1995); citado por Nieto (2008), durante las primeras dos semanas posteriores al trasplante, es necesario controlar adecuadamente los factores ambientales y prácticamente se requiere simular las condiciones del ambiente in vitro, hasta tanto que las plantas se adapten. De esta forma se evita el exceso de transpiración de las plantas hasta que desarrollen un adecuado aparato estomático y la cutícula. El método más utilizado es el riego en forma de neblina; sin embargo, el incremento de la humedad beneficia el desarrollo de algunas algas y sobre todo de microorganismos, principalmente hongos, que afectan la sanidad de los cultivos.

Se han aplicado prácticas dirigidas al endurecimiento de las vitro plantas antes de la aclimatización, reduciendo la humedad relativa en los recipientes de cultivo e incrementando la intensidad luminosa a la que se exponen los mismos (Donnelly *et al.*, 1995; citado por Nieto, 2008).

3.15 Importancia de las condiciones ambientales durante el proceso de aclimatación

Según Valerin (2005), durante este proceso intervienen factores como:

Humedad: las plantas in vitro están aproximadamente al 100 % de humedad y debido al pobre control de transpiración, se requiere un cambio gradual durante la adaptación de alta humedad a baja.

Temperatura: en el cuarto de crecimiento a 20°- 27°C, mantener esta temperatura durante la adaptación, pues esta condición acelera el desarrollo de raíces.

Luz: se ha observado que las plantas producidas por cultivo de tejidos muestran un mejor desarrollo a intensidades lumínicas bajas (15 Klux).

3.16 Inductores de crecimiento

Beale y Sponsel (1993); Davies (1995); citado por Delgado y Rojas (1999), mencionan que el efecto de la aplicación exógena de los reguladores de crecimiento sobre el crecimiento y desarrollo de las células, tejidos y órganos en cultivos, está fuertemente influenciado por otros factores como las condiciones ambientales del cultivo, el tipo de explante y el genotipo. Con frecuencia la combinación de dos o más reguladores de crecimiento de diferente clase resulta necesaria ya sea de manera simultánea o secuencial. Ellos pueden modificar la síntesis, destrucción, activación, secuestro, transporte o sensibilidad de las sustancias de crecimiento endógeno del mismo o diferente tipo.

3.16.1 Las auxinas

Delgado y Rojas (1999), indican que en cultivos de tejidos las auxinas estimulan el alargamiento celular y el crecimiento del tallo en combinación con las citocininas estimulan la división celular y diversos procesos morfogénicos; también estimulan la diferenciación de raíces y el desarrollo de raíces secundarias.

Los mismos autores indican que similar a las auxinas han sido producidos sintéticamente recibiendo en conjunto las denominaciones “Auxinas Sintéticas”. Tenemos entre ellas el ácido naftalenacético (ANA), el ácido 2,4 – diclorofenoxiacético (2,4 d) y el ácido indol butírico (AIB), como los más comúnmente utilizados. El ácido naftalenacético (ANA) es una auxina que tiene la capacidad de producir un agrandamiento y alargamiento celular.

El AIB es una auxina sintética químicamente similar al AIA 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 del enraizamiento. Tiene las ventajas 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 (Blazich ,1988).

El ácido Naftalenacético (ANA), es también una sustancia sintética con poder auxínico y es, junto al AIB, una de las promotoras del enraizamiento más utilizadas en la actualidad. Posee las mismas ventajas de estabilidad del AIB y también ha probado ser más efectiva que el AIA. Su desventaja principal es que generalmente ha mostrado ser más tóxica que el AIB bajo concentraciones similares (Blazich, 1988).

3.17 Factores que influyen en la fertilización foliar

Para el buen éxito de la fertilización foliar es necesario tomar en cuenta tres factores, los de la planta, ambiente y formulación foliar. En relación a la

formulación foliar, la concentración de la sal portadora del nutrimento, el pH de la solución, la adición de coadyuvantes y el tamaño de la gota del fertilizante líquido, del nutrimento por asperjar se cita su valencia y el ion acompañante, la velocidad de penetración y la translocabilidad del nutrimento dentro de la planta. Del ambiente se debe de considerar la temperatura del aire, el viento, la luz, humedad relativa y la hora de aplicación. De la planta se ha de tomar en cuenta la especie del cultivo, estado nutricional, etapa de desarrollo de la planta y edad de las hojas (Kovacs, 1986). A continuación se desglosa la importancia de algunos de ellos.

3.17.1 Relacionados con la formulación foliar

- a) **pH de la solución.** La característica de la solución por asperjar es de primordial importancia en una práctica de fertilización foliar. El pH de la solución y el ion acompañante del nutrimento por aplicar influyen en la absorción de éste en la hoja (Reed y Tukey, 1978).
- b) **Surfactantes y adherentes.** La adición de surfactantes y adherentes a la solución favorece el aprovechamiento del fertilizante foliar. El mecanismo de acción de un surfactante consiste en reducir la tensión superficial de las moléculas de agua, permitiendo una mayor superficie de contacto con la hoja; un adherente permite una mejor distribución del nutrimento en la superficie de la hoja evitando concentraciones de este elemento en puntos aislados cuando la gota de agua se evapora (Leece, 1976).

c) Presencia de sustancias activadoras

Actualmente se están haciendo estudios sobre el uso de sustancias activadoras en la absorción de nutrimentos por aspersión foliar. Los ácidos húmicos actúan como activadores y la urea también desempeña la misma función en la absorción de fósforo. Parece que la urea dilata la cutícula y destruye las ceras sobre la superficie de la hoja, facilitando la penetración del nutrimento (Malavolta, 1986).

d) Nutrimento y el ion acompañante en la aspersión

La absorción de nutrimentos está relacionada con la capacidad de intercambio catiónico en la hoja, y la valencia del ion influye en este intercambio. Los iones K^+ y NH_4^+ requieren sólo de un H^+ en el intercambio, mientras que el Ca^{2+} y el Mg^{2+} requieren de dos H^+ ; por lo tanto, los iones monovalentes penetran con mayor facilidad que los iones con mayor número de valencias. Los iones más pequeños en su diámetro penetran más rápidamente que los iones de mayor tamaño (Fregoni, 1986).

e) Concentración de la solución.

La concentración de la sal portadora de un nutrimento en la solución foliar, varía de acuerdo con la especie de la planta. En general, los cereales soportan mayores concentraciones que algunas otras especies como el frijol, pepino, tomate y otras hojas menos cutinizadas, pero posiblemente sean las más eficientes en absorción foliar (Fregoni, 1986).

3.17.2 Relacionadas con el ambiente

a. Temperatura. La temperatura influye en la absorción de nutrimentos vía aspersión foliar (Jyung y Wittwer ,1964).

b. Luz, humedad relativa y hora de aplicación.

Estos tres factores deben de tomarse en cuenta en la práctica de fertilización foliar. La luz es un factor importante en la fotosíntesis y para que una planta pueda incorporar nutrimentos en los metabolitos se requiere de un proceso fotosintéticamente activo en la planta. La humedad relativa influye en la velocidad de evaporación del agua que se aplica. Por consiguiente, una alta humedad relativa del medio favorece la penetración de los nutrimentos al mantener húmeda la hoja. Este último factor está relacionado con la hora de aplicación, la cual debe de practicarse o muy temprano o en las tardes, según las condiciones de la región (Swietlik y Faust ,1984).

3.17.3 Relacionados con la planta

La aplicación foliar de nutrimentos también está afectada por el estado de desarrollo de la planta. Se indica, aunque existen pocos datos, que las plantas y hojas jóvenes son las que tienen mayor capacidad de absorción de nutrimentos vía aspersión foliar y desde luego deben de tener un déficit de esos nutrimentos en su desarrollo. Entre especies también hay diferencias, y posiblemente esta diferencia esté fundamentalmente influenciada por el grado de cutinización y/o significación de las hojas. A mayor cutinización,

lignificación y presencia de ceras en la hoja, habrá menor facilidad de absorción del nutrimento (Swietlik y Faust, 1984).

3.18 Propósitos de la fertilización foliar

La fertilización foliar puede ser útil para varios propósitos tomando en consideración que es una práctica que permite la incorporación inmediata de los elementos esenciales en los metabolitos que se están generando en el proceso de fotosíntesis. Algunos de estos propósitos se indican a continuación: corregir las deficiencias nutrimentales que en un momento dado se presentan en el desarrollo de la planta, corregir requerimientos nutrimentales que no se logran cubrir con la fertilización común al suelo, abastecer de nutrimentos a la planta que se retienen o se fijan en el suelo, mejorar la calidad del producto, acelerar o retardar alguna etapa fisiológica de la planta, hacer eficiente el aprovechamiento nutrimental de los fertilizantes, corregir problemas fitopatológicos de los cultivos al aplicar cobre y azufre, y respaldar o reforzar la fertilización edáfica para optimizar el rendimiento de una cosecha. Lo anterior indica que la fertilización foliar debe ser específica, de acuerdo con el propósito y el problema nutricional que se quiera resolver o corregir en los cultivos (García y Peña, 1995).

3.19 Mecanismos de absorción de nutrimentos

El proceso de absorción de nutrimentos comienza con la aspersion de gotas muy finas sobre la superficie de la hoja de una solución acuosa que lleva un nutrimento o nutrimentos en cantidades convenientes. La hoja está cubierta por una capa de cutina que forma una película discontinua llamada cutícula, aparentemente impermeable y repelente al agua por su naturaleza lipofílica.

La pared externa de las células epidermales, debajo de la cutícula, consiste de una mezcla de pectina, hemicelulosa y cera, y tiene una estructura formada por fibras entrelazadas. Dependiendo de la textura de éstas es el tamaño de espacios que quedan entre ellas, llamados espacios interfibrales, caracterizados por ser permeables al agua y a sustancias disueltas en ella. Después de esta capa se tiene al plasmalema o membrana plasmática, que es el límite más externo del citoplasma (García y Peña, 1995).

El plasmalema consiste de una película bimolecular de lipoides y está parcial o totalmente cubierto de una capa de proteína. Las moléculas de lipoides, parcialmente fosfolipoides, tienen un polo lipofílico y un polo hidrofílico; se supone que a través de estos lipoides hidrofílicos penetran los nutrimentos. Estos lipoides se pueden prolongar radialmente hacia la pared epidermal, y se conocen como ectodesmos o cordones lipoides que facilitan en gran medida la penetración de los nutrimentos. Tal parece que en una primera instancia, al ser aplicado el nutrimento por aspersion, éste se difunde por los espacios interfibrales en la pared de las células epidermales (difusión), o bien, vía intercambio iónico a través de ectodesmos (ectoteichodes), hasta llegar al plasmalema, lugar donde se lleva a cabo prácticamente una absorción activa como en el caso de la absorción de nutrimentos por las raíces.

En esta absorción activa participan los transportadores, que al incorporar el nutrimento al citoplasma de la célula, forman metabolitos que son posteriormente translocados a los sitios de mayor demanda para el crecimiento y rendimiento de la planta. Por lo tanto, la absorción foliar de

nutrimentos se lleva a cabo por las células epidérmicas de la hoja y no exclusivamente a través de los estomas como se creyó inicialmente. De aquí la importancia de hidratar la cutícula de la hoja con surfactantes para facilitar la penetración del nutrimento. Este proceso, descrito brevemente, ha sido cotejado actualmente mediante el uso de algunos trazadores isotópicos (Franke, 1986).

3.20 Principios y aplicaciones fertilización foliar

Las hojas y sus partes (peciolos, láminas, fluidos) representan la inversión de los recursos nutricionales de las plantas en procesos fisiológicos directamente ligados a las tasas de intercambio gaseoso (asimilación fotosintética del CO₂, transpiración). La composición química típica de la materia seca de una hoja puede ser: 60% carbohidratos, 25% proteínas, 5% lípidos y 10% minerales.

La demanda de nutrimentos por parte de las hojas cambia durante el ciclo de vida, y muestra una relación estrecha con la tasa y las características del crecimiento. La longevidad de las hojas está fuertemente determinada por el estado fisiológico de las plantas en el momento de su producción. La aplicación de nutrimentos en función de la demanda (una consecuencia del ciclo fenológico) debería constituir la base de la fertilización científica de los cultivos (Gutiérrez, 2002).

Por ejemplo, del total de nitrógeno de una hoja C₃, solo el 23% es no-cloroplástico, 19% es invertido en la captura de luz, 26% en la fijación enzimática de CO₂, 23% en procesos biosintéticos y energéticos, y solo un 7% es nitrógeno estructural. Por lo tanto, la tasa fotosintética y su expresión

final, el crecimiento de las plantas, es altamente dependiente de la concentración de nitrógeno en las hojas. Las especies C3 y C4 difieren sustancialmente en la respuesta de la fotosíntesis a la concentración de nitrógeno foliar.

Existe abundante evidencia de que las células parenquimáticas situadas a lo largo y en las terminaciones de los vasos del xilema, y de los tubos cribosos del floema (células compañeras) gobiernan la translocación de solutos en las venas, los peciolos, los tallos, y las raíces principales. Las variaciones en el metabolismo celular y en la organización intercelular del parénquima asociado a estos canales de translocación, conduce a diferentes estrategias de distribución del carbono y del nitrógeno, que a su vez parecen estar relacionadas con la forma de crecimiento y su ámbito de adaptación (Gutiérrez, 2002).

Desde el punto de vista del diagnóstico nutricional de las plantas, las hojas son de enorme utilidad. Por un lado, la relación entre el contenido de nutrimentos en los tejidos (foliares) y el rendimiento es clara. Representa el fundamento científico del análisis químico de los tejidos para diagnosticar el estado nutricional de las plantas, pero requiere de investigación previa para determinar la reacción del rendimiento ante cambios en la concentración de nutrimentos en los tejidos.

El significado fisiológico y la manipulación del "consumo de lujo" (almacenamiento de minerales) pueden ser explorados con el fin de manejar las reservas nutricionales de las plantas. Además de las láminas foliares,

otros tejidos y órganos vegetales (peciolos, flores, semillas) han sido utilizados con éxito para diagnosticar el estado nutricional de las plantas con propósitos variados. Otros aspectos de la fisiología de las hojas pueden explotarse en nutrición mineral, principalmente las posibilidades de realizar diagnóstico bioquímico utilizando la actividad de algunas enzimas foliares o cambios en la concentración de metabolitos secundarios (Gutiérrez, 2002).

3.20.1 El papel de los tallos en la nutrición mineral de las plantas

Los tallos constituyen la vía para el tráfico de minerales a larga distancia dentro de las plantas, tanto en el xilema como en el floema, de la raíz al follaje y viceversa. Los tallos representan a la vez un importante consumidor de recursos minerales para sustentar la producción de tejidos vasculares y accesorios, la actividad del cambium y el crecimiento expansivo en especies perennes y el almacenamiento de reservas. La composición química de la savia del xilema que ingresa al follaje puede indicar a las hojas el estado nutricional de los sumideros (las raíces) y de otras fuentes (el suelo), de manera que estas puedan coordinar la producción y exportación de asimilados en respuesta tanto a factores fisiológicos como edáficos (Gutiérrez, 2002).

El tallo puede constituir un importante órgano de reserva (particularmente en especies perennes) de agua, minerales y compuestos orgánicos, movilizables durante períodos de estrés (déficit hídrico, defoliación, podas). El crecimiento secundario de las especies perennes representa una alta demanda de minerales, necesarios para la actividad del cambium. Una proporción

importante de estos minerales es inmovilizada en el duramen (xilema no conductor) de los troncos y de las raíces (Gutiérrez, 2002).

3.20.2 Raíces gruesas y raíces finas, relaciones con la parte aérea.

Sin olvidar la intensa demanda fisiológica impuesta por las hojas y los tallos sobre los minerales esenciales, ni la importancia de los procesos de distribución de los mismos por parte de los tejidos vasculares, se puede decir que el proceso de nutrición mineral es fundamentalmente "responsabilidad" de los sistemas radicales de las plantas. Las raíces son los órganos involucrados en la absorción de agua y minerales por excelencia. Al igual que los tallos, las raíces pueden constituir un importante órgano para el almacenamiento de agua, minerales y carbohidratos. Asimismo, señales químicas provenientes de la raíz, tanto de naturaleza hormonal como mineral, regulan las relaciones hídricas y el metabolismo de las hojas y de los tallos.

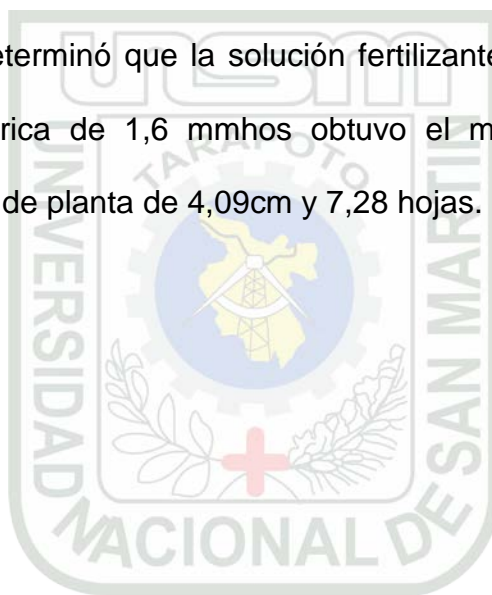
Las raíces gruesas y las raíces finas difieren en distribución, morfología, longevidad y funcionamiento. Las raíces gruesas y profundas garantizan el anclaje y extraen agua y minerales de horizontes más profundos del suelo. Constituyen además importantes reservorios de recursos. Las raíces finas son más efímeras y responden dinámicamente a los cambios en el ambiente del suelo y a las señales fisiológicas provenientes de la parte aérea.

Las raíces finas se encuentran localizadas superficialmente en el perfil del suelo y se supone que absorben la mayor proporción del agua y los minerales requeridos por las plantas. La rizosfera es el volumen de suelo afectado por la

actividad de la raíz, y la complejidad y las propiedades de la misma varían longitudinalmente (Gutiérrez, 2002).

3.21 Determinación de la dosis apropiada de fertilizante foliar (20-20-20), para el desarrollo óptimo de epidendrum schomburgkii en la fase de aclimatación.

Vásquez (2004), determinó que la solución fertilizante foliar 20-20-20, a una conductividad eléctrica de 1,6 mmhos obtuvo el mejor resultado, con un promedio de altura de planta de 4,09cm y 7,28 hojas.



IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del experimento

El presente trabajo de investigación se realizó en el invernadero de Biotecnología Vegetal (Proyecto Piñón) de la Estación Experimental Agraria "El Porvenir", Instituto Nacional de Investigación Agraria – INIA.



FOTO 1: INVERNADERO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL (INIA).

4.1.1 Ubicación Política

Departamento : San Martín.

Provincia : San Martín

Distrito : Juan Guerra

Sector : Juan Guerra

4.1.2. Ubicación Geográfica

Latitud sur : 5° 50' – 5° 57'

Latitud oeste : 77° 05' – 77 °12'

Altitud : 230 - 330 m.s.n.m.m.

Zona de vida : Bosque seco tropical (bs-T).

Fuente: Holdridge (1979).

4.2. Diseño experimental

Se utilizó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con arreglo factorial de 2 x 3 x 3 con 18 tratamientos, tres repeticiones y 27 plántulas por tratamiento.

a. Factor A: Inductores de crecimiento

A1: ANA (Ácido Naftalenacético)

A2: AIB (Ácido Indol-3- Butírico).

b. Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento

B1: 1 ppm / 20 minutos

B2: 2 ppm / 20 minutos

B3: 3 ppm / 20 minutos

c. Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar.

C1: 1,6 mmhos

C2: 2,2 mmhos

C3 : 2,8 mmhos

4.3 Instalación del experimento

4.3.1. Material vegetal

Se seleccionaron plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), propagadas por embriones cigóticos de 30 días de incubación y que tengan como mínimo dos hojas verdaderas.

4.3.2. Sustrato

Se utilizó como sustrato una mezcla de tierra negra con arena de río en proporciones de 3:1, esterilizado a 15 libras de presión a 121 °C por un tiempo de 20 minutos en calor húmedo (autoclave).

4.3.3. Inductores de crecimiento

Se utilizó como inductores de crecimiento el ácido indol-3- butírico (AIB) a una concentración de 1 ppm (4,9 μ M), 2 ppm (9,8 μ M) y 3 ppm (14,7 μ M) y el ácido naftalenacético (ANA), a una concentración de 1 ppm (5,40 μ M), 2 ppm (10,8 μ M) y 3 ppm (16,2 μ M).

4.3.4. Solución fertilizante

Se utilizó una solución fertilizante foliar a base de NPK 20-20-20 mas micro elementos con tres conductividades eléctricas (1,6 mmhos, 2,2 mmhos y 2,8 mmhos).

4.3.5. Bandejas aclimatadoras

Se utilizó bandejas aclimatadoras de 54 plugs, previa desinfección con hipoclorito de sodio al 1% por un tiempo de 10 minutos.

4.3.6. Siembra

Para la siembra se tuvo en consideración lo siguiente: plántulas sanas, sin malformaciones, buena masa radicular, tallo endurecido y que tengan la parte apical activa.

4.3.7. Control fitosanitario

El control fitosanitario de plagas y enfermedades se realizó en forma preventiva o de acuerdo a la incidencia del daño.

4.4 Protocolo de aclimatación de plántulas de Piñón (*Jatropha curcas* L.) propagadas in vitro a través embriones cigóticos

4.4.1 Preparación de sustrato

- **Recolección y mezcla del sustrato**

Se recolectó tierra negra y arena de río, para hacer la mezcla de los sustratos de acuerdo a las proporciones establecidas 3:1 (3 partes de tierra negra y 1 parte de arena de río)



FOTO 2: TIERRA NEGRA (INIA)



FOTO 3: ARENA DE RÍO (INIA)



**FOTO 4: SUSTRATO A UNA PROPORCIÓN 3:1
(INIA)**



FOTO 5: MEZCLA DEL SUSTRATO (INIA)

- **Zarandeo de la mezcla**

Este proceso se realizó, con la finalidad de eliminar piedra, malezas y basuras, para tener mayor uniformidad en la mezcla del sustrato (textura franco arcillo arenoso).



FOTO 6: ZARANDEO DE LA MEZCLA DEL SUSTRATO 3:1(INIA)



FOTO 7: SUSTRATO LISTO PARA EMBOLSAR PARA SU AUTOCLAVADO (INIA).

4.4.2 Esterilización del sustrato (mezcla)

El sustrato (mezcla) fue esterilizado en bolsas de polipropileno, a 15 libras de presión a una temperatura de 121 °C, por un tiempo de 20 minutos en calor húmedo (autoclave).



FOTO 8: ESTERILIZACIÓN DEL SUSTRATO (INIA)



FOTO 9: SUSTRATO ESTERIL (INIA)

4.4.3 Preparación de las bandejas

- **Lavado de las bandejas de aclimatación**

Se realizó con una esponja; ayudada de una pinza quirúrgica, con una solución de agua con detergente.



FOTO 10: LAVADO DE LAS BANDEJAS DE ACLIMATACIÓN (INIA)

- **Desinfección de bandejas**

La desinfección de bandejas se realizó con hipoclorito de sodio al 1% por un tiempo de 10 minutos.



FOTO 11: DESINFECCIÓN DE LAS BANDEJAS (INIA)

- **Enjuagado de las bandejas.**

Las bandejas fueron enjuagadas con agua de caño y posteriormente se dejó secar por un tiempo de 10 minutos.



FOTO 12: ENJUAGADO DE LAS BANDEJAS (INIA)

- **Acondicionamiento para el llenado de las bandejas con el sustrato**

- a. **Colocado de tecnoport en la base de cada plug**

Los pedazos de tecnoport en la base de cada plug, se pone para evitar que la pérdida del sustrato al momento del y del riego. El tecnoport facilita el desprendimiento del cepellón (plántulas con sustrato adherido al sistema radicular), al realizar el repique.



FOTO 13: COLOCACIÓN DE TECNOPORT (INIA).

- **Llenado de las bandejas con el sustrato**

Las bandejas se llenaron manualmente con sustrato estéril.



FOTO 14: LLENADO DE LAS BANDEJAS CON EL SUSTRATO (INIA)

4.4.4 Elaboración de hoyo sobre el sustrato

Con la ayuda de los dedos realizar pequeños hoyos sobre el sustrato para facilitar el proceso de siembra y no causar lesiones a la parte radicular de las plántulas.

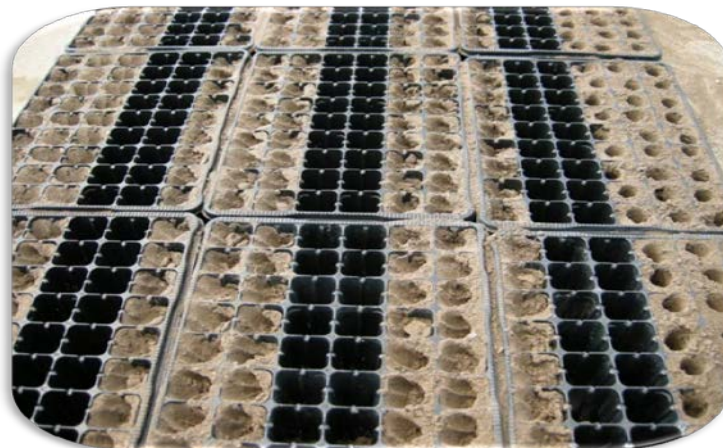


FOTO 15: HOYOS PARA LA SIEMBRA DE LAS PLÁNTULAS (INIA)

4.4.5 Preparación de inductores de crecimiento

Este proceso se basó en la preparación de dos soluciones stocks, un stock de ácido naftalenacético (ANA) y otro de ácido indol butírico (AIB) a una concentración de 1000 ppm, a partir del cual se prepararon soluciones de 1,2 y 3 ppm de acuerdo al volumen que se necesitó.



FOTO 16: ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (INIA)



FOTO 17: ÁCIDONAFTHALEN ACETICO (INIA)



FOTO 18: STOCKS ANA Y AIB A 1000 ppm (INIA)

4.4.6 Preparación del material vegetal

a. Recolección de frutos

Se recolectaron frutos de piñón blanco *Jatropha curcas* L., del ecotipo “Totorrillayco”, para lo cual se consideró lo siguiente, frutos inmaduros, maduros y secos, que estén en la planta, a excepción de los frutos caídos.



FOTO 19: FRUTOS MADUROS DE PIÑÓN
Jatropha curcas L. (INIA).



FOTO 20: FRUTOS PINTONES DE PIÑÓN
Jatropha curcas L. (INIA).



FOTO 21: FRUTOS SECOS DE PIÑÓN *Jatropha curcas*
L. (INIA).

b. Descapsulado manual

Este proceso se hizo en forma manual, con la finalidad de obtener las semillas de las capsulas.



FOTO 22: TESTA DE *Jatropa curcas* L. (INIA).

FOTO 23: SEMILLAS DE *Jatropa curcas* L. (INIA).

c. Secado de las semillas bajo sombra

El secado fue por un tiempo de dos días bajo sombra



FOTO 24: SECADO DE LAS SEMILLAS DE *Jatropa curcas* L. (INIA).

d. Escarificación de las semillas

Esta actividad se realizó con la ayuda de una pinza quirúrgica, que consistió en presionar con ella los bordes de las semillas y así obtener las almendras.



FOTO 25: ESCARIFICACIÓN DE SEMILLAS DE PIÑÓN *Jatropha curcas* L. (INIA)

e. Selección de las almendras

Se seleccionaron almendras sanas, sin manchas ni quebraduras; por ser el punto de partida de la propagación de plántulas de piñón a través de embriones cigóticos.



FOTO 26: SELECCIÓN DE ALMENDRAS DE PIÑÓN *Jatropha curcas* L. (INIA)

f. Desinfección de las almendras

Las almendras se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 1%, por un tiempo de 20 minutos en agitación.



FOTO 27: ADICIONAMIENTO DE LA SOLUCIÓN (INIA).



FOTO 28: DESINFECCIÓN DE LAS ALMENDRAS DE PIÑÓN *Jatropha curcas* L.(INIA).

g. Enjuagado de las almendras

Se debe hacer con agua destilada estéril (autoclavado) por un periodo de 4 veces, esta actividad se realizó en la cámara de flujo laminar.



FOTO 29: ENJUAGADO DE LAS ALMENDRAS DE PIÑÓN *Jatropha curcas* L. (INIA).

h. Hidratación de las almendras

La hidratación de las almendras fue por un tiempo de 18 horas, con la finalidad de facilitar la extracción de los embriones en perfectas condiciones; la calidad de las plantas propagadas a través de embriones cigóticos depende del embrión que este en perfectas condiciones.



FOTO 30: HIDRATACIÓN DE LAS ALMENDRAS DE PIÑÓN
Jatropha curcas L. (INIA)

i. Siembra de los embriones cigóticos

Los embriones cigóticos de piñón *Jatropha curcas* L. se sembraron en medio de cultivo MS a media concentración con un pH de 5.6, teniendo en consideración que los embriones este en perfectas condiciones y hidratados.



FOTO 31: SIEMBRA DE LOS EMBRIONES CIGÓTICOS DE
PIÑÓN *Jatropha curcas* L. (INIA)

j. Incubación de los embriones

Los embriones cigóticos de piñón *Jatropha curcas* L., se incubaron en el área de incubación que tiene un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 oscuridad, una temperatura de 17,9 – 25,17°C, humedad relativa de 31,1-41,7 % y una intensidad luminosa de 2 734,03 lux/m².

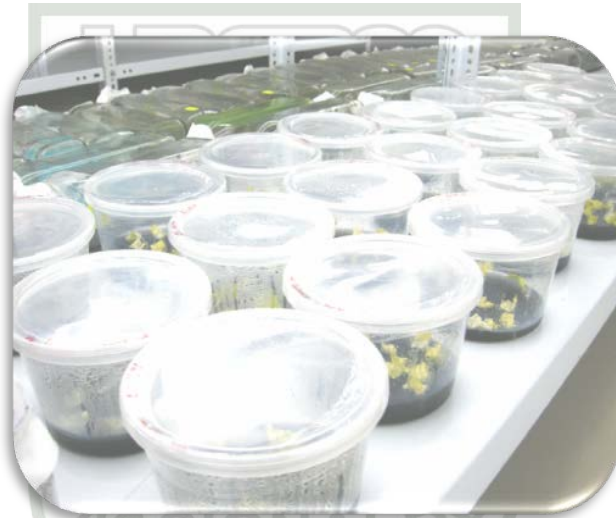


FOTO 32: INCUBACIÓN DE LOS EMBRIONES CIGÓTICOS DE PIÑÓN *Jatropha curcas* L. (INIA)

k. Selección de plántulas a pre aclimatar

Se seleccionaron plántulas de 30 días de incubación las y que tengan como mínimas dos hojas verdaderas, tiempo establecido en la investigación titulada: Identificación de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L., adecuadas para la aclimatación en la Estación Agraria “El Porvenir” - Juan Guerra. Donde se llegó a la conclusión que el tiempo óptimo de incubación es de 30 días, cuando las plántulas tengan como mínimo dos hojas verdaderas.



FOTO 33: SELECCIÓN DE LAS PLÁNTULAS A PRE ACLIMATAR (INIA).

I. Proceso de pre aclimatación

Este proceso fue realizado por un tiempo de 30 días en el invernadero; establecido en la investigación titulada: Identificación de plántulas de piñón *jatropha curcas* L. adecuadas para la aclimatación en la Estación Agraria "El Porvenir - Juan Guerra. Donde se llegó a una conclusión, que el tiempo óptimo de pre aclimatación es de 30 días en el invernadero.

Este proceso se hace con la finalidad de cambiar el hábito de condición heterótrofa a autótrofa, ejercitar los estomas en contraerse y expandirse de acuerdo a las condiciones ambientales, aumentar la masa radicular y endurecer el tallo.

En este proceso de pre aclimatación las hojas in vitro se defolían y aparecen nuevas hojas llamadas hojas de pre aclimatación. La temperatura mínima en la etapa de pre aclimatación de los pots es de 21,71°C y del invernadero 21,71°C. La temperatura máxima de los pots es de 41,99 °C y del invernadero es de 36,57 °C.

Respecto a la intensidad luminosa de los potes es de 10,7639 – 1 862,16 lux / m², teniendo una humedad relativa de 40,4 – 99,7%.



FOTO 34: PRE ACLIMATACIÓN DE PLÁNTULAS DE PIÑÓN
Jatropha curcas L. (INIA)

m. Extracción de las plántulas de los potes

Se hace con mucho cuidado, tratando de evitar la pérdida de las raíces durante su manipulación.



FOTO 35: DESTAPADO DE LOS POTES CON PLÁNTULAS DE PIÑÓN
Jatropha curcas L. (INIA).



FOTO 36: EXTRACCIÓN DE LAS PLÁNTULAS DE PIÑÓN
Jatropha curcas L. (INIA)

n. Lavado de las plántulas

Este proceso se hizo en un balde con agua de caño, con la finalidad de eliminar el medio de cultivo que se encuentra adherido a las raíces de las plántulas, teniendo cuidado de no quebrar las raíces.



FOTO 37: LAVADO DE LAS PLÁNTULAS DE
PIÑÓN *Jatropha curcas* L. (INIA)

o. Selección de las plántulas a aclimatar

Se seleccionaron plántulas sanas, vigorosas sin malformaciones, plántulas con ápice activo, tallo endurecido y con buena masa radicular.



FOTO 38: PLÁNTULAS DE PIÑÓN (*Jatropha curcas* L.) CON ÁPICE ACTIVO (INIA)

El ápice activo ayuda que las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), tengan un proceso de aclimatación rápido, haciendo que las plántulas tengan una rápida adaptación ante el cambio de condición, favoreciendo el crecimiento longitudinal y en diámetro.



Foto 39: PLÁNTULAS DE PIÑÓN (*Jatropha curcas* L.) CON TALLO ENDURECIDO (INIA).

El tallo endurecido evita la deshidratación de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), una de las características para reconocer el tallo endurecido es que presenta rayas longitudinales blanquecinas todo el tallo.



FOTO 40: PLÁNTULAS CON BUENA MASA RADICULAR (INIA)

La buena masa radicular y en perfectas condiciones ayuda al rápido proceso de rizo génesis, y a la vez disminuir el ataque de patógenos, aumentando así el porcentaje de supervivencia, las raíces in vitro y de pre aclimatación durante la etapa de aclimatación se secan , pero a partir de ellos salen las raíces de aclimatación.



FOTO 41: PROCESO DE RIZOGÉNESIS EN LA ETAPA DE ACLIMATACIÓN (INIA)

p. Cortado de las hojas

Se cortaron aproximadamente el 90 % del área foliar de las hojas de pre aclimatación a excepción de la parte apical y de plántulas que tienen hojas pequeñas. Esto se hace con la finalidad de disminuir la deshidratación de las plántulas al momento de aclimatación.



FOTO 42: CORTADO DE LAS HOJAS DE PRE ACLIMATACIÓN DE PLÁNTULAS DE PIÑÓN *Jatropha curcas* L. (INIA).

q. Desinfección de las plántulas

La desinfección fue con carbendazin a una dosis de 1 mililitro por litro de agua por un tiempo de 5 minutos.



FOTO 43: DESINFECCIÓN DE LAS PLÁNTULAS DE PIÑÓN *Jatropha curcas* L (INIA).

r. Aplicación de inductores de crecimiento

Se realizó con la finalidad de facilitar el enraizamiento de las plántulas, para lo cual fueron sumergidas la parte radicular de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), en la solución de inductores de crecimiento (ANA y AIB) de acuerdo a las concentraciones establecidas (1,2 y 3 ppm), por un tiempo de 20 minutos.



FOTO 44: PLÁNTULAS DE PIÑÓN (*Jatropha curcas* L.) SUMERGIDAS EN INDUCTORES DE CRECIMIENTO (INIA).

4.4.7 Repique de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.)

Las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), fueron repicadas con mucho cuidado, teniendo en consideración de no causarle daño a la parte radicular.

Las plántulas fueron cubiertas con el sustrato hasta la base del tallo.



FOTO 45: REPIQUE DE LAS PLÁNTULAS DE PIÑÓN *Jatropha curcas* L. (INIA).

4.4.8 Riego

Se realizó con finalidad de establecer las plántulas con el sustrato y evitar la formación de cámaras de aire en el sistema radicular.



FOTO 46: RIEGO DE LAS PLÁNTULAS DE PIÑON
Jatropha curcas L. (INIA).

4.4.9 Cámara húmeda

Luego de realizar el riego a las plántulas se pusieron en cámaras húmedas, por un periodo de 7 días, que tiene una humedad relativa de (41,2 - 100 %), una temperatura de 22,09 – 38,77°C y una intensidad luminosa de 214,09-327,33 lux/m². Transcurrido este tiempo se quito la cámara húmeda y se dejó a condiciones del invernadero, que tiene una temperatura de 22,48 – 37,44°C, una humedad relativa de 40,4 – 99,6% y una intensidad luminosa de 10,7639 – 2 228,13 lux/ m².



FOTO 47: PLÁNTULAS DE PIÑÓN *Jatropha curcas* L. EN CÁMARA HÚMEDA (INIA).

4.4.10 Control fitosanitario

La aplicación del fungicida fue carbendazim a una dosis de 1 mililitro por litro de agua en forma preventiva, la frecuencia de aplicación fue semanalmente los primeros 15 días y luego la tercera aplicación se realizó al completar un mes de aclimatación. La aplicación del insecticida (cypermetrina a una dosis de 1 mililitro por litro de agua) fue al momento de la aparición del daño de las larvas de *Spodoptera* sp. (un mes después del repique).



FOTO 48: CONTROL FITOSANITARIO (INIA)



FOTO 49: LARVA DE *Spodoptera* sp (INIA)

4.4.11 Aplicación de fertilizante foliar

La aplicación se realizó de acuerdo a las conductividades eléctricas establecidas en la investigación. La frecuencia de aplicación fue semanalmente.



FOTO 50: FERTILIZANTES FOLIARES (INIA)



FOTO 51: APLICACIÓN DEL FERTILIZANTE FOLIAR (INIA).

4.4.12 Frecuencia de riego

Desde el momento del repique hasta los 7 días no se aplicó riego, el primer riego que se realizó a los 7 días después del repique en las bandejas (quitado de la cámara húmeda), la aplicación del riego fue en forma dirigida, los posteriores riegos se realizaron teniendo en consideración la humedad del sustrato.



FOTO 52: RIEGO MANUAL DIRIGIDO (INIA).



FOTO 53: RIEGO POR ASPERSIÓN DIRIGIDO (INIA).

4.4.13 Plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L). aclimatadas

Las plántulas de piñón *Jatropha curcas* L., aclimatadas son aquellas plántulas que tienen 8 semanas de aclimatación, y que están en óptimas condiciones para realizar el repique a bolsas (plántulas que pasaron la etapa crítica de mortandad y son capaces de sobrevivir en la atapa de repique en bolsa).



FOTO 54: PLÁNTULAS ACLIMATADAS DE PIÑÓN *Jatropha curcas* L. (INIA)

4.5 Variables evaluadas

a. Porcentaje de supervivencia

Para la evaluación de este parámetro se tuvo en consideración el total de las plántulas sembradas por tratamientos, considerado el 100%, al cual se le sacaría el % semanalmente de acuerdo a las plantas sobrevivientes.



FOTO 55: PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA (INIA)

b. Altura de plántula

Para la evaluación de este parámetro se utilizó una regla graduada en cm. Las medidas de altura de las plántulas fueron tomadas desde la base del tallo de la planta en la superficie de la bandeja hasta el ápice de la planta, evaluándose 10 plantas por tratamiento de cada bloque respectivo, semanalmente.



FOTO 56: MEDIDA DE ALTURA DE PLANTA (*Jatropha curcas* L.) (INIA)

c. Diámetro de tallo

La medida del diámetro del tallo de las plantas se realizó con un pie de rey, dicha medida se realizó en la base del tallo, para lo cual se evaluó diez plantas por tratamiento de cada bloque respectivo, la evaluación se realizó semanalmente.



FOTO 57: MEDIDA DEL DIÁMETRO DE TALLO (*Jatropha curcas* L.) (INIA)

d. Área foliar

Este parámetro se evaluó al final de la etapa de aclimatación (2 meses después del repique). Para la evaluación de esta variable se tuvo en consideración todas las hojas de las 10 plantas evaluadas por tratamiento y por bloque respectivo, considerando la siguiente fórmula:

$$A = 0.84 (L W)^{0.99} \text{ (Soares et al., 2007).}$$

Las medidas fueron tomadas con una regla graduada en cm, de acuerdo a la fórmula establecida.

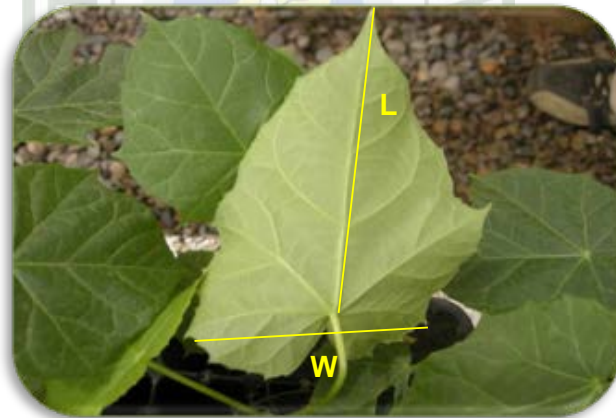


FOTO58: DETERMINACIÓN DEL ÁREA FOLIAR EN
(*Jatropha curcas L.*)(INIA).



FOTO 59: MEDIDA DEL LARGO DE HOJA
(*Jatropha curcas L.*)(INIA).



FOTO 60: MEDIDA DEL ANCHO DE HOJA
(*Jatropha curcas L.*)(INIA).

e. Longitud de raíces

Con la ayuda de una regla graduada se evaluó la longitud de la raíz principal de las plántulas al final de la etapa de aclimatación, para lo cual se tomó diez plantas por tratamiento de cada bloque respectivo, para dicha evaluación. Las medidas fueron tomadas desde el ápice de la raíz principal hasta la base del tallo.



FOTO 61: MEDIDA DE LAS RAICES DE PIÑON *Jatropha curcas* L.

(INIA)

f. Longitud de pedúnculo

Esta variable se evaluó con una regla graduada en cm. La medida del pedúnculo de la hoja, se realizó desde la axila de unión del pedúnculo con el tallo hasta la base del envés de la hoja, para lo cual se evaluaron diez plantas por tratamiento de cada bloque respectivo. La valoración se realizó de los pedúnculos de todas las hojas por planta.



FOTO 62: MEDIDA DE LA LONGITUD DE PEDÚNCULO
(*Jatropha curcas* L.), (INIA).

g. Biomasa fresca

Se evaluó la biomasa fresca al final de la etapa de aclimatación, se tomo 10 plantas por tratamiento de cada bloque, para su respectiva evaluación. Dichas plantas fueron puestas en un sobre, luego fueron pesados en una balanza analítica, para finalmente determinar el peso promedio en gramos por planta.



FOTO 63: PUESTA DEL MATERIAL
VEGETAL (*Jatropha curcas* L.)
(INIA).



FOTO 64: PESO DE BIOMASA FRESCA
(*Jatropha curcas* L.)(INIA).

h. Materia seca

Se evaluó la materia seca en forma diaria, para lo cual se puso a secar la materia verde en una estufa a 70 °C, hasta establecer un peso constante, para que finalmente determinar el peso promedio en gramos por planta



FOTO 65: SECADO DE MATERIA FRESCA DE *Jatropha curcas* L. (INIA).



FOTO 66: PESADO DE MATERIA SECA DE *Jatropha curcas* L.(INIA).

V. RESULTADOS

Cuadro 1: Análisis de varianza para el porcentaje de supervivencia (datos transformados por \sqrt{x})

F.V.	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Bloques	0,564	2	0,282	3,732	0,034 *
A (Inductores)	0,105	1	0,105	1,388	0,247 N.S.
B (Concentraciones)	0,271	2	0,135	1,792	0,182 N.S.
C (C.E.)	0,021	2	0,010	0,138	0,872 N.S.
A * B	0,611	2	0,306	4,044	0,027 *
A * C	0,147	2	0,073	0,972	0,388 N.S.
B * C	0,129	4	0,032	0,426	0,788 N.S.
A * B * C	0,448	4	0,112	1,483	0,229 N.S.
Error Experimental	2,569	34	0,076		
Total	4,866	53			
$R^2 = 47,2\%$		C.V. = 2,82%		Promedio = 9,749	

Cuadro 2: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto al porcentaje de supervivencia

Factor A: Inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0,05)
		a
1	ANA (Ácido Naftalenacético)	94,18
2	AIB (Ácido Indol-3- Butírico)	95,90

Cuadro 3: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto al porcentaje de supervivencia

Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0,05)
		a
3	3 ppm / 20 minutos	93,20
1	1 ppm / 20 minutos	95,39
2	2 ppm / 20 minutos	96,53

Cuadro 4: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto al porcentaje de supervivencia

Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar	Descripción	Duncan (0.05)
		a
2	2,2 mmhos	9,7211
3	2,8 mmhos	9,7622
1	1,6 mmhos	9,7633

Cuadro 5: Análisis de varianza para el estudio de efectos simples de los factores AxB (porcentaje de supervivencia)

FV	GL	SC	CM	FC	FT(0,05-0,01)	
EFFECTOS SIMPLES DEL FACTOR A						
ENTRE A en B1	1	104,21	104,2	1,6806835	4,13-7,44	NS
ENTRE A en B2	1	3,16	3,16	0,0509392	4,13-7,44	NS
ENTRE A en B3	1	355,73	355,7	5,7372884	4,13-7,44	*
EFFECTOS SIMPLES DEL FACTOR B						
ENTRE B en A1	2	518,90	259,5	4,1844124	3,28-5,29	*
ENTRE B en A2	2	74,98	37,49	0,6046231	3,28-5,29	NS
ERROR	34	2108,1	62,00			

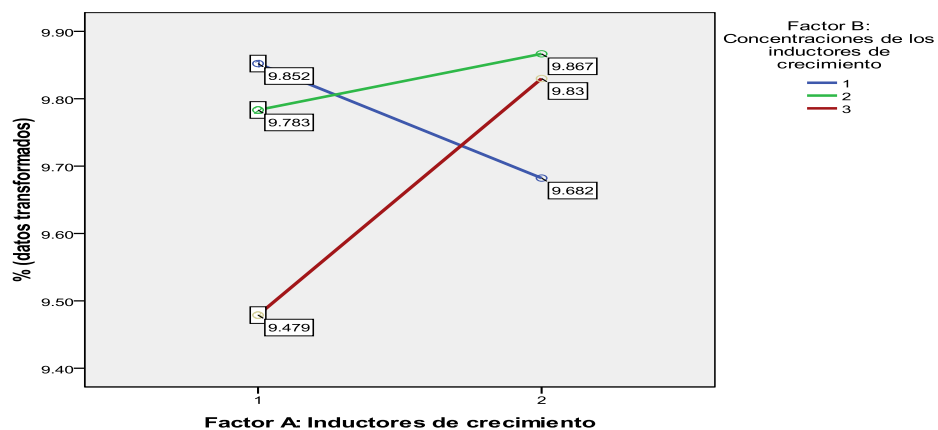


Gráfico 1: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para el % de supervivencia

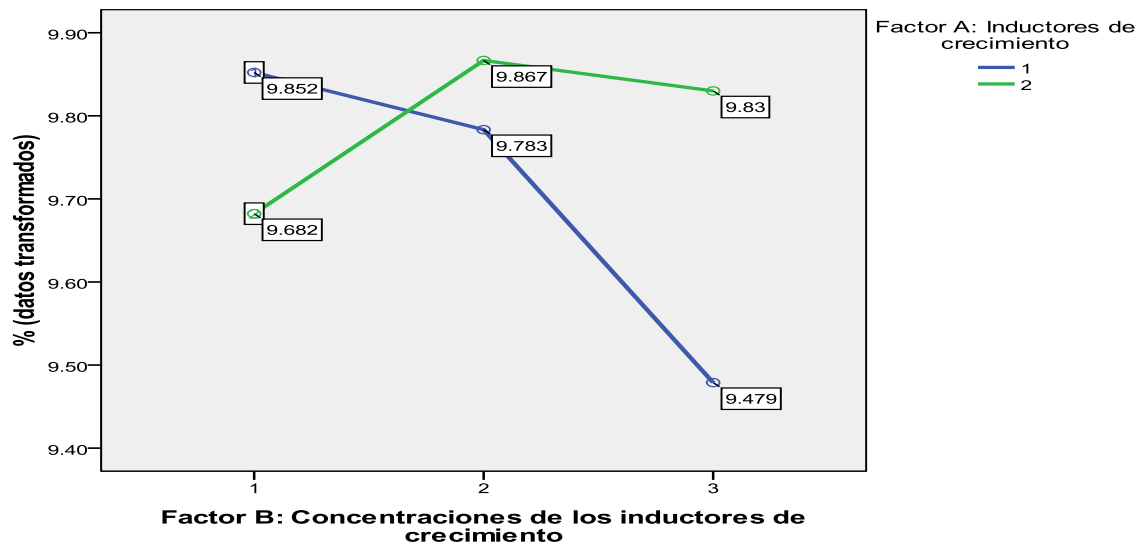


Gráfico 2: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para el % de supervivencia

Cuadro 6: Análisis de varianza para la altura de planta en centímetros

F.V.	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Bloques	0,319	2	0,160	2,114	0,136 N.S.
A (Inductores)	0,046	1	0,046	0,612	0,440 N.S.
B (Concentraciones)	0,069	2	0,035	0,459	0,636 N.S.
C (C.E.)	0,261	2	0,131	1,728	0,193 N.S.
A * B	0,765	2	0,382	5,061	0,012 *
A * C	0,319	2	0,160	2,114	0,136 N.S.
B * C	0,257	4	0,064	0,850	0,504 N.S.
A * B * C	0,414	4	0,103	1,369	0,265 N.S.
Error Experimental	2,569	34	0,076		
Total	5,020	53			

Cuadro 7: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto a la altura de planta

Factor A: Inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0,05)
		A
1	ANA (Ácido Naftalenacético)	5,397
2	AIB (Ácido Indol-3- Butírico)	5,456
$R^2 = 48,8\%$	C.V. = 5,28%	Promedio = 5,223

Cuadro 8: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto a la altura de planta

Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)
		A
2	2 ppm / 20 minutos	5,383
1	1 ppm / 20 minutos	5,426
3	3 ppm / 20 minutos	5,471

Cuadro 9: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la altura de planta

Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar	Descripción	Duncan (0.05)
		A
2	2,2 mmhos	5,329
3	2,8 mmhos	5,463
1	1,6 mmhos	5,487

Cuadro 10: Análisis de varianza para el estudio de efectos simples de los factores A x B (altura de planta)

FV	GL	SC	CM	FC	FT(0,05-0,01)	
EFFECTOS SIMPLES DEL FACTOR A						
ENTRE A EN B1	1	0,06	0,06	0,55	4,13-7,44	NS
ENTRE A EN B2	1	0,22	0,22	2,06	4,13-7,44	NS
ENTRE A EN B3	1	1,51	1,51	14,27	4,13-7,44	**
EFFECTOS SIMPLES DEL FACTOR B						
ENTRE B EN A1	2	0,40	0,199	1,88	3,28-5,29	NS
ENTRE B EN A2	2	1,13	0,565	5,35	3,28-5,29	**
ERROR	34	3,59	0,106			

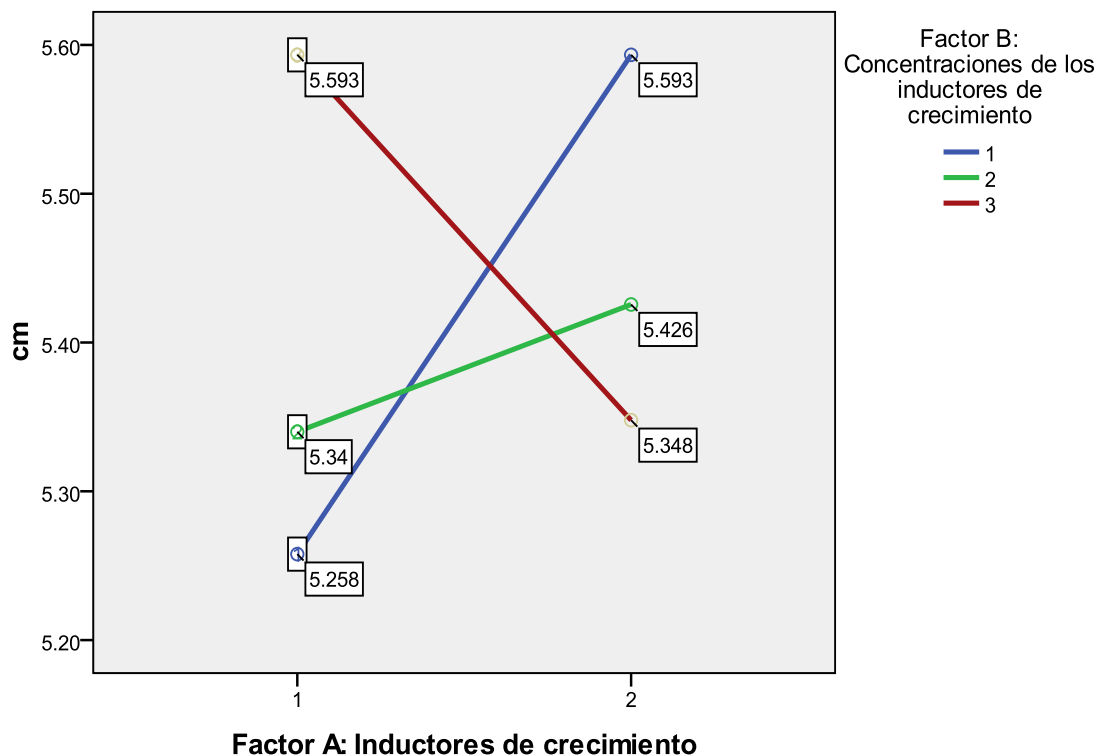


Gráfico 3: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro para los inductores de crecimiento para la altura de crecimiento

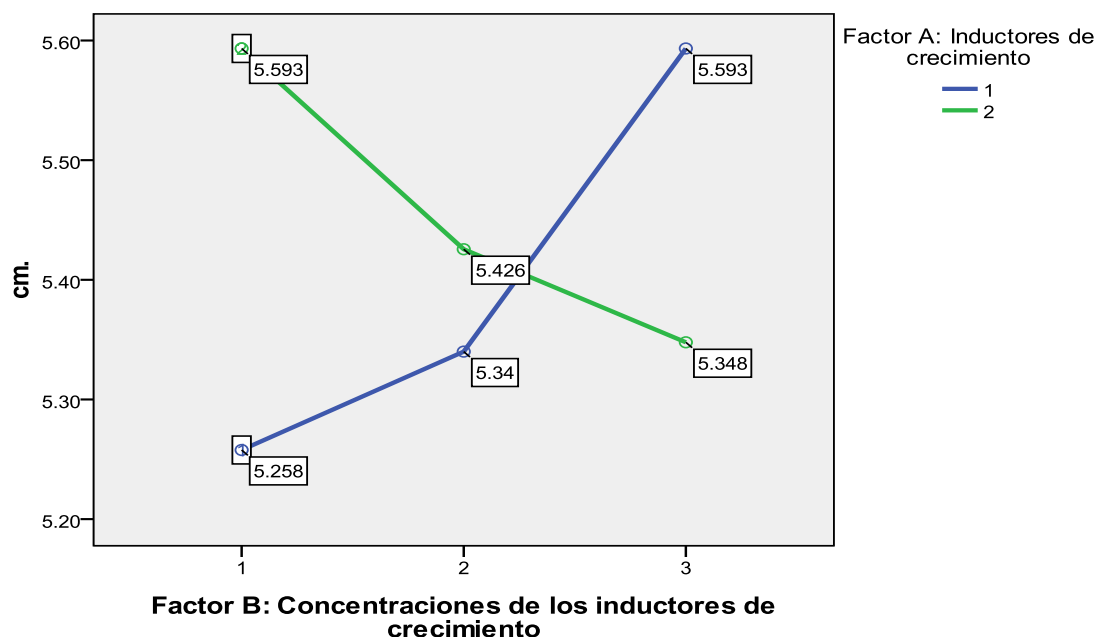


Gráfico 4: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la altura

Cuadro 11: Análisis de varianza para el diámetro del tallo

F.V.	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Bloques	0,260	2	0,130	26,184	0,000 **
A (Inductores)	0,059	1	0,059	11,801	0,002 **
B (Concentraciones)	0,011	2	0,005	1,064	0,356 N.S.
C (C.E.)	2,593E-5	2	1,296E-5	0,003	0,997 N.S.
A * B	0,004	2	0,002	0,383	0,685 N.S.
A * C	0,003	2	0,001	0,273	0,763 N.S.
B * C	0,011	4	0,003	0,568	0,688 N.S.
A * B * C	0,029	4	0,007	1,479	0,230 N.S.
Error Experimental	0,169	34	0,005		
Total	0,546	53			
R ² = 69.% C.V. = 5,61% Promedio = 0,794					

Cuadro 12: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto al diámetro del tallo

Factor A: Inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)	
		a	b
1	ANA (Ácido Naftalenacético)	0,76	
2	AIB (Ácido Indol-3- Butírico)		0,83



Cuadro 13: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto al diámetro del tallo

Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)
		a
3	3 ppm / 20 minutos	0,774
1	1 ppm / 20 minutos	0,802
2	2 ppm / 20 minutos	0,806

Cuadro 14: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto al diámetro del tallo

Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar	Descripción	Duncan (0.05)
		a
3	2,8 mmhos	0,793
1	1,6 mmhos	0,794
2	2,2 mmhos	0,795

Cuadro 15: Análisis de varianza para el área foliar

F.V.	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Bloques	7,983	2	3,992	6,063	0,006 **
A (Inductores)	6,749	1	6,749	10,250	0,003 **
B (Concentraciones)	29,256	2	14,628	22,217	0,000 **
C (C.E.)	90,074	2	45,037	68,403	0,000 **
A * B	15,946	2	7,973	12,109	0,000 **
A * C	0,333	2	0,166	0,253	0,778 N.S.
B * C	7,335	4	1,834	2,785	0,042 *
A * B * C	73,145	4	18,286	27,773	0,000 **
Error Experimental	22,386	34	0,658		
Total	253,207	53			
$R^2 = 91,2\%$ C.V. = 3,7% Promedio = 21,914					

Cuadro 16: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto al área foliar

Factor A: Inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)	
		a	b
2	AIB (Ácido Indol-3- Butírico)	21,56	
1	ANA (Ácido Naftalenacético)		22,27

Cuadro 17: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto al área foliar

Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)	
		a	b
1	1 ppm / 20 minutos	20,881	
3	3 ppm / 20 minutos		22,325
2	2 ppm / 20 minutos		22,537

Cuadro 18: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto al área foliar

Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar	Descripción	Duncan (0.05)		
		a	b	c
1	1,6 mmhos	20,62		
2	2,2 mmhos		21,44	
3	2,8 mmhos			23,68

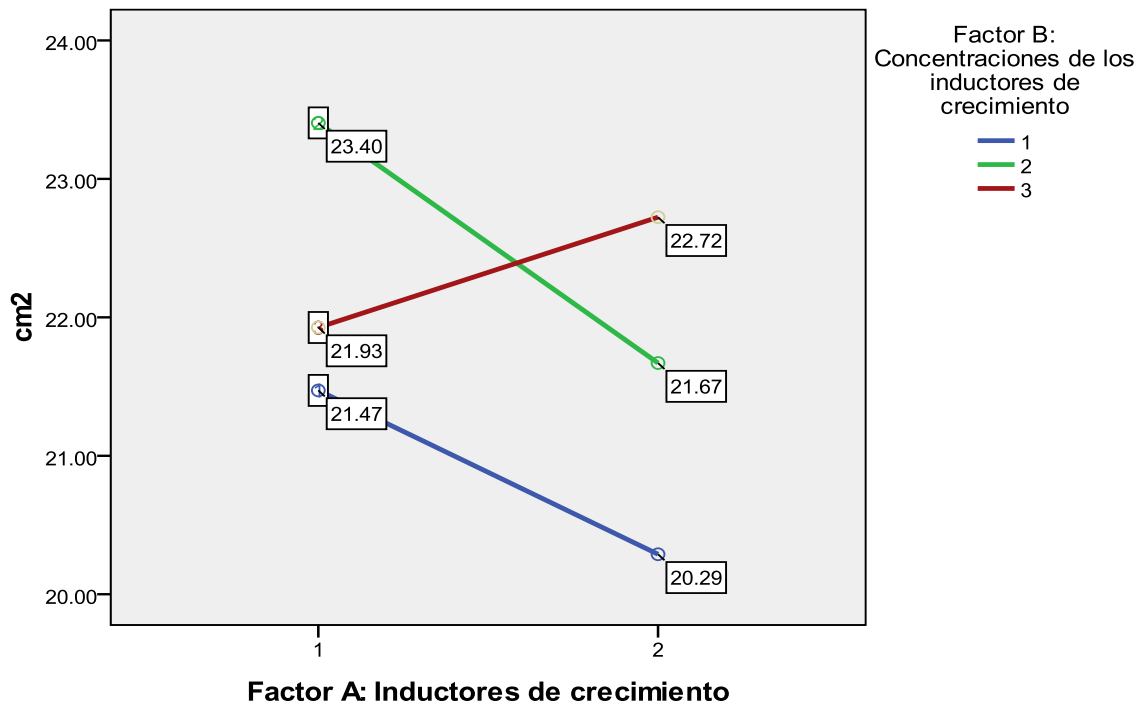


Gráfico 5: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para el área foliar

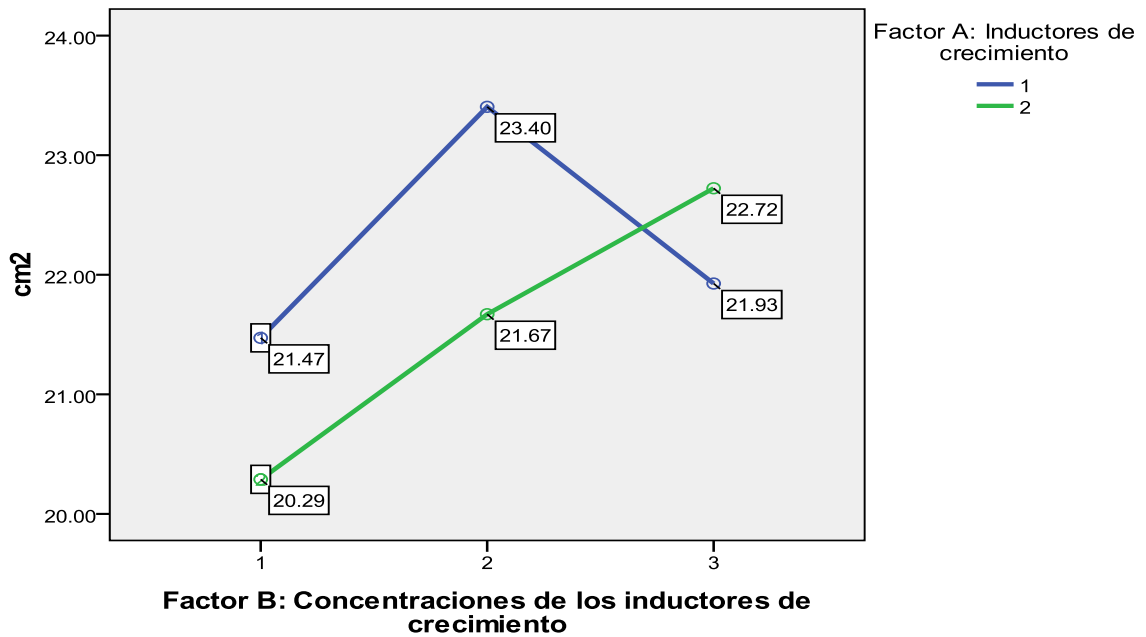


Gráfico 6: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para el área foliar

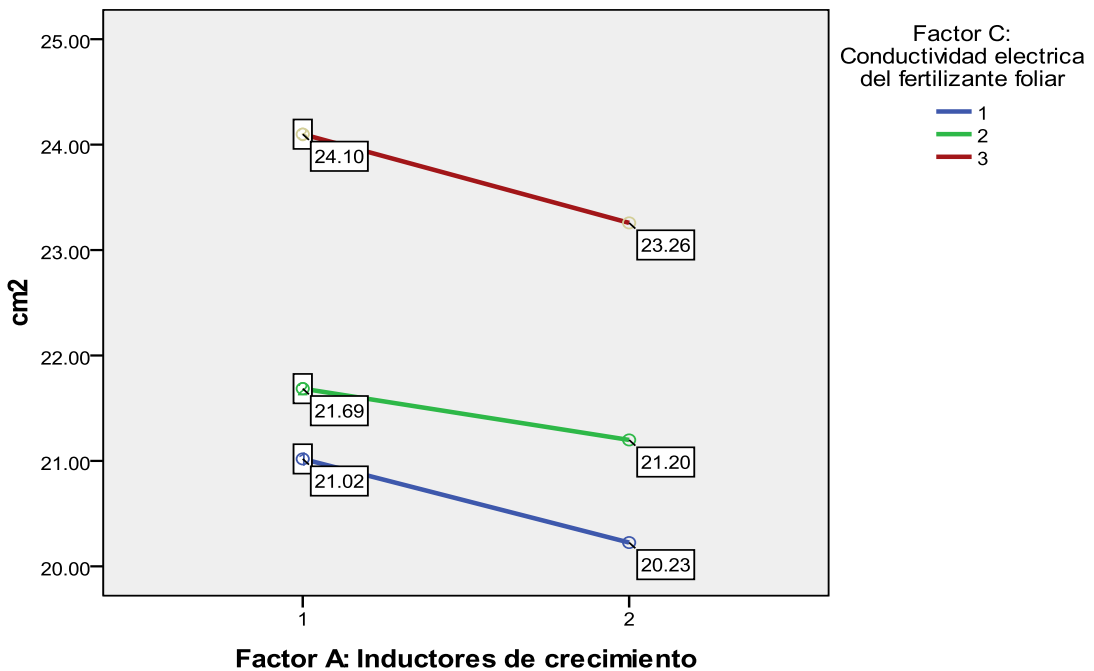


Gráfico 7: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento para el área foliar

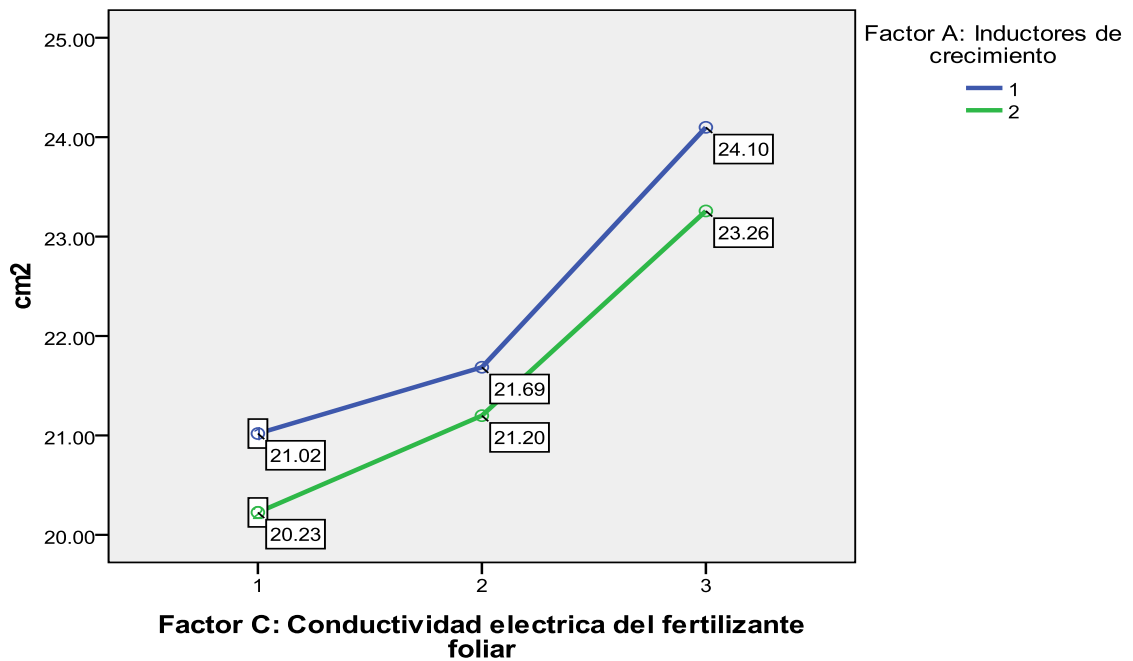


Gráfico 8: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para el área foliar

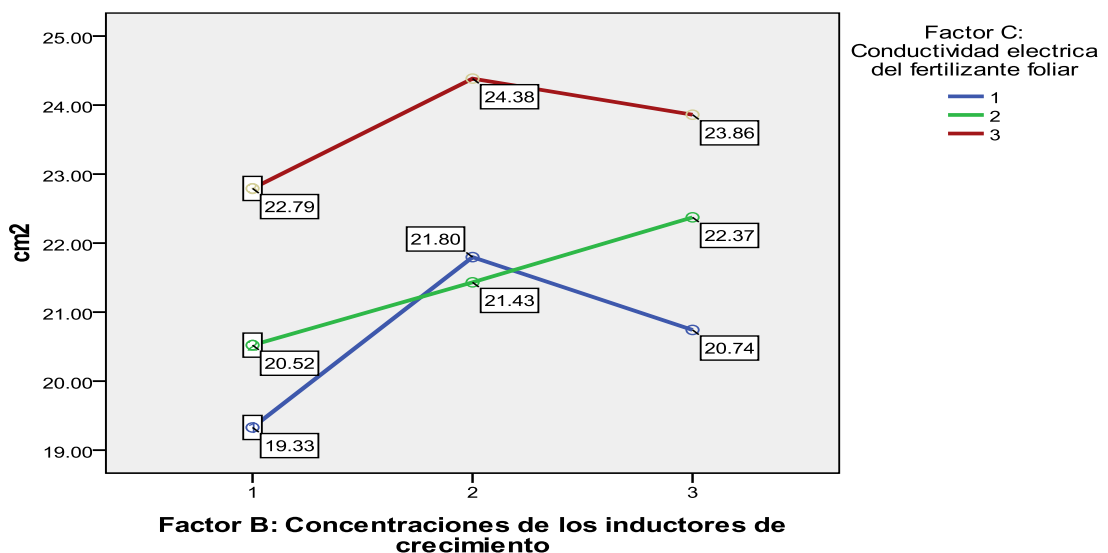


Gráfico 9: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para el área foliar

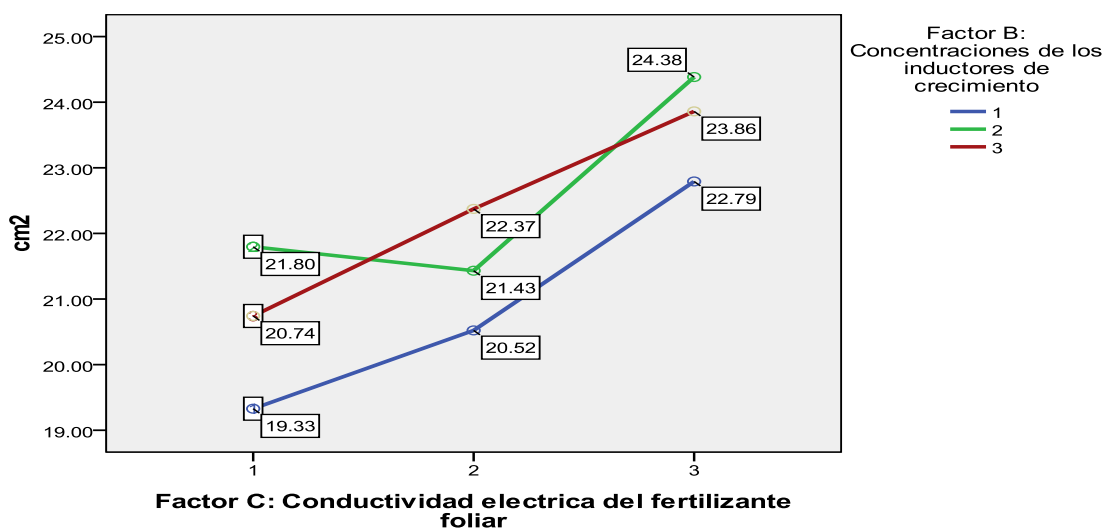


Gráfico 10: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para el área foliar

Cuadro 19: Análisis de varianza para la longitud de raíces

F.V.	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Bloques	0,649	2	0,325	4,100	0,025 *
A (Inductores)	0,005	1	0,005	0,068	0,796 N.S.
B (Concentraciones)	0,591	2	0,296	3,733	0,034 *
C (C.E.)	1,527	2	0,764	9,642	0,000 **
A * B	0,072	2	0,036	0,456	0,638 N.S.
A * C	0,10	2	0,455	5,747	0,007 **
B * C	1,296	4	0,324	4,091	0,008 **
A * B * C	3,807	4	0,952	12,019	0,000 **
Error Experimental	2,692	34	0,079		
Total	11,551	53			
$R^2 = 76,7\%$					
C.V. = 3,91%					
Promedio = 7,196					

Cuadro 20: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto a la longitud de raíces

Factor A: Inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)	
		a	B
1	ANA (Ácido Naftalenacético)	7,26	
2	AIB (Ácido Indol-3- Butírico)	7,24	

Cuadro 21: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto a la longitud de raíces

Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)	
		a	B
1	1 ppm / 20 minutos	7,10	
3	3 ppm / 20 minutos		7,30
2	2 ppm / 20 minutos		7,34

Cuadro 22: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la longitud de raíces

Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar	Descripción	Duncan (0.05)	
		a	B
1	1,6 mmhos	7,02	
3	2,8 mmhos		7,32
2	2,2 mmhos		7,42

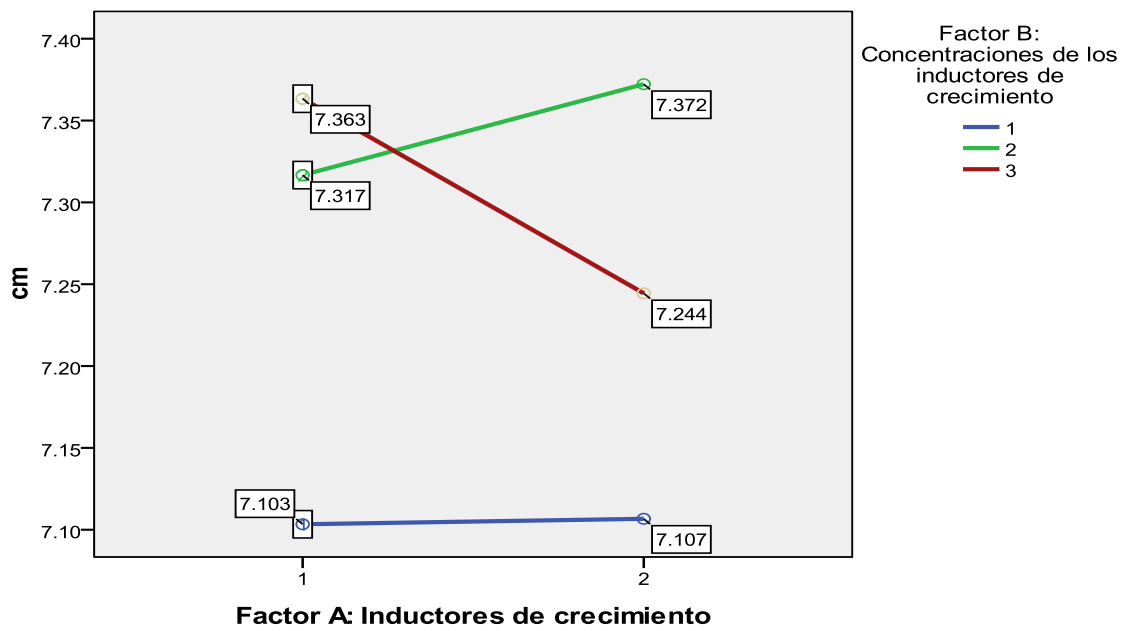


Gráfico 11: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para la longitud de raíces

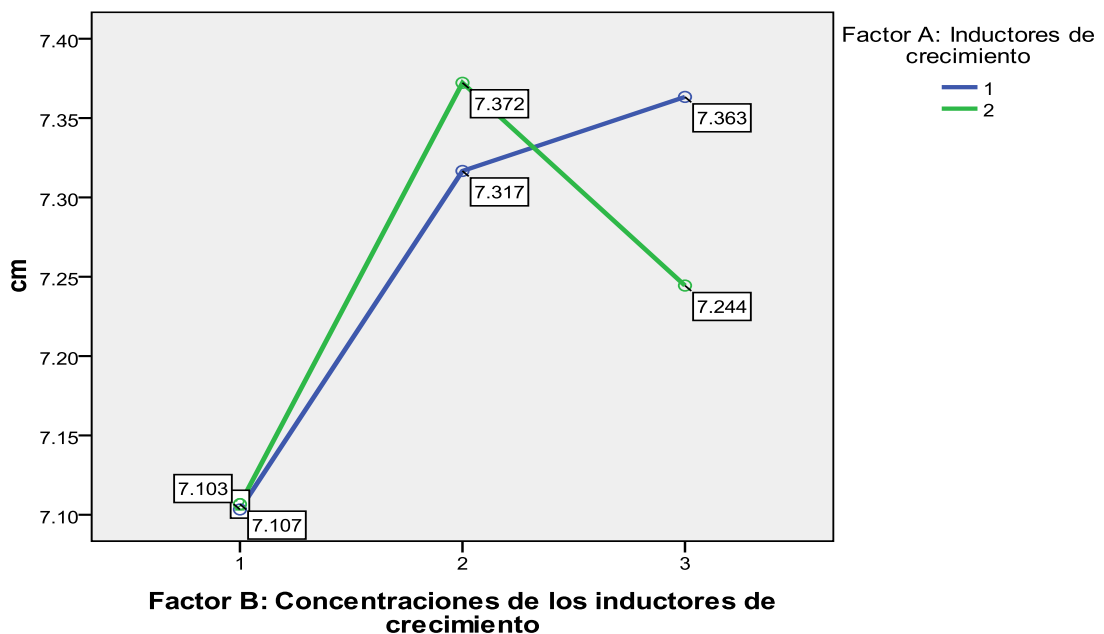


Gráfico 12: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la longitud de raíces

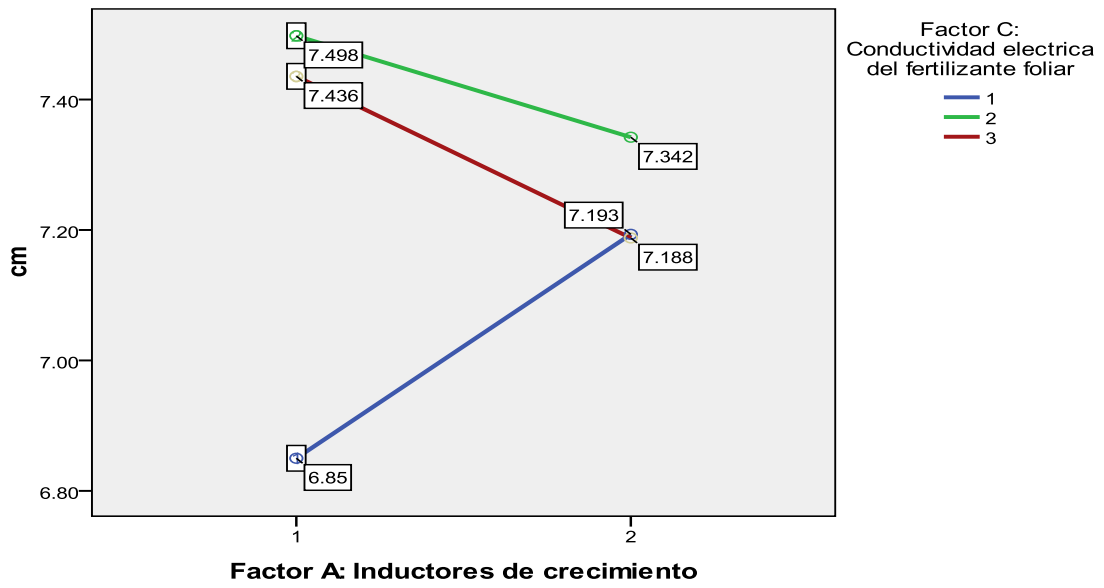


Gráfico 13: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento para la longitud de raíces

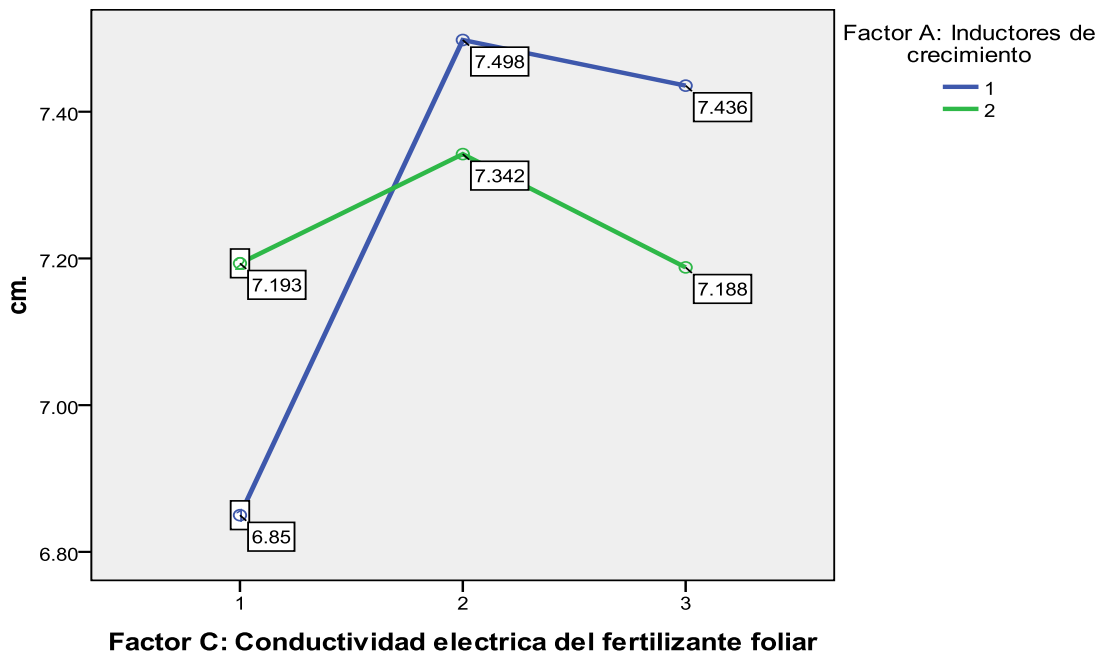


Gráfico 14: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la longitud de raíces

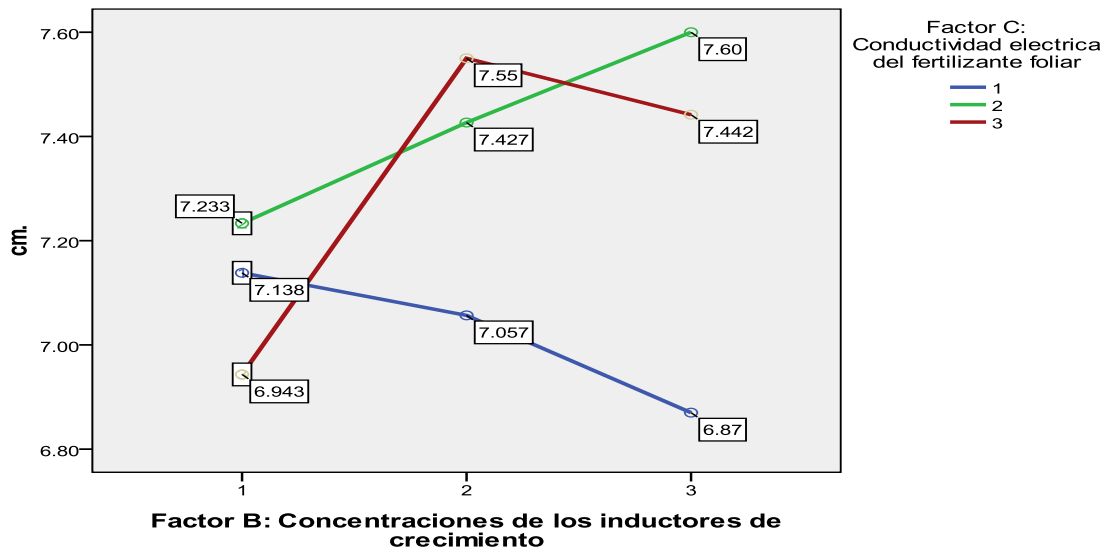


Gráfico 15: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la longitud de raíces

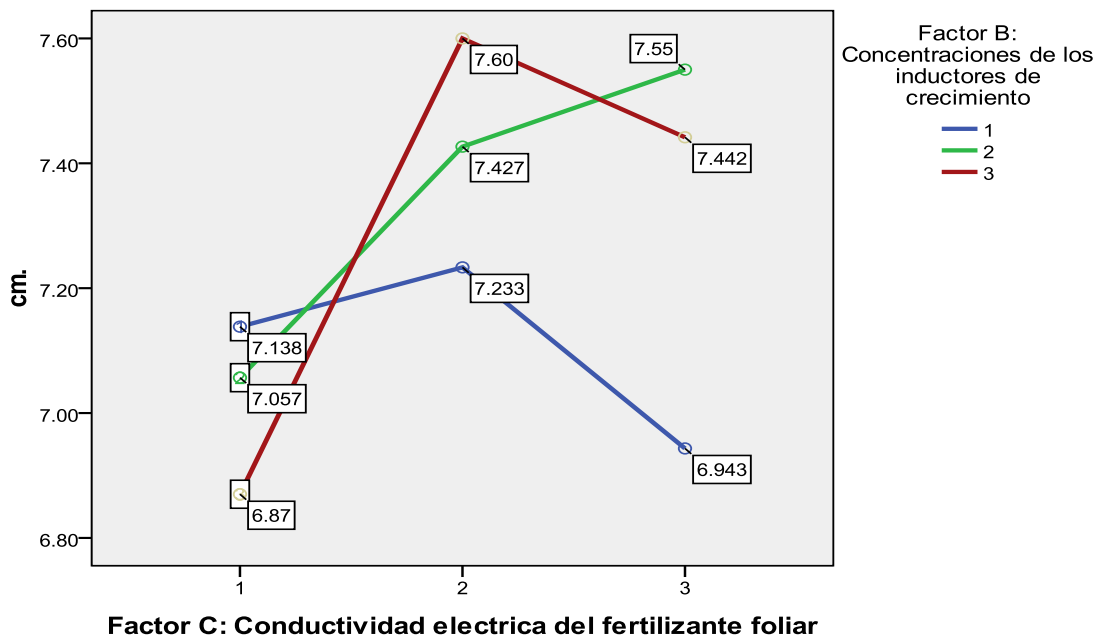


Gráfico 16: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la longitud de raíces

Cuadro 23: Análisis de varianza para la longitud del pedúnculo

F.V.	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Bloques	0,031	2	0,015	0,524	0,597 N.S.
A (Inductores)	0,036	1	0,036	1,229	0,275 N.S.
B (Concentraciones)	1,220	2	0,610	20,659	0,000 **
C (C.E.)	8,276	2	4,138	140,135	0,000 **
A * B	0,246	2	0,123	4,161	0,024 *
A * C	0,767	2	0,383	12,987	0,000 **
B * C	0,935	4	0,234	7,913	0,000 **
A * B * C	4,335	4	1,084	36,703	0,000 **
Error Experimental	1,004	34	0,030		
Total	16,850	53			
$R^2 = 94,0\%$ C.V. = 2,72% Promedio = 6,365					

Cuadro 24: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto a la longitud del pedúnculo

Factor A: Inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)
		A
1	ANA (Ácido Naftalenacético)	6,39
2	AIB (Ácido Indol-3- Butírico)	6,34

Cuadro 25: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto a la longitud del pedúnculo

Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)		
		a	b	C
1	1 ppm / 20 minutos	6,17		
2	2 ppm / 20 minutos		6,39	
3	3 ppm / 20 minutos			6,53

Cuadro 26: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la longitud del pedúnculo

Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar	Descripción	Duncan (0.05)		
		a	b	C
1	1,6 mmhos	5,91		
2	2,2 mmhos		6,33	
3	2,8 mmhos			6,86

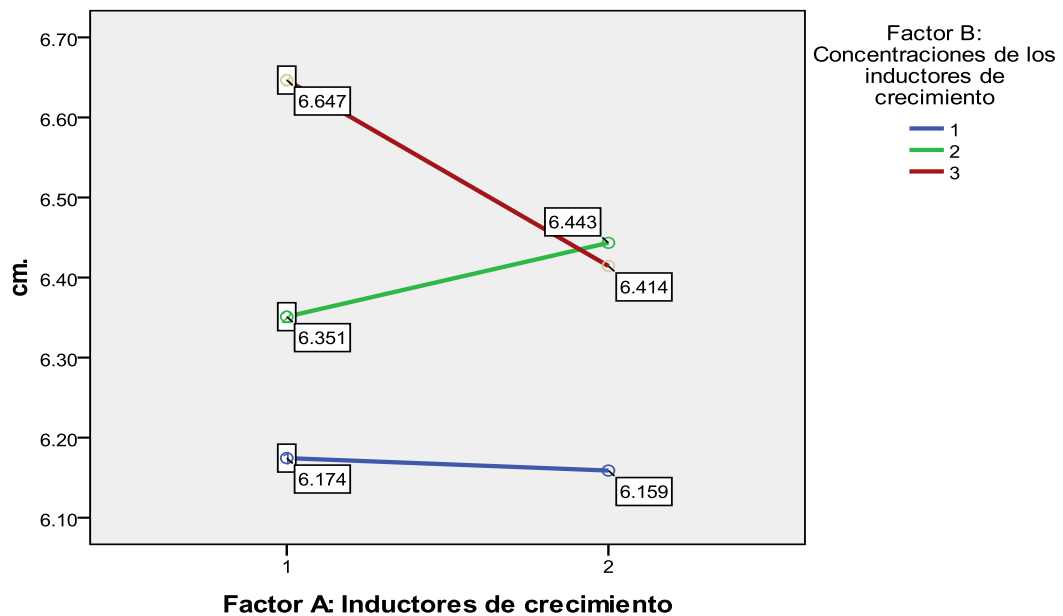


Gráfico 17: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para la longitud del pedúnculo

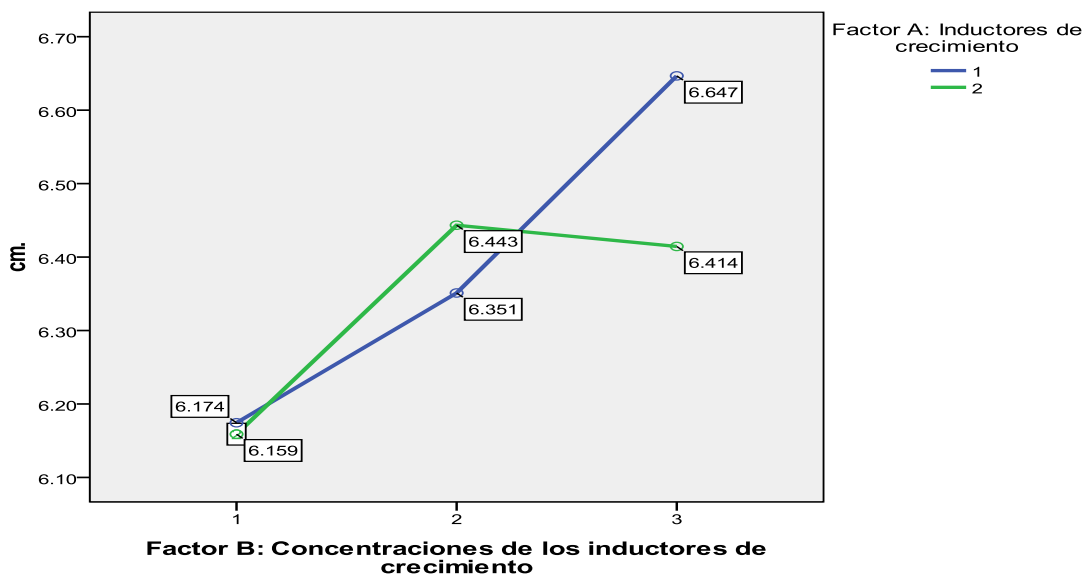


Gráfico 18: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la longitud del pedúnculo

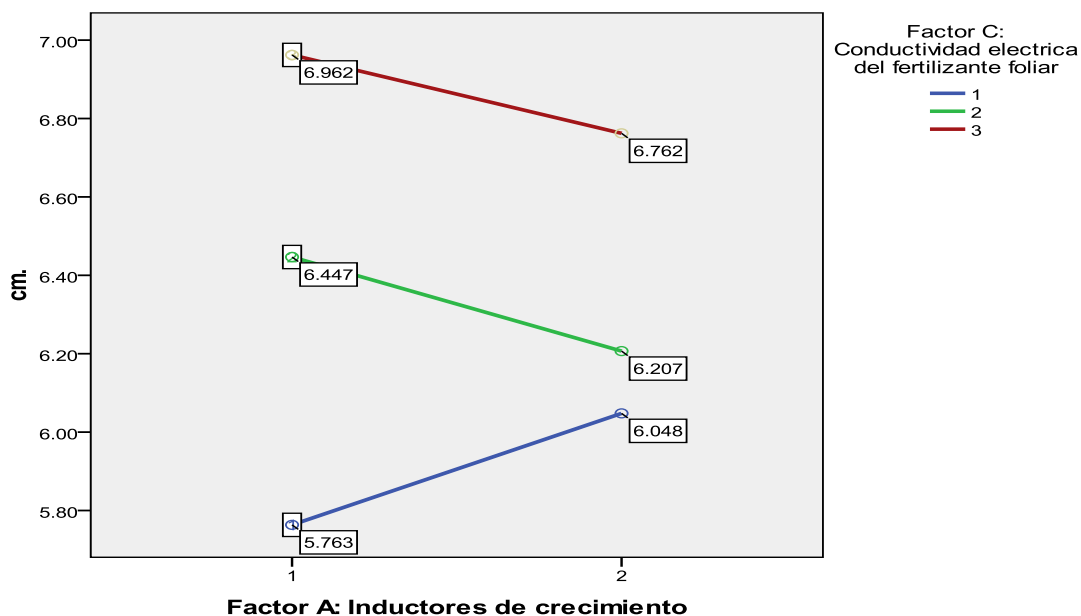


Gráfico 19: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento para la longitud del pedúnculo

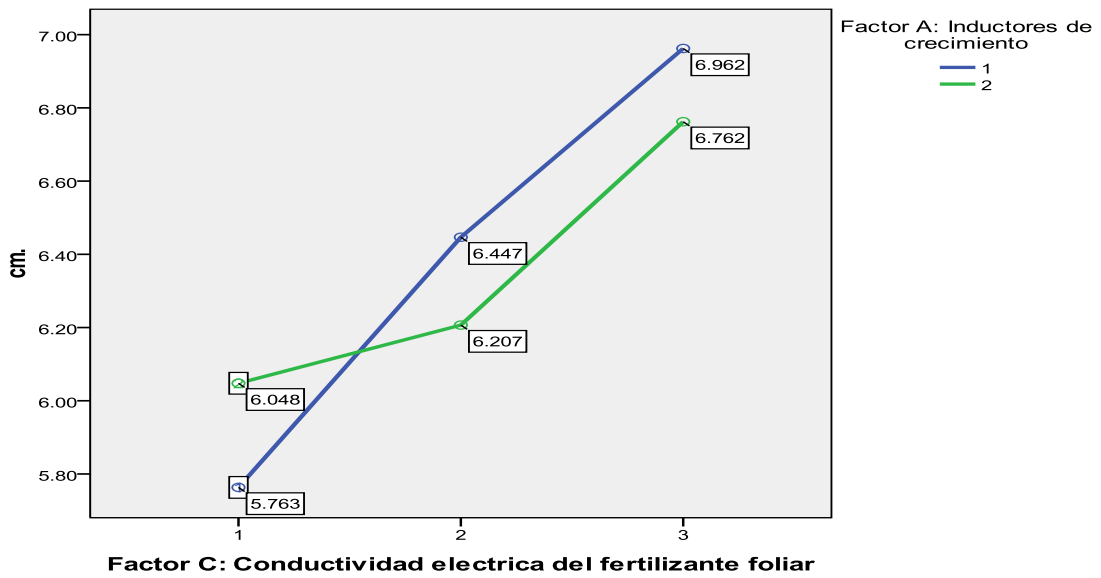


Gráfico 20: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la longitud del pedúnculo

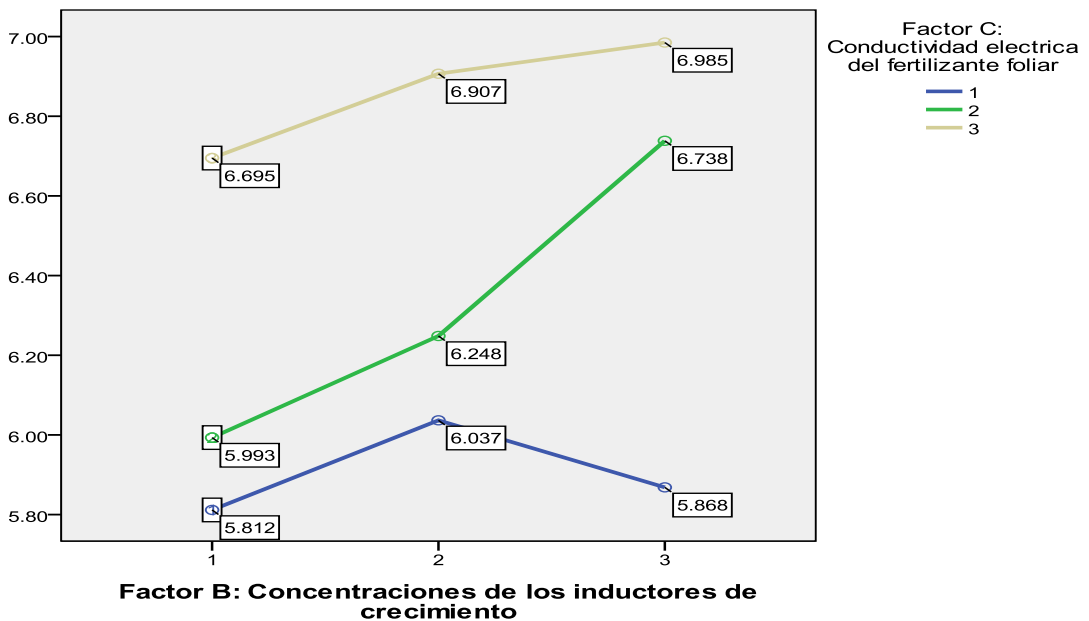


Gráfico 21: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la longitud del pedúnculo

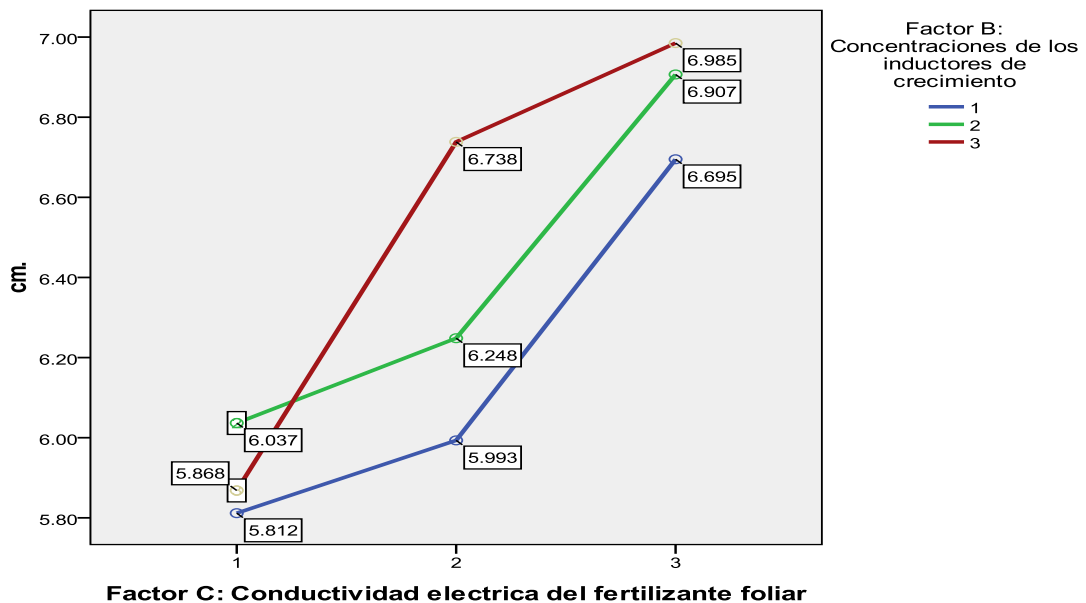


Gráfico 22: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la longitud del pedúnculo

Cuadro 27: Análisis de varianza para la biomasa fresca (g)

F.V.	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Bloques	0,495	2	0,248	1,807	0,179 N.S.
A (Inductores)	0,554	1	0,554	4,046	0,052 N.S.
B (Concentraciones)	1,043	2	0,522	3,808	0,032 *
C (C.E.)	0,878	2	0,439	3,205	0,053 N.S.
A * B	1,962	2	0,981	7,164	0,003 **
A * C	0,610	2	0,305	2,228	0,123 N.S.
B * C	2,030	4	0,507	3,705	0,013 *
A * B * C	3,358	4	0,840	6,131	0,001 **
Error Experimental	4,656	34	0,137		
Total	15,587	53			
$R^2 = 70,1\%$		C.V. = 7,55 %		Promedio = 4,902	

Cuadro 28: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto a la Biomasa fresca

Factor A: Inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)	
		A	
1	ANA (Ácido Naftalenacético)	4,80	
2	AIB (Ácido Indol-3- Butírico)	5,00	

Cuadro 29: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto a la Biomasa fresca

Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0,05)	
		a	B
2	2 ppm / 20 minutos	4,770	
3	3 ppm / 20 minutos	4,841	
1	1 ppm / 20 minutos		5,094

Cuadro 30: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la biomasa fresca

Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar	Descripción	Duncan (0.05)	
		a	B
1	1,6 mmhos	4,79	
2	2,2 mmhos	4,83	
3	2,8 mmhos		5,08

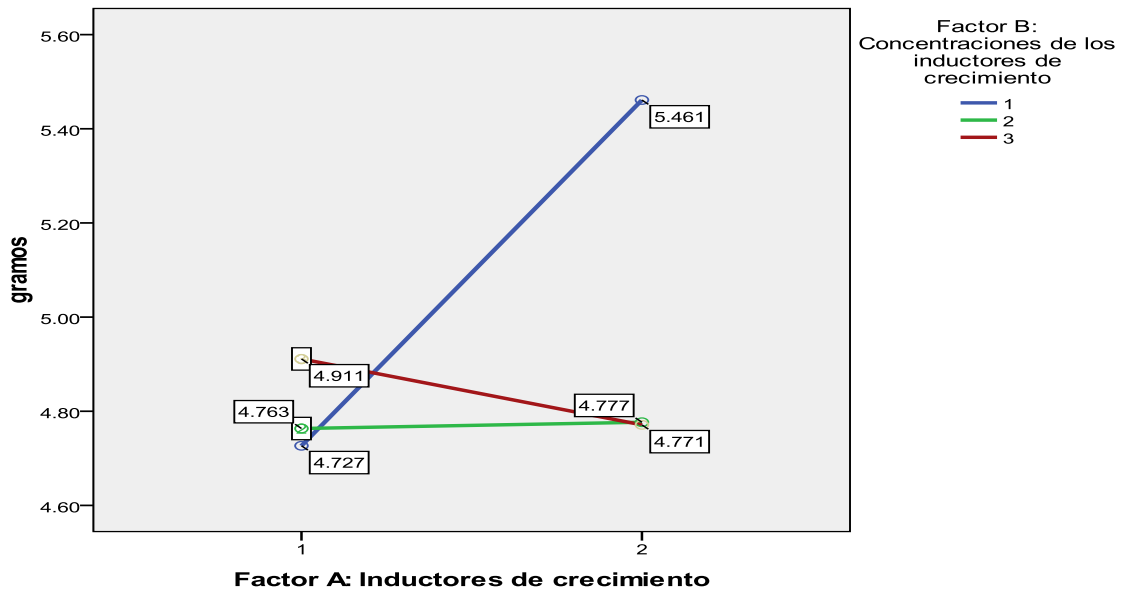


Gráfico 23: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para la biomasa fresca

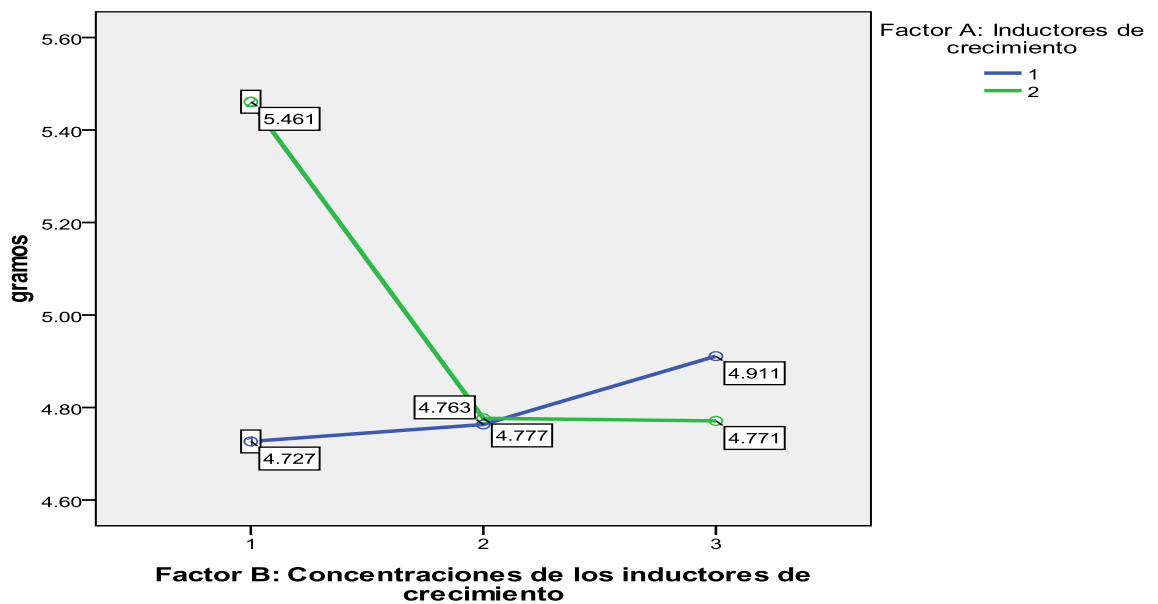


Gráfico 24: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la biomasa fresca

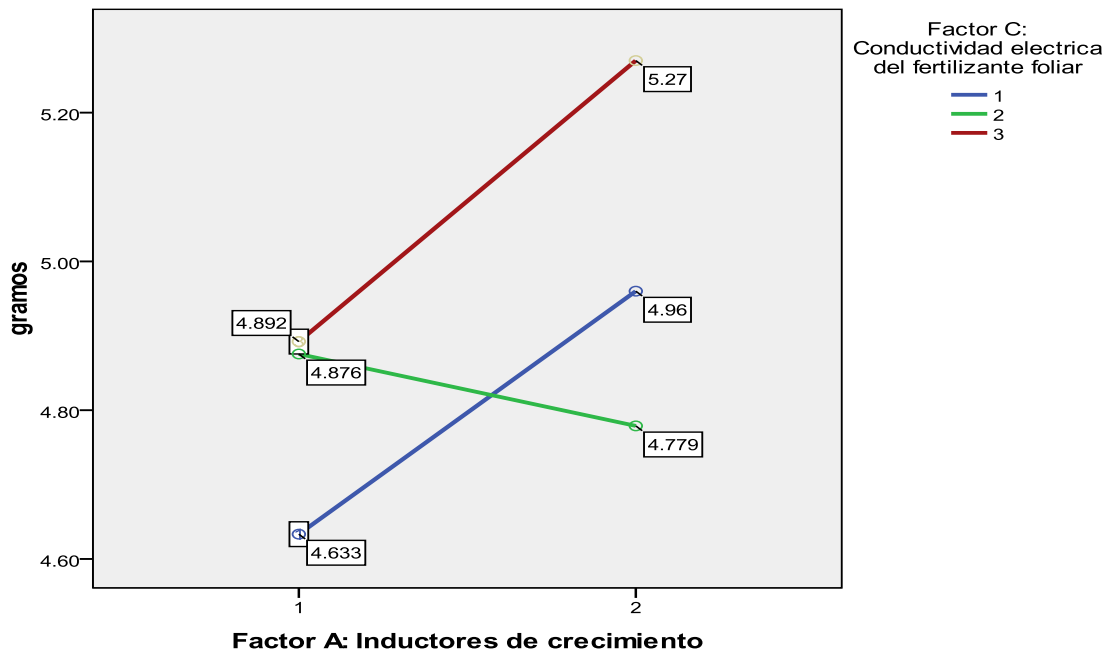


Gráfico 25: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento para la biomasa fresca

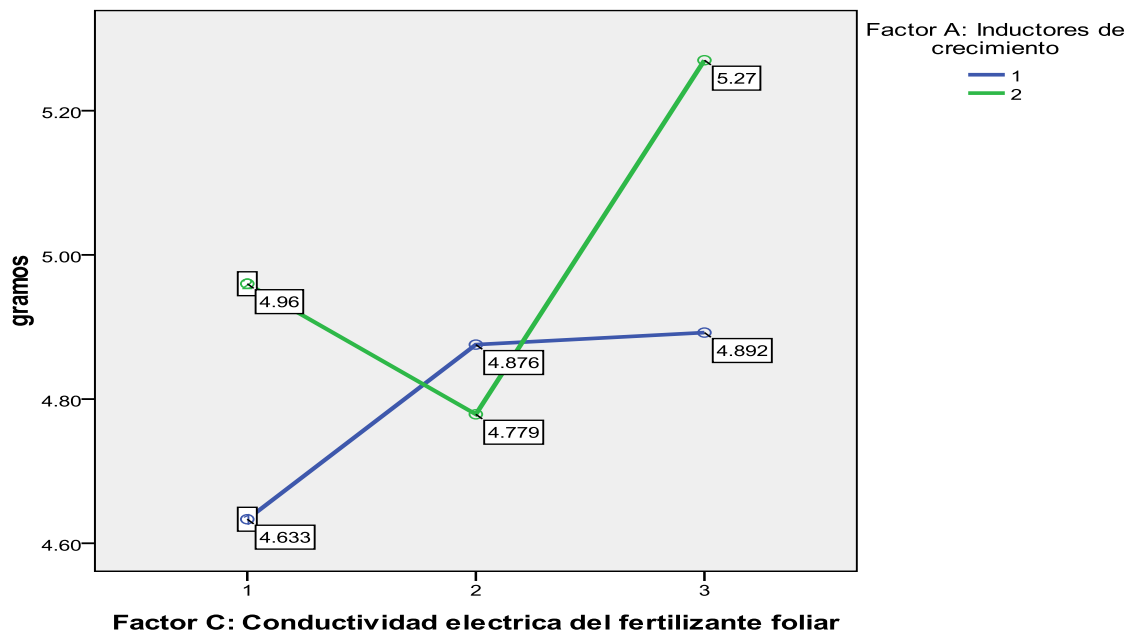


Gráfico 26: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la biomasa fresca

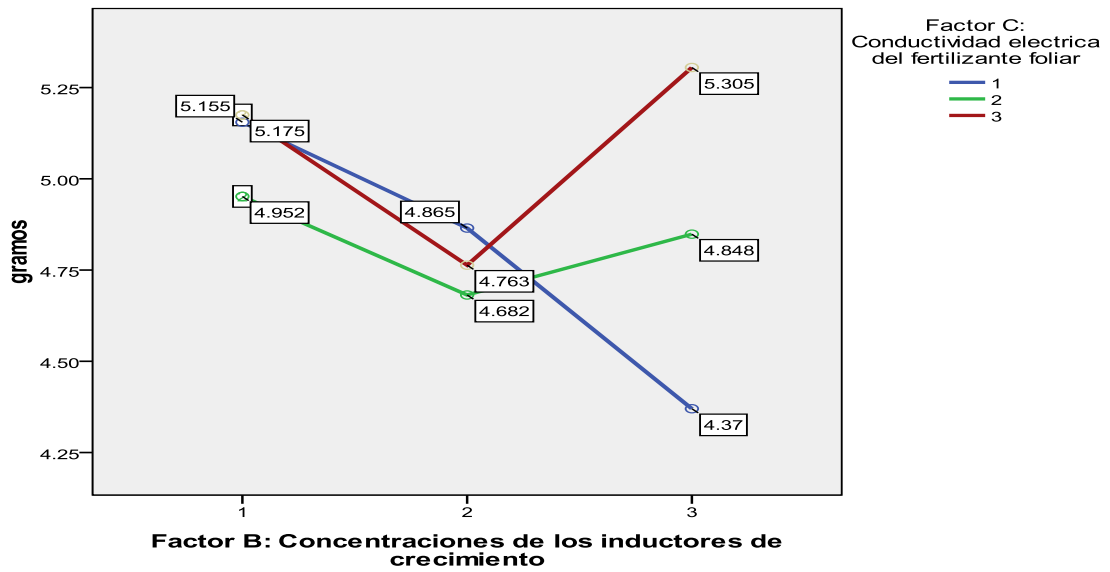


Gráfico 27: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la biomasa fresca

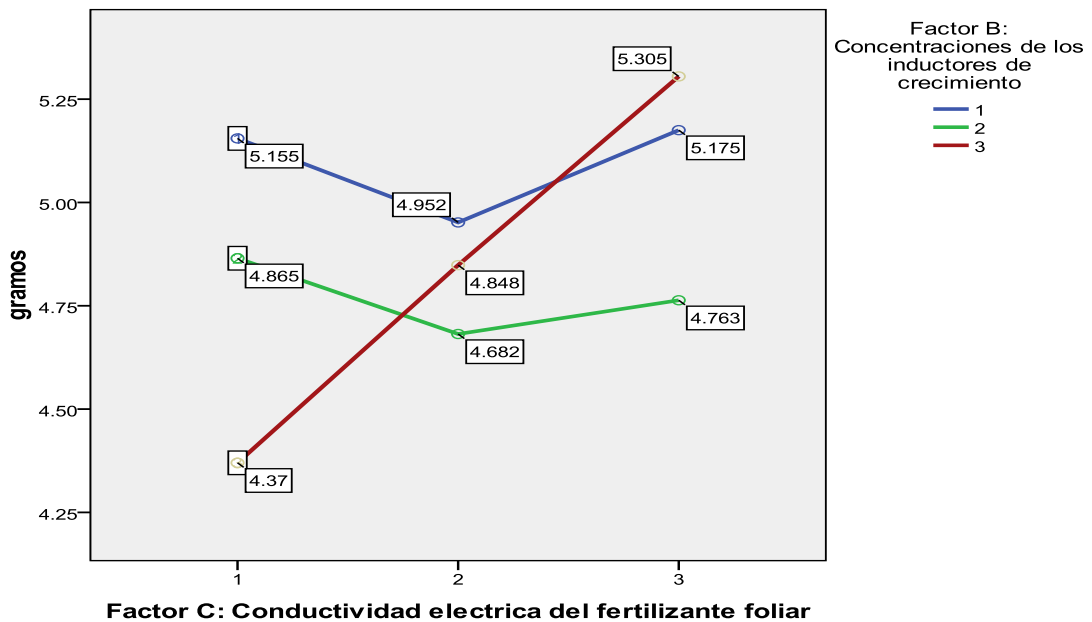


Gráfico 28: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la biomasa fresca

Cuadro 31: Análisis de varianza para la materia seca

F.V.	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Bloques	0,032	2	0,016	4,302	0,022 *
A (Inductores)	0,090	1	0,090	23,996	0,000 **
B (Concentraciones)	0,030	2	0,015	4,028	0,027 *
C (C.E.)	0,064	2	0,032	8,510	0,001 **
A * B	0,020	2	0,010	2,642	0,086 N.S.
A * C	0,001	2	0,000	0,133	0,876 N.S.
B * C	0,035	4	0,009	2,349	0,074 N.S.
A * B * C	0,049	4	0,012	3,307	0,022 *
Error Experimental	0,127	34	0,004		
Total	0,448	53			
$R^2 = 71,6\%$					
C.V. = 9,67%					
Promedio = 0,654					

Cuadro 32: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento y respecto a la materia seca

Factor A: Inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)	
		a	B
1	ANA (Ácido Naftalenacético)	0,613	
2	AIB (Ácido Indol-3- Butírico)		0,694

Cuadro 33: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto a la Materia seca

Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento	Descripción	Duncan (0.05)	
		a	B
3	3 ppm / 20 minutos	0,631	
2	2 ppm / 20 minutos	0,644	
1	1 ppm / 20 minutos		0,686

Cuadro 34: Prueba de Duncan (0,05) para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la materia seca

Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar	Descripción	Duncan (0.05)	
		a	B
2	2,2 mmhos	0,629	
1	1,6 mmhos	0,630	
3	2,8 mmhos		0,702

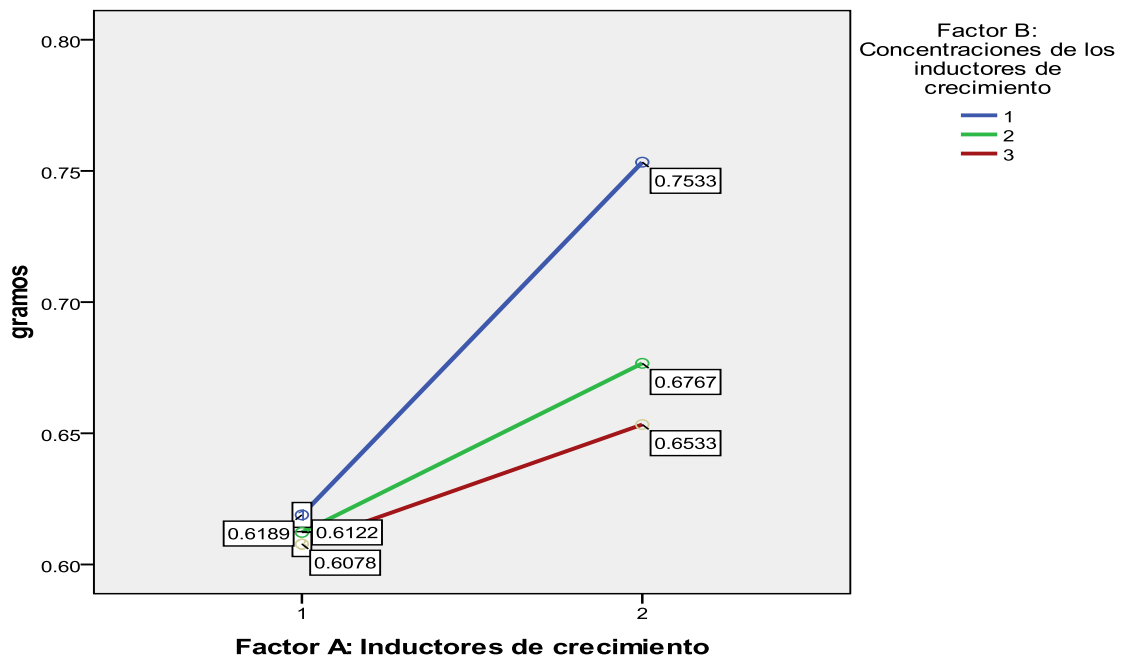


Gráfico 29: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento para la materia seca

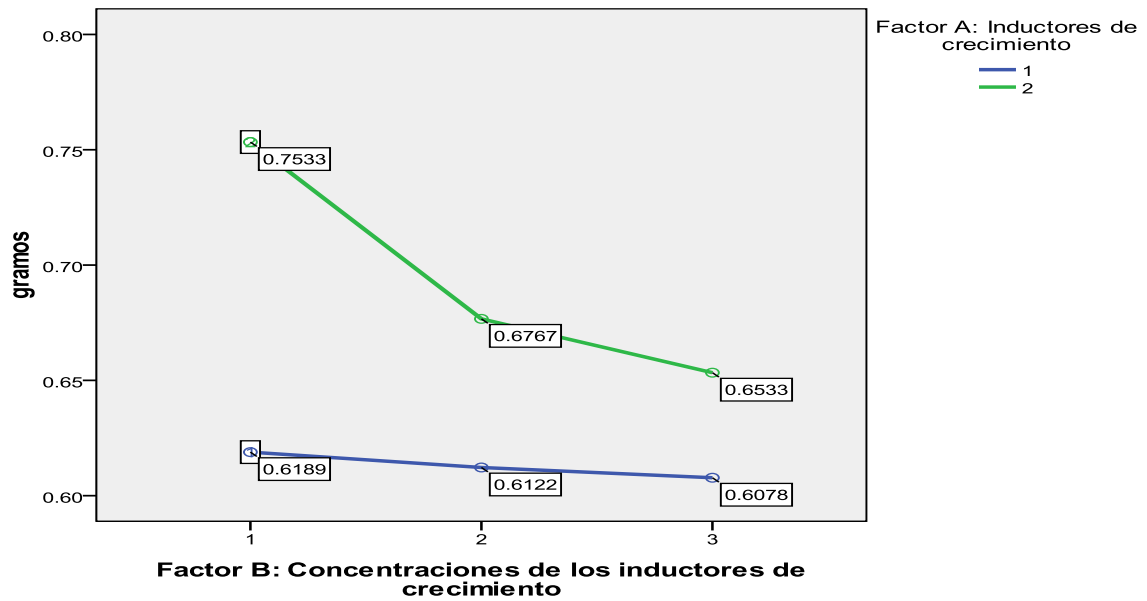


Gráfico 30: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento para la materia seca

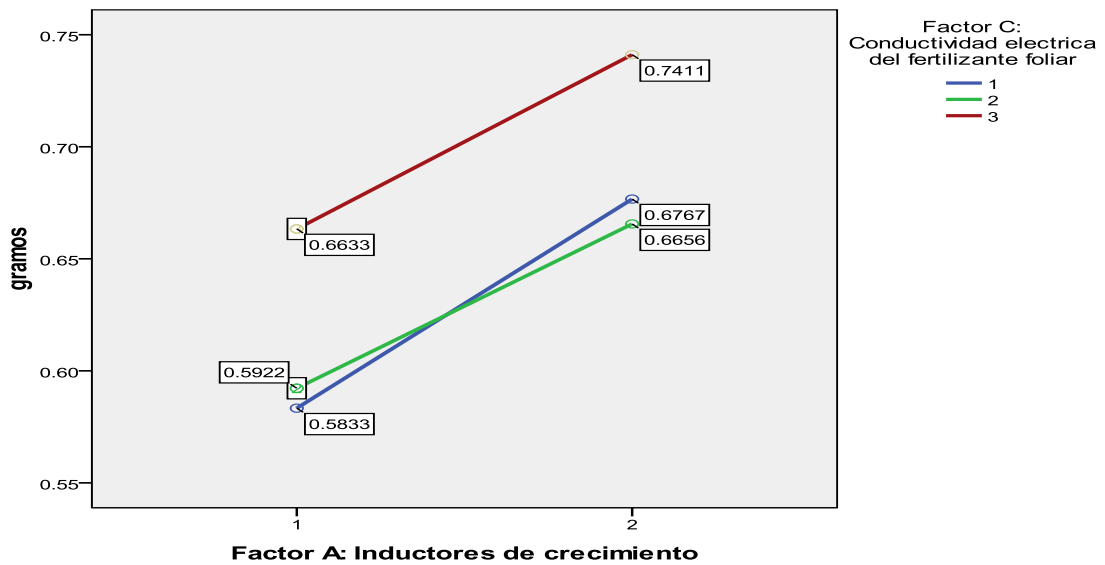


Gráfico 31: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento para la materia seca

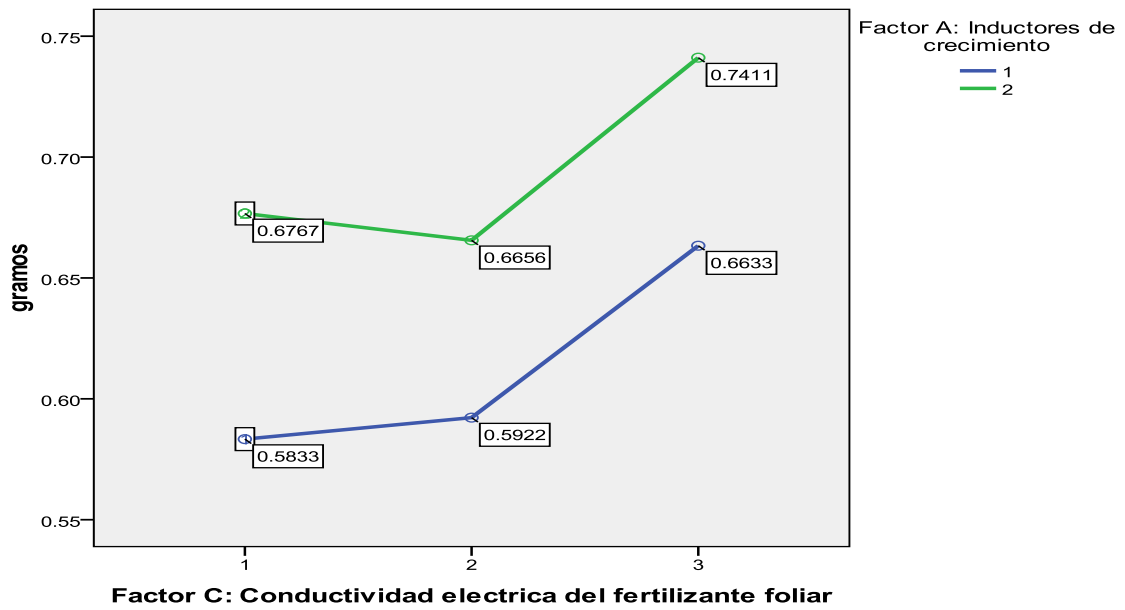


Gráfico 32: Efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la materia seca

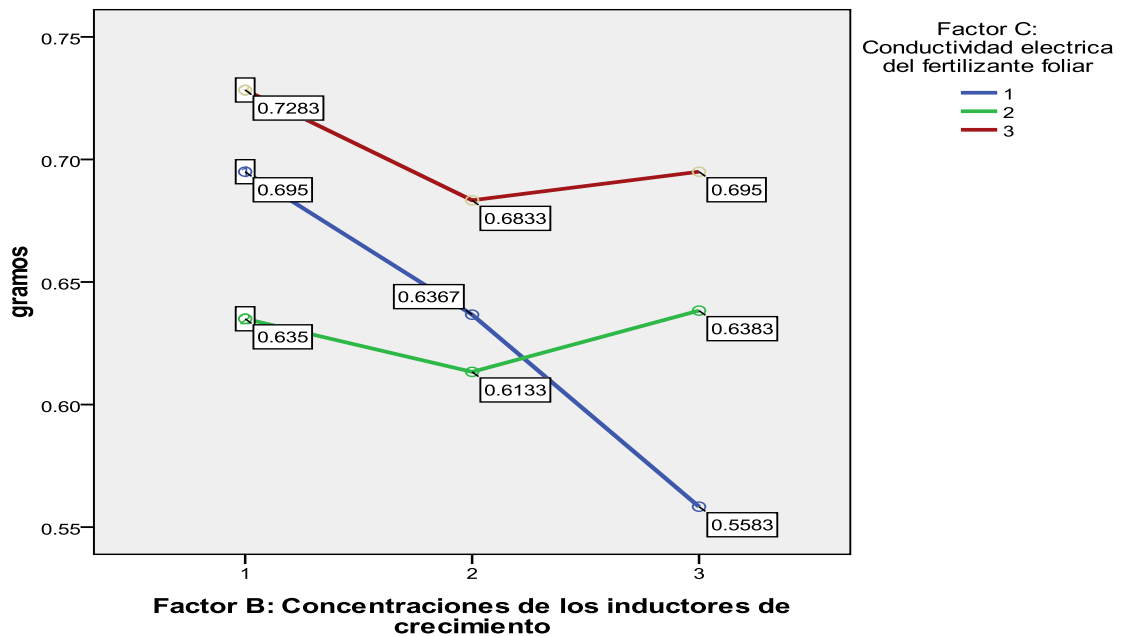


Gráfico 33: Efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro para la materia seca

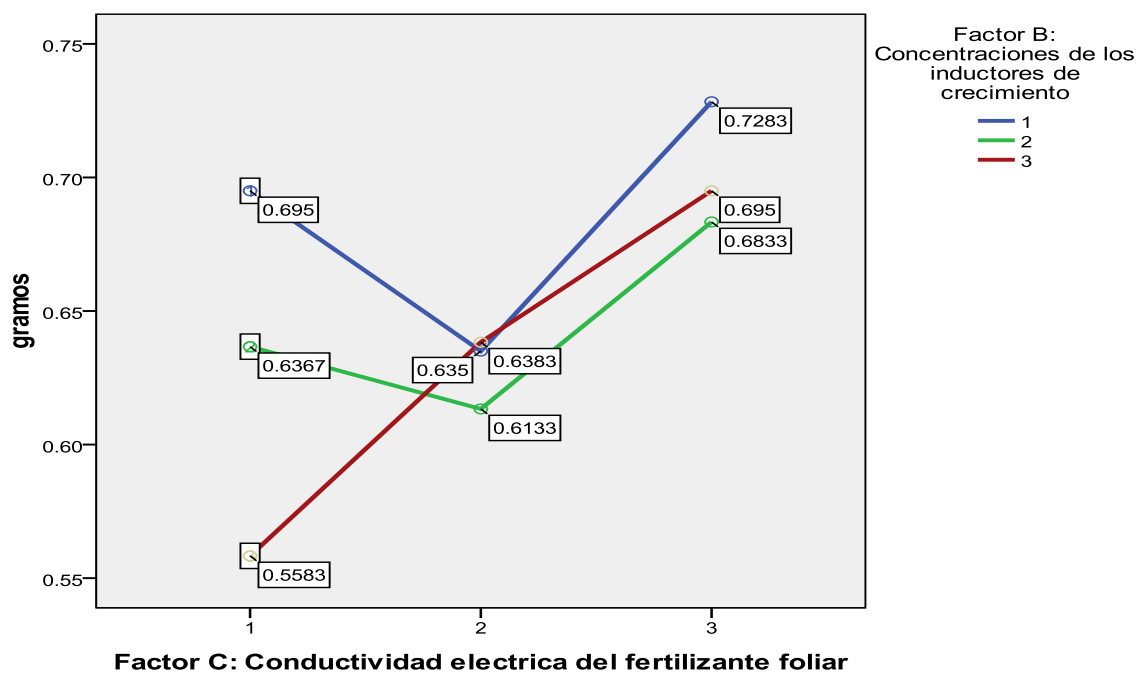


Gráfico 34: Efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar para la materia seca

VI. DISCUSIONES

6.1 Del porcentaje de supervivencia

El cuadro 1, muestra el análisis de varianza para el porcentaje de supervivencia, reportando significancia estadística significativa para la fuente de variabilidad bloques; lo cual nos sugiere que las unidades experimentales no fueron homogéneas en el experimento.

No hubo significancia estadística para los inductores de crecimiento, concentraciones y conductividad eléctrica del fertilizante foliar, indicándonos que la planta no ha respondido a la incorporación de estos factores en estudio. Así mismo, el análisis de varianza muestra que hay significancia estadística para la interacción inductores de crecimiento y concentraciones (A*B); señalando que el porcentaje de supervivencia de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), ha dependido de estos dos factores en estudio; al ser significativo la interacción (AB), resulta interesante estudiar los efectos simples de estos dos factores.

Esta variable reporta un coeficiente de determinación (R^2) de 47,2% y un coeficiente de variabilidad (CV) de 2,82%, demostrando que existe un alto grado de relación y correlación entre los tratamientos estudiados y el porcentaje de supervivencia, los cuales se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en invernadero, corroborado por (Calzada, 1982).

El cuadro 2, presenta la prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del factor A (inductores de crecimiento) y el cual determinó que no existe diferencia significativa entre los inductores de crecimiento, y quienes alcanzaron promedios de 94,18% y 95,90% de porcentaje de supervivencia para A1 con ANA (Ácido Naftalenacético) y para A2 con AIB (Ácido Indol-3-Butírico) respectivamente. La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y respecto al porcentaje de supervivencia (cuadro 3) y para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto al porcentaje de supervivencia (cuadro 4), tampoco detectaron diferencias significativas entre si. Esto nos dice que los dos inductores de crecimiento influyen de igual forma en el porcentaje de supervivencia de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L propagadas in vitro en la etapa de aclimatación.

El cuadro 5, muestra el análisis de varianza para el estudio de efectos simples de los factores AB, donde se detectó diferencias estadísticas significativas de los inductores crecimiento (Factor A) dentro de la concentración de los inductores de crecimiento con una dosis de 3 ppm/20 minutos. Analizando las concentraciones nos dice que también hay diferencia significativa de las concentraciones (Factor B), sometidas al inductor de crecimiento A1 (ANA - Ácido Naftalenacético). Este comportamiento se corrobora con la representación gráfica (gráfico 1), donde se puede apreciar que la concentración del inductor con 1 ppm (nivel 1), marca la diferencia en su respuesta de supervivencia con el AIB (Ácido Indol-3- Butírico) obteniendo el

valor mas bajo, por otro lado, ambos inductores de crecimiento tienen respuestas distintas en los 3 niveles de concentración (gráfico 2).

Estos resultados nos manifiestan que las tres concentraciones (1 ppm, 2 ppm y 3 ppm), para los dos inductores de crecimiento actúan de igual forma en el porcentaje de supervivencia de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L, propagadas in vitro en la etapa de aclimatación, debido a que el porcentaje de supervivencia de las plántulas de piñón *Jatropha curcas* L., está influenciado directamente por la etapa de pre aclimatación, en donde se busca endurecer el tallo, ejercitar los estomas, aumentar la cantidad de cloroplastos y masa radicular, lo cual es corroborado por (Fila *et al.*,1998), quienes señalan que la aclimatación puede ser mejorada modificando el microambiente durante el desarrollo in vitro (pre aclimatación), por ejemplo reduciendo la humedad relativa que causa un endurecimiento de la planta, mejorando los resultados durante el trasplante. También aumentando las intensidades de luz, para producir el establecimiento autotrófico in vitro. Ejercitar las estomas juega un papel muy importante en regular la transpiración de la planta de piñón *Jatropha curcas* L. confirmado por (Sánchez-Díaz y Aguirreolea ,2000), quienes señalan que los estomas proporcionan a las plantas un mecanismo fundamental para adaptarse a un ambiente continuamente cambiante, permitiendo el intercambio físico activo entre las partes aéreas de la planta y la atmósfera.

El papel fundamental de los estomas es la regulación de la pérdida de agua (transpiración) y la absorción de CO₂ (asimilación fotosintética del carbono), lo cual es corroborado por (Santa María *et al.*, 1993; citado por Pospisilova *et al.*,

1999), quienes reportan la gran importancia que tiene la estructura, morfología y funcionalidad del aparato estomatal durante la aclimatización de las plantas producidas in vitro. En fase de aclimatación a las plantas se debe proporcionar una alta humedad a través de cámaras húmedas. (Wetzstein *et al.*, 2002; citado por Nieto, 2008), menciona que mantener una alta humedad en los primeros días de la transferencia ex vitro es un factor crítico para la sobrevivencia de las vitro plantas utilizando sistemas que proporcionen alta humedad relativa y que permitan su reducción gradual hasta el final del proceso. Ziv (1995; citado por Nieto, 2008), manifiesta que durante las primeras dos semanas posteriores al trasplante, es necesario controlar adecuadamente los factores ambientales y se requiere simular las condiciones del ambiente in vitro, hasta tanto que las plantas se adapten. Sin embargo en el presente estudio la etapa de crítica de aclimatación se redujo a 1 semana, considerando como factor elemental la pre aclimatación como etapa previa a la aclimatación.

Se considera que una plántula de *Jatropha curcas* L., esta aclimatada cuando se observa la aparición de nuevas hojas, nuevas raíces, incremento de diámetro de tallo y siendo capaces de generar sus propios alimentos convirtiéndose de planta heterótrofa a autótrofa en un tiempo de 8 semanas considerando la pre aclimatación, mantenidas a un 70% de sombra. Sin embargo, (Riquelme *et al.*, 1991; citado por Nieto, 2008), mencionan que las vitro plantas son generalmente aclimatadas durante 4 semanas a 90% de sombra. Los resultados obtenidos en el presente estudio contradicen lo citado por (Nieto, 2008), debido a que cuatro semanas no es lo suficiente para lograr

esa respuesta fisiológica que permita la supervivencia de las plantas in vitro en la etapa de aclimatación.

La masa radicular es uno de los factores importantes en el porcentaje de supervivencia en la etapa de aclimatación de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L. corroborado por (Mohammed y Videver ,1990), quienes mencionan que la presencia de raíces en plantas leñosas garantiza alta supervivencia en la aclimatización.

6.2 De la altura de planta

El cuadro 6, muestra el análisis de varianza para la altura de planta, reportando únicamente resultados estadísticamente significativos para el efecto de la interacción A*B (inductores * concentraciones) indicándonos que la planta ha respondido a la incorporación de estos factores en estudio. Señalándonos además que la altura de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), va a depender de dos factores en estudio como son inductores de crecimiento y concentraciones. Por otro lado, el coeficiente de determinación (R^2) con un valor de 48,8% establece una relación y correlación media que explica muy poco los resultados obtenidos y un coeficiente de variabilidad (CV) de 5,28%, el cual se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en invernadero, corroborado por (Calzada ,1982).

En los cuadros 7, 8 y 9 se presentan la prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento, del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento y del Factor C:

Conductividad eléctrica del fertilizante foliar y respecto a la altura de planta respectivamente y los cuales corroboran los resultados del análisis de varianza (cuadro 6).

El cuadro 10, nos muestra el análisis de varianza para el estudio de efectos simples de los factores AB para la altura de planta, el cual detectó diferencias estadísticas significativas de los inductores crecimiento (Factor A) dentro de la concentración de los inductores de crecimiento con una dosis de 3 ppm/20 minutos. Por otro lado, también detectó diferencias significativas de las concentraciones (Factor B), sometidas al inductor de crecimiento A2 (ácido indol butírico). Este comportamiento se corrobora en el gráfico 3, donde se puede apreciar que las concentraciones de los inductores han respondido en forma distinta dentro de los inductores de crecimiento y del mismo modo, ambos inductores de crecimiento arrojaron respuestas distintas en los 3 niveles de concentración (gráfico 4).

6.3 Del diámetro de tallo

El cuadro 11 muestra el análisis de varianza para el diámetro de tallo, reportando resultados altamente significativos para los bloques; lo cual nos sugiere que las unidades experimentales no fueron homogéneas en el experimento. También arrojó alta significancia estadística para los inductores de crecimiento (A), sugiriéndonos que la planta ha respondido a la incorporación de este factor en estudio, pero no hubo significancia estadística para las concentraciones (B) y conductividad eléctrica del fertilizante foliar (C), inductores de crecimiento y concentración (A*B), inductores de crecimiento y

conductividad eléctrica del fertilizante foliar (A*C), concentración de los inductores de crecimiento y conductividad eléctrica (B*C) y la triple interacción de inductores de crecimiento, concentración y conductividad eléctrica del fertilizante, lo cual nos estaría indicando que dichos factores tienen efectos independientes uno del otro sobre el diámetro del tallo de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.) en la etapa de aclimatación. Esta variable reportó el coeficiente de determinación (R^2) de 69,0 % determinado una alta correlación y fuerte relación entre los tratamientos estudiados y la variable diámetro del tallo; el coeficiente de variabilidad (CV) de 5,61%, se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en invernadero, corroborado por (Calzada, 1982).

La prueba múltiple de Duncan al 5% de probabilidad para los inductores de crecimiento (cuadro 12), detectó diferencias estadísticas entre los promedios de los inductores de crecimiento; tanto que el nivel 2 con AIB (ácido indol-3-butírico) con un promedio de 0,83 cm superó al tratamiento con el nivel 1 con ANA (ácido Naftalenacético) quién obtuvo un promedio de 0,76 cm de diámetro del tallo respectivamente. Respecto a la prueba de Duncan al 5% para los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento (cuadro 13) y a la prueba de Duncan al 5% para los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar (cuadro 14) no reportaron diferencias significativas entre sus promedios.

Estos resultados nos indican que los dos inductores de crecimiento tanto AIB y ANA, tienen diferente efecto en diámetro de tallo con las tres concentraciones

en estudio como son: 1 ppm, 2 ppm y 3 ppm y con los tres niveles de conductividad eléctrica del fertilizante foliar respectivamente, por lo que el diámetro de tallo está influenciado por el nivel nutricional de la planta, que es el órgano de reserva, tal como lo menciona (Gutiérrez, 2002) y que los tallos representan a la vez un importante consumidor de recursos minerales para sustentar la producción de tejidos vasculares y accesorios, la actividad del cambium y el crecimiento expansivo en especies perennes, y el almacenamiento de reservas. El tallo es un importante órgano de reserva (particularmente en especies perennes) de agua, minerales y compuestos orgánicos, movilizables durante períodos de estrés (déficit hídrico, defoliación, podas).

6.4 Del área foliar

El cuadro 15, muestra el análisis de varianza para el área foliar, reportando resultados altamente significativos para los bloques; lo cual nos sugiere que las unidades experimentales no fueron homogéneas en el experimento.

El ANVA detectó también alta significancia estadística para los inductores de crecimiento, concentraciones y conductividad eléctrica del fertilizante foliar, sugiriéndonos que la planta ha respondido a la incorporación de estos factores en estudio, sin embargo, también se observa un alta significancia para el efecto de la interacción triple, lo que estaría anulando la interpretación del efecto combinado con los niveles de los factores en estudio.

Este parámetro reportó un coeficiente de determinación (R^2) de 91,2% lo que determina una alta de relación determinante de los tratamientos en estudio y el área foliar como indicador de sus efectos. El coeficiente de variabilidad (CV) con 3,7% se encuentra dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en invernadero corroborado por (Calzada, 1982).

La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento (cuadro 16) determinó diferencias estadísticas significativas entre los promedios de los inductores de crecimiento y donde el tratamiento A1 (ANA – ácido Naftalenacético) con un promedio de 22,27 cm^2 superó estadísticamente al tratamiento A2 (AIB (Ácido Indol-3- Butírico) quién alcanzó un promedio de 21,56 cm^2 .

La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento (cuadro 17), detectó diferencias estadísticas significativas, donde el tratamiento B2 (2 ppm) y el tratamiento B3 (3 ppm) con promedios de 22,54 cm^2 y 22,33 cm^2 resultaron ser estadísticamente iguales entre si y superando estadísticamente al tratamiento B1 (1 ppm) quién alcanzó un promedio de 20,88 cm^2 .

La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar (cuadro 18), también detectó diferencias significativas, donde el tratamiento C3 con 2,8 mmhos con un promedio de 23,68 cm^2 superó estadísticamente al tratamiento C2 con 2,2

mmhos y C1 con 1,6 mmhos quienes alcanzaron promedios de 21,44 cm² y 20,62 cm² respectivamente.

En el análisis de los efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de los inductores de crecimiento (gráfico 5) se observa que mientras el tratamiento B2 (2ppm) con promedios de 23,4 cm² en A1 y con 21,67 cm² superó estadísticamente al tratamiento B1 (1 ppm) quien arrojó valores paralelos de 21,47 y 20,29 cm² en A1 y A2 respectivamente, sin embargo, el tratamiento B3 (3 ppm) obtuvo promedios de 21,93 cm² y 22,72 cm² en A1 y A2 respectivamente, que son valores contrarios al los obtenidos por los tratamientos B2 y B1. Sin embargo, en el efecto de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones (gráfico 6), se observa que A1 (ANA) y A2 (AIB) arrojaron valores paralelos hasta la concentración en B2 (2 ppm) de 21,47 cm² y 20,29 cm² en B1 (1 ppm) y de 23,4 cm² y 21,67 cm² en B2 (2 ppm) respectivamente, decrece hasta 21,93 cm² en B3 (3 ppm) para A1 (ANA) y A2 (AIB) se incrementa hasta 22,72 cm² respectivamente.

En el análisis de los efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento (gráfico 7) y de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar (gráfico 8), no detectó interacción entre ambos factores. Siendo que a mayor valor de conductividad eléctrica mayores han sido los promedios alcanzados del área foliar cuando se combinaron con los inductores de crecimiento (Factor A) y con mayores promedios en A1 (ANA).

En el análisis de los efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento (gráfico 9) y los efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar (gráfico 10) detectó una ligera interacción entre los factores B y C y que en general se observa que a mayor valor de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar en combinaciones incrementales de las concentraciones de los inductores de crecimiento mayor fue la respuesta y por lo tanto mayor promedio del área foliar, demostrándose así que el área foliar de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), está influenciado por los inductores de crecimiento (A1 y A2), las concentraciones de los inductores y la conductividad eléctrica del fertilizante foliar. La aplicación de una solución fertilizante foliar además de ayudar a la nutrición de la plántula, ayuda a prevenir la deshidratación .corroborado por Lane (1979) citado en Ruiz (2003), quien asegura que la aplicación foliar de nutrientes además de proporcionar nutrientes a las plantas ayuda a prevenir la deshidratación.

Las hojas y sus partes (peciolos, láminas, fluidos) representan la inversión de los recursos nutricionales de las plantas en procesos fisiológicos directamente ligados a las tasas de intercambio gaseoso (asimilación fotosintética del CO₂, transpiración) (Gutiérrez, 2002).

6.5 De la longitud de raíces

El cuadro 19, muestra el análisis de varianza para la longitud de raíces, reportando resultados altamente significativos para los bloques; lo cual nos

sugiere que las unidades experimentales fueron heterogéneas en el experimento.

El ANVA detectó también alta significancia estadística para las concentraciones (Factor B) y conductividad eléctrica del fertilizante foliar (Factor c), sugiriéndonos que la planta ha respondido a la incorporación de estos factores en estudio, sin embargo, también se observa un alta significancia para el efecto de la interacción triple (AxBxC), lo que estaría anulando la interpretación del efecto combinado con los niveles de los factores en estudio.

Este parámetro reportó un coeficiente de determinación (R^2) de 76,7% lo que determina una alta de relación determinante de los tratamientos en estudio y la longitud de las raíces como indicador de sus efectos. El coeficiente de variabilidad (CV) con 3,91% se encuentra dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en invernadero corroborado por (Calzada ,1982).

La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento no detectó diferencias significativas entre los niveles A1 (ANA) con un promedio de 7,26 cm y el nivel A2 (AIB) con un promedio de 7,24 cm de longitud de raíz. Sin embargo la prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento, ha detecto que los promedios de los niveles B2 (2 ppm) con 7,34 cm y del nivel B3 (3 ppm) con un promedio de 7,30 cm son estadísticamente

iguales entre si y superiores al Nivel B1 (1 ppm) quién alcanzó un promedio de 7,1 cm.

La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar, ha detecto que los promedios de los niveles C2 (2,2 mmhos) con un promedio de 7,42 cm y del nivel C3 (2,8 mmhos) con un promedio de 7,32 cm de longitud de raíz resultaron estadísticamente iguales entre si y superando estadísticamente al promedio de 7,02 cm de longitud de raíz obtenido por el nivel C1 (1,6 mmhos).

En el análisis de los efectos simples de la interacción A x B y respecto a las concentraciones de los inductores dentro de los inductores de crecimiento (gráfico 11), se observa que el nivel B1 (1 ppm) no reportó ningún incremento de la longitud de la raíz cuando se combinó con los inductores de crecimiento. El Nivel B2 (2 ppm) con un promedio de 7,31 cm en combinación con A1 (ANA) se incrementó hasta un promedio de 7,37 cm de longitud de raíz cuando se combinó con A2 (AIB), sin embargo, cuando se incrementó la concentración a 3 ppm (B3) este arrojó un promedio de 7,36 cm en combinación con A1 (ANA) y decrece hasta un promedio de 7,24 cm cuando de combinó con A2 (AIB). Este efecto, se observa también en los promedios de A dentro de B (gráfico 12), donde A1 (ANA) en combinación con las concentraciones de 1 ppm, 2 ppm y 3 ppm crece casi linealmente con promedios de 7,11 cm, 7,32 cm y 7,36 cm respectivamente, sin embargo, A2 (AIB) crece desde 7,10 cm en B1 hasta 7,37 cm en B2 y decreciendo fuertemente hasta 7,24 cm en B3.

En el análisis de los efectos simples de la interacción A x C y respecto a los promedios de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento (gráfico 13), se observa que los niveles C2 (2,2 mmhos) y C3 (2,6 mmhos) arrojaron los mayores promedios cuando se combinaron con el nivel A1 (ANA) y sin interactuar cuando se combinaron con A2 (AIB), sin embargo el nivel A1(1,6 mmhos) obtuvo el menor promedio de longitud de raíz de 6,85 cm cuando se combinó con A1 (ANA) y luego se incrementó hasta 7,18 cm de longitud de la raíz cuando se combinó con A2 (AIB). Este mismo resultado se observa en el efecto de los promedios de tratamientos del factor A dentro de C (gráfico 14).

En el análisis de los efectos simples de la interacción B x C (gráficos 15 y 16) y donde C1 (1,6 mmhos) en combinación con B1 (1 ppm), B2 (2ppm) y B3 (3 ppm) decrece desde 7,13 cm, 7,05 cm y 6,87 cm de longitud de raíz respectivamente, mientras que C2 (2,2. mmhos) crece desde 7,23 cm, 7,42 cm y 7,60 cm de longitud de raíz respectivamente, pero, C3 (2,8 mmhos) crece fuertemente desde 6,94 cm en B1 (1 ppm) hasta 7,55 cm en B2 (2 ppm) para luego decrecer hasta 7,44 en b3 (3 ppm) respectivamente.

Estos resultados se deben a que las raíces de la plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L) mueren en la etapa de aclimatación y a partir de ello aparecen las raíces de aclimatación que son totalmente activas, corroborando con Végvari (2001), quien manifiesta que las raíces de plantas propagadas in vitro, generalmente pierden sus pelos radicales durante la aclimatización, pero estas

raíces son todavía importantes porque las nuevas raíces desarrolladas son totalmente funcionales a partir de ellas.

6.6 De la longitud de pedúnculo

El cuadro 23, muestra el análisis de varianza para la longitud de pedúnculo, reportando resultados no significativos para los bloques; lo cual nos sugiere que las unidades experimentales fueron homogéneas en el experimento.

El ANVA no detectó significancia estadística para los inductores (Factor A) indicándonos que la planta no ha respondido a la incorporación de los niveles de este factor en estudio, sin embargo, también se observa un alta significancia para el efecto de la interacción triple (AxBxC), lo que estaría anulando la interpretación del efecto dentro y entre de los factores en estudio.

Este parámetro reportó un coeficiente de determinación (R^2) de 94,0% lo que determina una alta de relación determinante de los tratamientos en estudio y la longitud del pedúnculo como indicador de sus efectos. El coeficiente de variabilidad (CV) con 2,72% se encuentra dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en invernadero corroborado por (Calzada, 1982).

La prueba de Duncan al 5% del cuadro N° 24, para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento no detectó diferencias significativas entre los niveles A1 (ANA) con un promedio de 6,39 cm y el nivel

A2 (AIB) con un promedio de 6,34 cm de longitud del pedúnculo. Sin embargo la prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento (cuadro N° 25), ha detecto diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, tanto así que a mayor concentración de inductores, mayor fue el promedio de la longitud de pedúnculo, de tal manera que el nivel B3 (3 ppm) con 6,53 cm superando estadísticamente a los promedios de los nivel B2 (2 ppm) y B1 (1 ppm) quienes alcanzaron promedios de 6,39 cm y 6,17 cm de longitud del pedúnculo respectivamente.

La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar (cuadro N° 26), detecto también diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, tanto así que a mayor conductividad eléctrica del fertilizante foliar mayor fue el promedio de la longitud de pedúnculo, de tal manera que el nivel C3 (2,8 mmhos) con un promedio de 6,86 cm de longitud del pedúnculo superó estadísticamente a los tratamientos con nivel C2 (2,2 mmhos) y C1 (1,6 mmhos) quienes alcanzaron promedios de 6,33 cm y 5,91 cm de longitud del pedúnculo respectivamente.

En el análisis de los efectos simples de la interacción A x B y respecto a las concentraciones de los inductores dentro de los inductores de crecimiento (gráfico 17) se observa que el tratamiento B1 (1 ppm) con un promedio de 6,17 cm en A1 (ANA) no cambia mucho en A2 (AIB) donde alcanzó un promedio de 6,16 cm de longitud del pedúnculo. El nivel B2 (2 ppm) arrojó mejores promedios, tanto así que en A1 (ANA) obtuvo un promedio de 6,35 cm y con un

promedio mayor en A2 (AIB) donde obtuvo un promedio de 6,44 cm de longitud del pedúnculo y casi paralelo a los resultados obtenidos con el nivel B1 (1 ppm). Sin embargo el nivel B3, aunque alcanzó en mayor promedio de 6,64 cm en A1 (ANA), este promedio descendió hasta 6,41 cm en A2 (AIB) generándose la interacción de los niveles de B dentro de A. Por otro lado, respecto a los efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento A dentro de B (gráfico 18), se puede observar que el nivel A1 (ANA) tuvo un comportamiento lineal creciente con promedios de 6,15 cm, 6,35 cm y 6,64 cm de longitud del pedúnculo en B1 (1 ppm), B2 (2 ppm) y B3 (3 ppm) respectivamente. Sin embargo, el nivel A2 (AIB) creció desde 6,17 cm en B1 (1 ppm) hasta 6,44 cm en B2 (2 ppm) para luego bajar hasta 6,41 cm en B3 (3 ppm) respectivamente, tanto así que el AIB con concentraciones mayores a 2 ppm afecta el desarrollo del pedúnculo.

En el análisis de los efectos simples de la interacción A x C y respecto a los promedios de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento (gráfico 19) se observa que los niveles B2 (2 ppm) y B3 (3 ppm) tuvieron respuestas paralelas en los niveles del factor A y manteniéndose los niveles de significancia siendo mayores los promedios en A1 (ANA). El nivel B1 (1 ppm) arrojó el mayor promedio en A2 (AIB) pero sin interactuar con los otros niveles de B. Sin embargo, en los efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar (gráfico 20), se determinó un comportamiento lineal positivo de los inductores de crecimiento, tal es así que el nivel A1 (ANA) obtuvo promedios crecientes de 5,76 cm, 6,44 cm y 6,96 cm de longitud del pedúnculo con 1,6

mmhos, 2,2 mmhos y 2,8 mmhos respectivamente y esta misma tendencia se obtuvo con el nivel A2 (AIB) quien alcanzó promedios de 6,04 cm; 6,20 cm y 6,76 cm de longitud del pedúnculo con 1,6 mmhos, 2,2 mmhos y 2,8 mmhos respectivamente, determinándose que a mayores niveles de conductividad eléctrica del fertilizante foliar, los niveles de los inductores de crecimiento ofrecen mayores resultados.

En el análisis de los efectos simples de la interacción B x C y respecto a los efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento (gráfico 21) no se ha detectado interacción alguna entre los niveles de C dentro de B y siendo el nivel C3 (2,8 mmhos) el que alcanzó los mayores promedios con 6,69 cm, 6,90 cm y 6,96 cm de longitud del pedúnculo a concentraciones de 1, 2 y 3 ppm respectivamente. Respecto a los efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar (gráfico 22), se observa que los promedios de los niveles del inductor de crecimiento se incrementaron a medida que los niveles de conductividad eléctrica del fertilizante foliar se incrementó.

El análisis realizado para la longitud de pedúnculo nos dice que la longitud del pedúnculo está influenciado por los inductores de crecimiento (ácido naftalenacético (ANA) y ácido indol butírico (AIB), a concentraciones de 2 ppm (B2) y 3 ppm (B3), y una conductividad eléctrica de fertilizante foliar de 2,8 mmhos (C3); y que tienen la capacidad de promotores de enraizamiento, haciendo que las plántulas de piñón *Jatropha curcas* L. tengan un buen

enraizamiento para la absorción de nutrientes del suelo (sustrato) y la solución fertilizante foliar a una conductividad eléctrica de 2,8 mmhos tiene los nutrientes ideales para el desarrollo óptimo de la longitud de pedúnculo, coincidiendo con (Gutiérrez, 2002), quien manifiesta que la longitud del pedúnculo se utiliza para diagnosticar el estado nutricional de las plántulas.

6.7 De la biomasa fresca

El cuadro 27, muestra el análisis de varianza para la biomasa fresca, reportando resultados no significativos para los bloques; lo cual nos sugiere que las unidades experimentales fueron homogéneas en el experimento.

El ANVA reportó además que no hubo significancia estadística para los inductores de crecimiento (Factor A) y para la conductividad eléctrica (factor C), sugiriéndonos que la planta no ha respondido a la incorporación de estos factores en estudio. Sin embargo, también se observa un alta significancia para el efecto de la interacción triple (AxBxC), lo que estaría anulando la interpretación del efecto dentro y entre de los factores en estudio.

Este parámetro reportó un coeficiente de determinación (R^2) de 70,1% lo que determina una alta de relación determinante de los tratamientos en estudio y la biomasa fresca como indicador de sus efectos. El coeficiente de variabilidad (CV) con 7,55% se encuentra dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en invernadero corroborado por (Calzada, 1982).

La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento (cuadro 28) no detectó diferencias significativas entre los niveles A1 (ANA) con un promedio de 4,80 g y el nivel A2 (AIB) con un promedio de 5,00 g de biomasa fresca. Sin embargo la prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento (cuadro 29) ha detecto diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, tanto así que la menor concentración de inductores (1 ppm), arrojó el mayor promedio con 5,09 g de biomasa fresca y superando estadísticamente a los promedios de B3 (3 ppm) y B2 (2 ppm) quienes alcanzaron promedios de 4,84 y 4,7 g de biomasa fresca respectivamente.

La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar (cuadro 30), también detectó diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, tanto así que a mayor conductividad eléctrica del fertilizante foliar mayor fue el promedio en peso de la biomasa fresca, de tal manera que el nivel C3 (2,8 mmhos) con un promedio de 5,08 g de biomasa fresca superó estadísticamente a los tratamientos con nivel C2 (2,2 mmhos) y C1 (1,6 mmhos) quienes alcanzaron promedios de 4,83 g y 4,79 g de biomasa fresca respectivamente.

En el análisis de los efectos simples de la interacción A x B y respecto a las concentraciones de los inductores dentro de los inductores de crecimiento (gráfico 23) se observa que el tratamiento B1 (1 ppm) con un promedio de 4,72 g en A1 (ANA) se incrementa fuertemente A2 (AIB) donde alcanzó un promedio

de 6,46 g de biomasa fresca. El nivel B2 (2 ppm) arrojó un promedio similar en A1 (ANA) y A2 (AIB) con 4,76 g y 4,77 g respectivamente y casi paralelo a los resultados obtenidos con el nivel B3 (1 ppm). Por otro lado, respecto a los efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento A dentro de B (gráfico 24), se puede observar que el nivel A2 (AIB) arrojó el mayor valor promedio en B1 (1 ppm) con 5,46 g, bajando fuertemente en los niveles B2 y B3 donde alcanzo promedios de 4,8 g y 4,7 g respectivamente. Por otro lado, el nivel A1 (ANA) sufre un incremento ligero desde 4,72 g; 4,77 g; y 4,91 g de biomasa fresca a 1,2 y 3 ppm de concentración de los inductores de crecimiento respectivamente.

En el análisis de los efectos simples de la interacción A x C y respecto a los promedios de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento (gráfico 25) se observa que los niveles B3 (3 ppm) y B1 (1 ppm) tuvieron respuestas paralelas en los niveles del factor A y B y manteniéndose los niveles de significancia siendo mayores los promedios en A1 (ANA). El nivel C3 (2,8 mmhos) arrojó el mayor promedio en A2 (AIB) con 5,27 g de biomasa fresca. Sin embargo, el nivel C2 (2,2 mmhos) luego de obtener un promedio de 4,87 g en A1 (ANA), disminuye hasta 4,77 g en A2 (AIB). Respecto a los efectos simples de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar (gráfico 26), se determinó un comportamiento lineal positivo del ANA (A1) con promedios de 4,63 g, 4,87 g y 4,89 g de biomasa fresca sometidas a 1,6, 2,2 y 2,8 mmhos de conductividad eléctrica del fertilizante foliar respectivamente. Sin embargo, el nivel A2 (AIB)

sufre una reducción de la biomasa fresca cuando esta fue sometida a una dosis de 2,2 mmhos de conductividad eléctrica.

En el análisis de los efectos simples de la interacción B x C y respecto a los efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento (gráfico 27), se puede apreciar que los niveles C2 (2,2 mmhos) y C3 (2,8 mmhos) tuvieron resultados paralelos a las concentraciones de los inductores, notándose que en el nivel B2 (2 ppm) los promedios bajaron hasta 4,68 g y 4,76 g de biomasa fresca para C3 y C2 respectivamente. Sin embargo el Nivel C1 (1,6 mmhos) arrojó promedios decrecientes a medida que se incrementaron las concentraciones de los inductores. Respecto a los efectos simples de las concentraciones de los inductores de crecimiento dentro de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar (gráfico 28), se observa que B1 y B2 tuvieron resultados paralelos y casi lineales y horizontales a los niveles de conductividad eléctrica del fertilizante foliar. Sin embargo, B3 (3 ppm) creció a medida que se incrementaron los niveles de conductividad eléctrica con promedios de 4,37 g, 4,84 g y 5,30 g de biomasa fresca en 1,6, 2,2, y 2,8 mmhos, respectivamente.

6.8 De la materia seca

El cuadro 31, muestra el análisis de varianza para la materia seca, reportando resultados significativos para los bloques; lo cual nos indica que las unidades experimentales no fueron homogéneas en el experimento.

El ANVA también detectó alta significancia estadística para los inductores de crecimiento (A), concentraciones (B) y conductividad eléctrica (C) sugiriéndonos que la planta ha respondido a la incorporación de estos factores en estudio. Sin embargo, también se observa significancia estadística al 5% para el efecto de la interacción triple (AxBxC), lo que estaría anulando la interpretación del efecto dentro y entre de los factores en estudio.

Este parámetro reportó un coeficiente de determinación (R^2) de 71,6% lo que determina una alta de relación determinante de los tratamientos en estudio y la materia seca como indicador de sus efectos. El coeficiente de variabilidad (CV) con 9,67% se encuentra dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en invernadero corroborado por (Calzada, 1982).

La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor A: Inductores de crecimiento (cuadro 32) detectó diferencias significativas entre los niveles A2 (AIB) con un promedio de 0,694 g quien superó estadísticamente al nivel A1 (ANA) el cual obtuvo un promedio de 0,613 g de materia seca. La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor B: Concentraciones de los inductores de crecimiento (cuadro 33) ha detectado también diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, tanto así que la menor concentración de inductores (1ppm), arrojó el mayor promedio con 0,686 g de materia seca superando estadísticamente a los promedios de B2 (2 ppm) y B3 (3 ppm) quienes alcanzaron promedios de 0,664 g y 0,631 g de materia seca respectivamente.

La prueba de Duncan al 5% para los promedios de los niveles del Factor C: Conductividad eléctrica del fertilizante foliar (cuadro 34), también detectó diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, tanto así que el nivel C3 (2,8 mmhos) con un promedio de 0,702 g de materia seca superó estadísticamente a los tratamientos con nivel C1 (1,6 mmhos) y C2 (2,2 mmhos) y quienes alcanzaron promedios de 0,630 g y 0,629 g de materia seca respectivamente.



En el análisis de los efectos simples de la interacción A x B y respecto a las concentraciones de los inductores dentro de los inductores de crecimiento (gráfico 29) se observa que los niveles de B no interactuaron entre si y corroborándose que el nivel B1 (1 ppm) arrojó el mayor promedio de materia seca dentro del nivel A2 (AIB) y este resultado se confirma también en los efectos de los niveles de A dentro de B (cuadro 30), donde el nivel A2 (AIB) fue el que obtuvo los mejores resultados con el nivel B1 (1 ppm).

En el análisis de los efectos simples de la interacción A x C y respecto a los promedios de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de los inductores de crecimiento (gráfico 31) se observa que los niveles C3 (2,8 mmhos) tuvieron respuestas paralelas en los niveles del factor A y manteniéndose los niveles de significancia siendo mayores los promedios en C3 (2,8 mmhos) y específicamente superior con nivel A2 (AIB) con un promedio de 0,741 g de materia seca. En general, los mejores resultados se obtuvieron cuando los niveles de C se aplicaron en combinación con AIB (A2). En el gráfico 32, se observa que los promedios de A dentro de C también arrojaron

valores paralelos entre si y corroborándose que el inductor de crecimiento con AIB (A2) arrojó los mayores promedios para el peso de la materia seca.

En el análisis de los efectos simples de la interacción B x C y respecto a los efectos simples de la conductividad eléctrica del fertilizante foliar dentro de las concentraciones de los inductores de crecimiento (gráfico 33), se puede apreciar que el nivel C2 (2,2 mmhos) es el tratamiento que se comportó con valores similares de 0,635 g; 0,613 g y 0,638 g de materia seca sometidas a 1,2 y 3 ppm de concentración de los inductores, determinado así un línea recta horizontal ajustada. Por otro lado, los niveles B2 y B3 en general decrecieron casi paralelamente cuando se combinaron con 1,2 y 3 ppm de concentración de los inductores. Este comportamiento se observo inversamente en los efectos de los niveles del factor B dentro de C (cuadro 34).

Los resultados analizados nos indican que el factor A con el nivel A2 (AIB) a una concentración de un 1ppm y una conductividad eléctrica en solución fertilizante de 2,8mmhos (C3); son ideales para la obtención de materia seca, el AIB a esta concentración no es tóxica, siendo ideal para el alargamiento celular y el crecimiento del tallo de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L), siendo la etapa de aclimatación, una etapa en donde las plantas de piñón (*Jatropha curcas* L.) tienen mayor capacidad de absorción de los nutrientes aportados debido a que las hojas de plántulas en esta etapa no son lignificadas; corroborado por (Swietlik y Fausto ,1984), quienes mencionan que a mayor

cutinización, lignificación y presencia de ceras en la hoja, habrá menor facilidad de absorción del nutrimento.



VII. CONCLUSIONES

- 7.1** El porcentaje de supervivencia de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), propagadas in vitro a través de embriones cigóticos en el proceso de aclimatación está influenciado por la interacción de los inductores de crecimiento y las concentraciones; analizando el factor A; los niveles A1 y A2 tienen igual efecto en el porcentaje de supervivencia de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L propagadas in vitro en la etapa de aclimatación. con un promedio de 94,18 y 95,90%. Respecto a las concentraciones de los inductores de crecimiento se determinó que actúan de igual forma en el porcentaje de supervivencia de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L, propagadas in vitro en la etapa de aclimatación.
- 7.2** La altura de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.) propagadas in vitro en la etapa de aclimatación, está influenciado por las interacciones de los inductores de crecimiento y concentraciones (AB); mediante el análisis de efectos simples se detectó diferencias estadísticas significativas de los inductores crecimiento (Factor A) dentro de la concentración de los inductores de crecimiento con una dosis de 3 ppm/20 minutos. Por otro lado, también detectó diferencias significativas de las concentraciones (Factor B), sometidas al inductor de crecimiento A2 (ácido indol butírico); en conclusión la altura de planta esta influenciada por la interacción A2B3 (ácido indol butírico a una concentración de 3 ppm).
- 7.3** El diámetro de tallo de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.) propagadas in vitro en la etapa de aclimatación está determinada por el factor A (Inductores de crecimiento), analizando los niveles; el nivel A2 teniendo

mayor efecto en diámetro de tallo AIB (ácido indol-3-butírico) con un promedio de 0,83 cm respectivamente.

- 7.4** El área foliar de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), propagadas in vitro en la etapa de aclimatación está influenciada por la interacción de inductores de crecimiento, concentraciones y conductividad eléctrica del fertilizante foliar (A*B*C); respecto a los inductores de crecimiento el A1 (ANA – ácido Naftalenacético) tiene mayor efecto en el área foliar con un promedio de 22,27 cm²; analizando las concentraciones los niveles B2 y B3 son superiores con un promedio de área foliar de 22,54 y 22,33 cm², no difiriendo entre ellos; analizando las conductividades eléctricas la conductividad C3 (2,8 mmhos) tiene mayor efecto en el área foliar con un promedio de 23,68 cm².
- 7.5** La longitud de raíces de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), propagadas in vitro en la etapa de aclimatación está influenciada por la interacción A*B*C, Respecto al factor A los niveles A1(ANA) y A2(AIB) tiene igual efecto en la longitud de raíces con un promedio de 7,26 y 7,24 cm; analizando el factor B, los niveles B2 y B3 no difieren entre si teniendo mayor efecto en la longitud de raíces con un promedio de longitud de raíces de 7,34 y 7,30 cm, analizando las conductividades eléctricas (C), los niveles C2 y C3 tienen igual efecto en la longitud de raíces con una longitud promedio de 7,42 y 7,32 cm respectivamente.
- 7.6** La longitud de pedúnculo de hojas de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), propagadas in vitro en la etapa de aclimatación está influenciada por la interacción de inductores de crecimiento, concentraciones y conductividad eléctrica del fertilizante foliar (A*B*C); siendo dependientes los tres factores.

Analizando el factor A; los niveles A1 y A2 no difieren estadísticamente en la longitud de pedúnculo, teniendo ambos igual efecto con un promedio de 6,39 y 6,34 cm respectivamente; respecto al análisis del factor B; el nivel B3 tiene mayor efecto en la longitud de pedúnculo con un promedio de 6,53cm respectivamente, analizando el factor C; el nivel C3 tiene mayor efecto en la longitud de pedúnculo con un promedio de 6,86 cm.

7.7 Respecto a la biomasa fresca de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), propagadas in vitro en la etapa de aclimatación está influenciada por la interacción de inductores de crecimiento, concentraciones y conductividad eléctrica del fertilizante foliar (A*B*C); siendo dependientes uno del otro factor en estudio. Analizando el factor A; los dos niveles A1 y A2 actúan de igual manera respecto a la biomasa fresca con un peso promedio de 4,80 y 5 g respectivamente; respecto al factor B; el nivel B1 tiene mayor efecto en la obtención de biomasa fresca con un peso promedio de 5,09; analizando el factor C; el nivel C3 tiene mayor efecto en la obtención de biomasa fresca con un peso promedio de 5,08 g, respectivamente.

7.8 La materia seca de las plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), propagadas in vitro en la etapa de aclimatación depende de los tres factores (ABC) como son inductores de crecimiento, concentraciones y conductividad eléctrica del fertilizante foliar. Analizando el factor A; el nivel A2 (AIB) tiene mayor efecto en la obtención de materia seca con un peso promedio de 0,694 g.

Respecto al análisis del factor B; el nivel B1 tiene mayor efecto en la obtención de materia seca con un peso promedio de 0,686g;analizando el factor C, el

nivel C3 (2,8 mmhos) tiene mayor efecto en la obtención de materia seca con un peso promedio de 0,702 g.



VIII. RECOMENDACIONES

- 8.1** Para la aclimatación de plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.), propagadas in vitro a través de embriones cigóticos, se debe utilizar como inductor de crecimiento el ácido indol butírico (AIB) a una concentración de 1 ppm y una solución de fertilizante foliar balanceado (20-20-20) a una conductividad eléctrica de 2,8mmhos.
- 8.2** Realizar investigaciones en aclimatación de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L., propagadas in vitro, tomando como referencia los resultados obtenidos en este estudio, con diferentes tipos de sustrato y hacer comparaciones de su efecto que repercute en la etapa de aclimatación.
- 8.3** Realizar investigaciones en la determinación del tipo y tiempo óptimo de poda de las plántulas de piñón *Jatropha curcas* L., propagadas in vitro en la etapa de aclimatación.
- 8.4** Realizar investigaciones comparativas en el comportamiento fisiológico de una planta de piñón in vitro y una planta de piñón en la etapa de pre aclimatación y aclimatación.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ahmad, M. Hughes, H. y Safad, F 1998. Studies on stomatal function epicuticular wax and stem-root transition region of polyethylene glycol-treated and non treated in vitro grape plantlets. In Vitro cellular and Developmental Biology-Plant.34:1.7.
2. Amancio, S., Rebordao, J. P. and Chaves, M. 1999. Improvement of acclimatization of micropropagated grapevine: Photosynthetic competence and carbon allocation. Plant Cell Tissue and Organ Culture 58Pág 31-37.
3. Beale, M. H. y Esponcel, V. 1993. Future Directions in Plant Hormone Research. J Plant Growth Regul. Pag.12, 227, 235.
4. Blazich, F. 1988. Chemicals and formulations used to promote adventitious rooting. In Adventitious Root Formation in Cuttings (Eds.Davis,T. D; Haissig,N.). Portland, Oregon. Dioscorides Press, pp 132-149.
5. Bouterin, D. y Bron, G. 1994. Multiplicación de plantas hortícolas. Zaragoza, Acribia. Pág 225.
6. Brainerd, K. y Fuchigami, L.1981. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. Journal of American Society for Horticultural Science, v.196, Pág.515-518.
7. Daml, I. y Hughes, H. 1997.Effects of PEG-induced water stress on in vitro hardening of "Valiant" grape, plant Cell Tissue and Organ Culture 42:179-184.
8. Delgado, G. y Rojas, C.1999. Cultivo De Tejidos Vegetales I. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo Lambayeque – Perú Pág. 32, 84.

9. Donnelly, W. Vidaver, y K, Lee.1995. The anatomy of tissue culture red.*Raspberry* prior to and after transfer to soil. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 4:43-50.
10. Figueroa, N. 2003. Preaclimatación In Vitro de plantas de violeta africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) y su efecto sobre la aclimatación. Taller de Licenciatura. Ing. Agr. Quillota, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.Facultad de Agronomía. Pág 64.
11. Fila, G. Ghashghaie, J.Hoarau, J. and Cornic, G. 1998. Photosynthesis, leaf conductance and water relations of In Vitro cultured grapevine rootstock in relation to acclimatisation. *Physiologia Plantarum* 102 (3): Pág 411-418.
12. Franke, W. 1986. The basis of foliar absorption of fertilizers with special regard to the mechanism. pp. 17-25. In: A. Alexander (ed.). *Foliar fertilization. Proceedings of the First International Symposium of Foliar Fertilization by Schering Agrochemical Division*. Berlin. 1985.
13. Fregoni, M. 1986. Some aspects of epigeal nutrition of grapevines. pp. 205-211. In: A. Alexander (ed.). *Foliar fertilization. Proceedings of the First International Symposium of Foliar Fertilization by Schering Agrochemical Division*. Berlin. 1985.
14. García, H. E. Del R. y Peña, V. 1995. *La pared celular, componente fundamental de las células vegetales*. UACH. Primera Edición. México, D.F.
15. George, E. y Sherrington, P. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Eversley. G.B. Exegetics. Pág 709.

16. Girgebv. 1994. Laboratorio de Genética-unidad de Cultivo de Tejidos. "Resumen del primer curso nacional de Propagación In Vitro de especies ornamentales". Perú.
17. Granada, C. 1990. Fundamentos Teórico – Práctico de Cultivo de Tejidos Vegetales. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación Roma Pág 85 – 87.
18. Gribaudo, I., Novello, V. and Restagno, M. 2001. Improved control of water loss from micropropagated grapevines (*Vitis vinifera* cv. Nebbiolo). *Vitis* 40 (3): Pág 137-140.
19. Grout, B. and Aston, M. 1977. Transplanting of cauliflower plants regenerated from meristem culture. I. Water loss and water transfer related to changes in leaf wax and to xylem regeneration. *Hort. Res.* 17: Pág 1-7.
20. Gutiérrez, M. 2002. Estación Experimental Fabio Baudrit M, Universidad de Costa Rica.
21. Hartmann, H. y Kester, E. 1995. Propagación de plantas. Principios y Prácticas. 4a. ed. México. D.F. Continental. Pág 760.
22. Holdridge, L. 1978. Ecología Basada en zonas de vida. IICA. San José – Costa Rica. 216 p.
23. Hoyos, V. y Palma, N. 1995. Diccionario de floricultura. Ball Publishing. Illinois. Estados Unidos. 414 p.
24. Hurtado, M. y Merino, A. 1994. "Plants Tissue Culture". México. Pág 67.
25. Infante, R., Magnanini, E. and Righetti, B. 1989. The role o light and CO₂ in optimising the conditions for shoot proliferation of *Actinidia deliciosa* .

26. Jamison, J., Renfroe, M. 1998. Micropropagación of *Betula uber* (Ashe) Fernald, In vitro cell .Development Biology Plant.34:147-151.In Vitro. Physiol. Plantarum. 77: Pág 191-195.
27. Jyung, W. y Wittwer, S. 1964. Foliar absorption-an active uptake process. Amer. J. Bot. 51: Pág 437-444.
28. Kadlecek, P., Ticha, I., Haisel, D., Capková, V. and Schafer, C. 2001. Importance of In Vitro pretreatment for ex vitro acclimatization and growth.Plant Science 161: Pág 695-701.
29. Kovacs, G.1986. The importance of environmental, plant and spray characteristics for any foliar nutrition programme to be successful. In: A. Alexander (ed.) Pág 26-43.
30. Kozai, T. 1991. Micropropagation under photo autotrophic aconditions p 467-469 In Micropropagation .Technology and application, DEBERG, P, C; ZINMERMAN, R. H (eds) KLUWER.
31. Lane, W.1979. Regeneration of perar plants from shoot meristem-tips. Plant Sci. Lett. 16, Pág 337-342.
32. Leece, D.1976. Composition and ultrastructure of leaf cuticles from fruit trees, relative to differential foliar absorption.Austral. J. Plant Physiol. 3: 833-847.
33. Luya, U. 1999. Micropropagación In Vitro y aclimatación de Marigold (*Tagetes erecta*). Tesis para optar el título de Biólogo, Universidad Agraria La Molina. Lima, Perú.
34. Malavolta, E. 1986. Foliar fertilization in Brazil.- Present and perspectivas. Pág . 170-192. In: A. Alexander (ed.). Foliar fertilization. Proceedings of the First International Symposium of Foliar Fertilization by Schering Agrochemical.

35. Mejia, A. 1994. Propagación comercial de 312 especies de plantas por Cultivo In Vitro. Agro biotecnología: Fundamentos y aplicaciones. La Molina - Lima. Perú. pág79.
36. Mogollón, N. 2002. Multiplicación, A climatización y Cambios Morfoanatomicos de Plantas *in vitro* de *Dieffenbachia Maculata*.
37. Mogollón, N. 2003. Estudios morfoanatomicos y fisiológicos en la aclimatización de plantas *in vitro* de *Dieffenbachia maculata* Schott 'Sublime'. Tesis Doctoral Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Maracay-Venezuela. Pp.142.
38. Mohammed, G. & Vidaver, W.1990. The influence of acclimatization treatment and plant morphology on early greenhouse-performance of tissue-cultured Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). *Plant Tiss. Cult.* 21:Pág 111-117.
39. Murphy, K., Santamaría, J., Davies, W. and Lumsden, P. 1998. Ventilation of cultured vessels: I. Increased growth In Vitro and survival ex vitro *Delphinium*. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 73 (6): Pág 725- 729.
40. Nieto, C. 2008 aclimatización y desarrollo en vivero de *dendrobium*.
41. Noé, N.1996. Leaf Anatomy of High-bush Blueberry Grown in vitro and during Acclimatización to ex vitro conditions.*Biologia Plantarum* 38:19-25.
42. Peñalver, D., Jiménez, F. y Dita, Dita.1998. Aclimatización. In: J. Pérez Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Instituto de biotecnología de las plantas. Ediciones GEO. Santa clara, Cuba. Pp: 193-205.

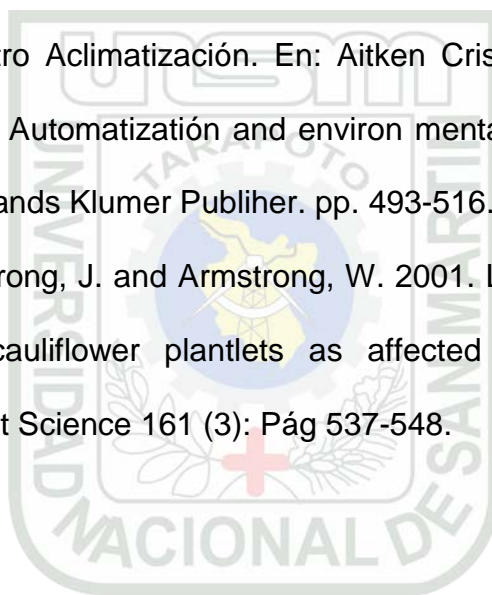
43. Pierik, R.1990. Cultivo In Vitro de las Plantas Superiores. Ediciones Mundi - Prensa. Madrid - España. Pág 295- 326.
44. Pinedo, F. 2000. "Propagación y conservación In Vitro de la Uña de Gato (Uncaria spp.)". INIA-Experimental San Roque. Lima – Perú.25p.
45. Pontificia Universidad Católica de Chile. 2003. Composición gaseosa y aire puro, (on line).
46. Pospisilova, J. Sestak, J. 1997. Photosynthesis in plants cultivated in vitro p 525-540 – In Pessarac II Handbook of photosynthesis .Marcel Dekker (ed). New York Bessel- Hong Kong.
47. Pospisilová, J. Synková, N. Eatsky, H. Krebs, J. Ticha, D. Hanaeková, I. Snopek, B. 1998. acclimation of tobacco plantiets to ex vitro condiciones as affected by application of abscisic acid Photosynthesis in plants cultivated in vitro p, 525-540, In Pessarac II Handbook of Photosynthesis.Marcel Dekker (ed).New York-Bessel-Hong Kong. Journal of experimental Botany 49 863-869.
48. Pospisilová, J. Ticha, I. Kadleek, P. Haisel, D. Plzakova, S. 1999. Acclimatization of micropropagated plants to ex vitro conditions.Biologia Plantarum 42(4):481-497.
49. Preece, J. & Sutter, E. 1991. Aclimatizacion of micropropagated plant to the greenhouse and field. En: Debergh, P.C. & Zimmerman, R.H Micropropagation thecnology and application (Ed) Dordrech Kluwer Academic Press: Pág 71-93.
50. Quintero. 2003. Enraizamiento in vitro de Dioscoreas sp. In vitro rooting of Dioscoreas sp. Revista Colombiana de Biotecnología Vol. V No.2. pag 51 – 56.

51. Reed, D. y Tukey, H. 1978. Effect of pH on foliar absorption of phosphorus compounds by chrysanthemum. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 103: Pág 337-340.
52. Ravindra, M. and THOMAS, P. 1995. Sachet technique an efficient method for the acclimatization of micropropagated grapes (*Vitis vinifera* L.). Current Science 68 (5): Pág 546-548.
53. Riquelme, C., Guñazú, E. y Tizio, R. 1991. Preacondicionamiento y aclimatación, en condiciones de invernáculo, de plántulas micropropagadas de frutilla, menta, papa y vid. ΦΥΤΟΝ 52(1): 73-82.
54. Ritchie, G. Short, K. and Davey, M. 1991. In Vitro acclimatization of chrysanthemum and sugar beet plantlets by treatment with paclobutrazol and exposure to reduced humidity. Journal of experimental botany 42 (245): Pág 1557-1563.
55. Roca, W. 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicación. CIAT, Colombia.
56. Romano, A., Noronha, C. and Martins-Loucao, M. 1992. Influence of growth regulators on shoot proliferation in *Quercus suber*. Annals of botany. 70(6): Pág 531-536.
57. Ruiz, A. 2003. Micropropagación y Determinación cromosómica del genero *Croton* Productoras de látex. Tesis para optar el Título de Magister Scientiae . Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima Perú. Pág 64.
58. Sánchez, D. y Aguirreolea. 2000. Movimientos estomáticos y transpiración. En: Fundamentos de fisiología vegetal. Madrid, Mc Graw-Hill Interamericana. Pág 522.

59. Santamaría, J., Murphy, K., Leifert, C. and Lumsden, P. 2000. Ventilation of cultured vessels: I. Increased water movement rather than reduced concentrations of ethylene and CO₂ is responsible for improved growth and development of Delphinium In Vitro. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 75 (3): Pág 320-327.
60. Santa María, J., Davies, M., W, J., Atkinson, C.1993. Stomata of micropropagated Delphinium plants respond to ABA, CO₂ light and wáter potential, but fail to close fully *Journal of Experimental Botany* 44(258):99-107.
61. Seon, J., Cui, T., Kozai, Y. y Paek, K. 2000. Influence of in vitro growth glutinosa plantlets during acclimatization period. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 61: 135-142.
62. Slavtcheva, T. y Dimitrova, V. 2000. Gas exchange with In Vitro cultivated grapevine plants during acclimatization period. *Acta Horticulturae* 526: Pág 357- 363.
63. Sotolongo, R. 2000. Micropropagación de *Psidium salutare* (HBK) Berg. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Forestales. Pinar del Río, Cuba.
64. Sutter, E. and Langhans, R. 1979. Formation of epicuticular wax and its effect on water loss in cabbage plants regenerated from shoot-tip culture. *Can. J. Bot.* 60: Pág 2896-2092.
65. Swietlik, D. y Faust, M. 1984. Foliar nutrition of fruit crops. pp. 287-355. In: J Janik (ed.). *Horticultural reviews*. Vol. 6. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. USA.

66. Texeira, J., Lemos, J. & Coelhe, M.1995. Micropropagacao de especies lenhosas da mata atlántica. En: Congreso Brasileiro de Fisiología Vegetal. 5. (Ed) Lauras Anais.
67. Thomas, P.1998. Humid incubation period and plantlet age influence acclimatization and establishment of micropropagated grapes. In Vitro cell. 34: Pág 52-56.
68. Ticha, I., Radochová, B., Kadlecek, P. 1999. stomatal morphology during acclimatization of tobacco plantlets to ex vitro condtions .Biologia Planarum 42(3); 469-474.
69. Torres, J. 2006. Bionotas. El cultivo Comercial de las Orquídeas. Mimeografiado de 28 páginas.
70. Trujillo, i., de Garcia, E. y Berroteran, J. 1999. Evaluación de plantas de banano obtenidas in vitro. Anales de Botánica Agrícola 6: 29-35.
71. Van Huylenbroeck, J. and Debergh, P. 1996. Impact of sugar concentration In Vitro on photosynthesis and carbon metabolism during ex vitro acclimatization of Spathtphyllum plantlets. Physiol. Plant. 96: Pág 298-304.
72. Valerín, A. 2005. Características de las plántulas producidas in vitro y su aclimatación, Costarrica.
73. Vasquez, J. 2004. Aclimatación de plántulas de *Epidendrum schomburgkii* propagadas invitro,UNSM-T, Perú Pág 57.
74. Végvari, G. 2001. Morphological changes of In Vitro apple plants during acclimatization. Acta Horticulturae 616: Pág 515-519.

75. Wardle, K., Dobbs, E. and Short, K. 1983. In Vitro acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108 (3): Pág 386– 389.
76. Wetzstein, H. y Richardson, E. 2002. Alterations in anatomy and ultrastructure of pecan leaves treated with propiconazole during shoot expansion. J Amer. Soc. Hort. Sci 127 (1): 8-12.
77. Ziv, M. 1995. in vitro Aclimatización. En: Aitken Cristie. J., Kosai, T. y Lila Smith, M (eds). Automatización and environmental control in plant tissue culture, Netherlands Klumer Publiher. pp. 493-516.
78. Zobayed, S., Armstrong, J. and Armstrong, W. 2001. Leaf anatomy of In Vitro tobacco and cauliflower plantlets as affected by different types of ventilation. Plant Science 161 (3): Pág 537-548.



RESUMEN

Con el propósito de desarrollar una metodología de aclimatación de plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.) cultivadas in vitro a partir de embriones cigóticos, se estudiaron 3 concentraciones (1, 2 y 3 ppm) de dos inductores de crecimiento (AIB y ANA) y 3 niveles de conductividad eléctrica de una solución de fertilizante foliar (1.6,2,2 y 2,8 mmhos) en plántulas de piñón propagadas in vitro de 28 días en un ambiente de incubación con una intensidad luminosa de 10,76- 2 734 lux, temperatura 17,9-25,17°C, humedad relativa de 30,2- 41,7%, y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad, con 30 días de pre aclimatación en una ambiente de 21,71 -36,57°C de temperatura, 38,1- 99,8% de humedad relativa y 10,76- 1 862 lux de intensidad luminosa, utilizando un diseño de bloques con arreglo factorial .

El porcentaje de supervivencia de las plántulas en la etapa de aclimatación está influenciado por los inductores de crecimiento y las concentraciones actuando de igual forma con un porcentaje de supervivencia de 94,18 y 95,90 %. La altura de plántula en la etapa de aclimatación está influenciada por la interacción del ácido indol butírico a una concentración de 3 ppm. El diámetro de tallo de las plántulas en la etapa de aclimatación está influenciada por el inductor de crecimiento ácido indol butírico (A2), obteniendo un diámetro de tallo promedio de 0,83 cm. El área foliar de las plántulas en la etapa de aclimatación está influenciado por la interacción inductores de crecimiento, concentraciones y la conductividad eléctrica del fertilizante foliar (ABC), el inductor Ácido Naftalenacetico a las concentraciones de 2 y 3 ppm y una conductividad eléctrica del fertilizante foliar de 2,8 mmhos tiene mayor efecto el área foliar con un promedio de 23,68 cm².

La longitud de raíces de plántulas de piñón (*Jatropha curca* L.) en la etapa de aclimatación está influenciada por los inductores de crecimiento (ANA y AIB) a una concentración de 2 y 3 ppm y una conductividad eléctrica del fertilizante foliar de 2,2 y 2,8 mmhos. La longitud de pedúnculo de una plántula en la etapa de aclimatación está influenciada por los inductores de crecimiento (A1 y A2), a una concentración de 3 ppm y una conductividad eléctrica de 3 mmhos. El peso de biomasa fresca de las plántulas está influenciado por los inductores de crecimiento (ANA y AIB), a una concentración de 1 ppm y a una conductividad eléctrica del fertilizante foliar de 2,8 mmhos. La materia seca de las plántulas en la etapa de aclimatación depende del inductor de crecimiento AIB a una concentración de 1 ppm y una conductividad eléctrica de 2,8 mmhos.

Palabras clave: Aclimatación, Plántulas, Cultivo in vitro, Inductores de crecimiento, Concentraciones, conductividad eléctrica del fertilizante foliar, *Jatropha curcas* L.

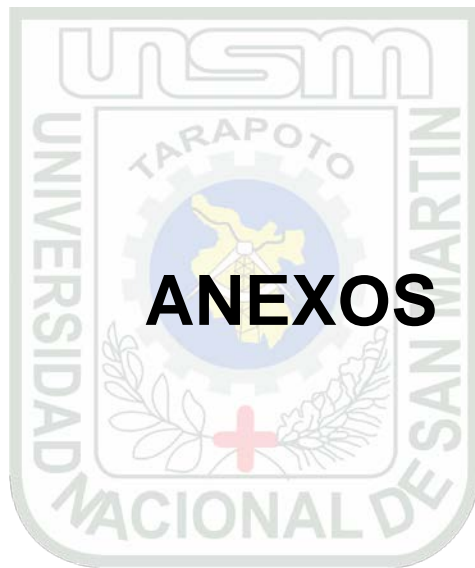
SUMMARY

With the aim of developing a methodology of acclimatization of seedlings of pine nut (*Jatropha curcas* L.) cultivated in vitro from Zygotic embryos, studied 3 (1, 2 and 3 ppm) concentrations of two inductors of growth (AIB and ANA) and 3 levels of electrical conductivity of a solution of plant fertilizer (1,6; 2,2 and 2,8 mmhos) in pine seedlings propagated in vitro of 28 days in an atmosphere of incubation with a dimmable 10,76-2 734 lux, temperature 17,9 – 25,17 ° C, relative humidity of 30,2 – 41,7%, and a photoperiod of 16 hours light and 8 hours of darkness, with 30 days of acclimatization in an atmosphere of 21,71 pre – 36,57 ° C temperature, 38,1 – 99,8% of relative humidity and 10,76 – 1 862 lux of light intensity, using a block with factorial arrangement design.

The percentage of survival of seedlings in the phase of acclimatization this influenced by growth inducers and concentrations acting like forms with a percentage of survival from 94,18 and 95,90%. The height of seedling in the phase of acclimatization influenced by the interaction of the indole butyric acid at a concentration of 3 ppm. The diameter of stem of seedlings in the phase of acclimatization influenced by growth inducer acid indole butyric (A2), obtaining a 0,83 average stem diameter cm. The area leaf seedlings in the phase of acclimatization is influenced by the interaction of inductors for growth, concentrations and the electrical conductivity of the foliar fertilizer (ABC), inductor acid Naftalenacetico to 2 and 3 ppm concentrations and conductivity of 2,8 foliar fertilizer mmhos has greater effect should be used with an average of 23,68 area cm².

The length of roots of seedlings of pine nut (*Jatropha curca* L.) in the phase of acclimatization this influenced by the inductors of growth (ANA and AIB) at a concentration of 2-3 ppm and electrical conductivity of the foliar fertilizer of 2,2 and 2,8 mmhos. The length of peduncle of a seedling in the phase of acclimatization this influenced by (A1 and A2) growth inducers, to a concentration of 3ppm and electrical conductivity of 3 mmhos. The weight of fresh biomass of seedlings this influenced by the inductors of growth (ANA and AIB), at a concentration of 1 ppm and electrical conductivity of the foliar fertilizer 2,8 mmhos. The dry matter of the seedlings in the phase of acclimatization depends on the inducer of growth AIB to a concentration of 1ppm and electrical conductivity of 2,8 mmhos.

Key words: Acclimatisation, seedling, cultivation in vitro, inducers of growth, concentrations, electrical conductivity of the foliar fertilizer, *Jatropha curcas* L.



Anexo 1: Condiciones ambientales de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L. propagadas in vitro en la etapa de incubación.

Date Time	TEMPERATURA DEL ÁREA DE INCUBACIÓN(°C)	RH (%) (1,2)	Dew Point (*C) (1,2)	INTENSIDAD LUMINOSA LUX/m ²	TEMPERATURA AL INTERIOR DEL POTE(°c)
00:36:43.0	19.42	34.5	3.37	10.76391505	19.42
01:36:43.0	19.04	34.6	3.09	10.76391505	19.04
02:36:43.0	19.04	34.6	3.09	10.76391505	18.66
03:36:43.0	18.66	34.6	2.74	10.76391505	18.28
04:36:43.0	18.28	34.7	2.46	10.76391505	17.9
05:36:43.0	17.9	34.7	2.11	10.76391505	17.9
06:36:43.0	19.04	31.3	1.67	1657.642918	17.9
07:36:43.0	20.19	40.4	6.31	602.7792429	22.48
08:36:43.0	21.33	37.3	6.17	807.2936288	22.48
09:36:43.0	21.71	40	7.54	43.0556602	23.63
10:36:43.0	20.95	33.1	4.14	1474.656362	24.4
11:36:43.0	20.57	35.8	4.92	473.6122623	24.01
12:36:43.0	20.95	35.5	5.14	1323.961551	25.17
13:36:43.0	22.86	41.7	9.19	581.2514128	25.56
14:36:43.0	23.24	37.1	7.78	1657.642918	26.34
15:36:43.0	23.63	39.1	8.91	2734.034423	25.56
16:36:43.0	24.4	34.4	7.71	2271.186076	26.73
17:36:43.0	24.79	32.7	7.32	1657.642918	26.73
18:36:43.0	24.79	32.3	7.1	882.6410342	25.95
19:36:43.0	24.79	31.1	6.56	2142.019095	25.56
20:36:43.0	25.17	30.2	6.5	1377.781127	28.7
21:36:43.0	24.79	30.7	6.39	1323.961551	27.12
22:36:43.0	22.48	33	5.41	10.76391505	24.4
23:36:43.0	21.33	34.8	5.17	10.76391505	22.86

Anexo 2: Condiciones ambientales en la etapa de pre aclimatación de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L. propagadas in vitro.

FECHA	TEMPERATURA DEL INVENADERO	TEMPERATURA DE LOS POTES	RH (%) (1,2)	Dew Point (*C) (1,2)	INTENSIDAD LUMINOSA (LUX/m2)
00:10:23.0	23.24	23.24	95.5	22.48	10.76391505
01:10:23.0	22.86	22.86	95.4	22.09	10.76391505
02:10:23.0	22.86	22.48	99.7	22.8	10.76391505
03:10:23.0	22.09	22.09	99.5	22.02	10.76391505
04:10:23.0	21.71	21.71	99.5	21.62	10.76391505
05:10:23.0	21.71	21.71	99.5	21.62	10.76391505
06:10:23.0	21.71	21.71	99.5	21.62	64.58349031
07:10:23.0	25.17	25.17	92.4	23.85	1399.308957
08:10:23.0	27.12	29.9	81.9	23.76	1453.128532
09:10:23.0	30.31	34.01	69.7	24.14	1636.115088
10:10:23.0	31.93	37	56.7	22.27	1711.462493
11:10:23.0	34.01	40.13	56	23.98	1786.809898
12:10:23.0	35.27	40.59	43.4	20.93	1840.629474
13:10:23.0	36.57	41.52	39.3	20.46	1862.157304
14:10:23.0	37	41.99	47	23.8	1786.809898
15:10:23.0	36.13	40.13	38.1	19.61	1808.337729
16:10:23.0	35.27	37.88	44.5	21.34	1399.308957
17:10:23.0	34.01	35.27	49.9	22.07	990.2801847
18:10:23.0	30.71	31.52	58.2	21.55	10.76391505
19:10:23.0	29.1	29.5	55.7	19.34	10.76391505
20:10:23.0	27.91	27.91	63.1	20.24	10.76391505
21:10:23.0	25.95	25.95	74.9	21.15	10.76391505
22:10:23.0	25.17	25.17	79.2	21.31	10.76391505
23:10:23.0	23.63	24.01	99.8	23.6	10.76391505

Anexo 3: Condiciones ambientales en la cámara húmeda (etapa de aclimatación de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L. propagadas in vitro.

Date Time	Temperature (*C) (1)	RH (%) (1,2)	Dew Point (*C) (1,2)	Temperature (*C) (*4)	intensidad luminosa lux/m ²
00:03:22 a.m	23.63	95.5	22.87	23.63	246.1707372
01:03:22 a.m	23.24	95.5	22.48	23.24	241.9728104
02:03:22 a.m	22.86	95.4	22.09	22.86	237.7748835
03:03:22 a.m	22.86	99.7	22.8	22.86	245.4172632
04:03:22 a.m	22.48	99.6	22.41	22.48	241.2193363
05:03:22 a.m	22.09	99.5	22.02	22.09	237.0214094
06:03:22 a.m	22.09	99.5	22.02	22.09	237.0214094
07:03:22 a.m	24.79	92.3	23.46	24.79	252.5214471
08:03:22 a.m	27.91	85.3	25.22	27.91	271.4659376
09:03:22 a.m	31.52	81.9	28.05	31.93	301.9278172
10:03:22 a.m	35.7	74.3	30.41	35.7	327.3306567
11:03:22 a.m	34.01	71.6	28.14	32.34	302.8965695
12:03:22 p.m	36.57	58.5	27.08	35.27	291.4868196
13:03:22 p.m	38.77	46.8	25.32	37	272.5423291
14:03:22 p.m	38.32	41.2	22.82	37	245.6325415
15:03:22 p.m	38.77	42	23.53	36.57	253.2749212
16:03:22 p.m	37.88	35.3	19.89	35.27	214.0942704
17:03:22 p.m	37.44	41.7	22.24	34.43	239.3894707
18:03:22 p.m	32.34	51.4	21.02	30.71	226.2574944
19:03:22 p.m	29.5	67.3	22.79	29.1	245.309624
20:03:22 p.m	28.31	76.7	23.82	27.91	256.3964565
21:03:22 p.m	26.34	95.9	25.64	26.34	275.9867819
22:03:22 p.m	25.95	100	25.95	25.56	279.3235956
23:03:22 p.m.	25.56	100	25.56	25.17	275.1256687

Anexo 4: Condiciones ambientales en la etapa de aclimatación de plántulas de piñón *Jatropha curcas* L. propagadas in vitro (invernadero).

Date Time	Temperature (*C) (1)	RH (%) (1,2)	Dew Point (*C) (1,2)	INTENSIDAD LUMINOSA LUX/m2	Temperature (*C) (*4)
00:36:43.0	24.4	89.5	22.57	10.76391505	24.4
01:36:43.0	24.01	89.5	22.18	10.76391505	24.01
02:36:43.0	23.63	92.2	22.29	10.76391505	23.63
03:36:43.0	23.24	92.2	21.9	10.76391505	22.86
04:36:43.0	22.86	95.4	22.09	10.76391505	22.48
05:36:43.0	22.48	99.6	22.41	10.76391505	22.48
06:36:43.0	22.48	99.6	22.41	43.0556602	22.48
07:36:43.0	24.4	95.7	23.66	936.4606095	25.95
08:36:43.0	27.52	80.4	23.84	1506.948107	29.9
09:36:43.0	31.12	73.6	25.83	1765.282068	35.27
10:36:43.0	33.17	60.6	24.51	1765.282068	37.88
11:36:43.0	34.85	53.9	24.11	2228.130416	40.13
12:36:43.0	36.13	45.3	22.4	1840.629474	41.05
13:36:43.0	37.44	40.4	21.71	2174.31084	42.46
14:36:43.0	35.7	47.5	22.81	1097.919335	35.27
15:36:43.0	35.27	50.4	23.4	1765.282068	38.77
16:36:43.0	33.59	53.9	22.95	452.0844321	34.85
17:36:43.0	32.34	60.3	23.66	172.2226408	33.17
18:36:43.0	30.71	61.4	22.42	10.76391505	31.12
19:36:43.0	29.9	61.2	21.6	10.76391505	29.9
20:36:43.0	29.1	61.7	20.99	10.76391505	29.1
21:36:43.0	29.1	64.2	21.65	10.76391505	28.7
22:36:43.0	29.1	69.1	22.86	10.76391505	28.7

Anexo 5: Análisis de suelos (M1)

**MINISTERIO DE AGRICULTURA
INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA (INIA)
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELO, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES
REPORTE DE ANALISIS
ANALISIS DE SUELO-CARACTERIZACIÓN**

BIOTECNOLOGÍA -ROBER A. MAS GOLAC
EEA."EL PORVENIR"
PIÑON PROFUNDIDAD: 20 cm

Número de muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃	M.O(%)	N (ppm)	P(ppm)	K(ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO				D.Ap. g/cm ³	CICE	CATIONES CAMBIABLES					Acidez Cambiabile %	Bases Cambiabiles %
											Arena	Arcilla	Limo	CLASE TEXTURAL			Ca 2+	Mg ²⁺	k+	Na+	Acidez		
codigo Lab		usuario													meq/100								
323	11	2009	2.8 mmhos	7.8	0.44	bajo	2.336	29.2	9.11	163.9	56.22	20.06	23.72	Fra.Arc. Are	1.44	13.98	11.49	2.09	0.40	0.00	0.00	0.00	100

METODOLOGÍA :

TEXTURA :	HIDRÓMETRO
Ph :	POTENCIOMETRO SUSPENSIÓN SUELO-H ₂ O RELACIÓN 1:2.5
CONDUCTIVIDAD ELECTRICA :	CONDUCTÍMETRO SUSPENSIÓN SUELO-H ₂ O RELACIÓN 1:2.5
CARBONATOS :	GASO –VOLUMÉTRICO
FÓSFORO DISPONIBLE :	OLSEN MODIFICADO EXTRACTANTE NaHCO ₃ =0.5M, p H 8.5
POTASIO DISPONIBLE :	ABSORCIÓN ATÓMICA EXTRACTANTE NaHCO ₃ = 0.5M, p H 8.5
MATERIA ORGÁNICA :	WALKLEY Y BLACK
CALCIO INTERCAMBIABLE :	VERSENATO-EDTA EXTRACTANTE KCl 1N
MAGNESIO INTERCAMBIABLE :	VERSENATO-EDTA EXTRACTANTE KCl 1N
ACIDEZ INTERCAMBIABLE :	EXTRACTANTE KCl 1N

Anexo 6: Análisis de suelos (M2)

**MINISTERIO DE AGRICULTURA
INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA (INIA)
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELO, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES
REPORTE DE ANALISIS
ANÁLISIS DE SUELO –CARACTERIZACIÓN**

BIOTECNOLOGÍA -ROBER A. MAS GOLAC
EEA."EL PORVENIR"
PIÑON PROFUNDIDAD: 20 cm

Número de muestra				pH	C.E dS/m	CaCO3	M.O.(%)	N (ppm)	P(ppm)	K(ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO				D.Ap. g/cm3	CICE	CATIONES CAMBIABLES					Acidez Cambiabile %	Bases Cambiabiles %
											Arena	Arcilla	Limo	CLASE TEXTURAL			Ca 2+	Mg2+	k+	Na+	Acidez		
codigo Lab		usuario													meq/100								
321	11	2009	2.2 mmhos	7.8	0.35	bajo	2.257	28.22	9.24	155.2	55.93	19.85	24.22	Fra. Are	1.44	14.07	11.58	2.11	0.39	0.00	0.00	0.00	100



Anexo 7: Análisis de suelos (M3)

**MINISTERIO DE AGRICULTURA
INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA (INIA)
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELO, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES
REPORTE DE ANALISIS
ANÁLISIS DE SUELO –CARACTERIZACIÓN**

BIOTECNOLOGÍA -ROBER A. MAS GOLAC
EEA."EL PORVENIR"
PIÑON PROFUNDIDAD: 20 cm

Número de muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃	M.O(%)	N (ppm)	P(ppm)	K(ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO				D.Ap. g/cm ³	CICE	CATIONES CAMBIABLES					Acidez Cambiabile %	Bases Cambiales %
											Arena	Arcilla	Limo	CLASE TEXTURAL			Ca 2+	Mg ²⁺	k+	Na+	Acidez		
codigo Lab		usuario													meq/100								
323	11	2009	1.6 mmhos	7.8	0.35	bajo	2.555	31.94	8.31	164.6	55.86	21.06	23.08	Fra.Arc. Are	1.43	13.40	10.98	2.00	0.42	0.00	0.00	0.00	100



Anexo 8: Análisis de suelos (M4)

**MINISTERIO DE AGRICULTURA
INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA (INIA)
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELO, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES
REPORTE DE ANALISIS
ANÁLISIS DE SUELO -CARACTERIZACIÓN**

BIOTECNOLOGÍA -ROBER A. MAS GOLAC
EEA."EL PORVENIR"
PIÑON PROFUNDIDAD: 20 cm

Número de muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃	M.O.(%)	N (ppm)	P(ppm)	K(ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO				D.Ap. g/cm ³	CICE	CATIONES CAMBIABLES					Acidez Cambiabile %	Bases Cambiabiles %
											Arena	Arcilla	Limo	CLASE TEXTURAL			Ca 2+	Mg ²⁺	k+	Na+	Acidez		
codigo Lab		usuario													meq/100								
323	11	2009	TESTIGO	7.8	0.30	bajo	2.004	25.06	8.18	170.5	56.29	20.06	23.65	Fra.Arc. Are	1.44	13.15	10.78	1.96	0.41	0.00	0.00	0.00	100



Anexo 9: Costos de producción para 1000 plantas de piñón (*Jatropha curcas* L.)

propagadas in vitro aclimatadas.

RUBRO/ACTIVIDAD	Unidad	Cantidad	Costo unit	TOTAL
Insumos para preparacion de medios de cultivo				
Agar	Kg	0,088	800,00	70,40
Sales MS	Lt	11	5,00	55,00
Sucrosa	Kg	0,33	2,50	0,83
Tiamina	G	0,033	20,00	0,66
Acido nicotínico	G	0,033	20,00	0,66
Buffer fosfato pH 4 500ml	Lt	0,017	60,00	1,02
Buffer fosfato pH 7 500ml	Lt	0,017	60,00	1,02
Potes	Unidad	100	0,30	30,00
Sub total				159,59
Insumos para siembras y transferencias				
Alcohol 96° (Consumo 40ml x frasco con medio)	Litros	2	6,00	12,00
Cling wrap (6tiras/rollo; 1rollo para 450 frascos)	Caja	1	10,00	10,00
Algodón (rollo de 1000g)	Rollo	0,2	20,00	4,00
Hojas de bisturí (caja 50 unid)	Unidad	2	0,80	1,60
Lejía	Litros	0,5	5,00	2,50
Plumón marcador (caja de 10 unid)	Unidad	1	2,50	2,50
Mascarillas (caja 50 unid)	Unidad	2	0,80	1,60
Aspersor manual (1 x semana)	Unidad	2	2,50	5,00
Protectores de cabello (caja de 50 unid)	Unidad	2	0,80	1,60
Sub total				40,80
Materiales e insumos para aclimatación				
Bandejas aclimatadoras	Unidad	19	12,00	38,00
Sustratos (tonelada) arena,humus tierra ,negra	Tonelada	0,165	120,00	19,80
Pesticidas	Unidad	0,25	60	15,00
Fertilizantes	Unidad	0,25	60	15,00
mascarillas para fumigar	Unidad	1	30	30,00
Guantes (pares)	Unidad	6	4,5	27,00
Baldes de 20 litros de cap.	Unidad	2	30	10,00
inductores de crecimiento (AIB)	gramos	0,1	200	20
Sub total				174,80
TOTAL				375,19
MANO DE OBRA	Unidad	Cantidad	Costo unit	Costo total
Preparación de Medio de Cultivo	Mano de obra	1	30,00	30,00
Siembras y Transferencias	Mano de obra	2	30,00	60,00
Aclimatación	mano de obra	2	30	60,00
TOTAL DE MANO DE OBRA				150,00
COSTO DE PRODUCCIÓN TOTAL PARA LA PRODUCCIÓN DE 1000 PLANTAS			525,19	
COSTO UNITARIO/PLANTAS		0,53		