



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

139
24

"Efecto del Acido Acetil Salicilico en el Crecimiento
de Yemas axilares de Solanum Tuberosum
Cultivadas In Vitro"

TESIS PROFESIONAL

Presentada como requisito para obtener el Titulo
de Licenciado en Biología

MARTHA ELENA MORA HERRERA

México. D. F.

1991.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	PAG.
RESUMEN	VI
1. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	3
1.0 Generalidades de <u>Solanum tuberosum</u> .	3
1.1 Origen y distribución.	3
1.2 Clasificación Botánica y Distribución.	4
1.3 Morfología.	5
1.4 Habitat del cultivo de la papa.	9
Zonas de producción en México.	9
1.5 Importancia nutricional de la papa.	11
2.0 Cultivo de tejidos en papa.	12
2.1 Reguladores del crecimiento y diferenciación.	18
2.1.1 Promotores del crecimiento.	21
2.1.2 Inhibidores del crecimiento.	27
2.1.3 Etileno.	28
3.0 Acido acetil salicílico.	29
3.1 Los salicilatos en la inhibición de procesos diversos.	30
3.2 Los salicilatos en la organogénesis <u>in vitro</u> .	31
3.3 Los salicilatos en la tuberización <u>in vitro</u> .	31
3.4 Los salicilatos en la preservación en Banco de Germoplasma <u>in vitro</u> .	32
III. MATERIALES Y METODOS.	35
1.0 Materiales.	34
1.1 Material Biológico.	34
1.2 Medios de Cultivo.	34
2.0 Metodos.	35
2.1 Preparación de los medios de cultivo.	35
2.2 Preparación de la solución madre de ASA.	35
2.3 Condiciones del cultivo.	36
2.4 Descripción de los medios de cultivo utilizados.	36
3.0 Descripción de los experimentos.	38
3.1 Experimento 1.0 Efecto de diferentes concentraciones de ASA empleando medio B (CIP) en el desarrollo de vemas axilares.	39
3.1.1 Experimento 1.1 Cultivo de plantas en medio B (CIP) previamente incubadas en ASA.	39

3.2 Experimento 2.0 Efecto de diferentes concentraciones de ASA empleando medio F (CIP) en el desarrollo de venas axilares.	39
3.2.1 Experimento 2.1 Cultivo de plantas en medio F (CIP) previamente incubadas en ASA.	40
3.3 Experimento 3.0 Efecto de diferentes medios de cultivo en el desarrollo de explantes de <u>S. tuberosum</u> previamente incubados en ASA 10^{-5} y 10^{-6} M.	40
3.4 Experimento 4.0 Mantenimiento de Germoplasma de papa <u>in vitro</u> empleando salicilatos.	41
3.4.1 Experimento 4.1 Cultivo de plantas previamente incubadas en ASA 10^{-4} M bajo condiciones de Banco de Germoplasma.	42
3.5 Experimento 5.0 Induccion de tuberizacion <u>in vitro</u> empleando salicilatos.	42
IV. RESULTADOS	43
Experimento 1.0	43
Experimento 1.1	44
Experimento 2.0	52
Experimento 2.1	53
Experimento 3.0	59
Experimento 4.0	66
Experimento 4.1	67
Experimento 5.0	72
V. DISCUSION	76
VI. CONCLUSIONES	86
VII. BIBLIOGRAFIA	87
VIII. APENDICE	95

RESUMEN

Se determinó el efecto del ácido acetil salicílico (ASA) en el cultivo in vitro de yemas axilares de Solanum tuberosum y se evaluó, la inhibición del crecimiento, la inducción de procesos morfo-genéticos, así como el potencial del ASA para la preservación de germoplasma y la tuberización in vitro de S. tuberosum.

Yemas axilares de papa se mantuvieron incubadas en dos medios de cultivo (medio B y F [CIP]) con 5 diferentes concentraciones de ASA durante 35 días y se subcultivaron a medio fresco sin ASA por 35 días. Se observó inhibición en el crecimiento, y brotación. La respuesta más notoria en los explantes cultivados en medio F fue la formación de tubérculos. Ninguna de las concentraciones probadas fue letal.

Posteriormente para la incubación de yemas se utilizaron dos concentraciones de ASA: 10^{-6} y 10^{-5} M en 5 medios de cultivo diferentes (MM, PG, WH, MSm y MG). A los 35 días se subcultivaron en un medio sin ASA durante otros 35 días. En los medios PG y MSm se obtuvo 100% de explantes brotados.

Se incubaron yemas de papa en concentraciones de ASA 10^{-6} , 10^{-5} y 10^{-4} M empleando medio C (CIP) de mantenimiento. No se afectó la supervivencia en ningún tratamiento. Los explantes tratados con ASA 10^{-6} y 10^{-5} M mostraron clara tendencia hacia una mayor longitud con respecto al testigo en los 7 clones empleados. En los explantes tratados con ASA 10^{-4} M la inhibición del crecimiento fue similar al testigo. Las plantas

provenientes del tratamiento testigo crecieron más vigorosas, tanto el testigo como las plantas incubadas con ASA se recuperaron formando brotes.

En el experimento de inducción de tuberización in vitro se usó medio T (tuberización, CIP); Las plantas se incubaron durante 45 días. El número total de tubérculos disminuyó ligeramente en los tratamientos con ASA, con respecto al peso total de los tubérculos por tratamiento, este disminuyó en el tratamiento de ASA 10^{-6} M, en el tratamiento de ASA 10^{-5} M el peso total de los tubérculos fue muy similar al testigo.

I. INTRODUCCION

La papa (Solanum tuberosum) es una planta importante para la alimentación humana. En México, no es un alimento base, sino más bien una verdura (Cabrera, 1980). Sin embargo en los últimos años su incremento en el consumo nacional y su extenso cultivo la convierten en un producto muy importante.

Por su gran plasticidad, resistencia, alta productividad y características agronómicas, se cultiva extensivamente desde Baja California hasta Chiapas (Vázquez, 1982).

La papa es una planta modelo para estudios de Cultivo de Tejidos, ya que la mayoría de técnicas han sido aplicadas en esta especie; tales como: micropropagación, conservación de germoplasma, propagación de tubérculos in vitro etc. (López, et al 1982).

Los salicilatos son compuestos fenólicos, usados principalmente en la industria farmacéutica, en algunas plantas se han encontrado en forma de ésteres del ácido salicílico (Collier, 1963; Cleland y Ajami, 1974), sin embargo, su papel fisiológico en los vegetales no se ha esclarecido completamente.

Los salicilatos en papa (Solanum cardiophyllum), participan en la inhibición de la elongación de tallos, inducción de tuberización in vitro, y en procesos morfogénéticos (organogénesis) (López, 1987 y 1988).

Con base en los efectos registrados para los salicilatos en la papa silvestre, Solanum cardiophyllum (López, 1987), en esta investigación se decidió evaluar el efecto del ácido acetil

salicilico (ASA), en el crecimiento de yemas axilares de una especie de papa comercial, Solanum tuberosum, cultivadas in vitro.

OBJETIVOS

Quantificar el efecto del ASA en el crecimiento de yemas axilares de Solanum tuberosum cultivadas in vitro.

Probar si el ASA favorece la induccion de procesos morfogeneticos en Solanum tuberosum.

Probar el potencial del ASA en la preservación de germoplasma y tuberización in vitro en Solanum tuberosum.

II. ANTECEDENTES

1.-GENERALIDADES DE Solanum tuberosum.

1.1 Origen y Distribución

El origen geográfico de la papa está ubicado en América (Parsons, 1984; Maldonado, 1982; Cahas, 1901, en Montaldo, 1984; Hawkes, 1945 en Montaldo, 1984) aunque el sitio preciso de origen es muy discutido, se sabe que desde América ha sido llevada a casi todos los países del mundo.

Así Cahas (1901, en Montaldo, 1984) afirma que la papa es nativa de los bosques del Sur de Chile, en donde todavía se encuentra en forma silvestre, ya que en estas regiones las condiciones de clima y suelo están sin modificarse.

Hawkes en 1945 (en Montaldo, 1984) discute las teorías sobre el origen de la papa, y concluye que existe un acuerdo en proponer como lugar de origen la región del Cuzco y Lago Titicaca en Perú. Además se sabe del dominio que tuvieron los incas sobre la papa, tanto en su endulzamiento como en su conservación indefinida.

Más recientemente Maldonado (1982) y Parsons (1984) proponen que México es uno de dos centros de origen de la papa y que las Cordilleras de los Andes del Perú es el otro. Aquí en México se sabe que la papa fue consumida principalmente por los nativos del Altiplano mexicano.

Solanum tuberosum se cultiva en todo el mundo, todas las demás especies están restringidas a los países andinos en donde se encuentran millares de cultivares silvestres. Hay cerca de 200 especies silvestres en América, que crecen desde el sur de Estados Unidos, México, América Central y los países Andinos hasta el sur de Chile. El género se encuentra desde el nivel del mar hasta más de 4000 m de altitud (Montaldo, 1984).

1.2 Clasificación Botánica y Descripción.

Existe un gran número de especies de papa, pero en la producción para consumo humano se usan casi exclusivamente las especies tuberosum y andigenum. La especie tuberosum, tiene plantas, hojas y tubérculos más grandes por lo que es más rentable (Delgado, 1986).

Basándose en las características florales, la papa ha sido clasificada como sigue:

Familia Solanaceae

Género Solanum

Sección Petota

Esta Sección se subdivide en series, especies y subespecies. Todas las especies de papa, tanto cultivadas como silvestres, pertenecen a la Sección Petota (Huamán, 1986).

La papa puede ser clasificada en niveles de ploidía. El juego cromosómico de la papa es de 12 cromosomas ($n=12$). Las células somáticas de las especies cultivadas pueden variar entre

el nivel diploide y pentaploide (Huamán, 1986 y Montaldo, 1984).

Según los niveles de ploidía la papa se clasifica:

Familia Solanacea

Género Solanum

Subgénero Leptostemonum

Sección tuberarium

Sub-sección Hyperbasarthurum

Son Tetraploides ($4n = 48$) S. tuberosum, sub especies tuberosum y andigenum (Christiansen, 1980; en Montaldo 1984).

1.3 Morfología.

La papa es una planta anual de tipo herbáceo, presenta varios tipos de crecimiento (arrosetado, rastrero, y erecto). La papa se puede propagar por métodos sexuales (semilla) y asexuales (principalmente tubérculos) (Huamán, 1986). En la producción de papa para consumo humano se usa la propagación por medio de tubérculos. Las plantas procedentes de semilla son altamente heterocigotas por lo que no se emplean para propagación clonal y son recomendables para estudios citogénéticos, botánicos, etc (López, 1988; Hurtado, 1987).

RAIZ

La papa tiene un sistema radicular débil, puede ser delicado y superficial, fibroso y profundo. Casi todas las partes de la planta pueden formar raíces, ésta condición es aprovechada en las técnicas de propagación rápida (Huamán, 1986).

TALLO

El tallo consta de estolones y tubérculos. Las plantas provenientes de semilla tienen un solo tallo, mientras que las plantas provenientes de tubérculo pueden producir varios tallos. Los tallos laterales son ramas de los tallos principales. El tallo es generalmente verde, aunque algunas veces puede ser marrón rojizo o morado. Las yemas que se forman en el tallo a la altura de las axilas de las hojas pueden desarrollarse para llegar a formar tallos laterales, estolones, inflorescencias, y a veces tubérculos aéreos (Huamán, 1986; Parsons, 1984).

Los estolones son prolongaciones del tallo que crecen horizontalmente por debajo del suelo a partir de yemas subterráneas de los tallos, pueden formar tubérculos, mediante un hinchamiento de su extremo terminal. Un estolón no subterráneo forma un tallo verde con follaje normal. Los estolones salen de las axilas de las hojas carnosas situadas en la porción subterránea del tallo aéreo (Huamán, 1986; Montaldo, 1984).

Los tubérculos son tallos subterráneos modificados y constituyen los principales órganos de almacenamiento de la planta. Un tubérculo tiene dos extremos: el basal, o extremo ligado al estolón, que se llama talón, y el extremo opuesto, que se llama extremo apical o distal; está provisto de yemas y ojos. Los ojos se distribuyen en la superficie del tubérculo y están ubicados en las axilas de hojas escamosas llamadas "cejas", según

la variedad. las cejas pueden ser elevadas, superficiales o profundas. Cada ojo contiene varias yemas.

Los ojos del tubérculo de la papa corresponden morfológicamente a los nudos de los tallos; las cejas representan las hojas y las yemas del ojo representan las yemas axilares. Las yemas de los ojos pueden llegar a desarrollarse para formar un nuevo sistema de tallos principales, tallos laterales a estolones. Generalmente, cuando el tubérculo madura, las yemas de los ojos están en un estado de reposo y por ello, no pueden desarrollarse. Al cabo de cierto tiempo, que depende de la variedad, las yemas del ojo apical son las primeras en salir del reposo. Esta característica se llama dominancia apical. Más tarde, las yemas de los otros ojos se desarrollan para convertirse en brotes. La forma de un tubérculo pueden ser, redondos, ovalados o irregulares. En un corte longitudinal el tubérculo presenta peridermo o piel, corteza, sistema vascular, parénquima de reserva y tejido medular. La piel del tubérculo es delgada y su color puede variar entre blanca, crema, amarilla, naranja, roja o morada; en la piel se encuentran las lenticelas que son los órganos respiratorios del tubérculo. La corteza está debajo de la piel que contiene proteínas y almidones. El sistema vascular conecta los ojos del tubérculo entre sí y al tubérculo con otras partes de la planta. El parénquima de reserva ocupa la mayor parte del tubérculo el cual es el órgano principal de almacenamiento de la planta (Rastovski, et al, 1981).

BROTOS

Los brotes crecen de las yemas. El color del brote es una característica varietal importante. El extremo basal del brote forma la parte subterránea del tallo. Al sembrarse esta porción forma raíces y después estolones o tallos laterales. El extremo apical del brote da origen a las hojas y representa la parte del tallo donde tiene lugar el crecimiento del mismo (Huamán, 1986).

HOJAS

Las hojas son compuestas, tienen un raquis central y varios folíolos. En la base de cada peciolo se encuentran dos hojuelas laterales llamadas pseudoestipulas, la forma y tamaño de estas así como el ángulo de inserción del peciolo en el tallo, son características varietales distintivas (Huamán, 1986; Montaldo, 1984).

INFLORESCENCIA

La inflorescencia es cimosa, las flores son hermafroditas, tetracíclicas, pentámeras; el cáliz es gamosépalo lobulado; la corola es rotácea y pentalobulada, de color blanco al púrpura con 5 estambres, cada estambre posee dos anteras de color amarillo pálido (Huamán, 1986; Montaldo, 1984).

FRUTO O SEMILLA

El fruto es de tipo baya bilocular, mide aproximadamente 1.5 cm de diámetro, con numerosas semillas cerca de 200 en promedio. El fruto es generalmente verde y esférico. Las semillas son planas ovaladas y pequeñas (1000-1500 semillas por grano) (Delgado, 1986).

1.4 Habitat del Cultivo de la Papa.

Zonas de producción en México.

La papa se adapta a las diversas regiones agroecológicas del país (Maldonado, 1982). Lo ideal es sembrar papa en suelos profundos francos, fértiles, y planos, con un pH entre 5 y 6. Sin embargo, también se produce papa en suelos arcillosos con pendientes muy pronunciadas (Maldonado, 1982).

En cuanto al clima, el mejor es el frío o fresco, con lluvias suficientes o bien repartidas desde la siembra hasta la cosecha; o con riego, sin heladas o que las zonas en donde se siembra se presentes épocas definidas de lluvia. Sin embargo, diferentes variedades han sido aclimatadas a diversas regiones, en la actualidad se cultiva en casi todos los climas, no obstante se adapta mejor a climas templados. Para el desarrollo del tubérculo es importante que la temperatura fluctue entre 10°C y 20°C. Montaldo (1984), señala que la influencia del fotoperiodo en la papa es muy marcada en el crecimiento vegetativo; incluyendo el crecimiento de los estolones, la tuberización y la

floración: agrega que las especies y variedades de papa crecen más en días largos.

La papa se puede cultivar a una altura desde el nivel del mar hasta los 3500 m de altitud (Delgado, 1986). La papa se cultiva en casi todos los estados de la República Mexicana, su producción se ha extendido desde Baja California hasta Chiapas (Cabrera, 1980). Aunque no se tienen reportes de cosechas en Quintana Roo (Cueto, 1985).

La superficie nacional dedicada a la producción de papa se estima en 68 mil hectáreas (SARH, 1981; en Cueto, 1985). De esta superficie, 51 mil hectáreas se siembran bajo condiciones de temporal y 17 mil hectáreas se siembran bajo condiciones de riego. México ha logrado su autosuficiencia en papa para consumo humano y semilla (Cueto, 1985).

El cultivo de papa ocupa el cuarto lugar en la producción mundial después del maíz, trigo y arroz (FAO, 1986; citado por Abello 1985).

Las "zonas tradicionales" de producción de papa se encuentran en los estados de Puebla, Veracruz (región del Pico de Orizaba y del Cofre de Perote), México (faldas del Nevado de Toluca y partes altas del Estado), Michoacán (Sierra Tarasca) y Tlaxcala (región de la Malinche). En éstas y otras zonas serranas se produce la papa durante el ciclo primavera-verano (época de lluvia). Las cosechas se realizan entre junio y octubre; en estas zonas se produce papa de color, variedad criolla "López". Los productores son pequeños agricultores. El rendimiento promedio de estas zonas está por debajo del promedio nacional. Fuera de las "zonas tradicionales" de producción referidas, la siembra de papa

se ha consolidado en el norte del país (Sinaloa, Chihuahua, Nuevo León, Baja California Norte, Sonora y Coahuila) y en el Bajío (Guanajuato y Michoacán). En estas entidades se produce alrededor de la mitad de la cosecha anual. La producción se divide en los ciclos primavera-verano y otoño-invierno. Los rendimientos están por encima del promedio nacional. La producción es altamente mecanizada y se basa en muchos casos en los avances tecnológicos más recientes. Se produce únicamente papa blanca, variedad "Alpha" (Ferroni, 1985).

La producción y el rendimiento en el cultivo de papa depende de la variedad y condiciones de la zona donde se cultiva siendo de 12 a 50 ton/ha (Delgado, 1986).

1.5 Importancia Nutricional de la Papa.

La papa tiene mayor valor nutricional por unidad de superficie cosechada que otros muchos cultivos (Maldonado, 1982).

La papa contiene: Almidón Talburt y Smith (1967) (citados por Vázquez, 1982), señalaron que el almidón constituye entre el 65 y el 80% del peso seco de un tubérculo; es calóricamente el compuesto nutricional más importante de la papa y está formado por amilasa y amilopectina en proporción 1:3. Proteína: la papa contiene todos los aminoácidos esenciales (Talburt y Smith 1967; citados por Vázquez, 1982), principalmente un contenido alto de lisina (Maldonado, 1982). Lípidos: diversos autores, citados por Vázquez (1982) manifiestan que el contenido medio de grasa en la papa oscila alrededor de 0.10% de su peso fresco, algunos de sus ácidos grasos son, palmítico, oleico y linoleico. Tiene cuatro

vitaminas importantes; una es el ácido ascórbico ó vitamina C, y tres son del complejo B: niacina, tiamina y riboflavina. El contenido de sus azúcares libres pueden variar desde pequeñas cantidades hasta un 10% de su peso seco, y son sacarosa, glucosa y fructuosa en la misma proporción. Presenta además lignina y suberina como fibra cruda (Maldonado, 1982).

La papa es de fácil digestión y la pueden consumir desde lactantes hasta ancianos. Es palatable y combina con todos los platillos mexicanos, se puede utilizar también en la industria de alcoholes y forrajes (Maldonado, 1982).

2.0 CULTIVO DE TEJIDOS EN PAPA.

Por sus características fisiológicas y morfológicas la papa es una planta excepcional para estudios de cultivo de tejidos.

Steward y Caplin, 1951, (citados por Miller y Lipschutz, 1984) establecieron por primera vez un cultivo de callos de papa a partir de células del parénquima, empleando 2-4-D; después se obtuvieron callos a partir de explantes de: hojas, peciolo, ovarios, anteras, tallos, raíces y meristemas. Se probaron varios medios de cultivo cambiando las concentraciones de nutrientes inorgánicos y de los reguladores del crecimiento, hasta que se encontró que el medio de cultivo de Murashige-Skoog MS (1962), daba mejores resultados combinado con hormonas del crecimiento como Ácido Giberélico (GA_3), Ácido Indol Acético (AIA), Ácido Abscísico (BA) y Cinetina daba mejores resultados (Henshaw et al, 1982).

El cultivo de meristemas de papa tiene por objeto: a) la erradicación de virus; b) la propagación in vitro; c) el almacenamiento e intercambio de germoplasma. Como resultado de esta técnica se obtiene producción de semilla certificada, (Espinoza, et al, 1986 y Mellor y Stace-Smith, 1977) con lo que aumenta la productividad y se obtienen mejores resultados combinando esta técnica con las técnicas de termoterapia y quimioterapia (López, et al. 1985).

Algunas técnicas de propagación de plantas de papa in vitro requieren de una fase de callo intermedia (Roca et al, 1982), pero se considera que no ofrece estabilidad genética como la propagación por medio de tejidos meristemáticos. El callo es un tejido no estable genéticamente, por lo que no se recomienda para propagar variedades en cultivo de tejidos de papa. En la preservación de germoplasma de papa in vitro se han realizado diferentes trabajos, y se han obtenido resultados satisfactorios tanto con criopreservación como con métodos de mínimo crecimiento. Bajaj (1981) regeneró plantas a partir de meristemas de papa congelados a -175°C , por lo que esta técnica ofrece preservación de germoplasma de papa a largo plazo.

El meristemo es el explante usado en la técnica de mínimo crecimiento, debido a su estabilidad genética; el objetivo de ésta es reducir la velocidad de crecimiento sin que se afecte la viabilidad; con esto se logra disminuir las transferencias hasta dos veces por año, esto se ha realizado en papa disminuyendo la temperatura de incubación e incrementando la osmolaridad del medio de cultivo (Henshaw, 1982). Se pueden agregar a este medio

fitohormonas que inhiban el crecimiento, como el ácido abscísico (ABA). López (1987) empleó salicilatos para inhibir el crecimiento y preservar en Banco de Germoplasma una especie silvestre de papa (Solanum cardiophyllum), logrando una recuperación del 100% de los explantes después de un almacenamiento de 120 días.

Así todos los tejidos de la papa se han logrado cultivar in vitro casi todos con buenos resultados. Todas las técnicas de cultivo de tejidos usadas se aplican en diferentes países con el fin de mejorar la cantidad y calidad de la producción del tubérculo de papa. El Centro Internacional de la Papa (CIP, Lima Perú), realiza importantes trabajos de cultivo de tejidos en esta especie (Espinoza et al: 1986), como son: eliminación de patógenos empleando termoterapia, micropropagación in vitro, conservación de germoplasma, exportación internacional de germoplasma, tuberización in vitro y transformación genética (López et al, 1985 y Espinoza et al, 1986).

Eliminación de patógenos. El método empleado por el Centro Internacional de la Papa (CIP) es termoterapia seguido de cultivo de meristemas. El estado fitosanitario se comprueba con las técnicas de Látex ó Elisa.

Micropropagación in vitro. La propagación del material sano es por medio del cultivo de meristemas. Estas plantas son enraizadas in vitro para posteriormente ser usadas como plantas madre para su propagación en campo e invernadero, o para producir tubérculo como "semilla" básica certificada.

Conservación de germoplasma. La colección y mantenimiento del germoplasma son fases importantes para los programas de mejoramiento genético de cultivos. Los materiales genéticos de papa son conservados mediante su propagación a través de tubérculo o "semilla" asexual (López, et al, 1985; 1988).

El mantenimiento de un banco de germoplasma in vitro es una alternativa para mantener material genético de papa libre de virus y de otras enfermedades, con lo que se cuenta con una fuente permanente de materiales sanos (López, et al, 1988).

Exportación Internacional de germoplasma. El material genético de papa libre de virus y otras enfermedades que se produce en varios países puede ser exportado. El CIP envía a diferentes países germoplasma probado serológicamente, para su propagación y empleo como planta madre (Ezpiñoza, et al, 1986).

Tuberización in vitro. El tubérculo de la papa es un tallo modificado. La tuberización se inicia con un engrosamiento del entrenudo más joven, el engrosamiento se debe principalmente al alargamiento de las células de la médula y a la división celular de la parte del apice del estolón, además hay un incremento en el tamaño de las células (Rastovski y van Es, 1981).

Davies (1984) menciona que la tuberización de la papa se ve afectada por una serie de factores físico-químicos y biológicos tales como: condiciones de luz, temperatura, humedad disponible, disponibilidad mineral, tipo de suelo, fotoperíodo, reguladores

del crecimiento, tamaño de la planta, niveles de nitrógeno, CO_2 en el suelo, etc.

Los reguladores del crecimiento juegan un papel muy importante en el desarrollo y crecimiento del tubérculo. Las giberelinas influyen en la velocidad de crecimiento del ápice, las citocininas, auxinas y ABA determinan la actividad de la demanda de los tubérculos controlando la división celular y el alargamiento. La tuberización en general es el resultado de la acción integrada de varios reguladores del crecimiento, se cree que las hormonas actúan regulando la relación fuente-demanda de algunos nutrientes necesarios para la tuberización (Melis y Staden; 1984).

Para la inducción de la tuberización in vitro se han empleado diferentes reguladores del crecimiento, por ejemplo; cinetina 1.6×10^{-2} mM (Palmer y Smith, 1970), cumarina de 25 a 50 ppm (StallKnecht, 1972), BA 4.44×10^{-5} (Wang y Hu, 1982), y ASA 10^{-4} y 10^{-5} M (López, 1987).

La tuberización involucra al menos dos procesos distintos: La inhibición del crecimiento axial y un incremento en la expansión radial del órgano que tuberiza (García-Torres y Gómez-Campo, 1973).

Mingo-Castell et al. (1974) encontraron que el etileno inhibió la tuberización en tallos de papa cultivadas in vitro. Sin embargo, García-Torres y Gómez-Campo (1973) obtuvieron tubérculos in vitro a partir de brotes de tubérculos cultivados en presencia de etefón con 50 ppm. Catchpole y Hillman (1969) obtuvieron tuberización en brotes de tubérculos de papa tratadas

con etileno durante 14 días, concluyeron que el etileno puede ser importante en los estados iniciales de la tuberización, y la acumulación de almidón puede ocurrir en una etapa posterior del desarrollo. García-Torres y Gómez-Campo (1973) propusieron que el etileno es un estímulo natural de la tuberización, ya que este proceso involucra supresión en el crecimiento de tallos y estolones, además de que disminuye los niveles de auxinas en los tejidos y se sabe que estas promueven el crecimiento. La producción de tubérculo in vitro representa un método utilizado para exportar germoplasma, tubérculo y "semilla" comercial. Los tubérculos in vitro en cuanto a su producción tienen ventajas como: ser de tamaño pequeño, ser ligeros, estar libres de patógenos, presentar dormancia, no requerir mucho cuidado para su transporte y almacenamiento, son útiles para sembrarse en campo o invernadero. Estas técnicas se aplican con éxito en más de 50 genotipos de papa (Espinoza, et al, 1984).

López (1987) indujo tuberización in vitro aplicando ASA en S. cardiophyllum y obtuvo resultados comparables a los encontrados en la aplicación de reguladores del crecimiento del tipo de las citocininas, y a los reportados por el método del CIP (Espinoza et al, 1984).

Preservación de germoplasma in vitro. El mantenimiento de un banco de germoplasma in vitro permite conservar, en espacio reducido, una gran cantidad de materiales con menor riesgo de pérdidas por almacenamiento y un mayor margen de seguridad, así, como reducir los insumos en relación al tiempo de conservación. En el caso de papa, Roca et al., 1984, reporta que es posible

conservar germoplasma a mediano y corto plazo, por algunas de las siguientes formas: a) Inducción de estrés osmótico por medio de manitol o sacarosa. b) Control de la fuente de carbón a niveles sub o supra óptimos. c) Mantenimiento de los cultivos a temperaturas y luz reducidas. d) Empleo de inhibidores de crecimiento en el medio.

López (1987) incubó yemas axilares de Solanum cardioophyllum in vitro en periodos prolongados de 120 días en presencia de ABA, el testigo mostró un 59.9% de supervivencia, mientras que el tratamiento de ABA 10^{-5} M tuvo un 52.2%, sin embargo, en este último se obtuvo un 95.2% de explantes brotados. Concluyó que el ABA puede ser útil en la preservación del germoplasma de ésta y quizá de otras especies.

2.1 Reguladores del crecimiento y diferenciación.

Los fitoreguladores del crecimiento son compuestos orgánicos que estimulan, inhiben o modifican cualquier proceso fisiológico en las plantas. El crecimiento de las plantas es un proceso dinámico complejo que es controlado por los reguladores del crecimiento vegetal, estos se dividen en tres grupos principales; a) Promotores del crecimiento: Auxinas, citocininas y giberelinas. b) Inhibidores del crecimiento, ácido abscísico y c) Etileno.

Las fitohormonas producen una gran variedad de efectos en la fisiología del vegetal (Bidwell, 1979). El fenómeno común que se encuentra en cada fase del desarrollo y de la diferenciación vegetal, es el control por medio de reguladores del crecimiento.

Su posible acción se ha buscado en el genoma. Algunas de sus características son reprimir, desreprimir, seleccionar o modificar los diversos programas del desarrollo contenidos en el genoma de las células vegetales. Las fitohormonas se consideran selectoras, activadoras o modificadoras de un programa total, en lugar de mecanismos individuales que operen sobre pasos individuales (Bidwell, 1979).

La respuesta diferencial de una célula a un regulador del crecimiento va a depender del estado de competencia de ésta, es decir, la hormona por si sola no controla el patrón de diferenciación, y todas las células no van a responder de igual manera a dicha hormona, hay una interacción entre las necesidades de la célula y la cantidad y tipo de la hormona presente. Sin embargo, se han reportado algunos casos donde el regulador del crecimiento puede controlar el patrón de diferenciación principalmente la inducción de raíces en cultivo de callos (Smith y Grierson, 1982).

El control hormonal puede lograrse por la operación de la hormona de manera específica o general, o bien por el establecimiento de gradientes de concentración polarizados en los tejidos (Bidwell, 1979).

Wareing y Phillips (1982) mencionan que la diferenciación está regulada por algunos genes principales, que a su vez tienen genes subordinados y posiblemente los reguladores del crecimiento están controlando algunos de estos pasos para disparar la expresión genética. Los mismos autores señalan que hay evidencias de que algunos reguladores del crecimiento se unen a proteínas

especificas. de esta manera la especificidad de los reguladores dependera de la proteina receptora al actuar sobre las células blanco. Concluyen que la diferenciación involucra la producción de proteínas receptoras específicas, y que la diferenciación seguirá un patrón predeterminado, una vez que los reguladores del crecimiento se unen a las proteínas.

Lo anterior es análogo a lo propuesto por Smith y Grierson (1982) en cuanto a que afirman que existe una unión entre el regulador y un receptor, y el patrón de diferenciación a seguir por las células blanco va a depender de los receptores específicos para la misma hormona, de tal manera que se forma un complejo regulador-receptor y dependiendo de éste será la competencia específica de la célula.

Jeremy (1985) menciona la existencia de un complejo formado por la unión de una proteina con el AIA. sin embargo, su función es diferente, sugiere que al formarse el conjugado AIA-proteina (o azúcares), el AIA queda en forma inactiva, y que la estimulación del crecimiento se da cuando se incrementa la actividad enzimática que degrada al conjugado y libera al AIA. De tal manera los conjugados formados podrían estar controlando o inhibiendo el crecimiento. Este autor concluye a partir de sus trabajos con segmentos de tallos de Phaseolus vulgaris, que en los procesos de diferenciación, el AIA y la sacarosa determinan que ésta ocurra, y que la concentración del regulador esta estrechamente relacionada con el patrón de diferenciación a seguir.

2.1.1 Promotores del crecimiento.

Auxinas: La principal auxina presente en la naturaleza es el ácido indol acético (AIA), se sintetizan a partir del triptofano. Su principal función es el alargamiento o crecimiento vegetal, se produce principalmente en los ápices en desarrollo, hojas en expansión y tejidos con actividad meristemática excepto en la raíz, su transporte es basipétalo (Salisbury, 1978).

Hay evidencias de que el AIA puede modificar directamente la operación de ciertas enzimas claves en el metabolismo energético de la célula (Bidwell, 1979).

Se ha sugerido que el AIA tiene efecto sobre la RNA polimerasa, pero este puede ser un efecto secundario mediado por alguna otra hormona, (citocininas y giberelinas) bajo el control del AIA (Bidwell, 1979).

Un punto que relaciona la síntesis de auxinas y su control es que el AIA inhibe fuertemente a la enzima indol-etanol-oxidasa. Los efectos en el transporte son ejemplo de una verdadera acción hormonal que opera a gran distancia y parecen correlacionar el desarrollo y el metabolismo en varias partes de la planta. Sin embargo, la acción primaria de la auxina se cree que es la misma en los diferentes tipos de respuesta, a saber la estimulación o activación de reacciones metabólicas, ya sea aquellas que afectan el flujo de nutrientes por causar un mayor aporte en corrientes de transporte específicas o aquellos que afecten el alargamiento celular. Estos efectos podrían operar a través de un mecanismo genético o sobre alguna faceta general del metabolismo celular tal como la actividad de la membrana o su

permeabilidad (Salisbury, 1978).

El AIA parece actuar hasta en menos de 1 minuto sobre la pared celular, esto sugiere que el AIA actúa directamente sobre la pared celular más que sobre mecanismos genéticos o bioquímicos que afectarían, a su vez a las enzimas. Sin embargo, Skoog y colaboradores (1953, en Bidwell, 1979) fueron los primeros en notar, que el aumento del crecimiento inducido por la auxina en los tejidos *in vitro*, estaba asociado con un aumento en la síntesis de RNA y DNA.

El mismo autor y Miller (1968) en sus trabajos con callos de tabaco, encontraron que al adicionar auxina o citocinina por separado al medio de cultivo se induce mitosis, pero ellos consideraron la cantidad de hormonas endógenas, por lo que propusieron que es necesaria la presencia de ambas sustancias simultáneamente, para que ocurra la síntesis de DNA y la división celular. Los mismos autores encontraron que con altas concentraciones de auxina, se inducía la formación de callos, pero se reprimía la diferenciación de yemas.

Johri (1978) estudió indirectamente los niveles de AIA en tejidos formando brotes, observando cambios en algunas enzimas durante el cultivo. Encontró un incremento en la actividad de peroxidases antes del inicio de la formación de órganos, y sugiere que puede ser indicativo de un bajo requerimiento de auxina endógena, modificándose de esta manera la relación auxina-citocinina, de acuerdo a las necesidades del tejido.

Jeremy (1985) señaló que un gradiente de concentración de AIA controla el patrón de diferenciación, es decir, que el tipo

Se diferenciación a seguir depende de la cantidad de auxina presente en el medio, considerando la división celular como prerrequisito para que la diferenciación se presente.

Key (1969) propuso que las hormonas pueden afectar el crecimiento porque estimulan la síntesis de RNA y por lo tanto, la síntesis de proteínas que acompaña necesariamente al crecimiento. La concentración de auxina que promueve el crecimiento, estimula la síntesis del RNA y de las proteínas, en tanto que las concentraciones inhibitorias reducen esta síntesis.

Glazbiou et al. (1969) notaron un aumento en la invertasa de caña de azúcar tratada con AIA. Concluyeron que el efecto del AIA era estabilizar el RNAm, no aumentarlo en cantidad, así que se aumentaba el fenómeno de transcripción.

Armstrong, 1976 (en Salisbury, 1978), ha sugerido que el AIA funciona como una señal para la iniciación de la cadena polipeptídica de algunas proteínas, y puede actuar como los aminoácidos esenciales para la síntesis del RNA en las bacterias.

Key (1969) con base en sus investigaciones sobre la síntesis del AIA y sobre la síntesis *in vitro* de RNA, sugirieron que la auxina podía actuar o funcionar a nivel de regulador o activador de la transcripción. Las evidencias sugirieron que podía haber más de un sitio primario de reacción: uno de estos sería el responsable de la fase inicial del crecimiento por alargamiento, podía estar actuado de manera directa sobre la pared celular o bien sobre la membrana plasmática. Otro sitio de acción sería el controlar la continuación del crecimiento y de la síntesis proteica.

Giberelinas: Hay más 80 giberelinas derivadas de isoprenoides, se sintetizan principalmente en los tejidos aéreos en pleno crecimiento activo (embriones y tejidos meristemáticos).

El transporte de las giberelinas puede ser basipétalo o acropétalo.

Las principales funciones de las giberelinas son: la floración; el crecimiento; la división celular; la inducción de enzimas hidrolíticas; la desrepresión de genes específicos que luego provocan la síntesis de nuevas enzimas, incrementan la síntesis de invertasa (pero no de la peroxidasa) de la misma manera que el AIA; Las giberelinas podrían actuar a nivel de la inducción enzimática o de transcripción del DNA. El GA_3 acelera la síntesis de RNA, de hecho el GA_3 aumenta la síntesis del RNA en los núcleos aislados; es razonable suponer que esto se relaciona con su mecanismo de acción. Las giberelinas están asociadas con los esteroides, éstos tienen efectos muy específicos en la desrepresión de genes, activando así enzimas específicas (Sidwell, 1979).

López (1987) trabajando con venas axilares de S. cardiosphyllum, señaló que "en los procesos de diferenciación, las giberelinas juegan un papel muy importante". Al parecer el GA_3 en combinación con el BA y el AIA, favorece que un mayor número de células determinadas efectúen su desarrollo en brotes. Este autor obtuvo 100% de explantes con brotación de novos, cuando aumentó la concentración del GA_3 , pero concluyó que el GA_3 no fue indispensable para obtener brotes, aunque sí elevó el porcentaje de explantes brotados así como el número de brotes y el peso por

explante.

Por otro lado, el efecto del GA_3 en la brotación podría estar relacionado con una mayor disponibilidad de energía para el desarrollo de los brotes, ya que Kumar y Nanda, 1981 (citados por López, 1987), durante la inducción de floración en Impatiens con ácido salicílico más GA_3 , observaron un aumento en la actividad de fosfatasa, y se sabe que estas enzimas participan en el metabolismo de carbohidratos y en reacciones que derivan mucha energía.

Miller y Lipschitz (1984) mencionaron que el GA_3 se requiere para la elongación y el desarrollo de brotes a partir de meristemas previamente inducidos o formados de callos de S. tuberosum, y que en ausencia de GA_3 sólo se forman estructuras como nódulos y no crecen.

El ácido giberélico induce brotes en cultivos de Chrysanthemum pero es antagonista con la formación de brotes en Nicotiana (Jeremy, 1985).

Citocininas: Las citocininas son derivados de la adenina, se forman principalmente en las raíces y de ahí viajan a las hojas y tallos; dentro de sus principales efectos están: la citocinesis o división celular, la prevención de la senescencia, la inducción de floración, formación de órganos cultivados in vitro, etc.

Johr (1978) encontró que el endospermo del muérdago cultivado in vitro desarrolló tallos con 8 ppm de citocinina.

Skoog et al. (1968) afirmaron que en cultivo de callos de tabaco, el AIA y la citocinina juntos estimulan la formación de

órganos, siendo las cantidades relativas de las dos hormonas las que determinan la clase de órgano que se va a formar. Los experimentos de estos autores demostraron que la variación en las concentraciones relativas de dos diferentes hormonas AIA y citocinina determina la producción de raíces o de tallos en estos cultivos. Una concentración más alta de AIA estimula el desarrollo de raíces, y una concentración más alta de citocinina estimula la formación de tallos en estacas de sauce. Además estos autores encontraron que el callo de tabaco crece mucho más en presencia de altas concentraciones de AIA cualquiera que sea la concentración de citocinina.

La organogénesis o el tipo de órgano que se forma en el cultivo, depende no solo de los reguladores exógenos y endógenos presentes en el medio, sino también del medio de procedencia del tejido o callo. Si el tejido ó callo se transfiere de un medio carente de reguladores a un medio con alta concentración de auxinas y baja de citocininas, se pueden obtener raíces, si la transferencia se hace de un medio con altos niveles de citocininas y bajos de auxinas se pueden obtener brotes, sin embargo, esto no es universal para todas las especies. Para que ocurra ésto debe presentarse una de-diferenciación, que origina un primordio meristemático, el cual se desarrolla de acuerdo a los estímulos del medio, en un tipo de órgano. Si las condiciones de inducción, no son favorables al desarrollo del primordio, no habrá cambios hasta que se cambien las condiciones del medio (Martins y Sondahl, 1984 en López 1987; Jeremy, 1985).

Chailajyan, 1961 (en Bidwell, 1979), encontró que los tallos de pera cultivados in vitro pueden ser llevados a formar

primordios florales por aplicación de cinetina.

Smith y Murashige 1979 (citados por Smith y Grierson, 1982) consideraron que ya que una relación alta de citocinina/auxina promueve la regeneración de yemas en ciertos cultivos de callo, es posible que la iniciación de yemas y su crecimiento dependa de una fuente de citocinina de otras partes de la planta, en la misma forma en que los primordios de hoja, proporcionan auxina y citocinina al domo apical del vástago.

En cuanto a la prevención de la senescencia, se sabe que las citocininas previenen la formación de enzimas hidrolíticas como nucleasa y proteasas así que interfieren con la desintegración de los polímeros. El otro factor que interviene para prevenir la senescencia es que las citocininas causan una inmovilización de los nutrientes o bien su transporte (Bidwell, 1979).

Algunos análisis han revelado que ciertos codones (RNAt) en muchos organismos contienen, una molécula de citocinina en posición adyacente al anticodón punto por donde el RNAt se encuadra en el código al RNAm (Bidwell, 1979).

2.1.2 Inhibidores del Crecimiento.

El ácido abscísico (ABA) es el principal inhibidor del crecimiento y su acción fundamental parece ser la inhibición de la gibberelinas y estimular el letargo; estimula el aumento en la producción de invertasa en la caña de azúcar, este efecto parece operar a nivel de traducción del RNAt en el punto de síntesis de la enzima; en las semillas de cebada inhibe la estimulación de la

síntesis de retículo endoplásmico y de alfa-amilasa causada por giberelinas.

El efecto del ABA parece ser bastante específico para alfa-amilasa, inhibiendo esta enzima en tanto que la síntesis de otras continúa; esto sugiere que inhibe específicamente la traducción del RNAm para esta enzima, pero no para otras.

El mecanismo de acción del ABA parece tener un efecto sobre la traducción inhibiendo la síntesis de RNA.

El ácido abscísico puede promover brotes en papa mientras la cinetina no (Jeremy, 1985).

2.1.3 Etileno.

El etileno tiene un amplio rango de efectos sobre la fisiología vegetal. El AIA es el principal estimulante para la producción de etileno. Dentro de sus principales funciones están: la maduración de frutos y la abscisión de las hojas, estos efectos parecen deberse a la estimulación de procesos de síntesis requeridos para el desarrollo de características de senescencia y para la formación de la zona de abscisión. Así que sus efectos inhibitorios pueden deberse en gran parte a un real efecto estimulante que opera sobre efectos de degradación (Bidwell, 1979).

3.0 ACIDO ACETIL SALICILICO.

El ácido acetil salicílico (ácido 2- acetilo benzoico ASA) es un salicilato que se obtiene por la acetilación del ácido salicílico, es conocido como aspirina, este nombre es una contracción de acetilo y del género Spiraea, muchas plantas de este género tienen salicilatos naturales. A los salicilatos se les conoce principalmente por utilizarse desde hace mucho tiempo en la medicina alópata, al respecto se han hecho numerosos reportes de sus efectos en el ser humano. Sin embargo, su papel en los vegetales no se ha esclarecido totalmente (Collier, 1963; Cleland y Ajami, 1974).

La molécula de ASA tiene un peso molecular de 180.15, punto de fusión 137 °C y un pK de 3.5 (Collier, 1963; Merck S Co. Inc., 1976, en López 1987).

Se han hecho estudios sobre la participación de los salicilatos, (principalmente ácido salicílico y ácido acetil salicílico), en diferentes funciones de las plantas, como son: inhibición de procesos diversos, floración, transpiración, producción de grano, maduración de frutos, formación de raíces, actividad enzimática, respiración, resistencia a patógenos y organogénesis (López, 1987).

3.1 Los salicilatos en la inhibición de procesos diversos.

En la lenteja, concentraciones entre 1.4×10^{-4} M y 3.6×10^{-4} M de ácido salicílico (SA) inhibieron el crecimiento de la planta (Chou y Patrick, 1976). También el SA aislado de hojas de cacahuate inhibió la elongación de plantas de arroz, así como el crecimiento de coleóptilos de avena (Kimura et al., 1976). En otros trabajos, altas concentraciones de ASA inhibieron el crecimiento de raíz y coleóptilo de trigo (Larqué-Saavedra, 1975). Otro salicilato el salicilhidroxamato 5 mM inhibió la elongación de raíz y tallo de avena (Upadhyaya, 1986). En fotosíntesis, el disaliciladenopropanodiamina (DSPD), inhibió el transporte electrónico entre el fotosistema II y el fotosistema I, y bloqueó la fosforilación en cloroplastos de espinacas (Leasch et al., 1979), dicho efecto debió ser mediado por el salicilaldehído (Ireland y Goldwin; 1979). En la misma especie, el salicildoxima bloqueó el flujo electrónico en el fotosistema II, formando probablemente un complejo con la quinona y quelando al hierro (Golbeck y Warden; 1985). Audus (1972, en López 1987) reportó que el ácido salicílico es caracterizado como un constituyente del complejo inhibidor B.

En otros trabajos, el ASA y el SA inhibieron los movimientos escotónásticos en hojas de Cassia fasciculata a una concentración de 1×10^{-4} M, y promovieron los movimientos fotonásticos a 5×10^{-4} M, se sugirió que el efecto del ASA podría atribuirse a la inhibición de síntesis de prostaglandinas las cuales parecen acelerar estos movimientos en las hojas (Saedi et al., 1984; en López 1987).

López (1987) obtuvo inhibición en el crecimiento de yemas axilares de papa cultivadas in vitro con ASA 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} M. El ASA inhibió el crecimiento de yemas axilares de S. cardiophyllum siguiendo un patrón de dosis-respuesta y siendo mayor a concentraciones altas. Las concentraciones de ASA 10^{-4} y 10^{-5} M presentaron valores intermedios en los porcentajes de inhibición de la elongación y la viabilidad.

3.2 Los salicilatos en la organogénesis in vitro.

Lee y Skoog (1965) probaron el SA y otros derivados del ácido benzoico, fenilacético y fenil propanoico, en la formación de brotes de callos de tabaco. encontraron que el SA indujo brotes en concentraciones de 2 a 256 mM.

Saxena y Rashid (1980) empleando salicilatos en plantas inferiores. obtuvieron diferenciación de yemas en el protonema del musgo Anectanquium thomsonii. La concentración óptima de ASA fué 10^{-6} M y del SA de 10^{-5} M.

López (1987) reportó que el ASA indujo procesos morfogénéticos en Solanum cardiophyllum, ya que explantes previamente incubados en ASA 10^{-4} y 10^{-5} M desarrollaron brotes en 100% de los explantes con 13 brotes en promedio.

3.3 Los salicilatos en la tuberización in vitro.

López (1987) utilizó ASA obteniendo tuberización in vitro en Solanum cardiophyllum.

En otros trabajos se han empleado medios de tuberización que

contienen auxinas y citocininas (Palmer y Smith, 1970; Catchpole y Hillman, 1969; Stalknecht, 1972; Palmer y Barker, 1973; Garcia-Torres y Gómez-Campo, 1973; Mingo-Castell et al., 1974; Wang-Hu, 1982). El efecto del ASA en la inhibición del crecimiento, puede actuar como un estímulo para la tuberización (López, 1987), ya que se ha sugerido que la formación de tubérculos involucra supresión del crecimiento axial y una expansión radial del órgano que tuberiza (Garcia-Torres y Gómez-Campo, 1973; Rastovski y Van Es, 1981).

3.4 Los salicilatos en la preservación de Germoplasma in vitro.

López (1987) incubó yemas axilares de Solanum cardiophyllum por un periodo de 120 días en medio C (del CIP) de mantenimiento, en condiciones de Banco de Germoplasma en los tratamientos se sustituyó el manitol por ASA 10^{-4} y 10^{-5} M, todos los explantes del tratamiento de ASA 10^{-4} M murieron, por lo que esta concentración resultó tóxica para dicha especie. El tratamiento con ASA 10^{-5} M presentó un 60% de supervivencia y el medio del CIP un 77.5%. Estas plantas se subcultivaron en medio de propagación, al término de esta etapa se observó que el testigo tuvo un porcentaje de supervivencia de 60% mientras que los explantes que se habían incubado en ASA 10^{-5} M tuvieron un 52.5%. Se obtuvieron brotes en ambos tratamientos, observándose que el tratamiento de ASA 10^{-5} M formó más brotes por explante (95.2%) que el testigo (33.3%).

Con base en los efectos reportados para los salicilatos en plantas, y dadas las características antes mencionadas de la papa Solanum tuberosum, ésta especie representa un modelo ideal para estudios en cultivo de tejidos, por lo que en la presente investigación se plantearon las siguientes hipótesis:

El ASA interviene en diferentes procesos morfogénéticos in vitro en la especie Solanum cardiophyllum, por lo que se podría obtener la misma respuesta en la especie Solanum tuberosum.

Si el ASA es potencialmente útil en la preservación de germoplasma in vitro, así como en la inducción de la tuberización in vitro en Solanum cardiophyllum, entonces, dicho potencial podría ser extensivo a Solanum tuberosum.

III. MATERIALES Y METODOS

1.0 MATERIALES.

1.1 Material biológico.

El material biológico que se utilizó en este trabajo fueron yemas axilares de la especie Solanum tuberosum de los clones 750489, 676087, 676002, 750658, 750783, 750759 y 771836, proporcionados por el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Programa Nacional de Papa (INIFAP) Toluca, Edo. de México.

1.2 Medios de cultivo.

Los reactivos utilizados para la preparación de los medios de cultivo fueron: Sales inorgánicas (Baker), reguladores del crecimiento (Sigma Chemical Co), vitaminas (Sigma Chemical Co), agar (Sigma Chemical Co), sacarosa (Baker), manitol (Baker), ácido acetil salicílico ASA (Sigma Chemical Co), cloro mecato: cloruro de 2 cloro etil trimetil amonio (CCC) (Sigma Chemical Co). Todos los reactivos y materiales de cristalería fueron proporcionados por el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Programa Nacional de Papa (INIFAP).

Los medios de cultivos empleados fueron los propuestos por el Centro Internacional de la Papa (CIP) (Espinoza et al, 1987) los cuales son: B, C y F, además el medio G (Espinoza 1988, comunicación personal) éstos son modificaciones del medio de Mursashige-Skoog (MS) (1962). Otros medios MS utilizados fueron:

el MSm, modificado por el Programa Nacional de la Papa (López, 1982); Morel y Muller (MM) (1964), Wang y Huang (WH) (1976), y medio PG es un medio MSm modificado para papita güera (S. cardiophyllum) (López, 1987).

2.0 METODOS.

2.1 Preparación de los medios de cultivo.

En general los medios de cultivo se prepararon de la siguiente manera: Se mezclaron las cantidades requeridas de sales inorgánicas, vitaminas, hormonas y sacarosa (las vitaminas y las hormonas se tomaron de soluciones madres de concentración conocida), se ajustó el pH a 5.7 con HCl o KOH 1N (en el caso de los tratamientos con ASA, la solución se agregó antes de medir el pH), después se agregó el agar el cual se disolvió con calor, 10 ml del medio se vaciaron en tubos de ensaye de 23 x 120 mm, se taparon con papel aluminio, y se esterilizaron junto con los materiales de siembra (cajas de petri, pinzas, bisturí, etc.) en una autoclave horizontal a 15 lbs de presión y 120 °C durante 20 minutos.

2.2 Preparación de la solución madre de ASA.

Para todas las concentraciones de ASA utilizadas en este trabajo se hizo una solución madre de 10 mg de ASA que se disolvió en 0.5 ml de DMSO (dimetil sulfóxido) y posteriormente se aforó con agua destilada a 10 ml (5×10^{-3} M).

2.3 Condiciones de Cultivo.

Los experimentos 1.1, 1.1. 2.0. 2.1, 3.0 y 4.1 se mantuvieron en un cuarto de incubación con un fotoperíodo de 16 horas a una temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ y una radiación de $24 \mu\text{M}^{-2} \text{m}^{-2} \text{seg}^{-1}$ (400-700nm).

El experimento 4 se mantuvo en el banco de germoplasma in vitro, con un fotoperíodo de 16 horas a una temperatura de $7^{\circ}\text{C} \pm 1$, y una radiación de $11 \mu\text{M}^{-2} \text{m}^{-2} \text{seg}^{-1}$ (400-700nm).

El experimento 5 se mantuvo en un cuarto de incubación en total oscuridad a una temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 1$.

Para el desarrollo de este trabajo se partió de yemas axilares cultivadas por aproximadamente 35 días (subcultivándolas cada 30 días) en medio B (CIP) (Espinoza et al, 1987) de propagación, con esto se mantuvo una fuente permanente de material biológico,

2.4 Descripción de los medios de cultivo utilizados.

B (CIP)

Sales Murashige-Skoog (MS)* + tiamina .40 ppm + inositol 100 ppm + ácido giberélico (GA_3) 0.25 ppm + pantotenato de calcio 2.0 ppm + sacarosa 3% + agar 0.8%.

C (CIP)

Sales Murashige-Skoog (MS)* + tiamina .40 ppm + inositol 100 ppm + manitol 4% + sacarosa 3% + agar 0.8%.

* Ver apéndice

F (CIP)

Sales Murashige-Skoog (MS)* + tiamina .40 ppm + inositol 100 ppm + GA₃ 0.40 ppm + bencil amino purina (BAP) 0.50 ppm + ácido naftalen-acético (ANA) 0.01 ppm + pantotenato de calcio 2.00 ppm + sacarosa 2% + agar 0.6%.

G (CIP)

Sales Murashige-Skoog (MS)* + tiamina .40 ppm + inositol 100 ppm + GA₃ 0.1 ppm + glicina 2.0 ppm + ácido nicotínico 0.5 ppm + piridoxina HCl 0.5 ppm + sacarosa 2.5% + agar 6%.

Medio PG

Sales Murashige-Skoog (MS)* + tiamina .40 ppm + inositol 100 ppm + BAP 1.0 ppm + ácido indol-acético (IAA) 1.0 ppm + sacarosa 3% + agar 0.7%.

Medio WH (Wang-Huang)

Elementos mayores WH* + elementos menores MS* + Na EDTA 0.0373 ppm + sulfato ferroso FeSO₄ 0.0278 ppm + adenina 5 ppm + biotina 0.01 ppm + pantotenato de calcio 10 ppm + caseína hidrolizada 1.0 ppm + piridoxina HCl 1.0 ppm + tiamina 1.0 ppm + glucosa 3% + agar 0.8%.

Medio MM (Morel y Muller)

Elementos mayores MM* + elementos menores MM* + GA₃ 10 ppm + pantotenato de calcio 1.0 ppm + ácido nicotínico 1.0 ppm + piridoxina 1.0 ppm + tiamina HCl 1.0 ppm + ANA 1.0 ppm + biotina 0.01 ppm + sacarosa 2% + agar 0.6%.

*Ver apéndice

Medio MSm (Modificado para inducir tallo)

Elementos mayores MS* + elementos menores MS* + Na EDTA 37.28 ppm
+ Fe SO_4 27.8 ppm + tiamina HCl 0.5 ppm + mio-inositol 100 ppm +
IAA 0.3 ppm + cinetina 0.3 ppm + sacarosa 4% + agar 0.8%.

Medio I (Tuberización)

Sales MS* + BAP 5 ppm + CCC 500 ppm + sacarosa 8%.

3.0 DESCRIPCIÓN DE LOS EXPERIMENTOS.

3.1 Experimento 1.0

Efecto de diferentes concentraciones de ASA empleando medio B (CIP) en el desarrollo de yemas axilares .

Se incubaron yemas axilares de papa con concentraciones de ASA (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M) y el testigo, empleando medio B (CIP) de propagación. Cada tratamiento tuvo 40 repeticiones. El clon utilizado en este experimento fué el 750759. La evaluación del experimento se efectuó 35 días después de incubadas las yemas. Los parámetros evaluados fueron: longitud del tallo más largo, peso fresco (estos datos se evaluaron estadísticamente con un análisis de varianza y la prueba de Duncan (prueba de t Student modificada)), supervivencia y raíz.

* Ver apéndice.

3.1.1 Experimento 1.1

Cultivo de plantas en medio B (CIP), previamente incubadas con ASA.

Las plantas incubadas en el experimento 1.0 se subcultivaron en medio fresco (medio B (CIP)) sin ASA y con 0.40 ppm de GA_3 incluyendo al testigo, se evaluó a los 35 días de incubación. Los parámetros evaluados fueron: longitud del tallo, peso fresco (estos datos se evaluaron con un análisis de varianza y la prueba de Duncan), supervivencia, número de brotes axilares, número de brotes de novos y raíz.

3.2 Experimento 2.0

Efecto de diferentes concentraciones de ASA empleando medio F (CIP) en el desarrollo de yemas axilares.

Se incubaron yemas axilares de papa con 5 concentraciones de ASA (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M) y el testigo en medio F (CIP) de propagación, con 40 repeticiones por tratamiento. El clon utilizado en este experimento fue el 750759. La evaluación del experimento se hizo 35 días después de la incubación de las yemas, los parámetros evaluados fueron: longitud del tallo, peso fresco (estos datos se evaluaron con un análisis de varianza, y la prueba de Duncan), supervivencia, número de brotes de novos, número de tubérculos y raíz.

3.2.1 Experimento 2.1

Cultivo de plantas en medio F (CIP), previamente incubadas en ABA.

Las plantas incubadas en el experimento 2.0 se subcultivaron en medio fresco F (CIP) sin ASA incluyendo al testigo, este experimento se evaluó a los 35 días de incubadas las plantas. Los parámetros evaluados fueron: peso fresco, longitud del tallo (estos datos se evaluaron estadísticamente con un análisis de varianza y la prueba de Duncan), supervivencia, número de brotes de novo, número de tubérculos y raíz.

3.3 Experimento 3.0

Efecto de diferentes medios de cultivo en el desarrollo de explantes de S. tuberosum previamente incubados en ABA 10^{-5} y 10^{-6} M.

Se incubaron yemas axilares de papa con 2 concentraciones diferentes de ASA (10^{-5} y 10^{-6} M), empleando los medios de cultivo MSm, WH, MM, G, y PG durante 35 días (fase I). Para cada medio de cultivo se tuvo un testigo sin ASA. Se hicieron 20 repeticiones por tratamiento. El clon empleado en este experimento fué el 750759.

Las plantas incubadas en ASA 10^{-5} y 10^{-6} M en diferentes medios de cultivo (fase I) se subcultivaron sin ASA en el mismo medio de procedencia incluyendo al testigo (fase II). A los 35 días de incubado, se evaluó este experimento. Los parámetros

evaluados fueron: longitud del tallo, peso fresco, número de brotes de novo (estos datos se evaluaron con un análisis de varianza y la prueba de Duncan), supervivencia y raíz.

3.4 Experimento 4.0

Mantenimiento de germoplasma de papa in vitro empleando salicilatos.

Se incubaron yemas axilares de S. tuberosum en diferentes concentraciones de ASA (10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} M) y el testigo. La concentración de ASA 10^{-4} M se probó en los clones 750759 y 676087 con 20 repeticiones por tratamiento durante 7 meses.

Las concentraciones de ASA 10^{-5} y 10^{-6} M se probaron en yemas axilares de 7 clones de papa diferentes (750489, 676002, 676087, 750658, 750783, 750759 y 771836) con 20 repeticiones por tratamiento durante 10 meses.

En este experimento se usó el medio C (CIP) recomendado para mantener Banco de Germoplasma in vitro como medio testigo, en los tratamientos se sustituyó el manitol por ASA. Se realizándose observaciones mensuales. Los parámetros evaluados fueron: peso fresco, longitud del tallo más largo (estos datos se evaluaron con un análisis de varianza y la prueba de Duncan) y supervivencia.

3.4.1 Experimento 4.1

Cultivo de plantas en medio B (CIP) previamente incubadas en ABA 10^{-4} M bajo condiciones del Banco de germoplasma in vitro.

Las plantas que se incubaron en el Banco de Germoplasma con una concentración de ABA 10^{-4} M y el testigo, se subcultivaron en medio B (CIP) de propagación sin ABA. Este experimento se evaluó después de 40 días de incubación. Los parámetros evaluados fueron: longitud del tallo, peso fresco, número de brotes de novo (estos datos se evaluaron con un análisis de varianza y la prueba de Duncan) y supervivencia.

3.5 Experimento 5

Inducción de tuberización in vitro empleando salicilatos.

Se incubaron vemas de *S. tuberosum* del clon 750759 en un matraz Erlenmeyer de 250 ml con 20 ml de medio MS modificado (Espinoza, comunicación personal 1984) que contiene: Sales MS + pantotenato de calcio 2 ppm + sacarosa 3%. después de 4 semanas se subcultivaron los tallos (con 4 o 5 vemas axilares, sin raíces y sin vema apical). Los tallos se subcultivaron a medio T (CIP) de tuberización en tubos de ensayo con puentes de papel filtro, por 45 días. Se sustituyó el CCC por ABA 10^{-5} y 10^{-6} M en los tratamientos. Cada tratamiento tuvo 20 repeticiones. Los parámetros que se evaluaron fueron, número de tubérculos por tratamiento y peso total de los tubérculos por tratamiento y supervivencia.

IV. RESULTADOS

Experimento 1.0

Efecto de diferentes concentraciones de ASA empleando medio B (CIP) en el desarrollo de venas axilares .

La supervivencia no se vió afectada en ningún tratamiento excepto en la concentración más alta donde disminuyó con respecto al testigo (Cuadro 4.1). La longitud de los tallos fue diferente en todos los tratamientos como lo indica el análisis de varianza (Apendice Tabla A.1 Cuadro 4.1, Fig 1), sin embargo en la prueba de Duncan (t Student multiple) solo el tratamiento de ASA 10^{-4} M mostró diferencias significativas con respecto a todos los tratamientos, siendo el que mayor inhibición de longitud de tallo presentó. (Cuadro 4.1, Apendice Tabla A.1, figura 1). El peso fresco fue muy homogéneo para todos los tratamientos como lo indica el análisis de varianza y la prueba de Duncan (prueba de t modificada). (Cuadro 4.1, Apendice Tabla A.1). Solo hubo inhibición del crecimiento de la raíz en el tratamiento de 10^{-4} M (Cuadro 4.2).

Experimento 1.1

Cultivo de plantas en medio B (CIP), previamente incubadas en ASA.

El porcentaje de supervivencia en este experimento solo disminuyó en las plantas que estuvieron previamente incubadas en ASA 10^{-4} M con respecto al testigo (cuadro 4.3). La longitud de los tallos siguió una ligera tendencia a incrementarse al aumentar la concentración de ASA en el cual estuvieron previamente incubadas (Cuadro 4.3, Fig 2). Sin embargo en el análisis de varianza y la prueba de Duncan estas diferencias no fueron significativas. (Cuadro 4.3, Apéndice Tabla A.1). Con respecto al peso fresco, este no mostró diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, como se observa en los análisis estadísticos (Cuadro 4.3, Apéndice Tabla A.1). No hubo inhibición de la raíz en ningún tratamiento excepto en el tratamiento de 10^{-4} M (Cuadro 4.2). En este experimento se observó desarrollo de brotes axilares en todos los tratamientos con ASA en un 100%, en el testigo solo el 44% de los explantes presentaron desarrollo de brotes axilares (Cuadro 4.2, Fig 3). Hubo formación de brotes de novos en todos los tratamientos, el testigo y los explantes incubados en ASA 10^{-4} M presentaron promedio muy parecido de formación de brotes, 1 brote por explante, mientras que los otros tratamientos presentaron 3 brotes en promedio por explante. En todos los tratamientos, el porcentaje de explantes que presentaron brotación fue menor del 50%. los explantes incubados en ASA 10^{-5} M presentó el mayor porcentaje de explantes con brotes. (Cuadro 4.3, Fig 4).

CUADRO 4.1

Supervivencia, peso fresco y longitud del tallo de la incubación in vitro de yemas axilares de S. tuberosum en medio B (CIP) y ASA durante 35 días.

Tratamiento	% de supervivencia.	\bar{x} peso fresco (g \pm e.s.)	\bar{x} long del tallo (cm \pm e.s.)	% de inhibición en elongación.
ASA M				
Testigo	95	.5653 \pm .0535	4.79 \pm .90	0.00
ASA 10 ⁻⁸	95	.4792 \pm .0973	4.52 \pm .92	5.63
ASA 10 ⁻⁷	100	.4910 \pm .0447	4.10 \pm .81	14.40
ASA 10 ⁻⁶	95	.5528 \pm .1018	4.28 \pm .93	15.03
ASA 10 ⁻⁵	100	.4889 \pm .1089	4.27 \pm .87	10.80
ASA 10 ⁻⁴	80	.4329 \pm .1059	3.16 \pm .93	34.02

\bar{x} Promedio.
% Porcentaje.

CUADRO 4.2

Supervivencia, número de explantes con brotes y raíz, de vemas axilares de S.tuberosum cultivadas in vitro en presencia de ASA y medio B durante 35 días (fase I), y subcultivadas a medio B sin ASA por 35 días (fase II). Los datos son de 40 repeticiones por tratamiento.

Tratamiento ASA M	Fase 1			Fase 2		
	se/so #	No. de brotes por explante	Raíz #'	se/so. #	No. de brotes por explante	Raíz #'
Testigo	40/38	0	3	38/40	2	3
ASA 10 ⁻⁸	40/38	0	3	38/36	6	3
ASA 10 ⁻⁷	40/40	0	3	40/34	6	2
ASA 10 ⁻⁶	40/38	0	3	38/34	10	3
ASA 10 ⁻⁵	40/40	0	3	40/34	14	2
ASA 10 ⁻⁴	40/32	0	1	32/24	15	2

#Se/So. Número de explantes sembrados/numero de explantes supervivientes.

#'Medida convencional tomada para fines de este trabajo donde:

0:Representa nada de raices.

1:Representa unas cuantas raices (de 1 a 5 más o menos).

2:Representa cantidad mediana de raices (mas o menos la mitad del medio de cultivo cubierta de raices).

3:Representa muchas raices. (El medio de cultivo cubierto de raices)

CUADRO 4.3

Supervivencia, peso fresco, longitud del tallo, brotes de novg, y brotes axilares del subcultivo de explantes de S. tuberosum a medio B (CIP) por 35 días, previamente incubadas en ASA.

Tratamiento de procedencia. ASA M	% de supervivencia.	\bar{X} peso fresco (g \pm e.s)	\bar{X} long del tallo (cm \pm e.s)	\bar{X} de brotes p/ex-plante	% de explantes c/brotes de <u>novg</u>	\bar{X} de brotes axilares.	% de explantes c/brotes axilares
Testigo	78	.7668 \pm .0247	4.8 \pm .98	1.0	5.20	4.2	44
ASA 10 ⁻⁸	94	.6496 \pm .0559	4.5 \pm .95	3.0	16.60	5.6	100
ASA 10 ⁻⁷	85	.8674 \pm .0635	5.2 \pm 1.3	3.0	17.64	8.1	100
ASA 10 ⁻⁶	89	.7511 \pm .0276	5.1 \pm 1.1	2.6	29.41	5.4	100
ASA 10 ⁻⁵	85	.7582 \pm .0177	5.2 \pm 1.1	3.7	41.10	7.7	100
ASA 10 ⁻⁴	63	.6434 \pm .0502	5.3 \pm 1.0	1.0	15.62	9.2	100

\bar{X} Promedio
% Porcentaje.

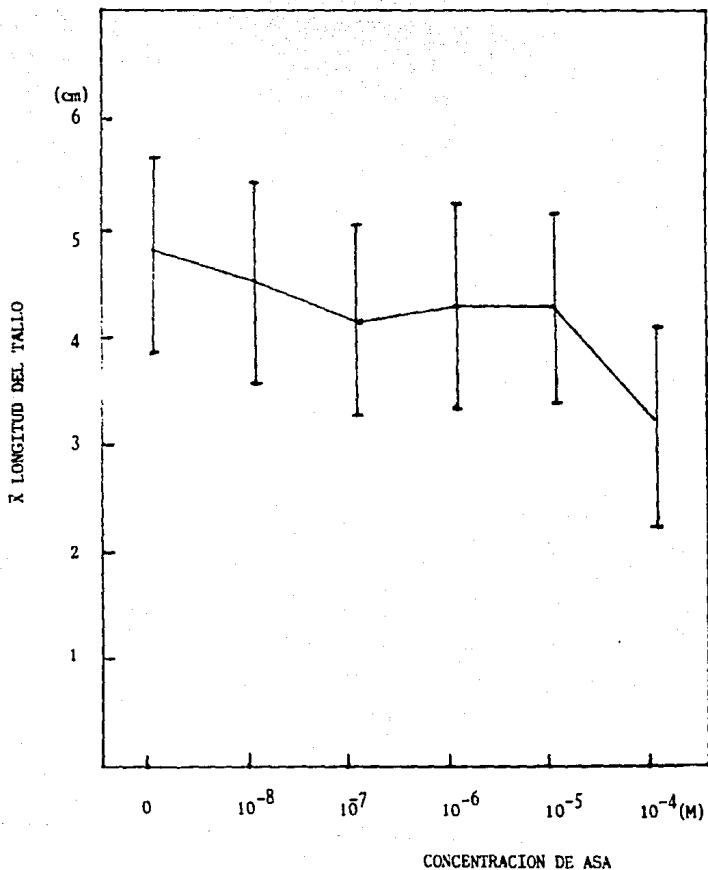


FIGURA 1

Efecto del ASA en la elongación de tallos de *S. tuberosum* cultivados *in vitro* en medio de cultivo B (CIP) por 35 días (fase I). Los datos son el promedio de 40 repeticiones por tratamiento (\pm error estándar).

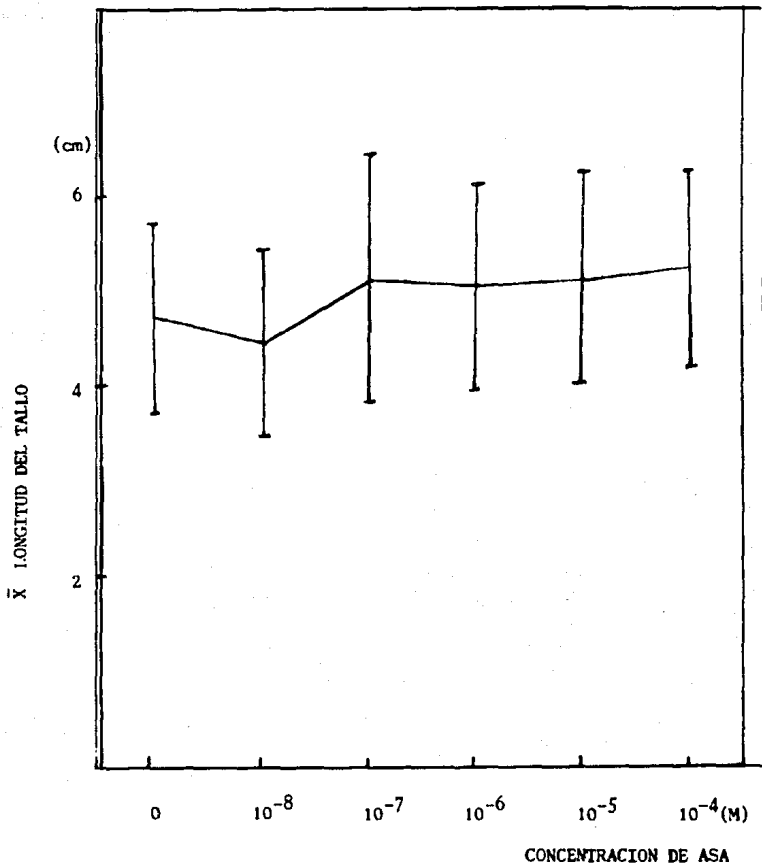


FIGURA 2

Efecto del ASA en la elongación de tallos de S. tuberosum cultivados in vitro en medio B (CIP) por 35 días (fase I) y subcultivados en medio B (CIP) sin ASA por 35 días (fase II). Los datos son el promedio de 40 repeticiones por tratamiento (\pm error estándar).

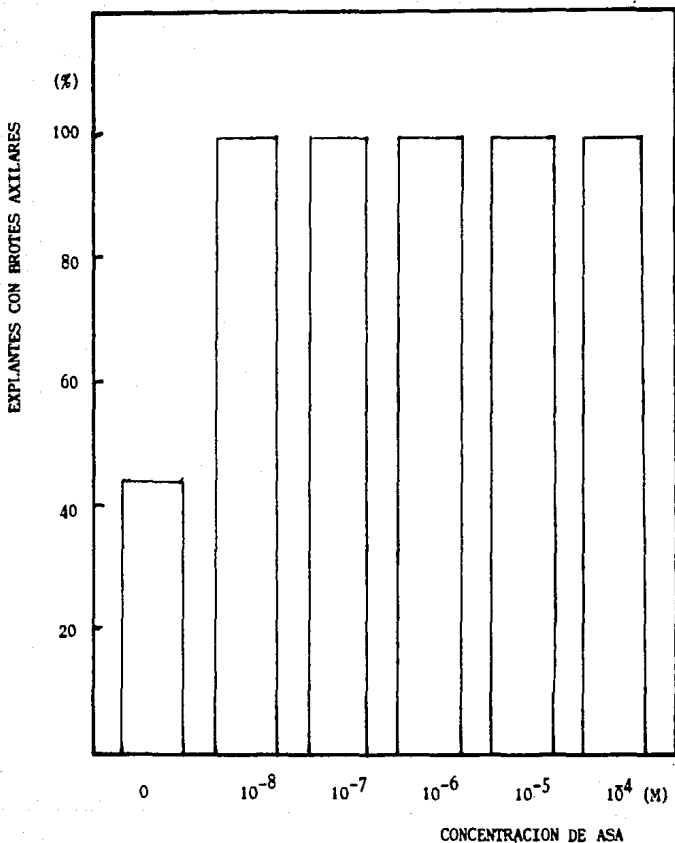


FIGURA 3
 Porcentaje de explantes con brotes axilares de *S. tuberosum* previamente incubados en ASA por 35 días (fase I), y subcultivados en ausencia de ASA en medio B (CIP) por 35 días. (fase II). Los datos son de 40 repeticiones por tratamiento.

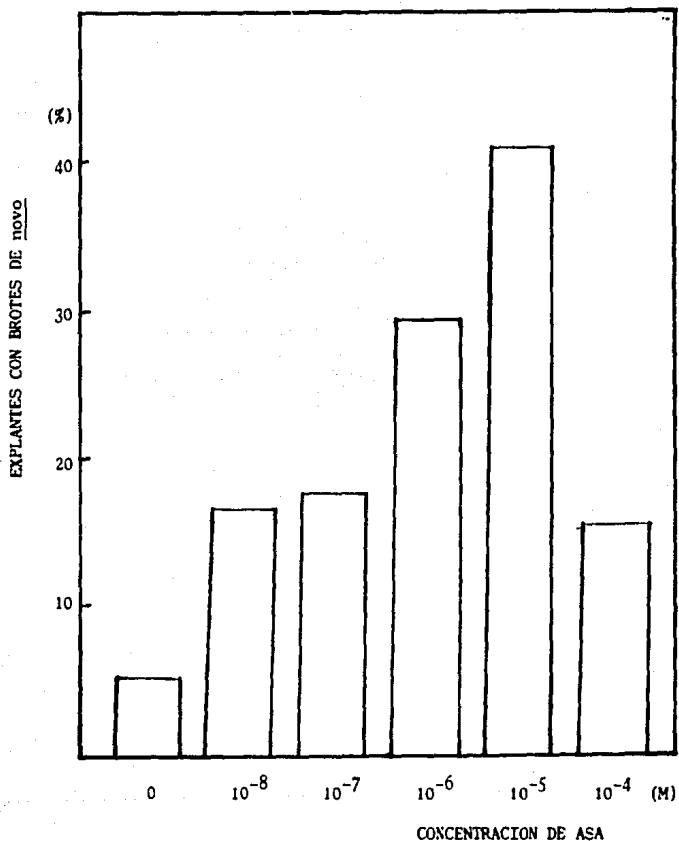


FIGURA 4

Porcentaje de explantes con brotes de novo de *S. tuberosum*, previamente incubados en ASA y medio de cultivo B (CIP) por 35 días y subcultivados a medio B (CIP) sin ASA por 35 días. Los datos son de 40 repeticiones por tratamiento.

Experimento 2.0

Efecto de diferentes concentraciones de ASA empleando medio F (CIP) en el desarrollo de yemas axilares.

La supervivencia de los explantes en este experimento no se vió afectada en ningún tratamiento con respecto al testigo (Cuadro 4.4). Con respecto al peso fresco el analisis estadístico mostro que no hay diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo la prueba de Duncan indicó que los tratamientos de 10^{-4} y 10^{-5} M si mostraron diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos, en éstos tratamientos se observó el menor peso fresco (Cuadro 4.4, Apéndice Tabla A.2). Con respecto a la longitud del tallo ésta mostro diferencias altamente significativas entre los tratamientos como lo indican las pruebas estadísticas (Apéndice Tabla A.2), se observó además que la longitud disminuye conforme se aumentó la concentración de ASA en el medio de cultivo (Cuadro 4.4). Se observó inhibición en el crecimiento de la raíz en todos los tratamientos, e inclusive en el testigo (Cuadro 4.5). Se observó formación de tubérculos en todos los tratamientos con ASA, en el testigo no hubo formación de tubérculos (cuadro 4.4). Las plantas de todos los tratamientos tuvieron poco crecimiento además de presentar clorosis.

Experimento 2.1

Cultivo de plantas en medio F (CIP) previamente incubadas en ASA.

La supervivencia no se vio afectada en ningún tratamiento con respecto al testigo (Cuadro 4.6). La longitud del tallo mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos como lo indican las pruebas estadísticas (Apendice Tabla A.2). con base al promedio obtenido de la longitud del tallo, observamos que los tratamientos incubados en ASA 10^{-4} y 10^{-5} presentaron una clara tendencia a disminuir la longitud, con respecto a los otros tratamientos y el testigo (Cuadro 4.6). El peso fresco también mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos, pero con base al promedio de éstos, se observa que no siguen ningún patrón de dosis-respuesta (Apendice Tabla A.2 Cuadro 4.6). Hubo completa inhibición del desarrollo de la raíz en todos los tratamientos (Cuadro 4.5). El número de plantas brotadas fue muy bajo, (Cuadro 4.5, Fig 5). En este experimento la respuesta más clara fue el desarrollo de tubérculos en los explantes que estuvieron previamente incubadas en ASA (Cuadro 4.4, Fig 5), alcanzando hasta un 82% de explantes con tubérculos en las plantas previamente incubadas en ASA 10^{-4} M (Cuadro 4.4, Fig 6).

CUADRO 4.4

Supervivencia, peso fresco, longitud del tallo, brotación de ovos y tubérculos de la incubación in vitro de venas axilares de S. tuberosum en medio F (CIP) y ASA durante 35 días.

Tratamiento ASA M	% de supervivencia	\bar{x} peso fresco (g \pm e.s)	\bar{x} long del tallo (cm \pm e.s)	No. de explantes con tubérculos.	% de explantes tuberizados
Testigo	85	.4695 \pm .0128	4.1 \pm 0.98	0	0.0
ASA 10 ⁻⁸	90	.3279 \pm .0984	3.2 \pm 0.90	3	8.3
ASA 10 ⁻⁷	85	.4087 \pm .0746	7.4 \pm 0.88	9	26.0
ASA 10 ⁻⁶	100	.6386 \pm .0890	7.4 \pm 0.89	9	22.5
ASA 10 ⁻⁵	95	.2841 \pm .0763	2.2 \pm 0.94	10	26.3
ASA 10 ⁻⁴	100	.1795 \pm .0263	2.0 \pm 0.79	10	25.0

\bar{x} Promedio.
% Porcentaje.

CUADRO 4.5

Número de explantes con brotes, número de plantas con tubérculos, supervivencia y raíz de venas axilares de S.tuberosum cultivadas in vitro en presencia de ASA y medio F, (fase I) y subcultivadas a medio F sin ASA (fase II). Los datos son de 40 repeticiones por tratamiento.

Tratamiento	Fase I				Fase 2			
	Se/so #	No. de explan- tes c/ brotes.	No. de explan- tes c/ tuber.	Raíz #'	se/so #	No. de explan- tes c/ brotes.	No. de explan- tes c/ tuber.	Raíz #'
Testigo	40/34	0	0	1	34/30	5	0	0
ASA 10 ⁻ 8	40/36	0	3	0	36/34	5	10	0
ASA 10 ⁻ 7	40/34	0	9	1	34/32	6	18	0
ASA 10 ⁻ 6	40/40	0	9	0	40/34	3	24	1
ASA 10 ⁻ 5	40/38	0	10	1	38/38	4	23	0
ASA 10 ⁻ 4	40/40	0	10	0	40/35	3	35	

#Se/So. Número de explantes sembrados/numero de explantes supervivientes.

#Medida convencional tomada para fines de este trabajo donde:

0:Representa nada de raíces.

1:Representa unas cuantas raíces (de 1 a 5 mas o menos).

2:Representa cantidad mediana de raíces (más o menos la mitad del medio de cultivo cubierta de raíces).

3:Representa muchas raíces. (El medio de cultivo cubierto de raíces)

CUADRO 4.6

Supervivencia, peso fresco, longitud del tallo, brotación y tubérculos del subcultivo de explantes de *S. tuberosum* a medio F (CIP) por 35 días previamente incubados en ASA.

Tratamiento ASA M	% de supervivencia.	\bar{X} peso fresco (g \pm e.s)	\bar{X} long del tallo (cm \pm e.s)	\bar{X} de explantes. c/brotos.	% de explantes. c/brotos.	% de explantes. c/tubérculos.
Testigo	88	.9224 \pm .1061	7.1 \pm 1.1	2	16.6	0.0
ASA ⁻ 8	94	.6812 \pm .0955	4.8 \pm 0.9	3	14.7	29.4
ASA ⁻ 7	94	.5476 \pm .0900	8.2 \pm 1.5	6	18.7	56.2
ASA ⁻ 6	85	.9013 \pm .1200	8.3 \pm 1.3	2	8.8	70.5
ASA ⁻ 5	100	.4229 \pm .0522	3.3 \pm 0.8	4	10.5	60.5
ASA ⁻ 4	87	.2944 \pm .0228	2.6 \pm 0.5	3	8.5	82.8

\bar{X} Promedio.
% Pcentaje.

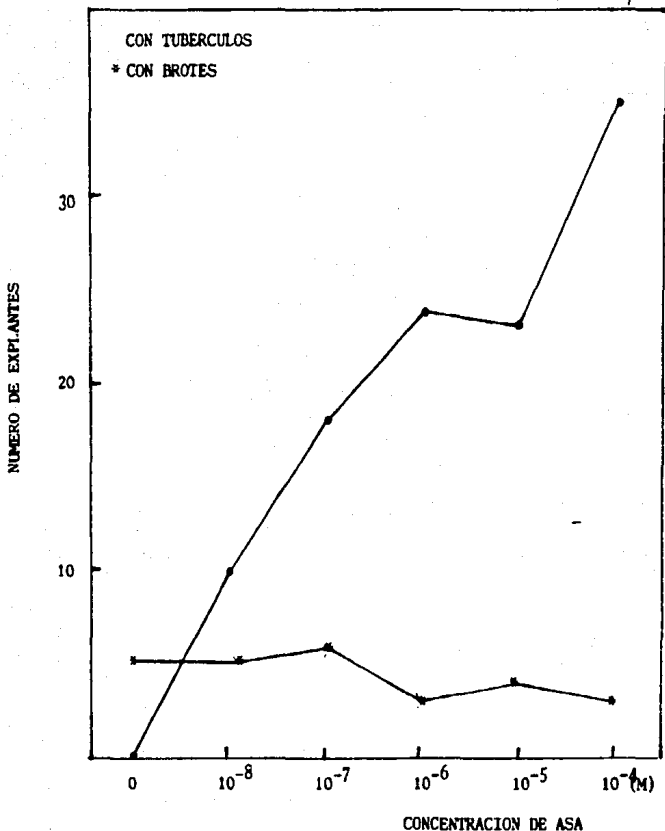


FIGURA 5

Número de explantes con brotes y número de explantes con tubérculos de *S. tuberosum* previamente incubados en ASA y medio de cultivo F (CIP) por 35 días, y subcultivados sin ASA y medio F (CIP) por 35 días. Los datos son de 40 repeticiones por tratamiento.

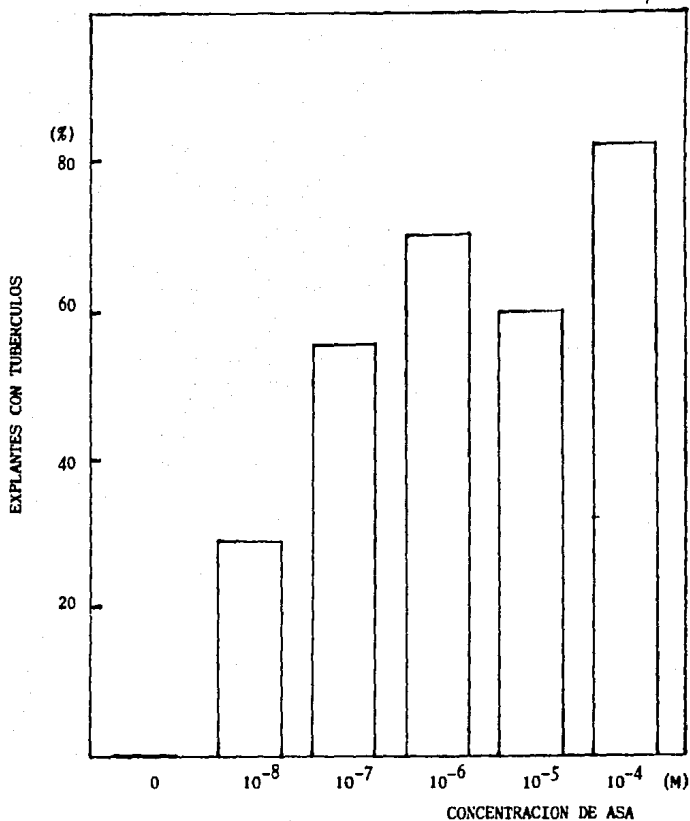


FIGURA 6
Porcentaje de explantes con tubérculos de *S. tuberosum* previamente incubados en ASA y medio F (CIP) por 35 días. Los datos son de 40 repeticiones por tratamiento.

Experimento 3.0

Efecto de diferentes medios de cultivo en el desarrollo de explantes de *S. tuberosum* previamente incubados en ASA 10^{-5} y 10^{-6} M.

En el medio G (CIP) y PG la supervivencia disminuyó conforme se aumento la concentración de ASA en el cual estuvieron previamente incubados los explantes (fase I sin ASA). En el medio WH la supervivencia no se vió afectada con respecto al testigo. En el medio MM la supervivencia disminuyó en plantas previamente incubadas en ASA 10^{-6} M y en el medio MSm en ASA 10^{-5} M (Cuadro 4.7). La longitud de los tallos en los tratamientos de los medios WH, G (CIP), y MSm no mostraron diferencias significativas como se observa en el análisis de varianza (Apendice Tabla A.3). En los tratamientos de los medios PG y MM si hubo diferencias significativas de la longitud, sin embargo, la prueba de Duncan (t Student modificada) indicó que en el medio MM, el tratamiento previamente incubados en ASA 10^{-6} M mostró diferencias significativas con respecto al testigo. En el caso del medio PG solo el tratamiento previamente incubado en ASA 10^{-5} M presentó diferencias con respecto al otro tratamiento y el testigo (Apendice Tabla A.3 Cuadro 4.7 Fig. 7), la longitud entre los tratamientos de los medios si mostró diferencias (Cuadro 4.7 Fig. 7). El peso fresco solo mostró diferencias significativas en los tratamientos incubados en el medio PG, pero solo en el tratamiento previamente incubado en ASA 10^{-6} M mostró diferencias significativas con respecto al tratamiento previamente incubado en ASA 10^{-5} M y el testigo, en todos los

otros tratamientos no hubo . diferencias significativas como lo indican las pruebas estadísticas (Apéndice Tabla A.3). El peso fresco entre los medios de cultivo si mostró diferencias entre si (Cuadro 4.7 Fig 8). En los medios PG, WH, MSm y G (CIP) se presentó brotación de novy (Cuadro 4.7, fig 9). En los tratamientos de los medios WH y G el promedio de brotes por explante fue muy bajo y no mostró diferencias significativas entre los tratamientos como se observa en el análisis de varianza (Apéndice Tabla A.3 Cuadro 4.7 Fig. 9). En el medio MSm el 100% de los explantes previamente incubados en ASA y el testigo tuvieron brotación de novy (Cuadro 4.7). En el medio PG el 100% de los explantes previamente incubados en ASA presentaron brotación, mientras que en el testigo solo el 50% de explantes presentó brotación (Cuadro 4.7), en ambos medios si hubo diferencias significativas entre los tratamientos como lo indican las pruebas estadísticas (Apéndice Tabla A.3), en estos medios se presentó el mayor promedio de brotación por explante, con respecto a los otros medios (Cuadro 4.7 Fig 9). En el medio MM solo el 10% de explantes presentaron brotación de novy en el tratamiento con ASA 10⁻⁶ M (Cuadro 4.7 Fig 9). En el medio G (CIP) el porcentaje de explantes brotados fue mayor en los tratamientos con ASA (Cuadro 4.7). En el medio WH el tratamiento de ASA 10⁻⁶ M presentó menor porcentaje de brotación con respecto al testigo y ASA 10⁻⁵ (Cuadro 4.7). Con respecto a la raíz, esta solo se inhibió en los tratamientos y el testigo del medio MM (Cuadro 4.8).

CUADRO 4.7

Supervivencia, peso fresco, longitud del tallo y brotación del subcultivo de explantes de *S. tuberosum* a diferentes medios de cultivo por 35 días, previamente incubados en ASA durante 35 días.

Trat. de procedencia con ASA, M	medio de subcultivo.	% de supervivencia.	\bar{x} peso fresco (g \pm e. s.)	\bar{x} long del tallo (cm \pm e. s.)	\bar{x} de brotes de novo por explante.	% de explantes c/ brotes
Testigo.	G CIP	90	0.9794 \pm 0.0316	12.33 \pm 1.03	1.6 \pm 0.5	16.6
ASA 10 ⁻⁶	G CIP	65	1.2144 \pm 0.0878	13.05 \pm 1.06	1.5 \pm 0.5	61.0
ASA 10 ⁻⁵	G CIP	65	0.5480 \pm 0.0209	13.12 \pm 1.50	1.5 \pm 0.5	46.0
Testigo.	PG	90	3.7586 \pm 0.8815	12.15 \pm 1.75	5.5 \pm 1.0	50.0
ASA 10 ⁻⁶	PG	75	4.6978 \pm 0.9977	11.75 \pm 1.60	11.7 \pm 1.5	100.0
ASA 10 ⁻⁵	PG	65	3.3953 \pm 0.9679	7.80 \pm 1.00	8.5 \pm 1.5	100.0
Testigo.	MM	60	0.5489 \pm 0.0742	8.33 \pm 1.06	0.0 \pm 0.0	0.0
ASA 10 ⁻⁶	MM	50	0.7295 \pm 0.1099	16.07 \pm 1.70	2.0 \pm 1.0	10.0
ASA 10 ⁻⁵	MM	60	1.1706 \pm 0.1622	11.41 \pm 1.05	0.0 \pm 0.0	0.0
Testigo.	WH	55	0.2026 \pm 0.0384	7.68 \pm 0.99	4.7 \pm 1.1	60.0
ASA 10 ⁻⁶	WH	85	0.6417 \pm 0.0485	7.05 \pm 1.00	5.0 \pm 1.0	41.0
ASA 10 ⁻⁵	WH	100	0.3212 \pm 0.0182	9.56 \pm 1.40	3.5 \pm 0.8	60.0
Testigo.	MSm	75	4.0093 \pm .9485	10.43 \pm 1.40	5.50 \pm 1.5	100.0
ASA 10 ⁻⁶	MSm	80	5.7972 \pm .8006	12.46 \pm 2.76	11.56 \pm 2.0	100.0
ASA 10 ⁻⁵	MSm	70	3.3026 \pm .4438	12.83 \pm 2.85	10.50 \pm 2.6	100.0

\bar{x} Promedio.
% Porcentaje.

CUADRO 4.8

Supervivencia, brotes y raíz y supervivencia de yemas axilares de *S. tuberosum* previamente incubadas en ASA en diferentes medios de cultivo. Los datos son de 20 repeticiones por tratamiento.

Tratamiento	Medio de cultivo	se/so *	No de explantes c/brotes	Raíz †
Testigo	G	20/18	3	1
ASA 10 ² -6	G	20/13	8	3
ASA 10 ² -5	G	20/13	6	3
Testigo	PG	20/16	9	3
ASA 10 ² -6	PG	20/15	15	3
ASA 10 ² -5	PG	20/13	16	3
Testigo	MM	20/12	0	1
ASA 10 ² -6	MM	20/10	1	1
ASA 10 ² -5	MM	20/12	0	1
Testigo	MS	20/15	15	2
ASA 10 ² -6	MS	20/16	16	2
ASA 10 ² -5	MS	20/14	14	2
Testigo	WH	20/11	4	2
ASA 10 ² -6	WH	20/17	7	3
ASA 10 ² -5	WH	20/20	12	3

*Se/So. Número de explantes sembrados/número de explantes supervivientes.

†Medida convencional tomada para fines de este trabajo donde:

0:Representa nada de raíces.

1:Representa unas cuantas raíces (de 1 a 5 más o menos).

2:Representa cantidad mediana de raíces (más o menos la mitad del medio de cultivo cubierta de raíces).

3:Representa muchas raíces. (El medio de cultivo cubierto de raíces)

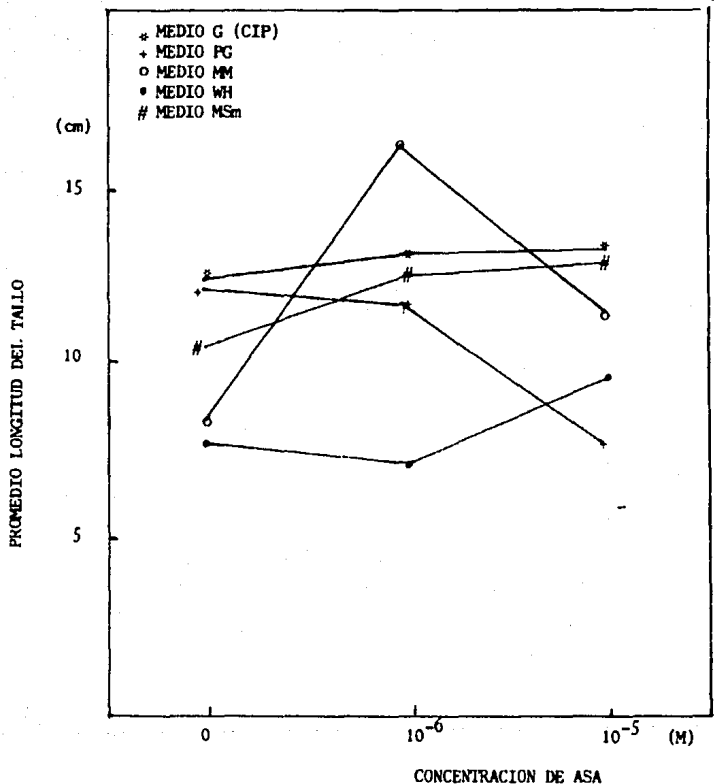


FIGURA 7

Longitud de tallos de explantes de *S. tuberosum* previamente incubados en ASA 10^{-6} y 10^{-5} M en diferentes medios de cultivo por 35 días y subcultivados sin ASA en diferentes medios de cultivo durante 35 días. Los datos son el promedio de 20 repeticiones por tratamiento.

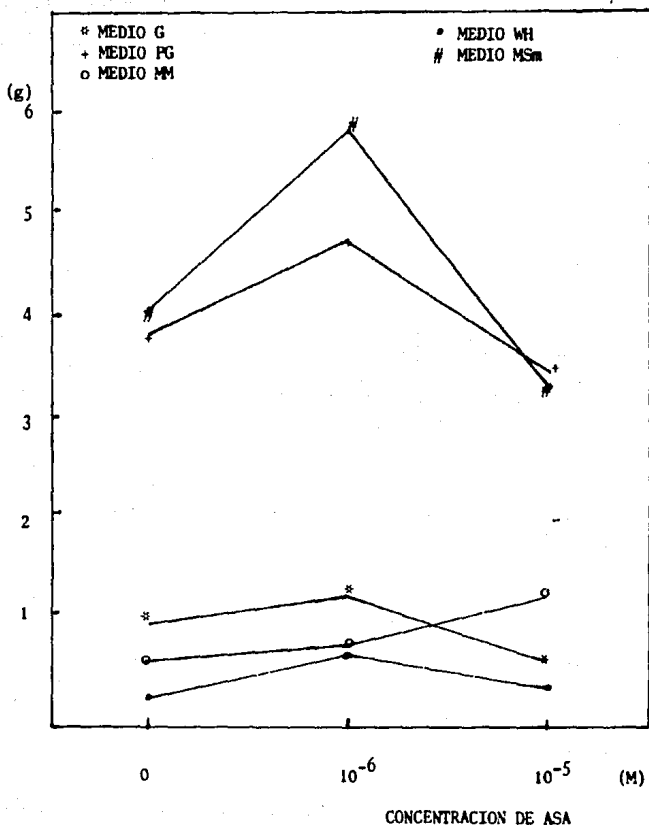


FIGURA 8

Peso fresco de explantes de *S. tuberosum* previamente incubados en ASA 10^{-6} y 10^{-5} M en diferentes medios de cultivo por 35 días y subcultivados sin ASA y diferentes medios de cultivo durante 35 días. Los datos son el promedio de 20 repeticiones por tratamiento.

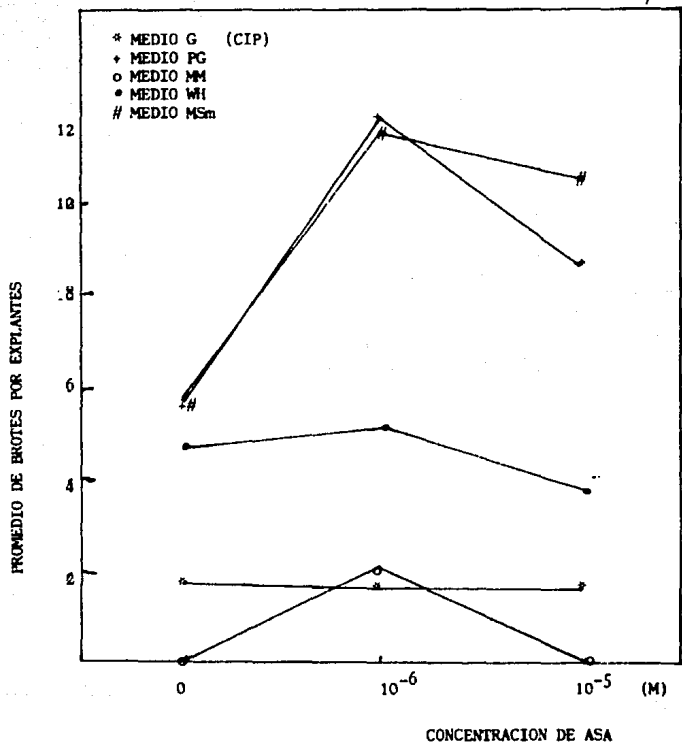


FIGURA 9

Promedio de brotes de ovo desarrollados por explantes de S. tuberosum previamente incubados con ASA en diferentes medios de cultivo por 35 días, y subcultivados sin ASA en diferentes medios de cultivo por 35 días. Los datos son el promedio de 20 repeticiones por tratamiento.

Experimento 4.0

Mantenimiento de germoplasma de papa in vitro empleando salicilatos.

Los tratamientos con ASA fueron letales para ninguno de los 7 clones empleados (Cuadro 4.9). Las plantas tratadas con ASA 10^{-5} y 10^{-6} M mostraron clara tendencia hacia una mayor longitud y peso fresco con respecto al testigo en los 7 clones (Cuadro 4.9). Las diferencias entre los tratamientos con ASA y los testigos en la longitud de los tallos fue altamente significativa, como lo muestran las pruebas estadísticas (Apendice Tabla A.5). En el caso del peso fresco solo el clon 750783 no presentó diferencias significativas entre sus tratamientos; el clon 771836 presentó diferencias significativas entre sus tratamientos, mientras que los otros clones presentaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos y los testigos (Apendice Tabla A.5 Cuadro 4.9). Los tratamientos con ASA 10^{-4} en los 2 clones empleados no mostraron diferencias significativas en la elongación de los tallos y el peso fresco, como lo muestran las pruebas estadísticas (Apendice Tabla A.6 Cuadro 5.0).

Experimento 4.1

Cultivo de plantas en medio B (CIP) previamente incubadas en ABA 10^{-4} M, bajo condiciones del Banco de Germoplasma.

La supervivencia no se vió afectada en ningún tratamiento de los 2 clones empleados con respecto al testigo (Cuadro 5.1). La longitud y el peso fresco en el clon 676087 no mostraron diferencias significativas entre el tratamiento y el testigo como se observa en el análisis de varianza (Apendice Tabla A.7). En el clon 750759 los valores de longitud del tallo y peso fresco mostraron diferencias significativas entre el tratamiento y el testigo como lo muestra el analisis de varianza (Apendice Tabla A.7). El número de explantes con brotes, así como el porcentaje de explantes con brotes fue ligeramente mayor en los tratamientos previamente incubados en ASA que en los testigos en los dos clones (Cuadro 5.1 y 5.2, Fig 10). En el análisis estadístico se muestra que si hubo diferencias significativas en el número de brotes por explante entre el tratamiento y el testigo de ambos clones (Apendice Tabla A.7). No hubo inhibición en la raíz en ningún tratamiento Cuadro 5.2). Las plantas provenientes de los testigos tuvieron mayor vigor con respecto a las plantas provenientes de ASA y se observó una tendencia a un mayor número de nudos axilares por tallo.

CUADRO 4.9

Longitud del tallo, peso fresco v supervivencia de explantes de 7 clones de *S. tuberosum*, incubados en ASA durante 10 meses bajo condiciones de Banco de Germoplasma in vitro.

TRATAMIENTO TESTIGO			
Clon	% de supervivencia.	\bar{x} de peso fresco (g \pm e.s.)	\bar{x} de long del tallo (cm \pm e.s)
750489	100	.1148 \pm .0231	2.5 \pm 0.50
676087	95	.1743 \pm .0294	3.5 \pm 0.75
676002	100	.2598 \pm .0345	2.8 \pm 0.75
750658	90	.2214 \pm .0221	3.5 \pm 0.95
750783	95	.5470 \pm .0467	4.0 \pm 1.00
750759	100	.3097 \pm .0972	3.3 \pm 0.95
771836	85	.2217 \pm .0789	2.8 \pm 0.98

TRATAMIENTO ASA 10 ⁻⁶ M			
Clon	% de supervivencia.	\bar{x} de peso fresco (gr \pm e.s)	\bar{x} de long del tallo (cm \pm e.s)
750489	95	0.6400 \pm .1010	12.3 \pm 1.89
676087	100	0.6072 \pm .0994	15.6 \pm 2.00
676002	90	1.5773 \pm .4371	15.1 \pm 1.81
750658	100	1.3870 \pm .2168	17.1 \pm 2.99
750783	100	0.8369 \pm .1784	16.5 \pm 1.76
750759	95	0.7933 \pm .0499	13.8 \pm 2.00
771836	90	1.0731 \pm .2789	13.7 \pm 2.50

TRATAMIENTO ASA 10 ⁻⁵ M			
Clon	% de supervivencia.	\bar{x} de peso fresco (g \pm e.s)	\bar{x} de long del tallo (cm \pm e.s)
750489	95	0.6416 \pm .0459	11.0 \pm 2.0
676087	95	0.6333 \pm .0378	12.8 \pm 2.5
676002	90	1.1455 \pm .1468	12.4 \pm 1.6
750658	100	0.8843 \pm .0513	13.6 \pm 2.4
750783	85	0.7104 \pm .0741	15.8 \pm 2.5
750759	90	0.6642 \pm .0921	14.3 \pm 2.6
771836	80	0.6844 \pm .0403	13.8 \pm 3.0

\bar{x} Promedio. % Porcentaje.

CUADRO 5.0

Longitud de tallo, peso fresco y supervivencia de los explantes de 2 clones de *S. tuberosum* incubados en ASA durante 7 meses bajo condiciones de banco de Germoplasma in vitro.

Clon	tratamiento de procedencia.	% de supervivencia.	\bar{x} peso fresco (g \pm e.s)	\bar{x} long tallo (cm \pm e.s)
750759	Testigo	90	.2163 \pm .0576	2.0 \pm .5
750759	ASA 10 ⁻⁴	95	.2978 \pm .0678	3.0 \pm .6
676087	Testigo	90	.2748 \pm .0146	3.0 \pm .5
676087	ASA 10 ⁻⁴	90	.3144 \pm .0966	3.6 \pm .5

CUADRO 5.1

Supervivencia, longitud de tallo, peso fresco y brotación, de explantes de *S. tuberosum* previamente incubados en ASA en condiciones de Banco de Germoplasma durante 7 meses, y subcultivadas a medio MB durante 35 días.

tratamiento de procedencia. ASA M	clon	% de supervivencia.	\bar{x} Peso fresco (gr \pm e.s)	\bar{x} long tallo (cm \pm e.s)	\bar{x} de brotes de novo por explante.	% de explantes brotados.
Testigo	750759	88.8	.6443 \pm .1071	9.6 \pm 1.50	10.4 \pm 2.1	93.7
ASA 10 ⁻⁴	750759	89.4	.4610 \pm .0794	6.7 \pm 0.50	6.8 \pm 1.8	100.0
Testigo	676087	94.4	.6949 \pm .1176	8.9 \pm 1.07	9.6 \pm 1.6	82.3
ASA 10 ⁻⁴	676087	100	.6889 \pm .1061	8.1 \pm 1.50	7.6 \pm 2.5	94.4

% Porcentaje.

\bar{x} Promedio.

CUADRO 5.2

Resultados de sobrevivencia, numero de explantes con brotes y raiz de 2 clones de *S. tuberosum*, previamente incubadas en ASA durante 7 meses en condiciones de Banco de Germoplasma, y subcultivadas a medio B durante 35 dias. Los datos son de 20 repeticiones por tratamiento.

Tratamiento de procedencia.	clon	se/so ‡	No de explantes c/brotes	Raiz ‡'
Testigo	750759	18/16	15	2
ASA 10 ⁻⁴	750759	19/17	17	2
Testigo	676087	18/17	14	2
ASA 10 ⁻⁴ M	676087	18/18	17	2

‡Se/So. Numero de explantes sembrados/numero de explantes supervivientes.

‡'Medida convencional tomada para fines de este trabajo donde:

0:Representa nada de raices.

1:Representa unas cuantas raices (de 1 a 5 más o menos).

2:Representa cantidad mediana de raices (más o menos la mitad del medio de cultivo cubierta de raices).

3:Representa muchas raices. (El medio de cultivo cubierto de raices)

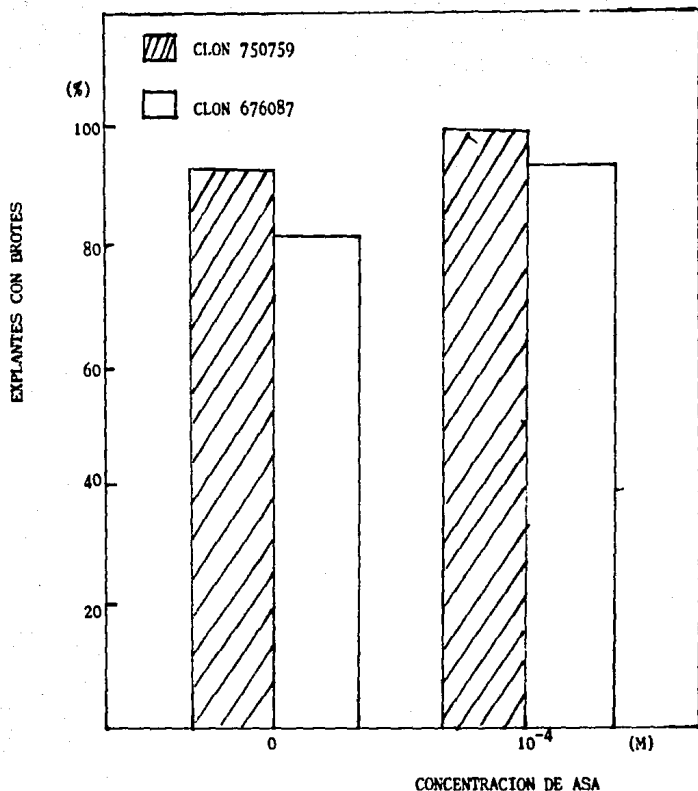


FIGURA 10
 Porcentaje de explantes con brotes de novo de S. tuberosum cultivados in vitro en medio C (CIP) y ASA 10⁻⁴ M bajo condiciones de banco de germoplasma durante 7 meses (fase I) y subcultivados a medio B (CIP) sin ASA durante 35 días (fase II). Los resultados son de 20 repeticiones por tratamiento.

Experimento 5

Inducción de tuberización in vitro empleando salicilatos.

La supervivencia no se vió afectada en ningún tratamiento con respecto al testigo (Cuadro 5.3). Respecto al peso fresco total de los tubérculos por tratamiento éste disminuyó casi a la mitad en el tratamiento de ASA 10^{-6} M con respecto al testigo (Cuadro 5.3, Fig 11). Todos los explantes de los tratamientos con ASA y el testigo presentaron tubérculos (Cuadro 5.3).

El número total de tubérculos disminuyó ligeramente en los tratamientos con ASA, siendo menor en el tratamiento 10^{-6} M (Cuadro 5.3, Fig 12).

CUADRO 5.3

Supervivencia, peso fresco y tubérculos la inducción de tuberización in vitro en venas axilares de S. tuberosum empleando ASA.

Tratamiento.	% de supervivencia	Peso total de tubérculos	No. total de tubérculos.	% de exp. tuberizados
testigo	90	6.8845	31	100
ASA 10 ⁻⁶	95	3.5483	26	100
ASA 10 ⁻⁵	100	5.0881	30	100

% Por ciento.

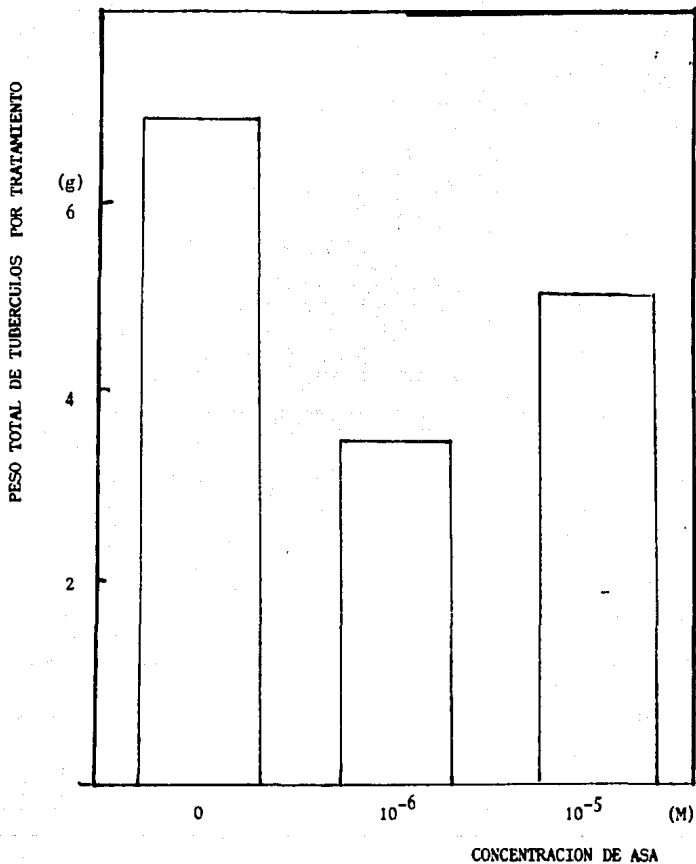
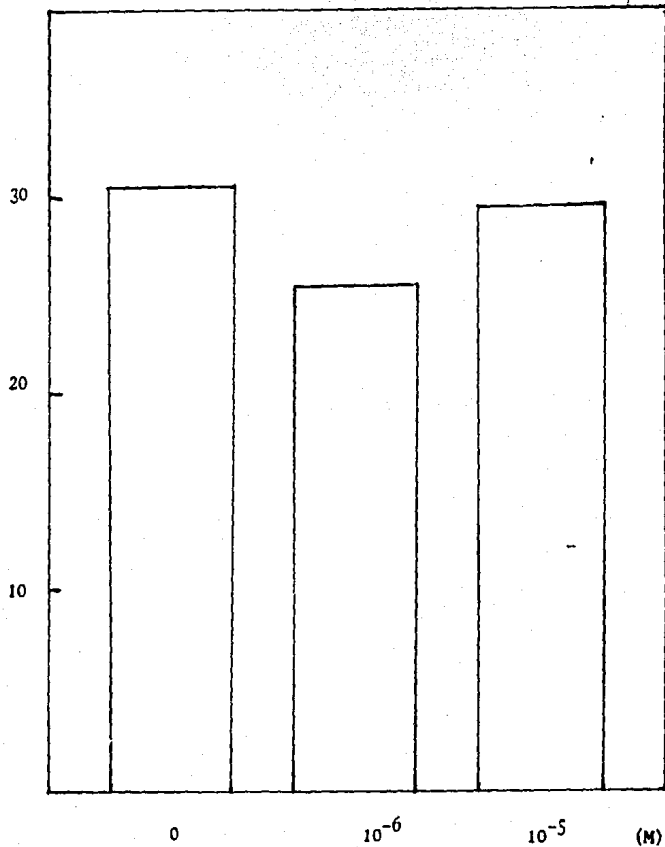


FIGURA 11

Peso total de tubérculos de explantes de *S. tuberculosis* incubados en ASA y medio T (tuberización CIP) durante 45 días. Los datos son de 40 repeticiones por tratamiento.

No. TOTAL DE TUBERCULOS POR TRATAMIENTO



CONCENTRACION DE ASA

FIGURA 12

Número total de tubérculos por tratamiento de explantes de S. tuberosum incubados en ASA en medio T (tuberización CIP) durante 45 días. Los datos son de 40 repeticiones por tratamiento.

V. DISCUSION

El papel de los salicilatos en la fisiología de los vegetales no se ha esclarecido totalmente, pero se sabe que participan en diversos procesos fisiológicos.

En esta investigación se confirmaron las hipótesis propuestas para este trabajo.

Este trabajo es la continuación de lo propuesto por López (1987) en papita güera (Solanum cardiophyllum) empleando ASA (ácido acetyl salicílico) para Solanum tuberosum.

El experimento 1.0 se hizo con el objeto de conocer si el ASA tenía algún efecto en el desarrollo de yemas axilares de S. tuberosum (fase I). La longitud de los tallos fue la única variable que presentó diferencias significativas con respecto a las otras variables evaluadas (Cuadro 4.1, Apéndice Tabla A.1 Fig 1). El experimento 1.1 se hizo con el objetivo de observar la respuesta de los explantes previamente incubados en ASA por 35 días, al ser subcultivados a medio B (CIP) sin ASA (fase II), sin embargo, aunque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos de longitud del tallo y peso fresco (como lo muestra el análisis estadístico) (Apéndice Tabla A.1), se observó formación de brotes axilares en el 100% de los explantes previamente incubados en ASA, mientras que en el testigo solo el 44% presentó dichos brotes (cuadro 4.3). Hubo brotación de novog obteniéndose 41.1% de explantes brotados con un promedio máximo de 3.7 brotes, en explantes previamente incubados en ASA 10^{-5} M (Cuadro 4.3). López (1987) reporta que obtuvo 100% de explantes

brotados con un promedio de 13 brotes. en explantes previamente incubados en ASA 10^{-5} M. el medio de cultivo empleado en ese caso fue papita güera MS modificado para *S. cardiophyllum*, que contenía IAA y BAP como balances hormonales, mientras que el empleado en este experimento solo contenía GA_3 . cabe mencionar que aunque los porcentajes de brotación y promedio no fueron los mismos, si se obtuvo brotación y en ambos casos el porcentaje y promedio más alto fue en los tratamientos previamente incubados en ASA 10^{-5} M. Se observó una ligera tendencia a aumentar el promedio de brotes axilares al incrementarse la concentración de ASA (Cuadro 4.3), siendo esta la respuesta más importante en esta fase del experimento y no la formación de brotes de novo. Los experimentos 2.0 y 2.1 se hicieron con los mismos objetivos que el experimento 1.0 y 1.1, en este caso empleando otro medio de propagación (medio de cultivo F del CIP). En el experimento 2.0 (fase I con ASA). La longitud del tallo presentó diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al testigo, siendo menor en los explantes previamente incubados en las concentraciones más altas de ASA (Apendice Tabla A.2, Cuadro 4.4). Este efecto es similar a lo reportado en otras especies, en papita güera (López, 1987), en trigo (Larque-Saavedra, 1975), lenteja (Chou y Patrick, 1976) y avena (Kimura et al, 1976). En el experimento 2.1 (fase II sin ASA) hubo diferencias significativas entre los tratamientos en longitud de los tallo y peso fresco como lo muestra el análisis de varianza y la prueba de Duncan (Apendice Tabla A.2) siendo menor en los explantes previamente incubados en ASA 10^{-4} y 10^{-5} M. (Cuadro 4.6) Hubo valores muy bajos de explantes con brotación de novo y promedio

de brotes por explantes en todos los tratamientos (Cuadro 4.6).

La respuesta más clara en este experimento fue que en ambas fases hubo tuberización, en los explantes que estuvieron incubados en ASA (fase I) y en los explantes previamente incubados en ASA (fase II) (Cuadro 4.6 Fig 5 y 6); esta respuesta no es común bajo las condiciones y el medio de cultivo utilizados en este experimento. la tuberización in vitro se obtiene aproximadamente en 3 meses de incubación (ver descripción de experimentos en materiales y métodos). en este experimento (fase I y II) se obtuvo tuberización en 35 días en el medio de propagación rutinario.

Con los resultados obtenidos en este experimento, se observó que el efecto del ASA no desaparece al subcultivarse las plantas a un medio sin ASA, esto coincide con lo propuesto por López y Carrillo (Turrialba; en prensa) que observaron un efecto del ASA remanente semejante a lo observado en la actividad fosfatasa en S. cardiophyllum. estos autores sugieren que el salicilato inhibió la actividad fosfatasa mediante la inducción de un complejo inhibitor el cual es susceptible de ser activo, aun cuando la planta ya no está en presencia del compuesto. De la misma manera pudo actuar favoreciendo la tuberización, por otro lado la tuberización se pudo favorecer por la Bencil amino purina, (BAP) que es una hormona que estimula la tuberización in vitro (Espinoza et al, 1984) aunque la concentración de BAP es menor en el medio F que en el medio I, el BAP también pudo interactuar con el ASA para favorecer la tuberización en forma sinérgica.

Con base en los resultados de estos experimentos donde se usaron diferentes medios de cultivo con las mismas concentraciones de ASA, se decidió probar las concentraciones de 10^{-6} y 10^{-5} M de ASA en los experimentos subsiguientes. En los experimentos 1.1 y 2.1 se obtuvo organogénesis de brotes, el objetivo en el experimento 3 fue optimizar esta respuesta. Se probaron diferentes medios de cultivo buscando que la interacción hormonal en la fase II favoreciera la brotación. De los experimentos anteriores se observó que el clon empleado se comporta en forma distinta dependiendo del medio de cultivo en el que se incuba. Por ejemplo, en el experimento 3 fase I en el medio MM hubo formación de callos en los tratamientos incubados con ASA y en el medio WH, las raíces presentaron una apariencia diferente a todos los otros tratamientos, muy gruesas y cortas, cada planta tenía de 2 a 3 raíces. En el experimento 2.0 y 2.1 las plantas presentaron clorosis y fueron menos vigorosas que las plantas del experimento 1.0 y 1.1.

En este experimento se observó formación de brotes de novos en los medios PG, MSm, WH y G (CIP) (Cuadro 4.7 Fig 9), pero solo los explantes incubados en los medios PG y MSm tuvieron diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, (Apéndice Tabla A.4, Cuadro 4.5 Fig 9). En los tratamientos de los medios MSm y PG previamente incubados en ASA 10^{-5} M hubo un 100% de explantes brotados: el promedio de brotes por explante (11.75 para el medio PG y 11.46 para el medio MSm) fue muy similar entre dichos medios, obteniéndose valores cercanos a los reportados para E. cardiophyllum (Lopez, 1987).

Considerando los medios de cultivo empleando en los

experimentos 1.0, 2.0 y 3.0, se observa que la inducción para la formación de brotes va a depender del medio de cultivo en el que se incubaron las yemas axilares. Posiblemente también el estrés causado por el ASA (en la fase I) pudo desencadenar una inducción de brotación, la cual se manifestó dependiendo de el balance hormonal que se encontró en la fase II (sin ASA).

De acuerdo a las características morfológicas de los brotes desarrollados en los medios MSm y PG se podrían utilizar dentro de un esquema de producción de semilla de papa. Se recomienda en este trabajo emplear el medio MSm o PG para el clon 750759.

El medio MSm y PG favorece la producción de explantes para micropropagación, siembra de microesquejes en camas de invernadero para la producción de tubérculos o plantas madres para técnicas de multiplicación acelerada.

Con base en lo observado en los experimentos 1.0, 1.1, 2.0, 2.0 y 3.0 se confirmaron las hipótesis respecto a la inhibición del crecimiento e inducción de procesos morfogenéticos.

En este trabajo se pone de manifiesto que el ASA de alguna forma está afectando la fisiología de la planta, aun cuando esta va no se encuentra en presencia del compuesto.

Con base en los resultados mencionados, los efectos del ASA en la inhibición del crecimiento (experimentos 1.0, 2.0 y 3.0) y formación de brotes de novo (experimento 3.0), se podrían explicar con la hipótesis de que el ASA puede intervenir en la actividad enzimática (Lee y Skoog, 1965; Johri, 1978). Cuando hay inhibición del crecimiento puede haber enzimas que degradan

o inactivan a las auxinas endógenas.

Lee y Skoog (1965) encontraron que el ABA indujo brotes en callos de tabaco. Concluyen que los derivados hidroxibenzoicos contribuyeron a la formación de brotes en presencia de AIA y cinetina. esto coincide con lo observado en el experimento 3.0 en el cual hubo formación de brotes en el medio PG y MSm. estos medios contenían estos balances hormonales en diferentes concentraciones. Los derivados fenólicos aceleran la destrucción del AIA, y esto favorece la acumulación de citocininas con lo cual pudo haber favorecido la brotación.

El medio F y MM contenían ANA (ácido naftalen acético). el medio F en muy baja concentración y el medio MM muy alta. sin embargo. los explantes incubados en el medio MM no presentaron brotación y los explantes incubados en el medio F presentaron valores muy bajos de brotación. por lo que quizá esta hormona no es aprovechada por este clon para el desarrollo de brotes.

La organogénesis puede ser inducida no solo por auxinas y citocininas. El ácido abscísico (ABA) promueve brotes en papa (Johri. 1978); el ABA es un inhibidor natural del crecimiento y el ASA también es un inhibidor del crecimiento (López. 1987; Larqué-Saavedra. 1981. et al). por lo tanto. el ASA podría estar actuando como el ABA según lo propuesto por estos autores.

Los aminoácidos también inducen diferenciación celular. pero los empleados en los medios de cultivo G y WH no mostraron ninguna respuesta a la brotación.

Smith y Grierson (1982) concluyen que la morfogénesis en cultivo de tejidos vegetales depende de un delicado balance entre

fitohormonas pero no se conoce su mecanismo de acción. Los resultados de los experimentos 1.0, 1.1, 2.0, 2.1 y 3.0 muestran que la respuesta de las plantas a la organogénesis va a depender de la interacción de otros reguladores como el ácido giberélico además del AIA y BAP.

El ASA también podría actuar favoreciendo la producción de etileno en las etapas iniciales del cultivo, este gas a su vez, también tiende a bajar los niveles de auxinas endógenas favoreciendo la acumulación de citocininas y la brotación (Lieberman, 1979; Van Aertrijk, 1984; Pérez-Bermudez et al, 1985; reportados por López, 1987; Huxter et al. 1981).

García y Larqué-Saavedra (1981) proponen que el ASA favorece la producción de etileno, ellos encontraron maduración de frutos con lo cual se ve apoyada esta teoría.

El experimento 4 se hizo con el objetivo de probar la potencialidad del ASA en la preservación de germoplasma in vitro de S. tuberosum. La longitud tuvo diferencias altamente significativas entre los tratamientos 10^{-5} y 10^{-6} M y los testigos (Apendice Tabla A.9 Cuadro 4.9) por lo que estas concentraciones no se consideraron útiles para mantener germoplasma de papa in vitro. En los tratamientos con ASA 10^{-4} M, la supervivencia no se vio afectada, no se observaron diferencias significativas en la inhibición de la longitud del tallo entre el los tratamientos y el testigo de los dos clones empleados. (Apendice A.6 Cuadro 5.0). Se observaron diferencias morfológicas entre los tratamientos y el testigo muy contrastantes. Los testigos fueron plantas pequeñas muy vigorosas

con nudos axilares y hojas muy juntas, las plantas de los los tratamientos con ASA presentaron plantas pequeñas con pocas venas y hojas delgadas y cloróticas. Las plantas provenientes de Banco de Germoplasma al incubarse en medio de propagación forman brotes de novo (dependiendo del clon), en este experimento los explantes tratados con ASA presentaron brotación, en dicha brotación hubo diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo (Apéndice Tabla A.7) (Cuadro 5.1). El porcentaje de explantes brotados fue superior en los explantes previamente incubados en ASA con respecto al testigo, sin embargo el promedio de brotes por explante fue superior en los testigos de ambos clones (Cuadro 5.1). Cabe mencionar que las plantas provenientes de los testigos de ambos clones se recuperaron más vigorosas que las plantas previamente incubadas en ASA. Con esto se comprueba la hipótesis de que el ASA es potencialmente útil para preservar germoplasma in vitro de B. tuberosum, pero hay que considerar que cada genotipo tiene diferente respuesta al mantenimiento en banco in vitro, ya que se ha visto que de los 300 genotipos del banco de germoplasma in vitro con que cuenta el Programa de papa algunos requieren subcultivo aproximadamente a los 6 meses, mientras otros pueden subcultivarse hasta los dos años. En futuros trabajos se podría probar el potencial del ASA en el mantenimiento de germoplasma in vitro, en un número mayor de genotipos, del Banco in vitro de el Programa de papa. Sin embargo, es importante destacar, que se observó una respuesta de alargamiento de los tallos en el experimento 2.0, 2.1 en las concentraciones de ASA 10^{-6} y 10^{-7} M y en el experimento 4.0 en las concentraciones de ASA 10^{-5} y 10^{-6} , y se observó también

que en el experimento 2.0 y 2.1 al aumentar la concentración de ASA 10^{-5} y 10^{-4} la longitud de los tallos se inhibe significativamente con respecto a los tratamientos 10^{-7} y 10^{-6} M, lo mismo paso en el experimento 4 donde al aumentar la concentración de ASA a 10^{-4} M la longitud se inhibió significativamente con respecto a los tratamientos ya empleados (Cuadro 4.4, 5.0 y 5.1). Por esta razón la respuesta de los explantes de S. tuberosum al ASA va a depender de la interacción con el medio de cultivo directamente más que de la concentración en la que se incuben los explantes. Por lo que es importante buscar la interacción entre el medio de cultivo y la concentración de ASA más optima para fines de conservación de germoplasma in vitro.

Con respecto a lo planteado en la hipótesis de que el ASA podía inducir o favorecer la tuberización in vitro, los resultados del experimento 5 apoyan dicha hipótesis, ya que en los explantes incubados en ASA se obtuvo tuberización en el 100% de los explantes tratados.

De esta manera se confirma que el ASA presenta un potencial para la tuberización in vitro de S. tuberosum en el clon 750759, sin embargo, el peso total de tubérculos por tratamiento con ASA 10^{-6} se vio disminuido hasta un 51% con respecto al testigo.

Los resultados de este experimento son comparables a los obtenidos para tuberización in vitro en S. cardiophyllum empleando ASA en el medio T del CIP (López, 1987) y en S. tuberosum, empleando el medio del CIP (Espinoza et al., 1984) utilizado aquí como testigo.

Como ya se ha mencionado el ASA pudo favorecer la producción de etileno que a su vez también participa en la inducción de la tuberización. Catchpole y Hillman (1969), consideran que el etileno puede ser importante en los estados iniciales de la tuberización, además García-Torres y Gómez-Campo (1973) proponen al etileno, como un estímulo natural para la tuberización. Sin embargo, la tuberización no solo se ve afectada por el ASA, sino que hay una interacción entre el ASA y el medio de cultivo ya que en el experimento 2.0 (con ASA) y 2.1 (sin ASA) se obtuvo tuberización en los explantes incubados en ASA y en los explantes previamente incubados en ASA.

Los siguientes resultados apoyan la hipótesis de un efecto del ASA aun cuando la planta ya no está en presencia del compuesto:

- 1.- Las plantas del experimento 2.1 se transfirieron a invernadero y se observó que los tratamientos que habían sido incubados en ASA presentaron gran cantidad de estolones aéreos, los cuales originaron tubérculos aéreos además de los subterráneos (datos no publicados en este trabajo).
- 2.- Las plantas del experimento 3.0 al ser cultivadas en invernadero tuvieron un rendimiento menor de hasta un 50% en todos los tratamientos que habían sido incubados en ASA con respecto a los testigos (datos no publicados en este trabajo).
- 3.- Se obtuvo tuberización in vitro en medio de propagación F empleando ASA en la primera fase en 35 días, también se obtuvo tuberización en estos explantes al subcultivarse en ausencia del compuesto (fase 2) (Cuadro 4.4 y 4.5).

VI. CONCLUSIONES.

Con base en los resultados obtenidos, las conclusiones principales de este trabajo fueron:

1: El ABA inhibió el crecimiento de venas axilares de Solanum tuberosum cultivadas in vitro. Dicha inhibición no siguió en la mayoría de los tratamientos un patrón de dosis respuesta.

2: El ABA favoreció en combinación con el medio de cultivo empleado los procesos que conducen a la organogénesis en esta especie.

3: El ABA es potencialmente útil en la preservación de germoplasma in vitro, así como en la producción de tubérculos in vitro.

VII. BIBLIOGRAFIA

- Abello, J.F. (1985). La papa como alternativa para una buena nutrición. (Reporte No. 56) SARH.
- Andrade, T.J. (1981). Resistencia a la sequia III: Efecto de analogos del acido salicilico sobre la transpiración de explantes de Phaseolus vulgaris L. Tesis biólogo. UNAM México.
- Baja, Y. P. S. (1981). Regeneration of plant from potato meristems freeze preserved for 24 months. Euphytica, 20, 141-145.
- Barker, L. J., & Levitan, H. (1971). Salicylates: Effect on membrane permeability of molluscan neurons. Science, 172, 1245-1247.
- Basu, R. N. (1969). Effect of auxin synergists in rooting of french bean (Phaseolus vulgaris) cuttings. Curr. Sci. 38, 533-535.
- Bentall, Y., & Cleland, Ch. F. (1982). Uptake and metabolism of (14 C) salicylic acid in Lemna gibba GA. Plant. Physiol. 70, 291-296.
- Bidwell, R.G.S. (1979). Fisiología vegetal. (2da ed.) México. D.F.: Macmillan.
- Britten, E. H. & Davison, R. J. (1979). Regulation of gene expression: Possible role of repetitive sequences. Science, 204, 1052-1057.
- Cabrera, S. J. (1980). La producción de papa en México. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México D.F.
- Catchpole, A. H., & Hillman, J. (1969). Effect of ethylene on tuber initiation in Solanum tuberosum L. Nature, 223, 1387.
- Cleland, Ch. F., & Ajami, A. (1974). Identification of the flower-inducing factor isolated from aphid honeydew as being salicylic acid. Plant Physiol. 54, 904-906.

Cleland, Ch. F., & Ben-tal, Y. (1982). Influence of giving salicylic acid for different time periods on flowering and growth in the long-day plant Lemna gibba GA. Plant Physiol. **70**, 287-290.

Collier, H.O.J. (1963). Asolitin. Scientific Am. **207**, 96-108.

Chou, C. H., & Patrick, Z. A. (1976). Identification and phytotoxic activity of compounds produced during decomposition of corn and rye residues in soil. J. Chem. Ecol. **2**, 369-387.

Cueto, M. J. (1985). Introducción y evaluación de genotipos de papa (Solanum tuberosum L.) para la región del sureste de la Sierra Madre de Chiapas. Tesis. Colegio Superior de Agricultura Tropical Agronomía, Cárdenas, Tabasco, México.

Davies, H. V. (1984). Sugar Metabolism in stolon tips of potato during early tuberization. Z. Pflanzphysiol. **1135**, 377-381.

De León, G. F. (1979). Efecto del ácido acetyl salicílico (aspirinal) sobre algunos aspectos de la fisiología estomatal de Commelina communis L. Tesis de M. en C. Colegio de postgraduados. Chapingo, México.

Delgado, M. M. (1986). Respuesta de 9 genotipos de papa (Solanum tuberosum L.) a la tuberización in vitro. Tesis Biólogo. CDPEA SEP, México.

Delgado, S.B. (1986). Mejoramiento del cultivo de la papa en México. In: "Tercer congreso Nacional de fitogenética". México. Instituto Nacional de Investigaciones agrícolas. 461-472.

Espinoza N., Estrada, R., Tovar, P., Bryan, J., Dodds, J.H. (1984). Tissue culture micropropagation, conservation, and export of potato germplasm. Socialized technology. Document 1. International Potato Center.

Espinoza N., Estrada, R., Silvia-Rodríguez, D., Tovar, P., Lizárraga, R. and Dodds, J.H. (1986). The Potato: A model crop plant for tissue culture. International Potato Center. En: Outlook on agriculture. Pergamon Press, Great Britain, **15(1)**, 21-26.

Espinoza, N. Estrada, R. Tovar, P. Bryan, J. Dodds, J.H. (1987). Tissue culture micropropagation, conservation, and export of potato germplasm. Specialized Technology. Document 1. International Potato center. 20p.

Ferroni, A. M. (1985). La economía de la papa en México: Un análisis del problema de la comercialización. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. (PRECODEPA).

García, E. T. (1982). Reguladores del crecimiento II: Efecto de aspersiones de ácido acetil salicílico sobre producción de grano en trigo (*Triticum aestivum* L. cv. Lerma Rojo). Tesis biólogo. UNAM. México.

García, P. R. & Larqué-Gaevedra, A. (1981). El efecto de los salicilatos en la maduración fisiológica de jitomate *Lycopersicon esculentum* Mill. Agrociencia. 44, 7-15.

García-Torres, L. & Gómez-Campo, C. (1973). In vitro tuberization of potato sprouts as affected by ethrel and gibberellic acid. Potato Res. 16, 73-79.

Gleasiou, K. T. (1969). Control of enzyme formation and inactivation in plants. Annual Review of Plant Physiology. 20, 63-88.

Granam, C. F. & Wareing, P.F. (1976). The developmental biology of plants and animals. (3rd. ed.) Toronto. Saunders Company.

Golbeck, J.H. & Warden, J. T. (1985). Site of salicyladoxime interaction with photosystem II. Photosynthesis Research. 6, 371-380.

Henshaw, G.G., et al. (1982). Tissue culture methods and germplasm storage. En: Plant tissue culture 1982. Proceedings Fifth International Congress Plant Tissue and Cell Culture. Japanese Assoc. for Plant Tissue Culture, Tokyo. 789-792.

Huaman, Z. (1986). Botánica sistemática y morfología de la papa. Boletín de información técnica Centro internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú.

Hurtado M. V. & Merino M. M. (1987). Cultivo de tejidos vegetales. México: Trillas.

Huxter, T. J., Thorpe, T. A. & Reid, D. M. (1981). Shoot initiation in light and dark grown tobacco callus: the role of ethylene. Physiol. Plant. 53, 319-326.

Ireland, C. R. & Goldwin, K. G. (1979). Are the in vitro effects of disalicylideneopropanediamine mediated by salicylaldehyde. Plant Physiol. 63, 1210-1211.

Jeremy, B. 1985. Patterns and organization in the whole plant. En: An introduction to plant cell development. Cambridge University Press, Cambridge London.

Johri, M.M. 1978. Regulation of morphogenesis. En: Frontiers of the plant tissue culture cap. 3. Thorpe, T.A. Ed. Int. Assoc. Plant Tissue Culture. 26-37.

Key, J.L. (1969). Hormones and nucleic acid metabolism. Ann. Rev. Plant Physiol. 20: 449-474.

Kimura, Y., Takesake, K., Takahashi, Y. & Tamura, S. (1976). Isolation, identification and biological activities of growth inhibitors in peanut. Agr. Biol. Chem. 40, 126-128.

Larqué-Saavedra, A. (1975). Studies on hormonal aspects of plant growth in relation to chemical environmental treatments. Ph. D. Thesis, London University.

Larqué-Saavedra, A. (1978). The antitranspirant effect of acetylsalicylic acid on Phaseolus vulgaris. Physiol. Plant. 43, 126-128.

Lee, T.T., and Skoog, F. (1965). Effects of substituted phenols on bud formation and growth of tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 18, 386-401.

Leasch, N., Kaiser, W. & Urbach, W. (1979). Effects of disalicylideneopropanediamines on photosynthetic electron transport of isolated spinach chloroplasts. Plant Physiology, 63, 605-608.

López D., H.A. (1981). Reguladores del crecimiento I: Efecto del ácido acetil salicílico sobre algunos componentes del rendimiento en frijol (Phaseolus vulgaris L. cv. cacahuatle). Tesis biólogo. UNAM, México.

Lopez, H., Zavala, T., Cadena, M. (1985). Obtención y conservación de genotipos de papa libres de virus. Folleto miceláneo Num 3 SARM.

Lopez, D.H.A. (1987). Efecto del ácido acetil salicílico en el crecimiento de yemas de Solanum cardiophyllum (Lindl.) cultivadas in vitro. Tesis M. en C. CP Chapingo, México.

Lopez, D.H.A & Carrillo, C.C., M. "Efecto del ácido acetil salicílico (ASA) en fosfatases de desarrollo de Solanum cardiophyllum." en prensa Ed. Turrialba.

Lopez, D.H., Cadena, H. M., Villareal, G.M. and Zavala, G.T. (1988). Banco de germoplasma in vitro del programa de papa del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Agric. Tec. Mex., 14 (1).

Maldonado, A. U. (1982). Papa, alimento base del pueblo mexicano.

Martins, I.S. & Sondani, M.R. (1984). Multiple shoot formation from shoot apex cultures of Phaseolus vulgaris L. J. Plant Physiol. 115, 205-208.

Melis, R.J. & Staden, V.J. (1984). Tubercization and hormones. Z. Pflanzenphysiol. 113, 271-283.

Mellor, F.C. & Stace-Smith, R. (1977). Virus-free potatoes by tissue culture. En: Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture. Eds. J. Reinert, and Y.P.S. Bajaj. Springer-Verlag, Berlin. 616-646.

Miller, A.R. (1984). Role of ethylene in control of regeneration. Agicell Report. 3, 42-43.

Miller, S.A. & Lipschutz, L. (1984). Potato. En: Handbook of plant cell culture. Eds. Ammirato, Evans, Sharp, Yamada. MacMillan

Mingo-Castell, A., Negm, F. B. & Smith, D. E. (1974). Effect of Carbon Dioxide and Ethylene on tubercization of isolated Potato stolon Cultured in vitro. Plant Physiol. 53, 798-801.

Montaldo, A. (1984). Cultivo y mejoramiento de la papa. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.

Morel, G. & Muller, J.F.. "La culture in vitro du méristème apical de la pomme de terre". Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 258: 5250, 1964 b.

Murashige, T. & Skoog, F. (1962). "A revised medium for rapid growth and crossays with tobacco tissue cultures". Physiology PL, 15, 473-479.

Oota, r. (1975). Short day flowering of Lemna gibba G induced by salicylic acid. Plant & Cell Physiol, 18, 95- 105.

Parsons, B.D. (1984). Papas. Manuales para educación agropecuaria. SARH. Mexico. D.F. .Ed. Trillas.

Palmer, C.E. & Barker, W.G. (1972). Changes in enzyme activity during elongation and tuberitaton of stolons of Solanum tuberosum L. cultured in vitro. Plant Cell Physiol, 13, 95-105.

Palmer, C. E. & Barker, W. G. (1973). Influence of ethylene and kinetin on tuberization and enzyme activity in Solanum tuberosum L. cultured in vitro. Ann. Bot. 37, 85- 93.

Palmer, C. E. & Smith, O. E. (1970). Effect of kinetin on tuber formation on isolated stolons of Solanum tuberosum L. cultured in vitro. Plant and Cell Physiol, 11, 303-314.

Rastovski, A. & Van Es, A. (1981). Storage of potato. Structure and chemical composition of the potato. Centre for agricultural publishing and documentation, Wageningen, Netherland.

Rendon, G. L. A. (1983). Control hormonal de la abscisión de órganos reproductivos en Phaseolus vulgaris L. cv. cacahuatón-72. Tesis de Maestría en Ciencias. Chapingo, México.

Roca, W.M., Rodriguez, J., Beltran, J., Roa, J. and Mafía, G. (1982). Tissue culture for the conservation and international exchange of germplasm. In: Plant tissue culture, 1982. Proceedings of the Fifth International Congress of plant tissue and cell culture. Japanese Assoc. Plant Tissue Culture, Tokyo. 771-772.

Salisbury, B.F. & Ross W.C. (1978). Plant Physiology. (2da.ed.). California: Wadsworth Publishing Company.

Saxena, P. K. & Rashid, A. (1980). Differentiation of bud-cells on the protonema of the moss Anoetandium thomsonii. Effect of Aspirin and Salicylic Acid. Z. Pflanzenphysiol. 99. 187-189.

Skoog & Miller. (1968). Chemical Regulation of growth and organs formation in plant tissues culture in vitro. En Molecular Control of plant growth. J.E. Fox Ed. Dickenson Publishing Co. Inc. Belmont, Cal. USA. 356 pp.

Smith, H. & Grierson, D. (1982). Determination and related Aspects of plant Development. En: The Molecular Biology of Plant Development. Botanical Monographs. 18. 517-526.

Snedecor, G. W. & Cochran, W. G. (1982). Metodos Estadisticos. (9na. ed.). Madrid, Espaha: C.E.C.S.A.

Stallknecht, G.F. (1972). Coumarin-induced tuber formation on excised shoots of Solanum tuberosum L. cultured in vitro. Plant Physiol. 50. 412-413.

Uoadhyava, M. K. (1986). Effects of salicylhidroxomate on respiration, seed germination and seedling growth in Avena fatua. Physiol. Plant. 67. 43-48.

Vázquez, C.G. (1982). Opciones para incrementar el consumo de papa y disminuir importaciones de maiz y trigo. Secretaria de Recursos Hidráulicos, Folleto de Investigación Núm. 62.

Wang, P.J. & Huang, L. C. (1976). "Beneficial effects of acticharcoal on plant tissue and organ cultures", in vitro. 12: 260-262, 1976.

Wang, P. & Hu, CH. (1982). In vitro mass tuberization and virus-free seed potato production in Taiwan. American Potato Journal. 59. 33-37.

Wareing, P.F. & Phillips, I.O.J. (1982). Growth and Differentiation in Plants. (3rd. ed). Great Britain: Pergamon Press.

Warm, E. (1980). Effect of Phytohormones and Salicylic Acid on Flowering and Stem Elongation in the Long Day Plant Hyoscyamus niger. Z. Pflanzenphysiol. 99. 325-330.

VIII. APENDICE

Elementos menores MB

H_3BO_3 (ácido bórico)	6.2 mg/l
$MnSO_4 \cdot H_2O$ (sulfato de manganeso II)	1.7 g/l
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (sulfato de Zinc)	1.0 g/l
KI (yoduro de potasio)	83.0 mg/l
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ (molibdato de sodio)	25.0 mg/l
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (sulfato de cobre II)	2.5 mg/l
$Co_2Cl \cdot 6H_2O$ (cloruro de cobalto II)	2.5 mg/l

Elementos mayores MB

Solución Madre:

NH_4NO_3 (nitrato de amonio)	16.5 g/l
KNO_3 (nitrato de potasio)	19.0 g/l
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (cloruro de calcio)	4.4 g/l
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (sulfato de magnesio)	3.7 g/l
KH_2PO_2 (fosfato monobásico de potasio)	1.7 g/l

Elementos mayores WH

$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	5 g/l
KI	2.4 g/l
KH_2PO_4	1.2 g/l
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	7.2 g/l
NH_4NO_3	1.8 g/l

Elementos mayores MM

$\text{Ca(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	5 g/l
KNO_3	1.25 g/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.25 g/l
KH_2PO_4	1.25 g/l
KCl	10 g/l
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	10 g/l

Elementos menores MM.

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	100mg/l
$\text{Zn SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	100mg/l
H_3BO_3	100mg/l
$\text{Mn SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	10mg/l
$\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3mg/l
Al Cl_3	3mg/l
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3mg/l
KI	1mg/l

Elementos mayores y menores del Medio Basico (M-B).

Para 2 litros de agua destilada.

$-\text{NH}_4\text{NO}_3$	33 g
$-\text{KNO}_3$	38 g
$-\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8.8 g
$-\text{KH}_2\text{PO}_4$	3.4 g
$-\text{H}_3\text{BO}_3$.124 g
$-\text{MnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.446 g
$(\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O})$.338 g *

-ZnSO ₄ .7H ₂ O	.172 g
(ZnSO ₄ .H ₂ O)	.122 g *
-P.I	.0166 g
-Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	.005 g
-Cu SO ₄ .5H ₂ O	.0005 g *
-Co Cl ₂ .6H ₂ O	.0005 g *

*Se recomienda preparar una solución madre concentrada de estas sustancias.

*Puede usarse en lugar del primero.

Soluciones Madre importantes para preparar los medios de cultivo, utilizados en el Programa Nacional de papa (recomendados por el CIP).

Fierro

(100 ml de solución concentrada)

Na EDTA .745 g

Fe SO₄ .7 H₂ O .55 g

El Fierro se disuelve en 20 ml de agua destilada. el EDTA se disuelve en 20 ml de agua destilada a medida que se calienta. Se mezclan las dos sustancias, se deja enfriar y se afora a 100 ml de agua destilada.

Para preparar un litro de medio de cultivo se requieren 5 ml de esta solución.

Tiamina HCl

10 mg de tiamina-HCl se disuelven en 100 ml de agua destilada.

Para preparar un litro de medio de cultivo se necesitan 10 ml de esta solución.

Inositol.

1 g de inositol se disuelve en 100 ml de agua destilada.

Para preparar un litro de medio de cultivo se necesitan 10 ml de esta solución.

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$

3.7 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ se disuelven en 100 ml de agua destilada.

Para preparar un litro de medio de cultivo se necesitan 10 ml de esta solución.

Algunas recomendaciones para disolver algunos reguladores del crecimiento.

Acido Giberélico

1.-El ácido giberélico se disuelve con agua tridestilada caliente (sin hervir).

2.- Se puede disolver en un poco de etanol y se diluye gradualmente hasta aforar a la cantidad deseada.

Bencil-amino-purina

Se disuelve en 1 ml de HCl 1N. calentar ligeramente y añadir el agua tridestilada hasta aforar a la cantidad deseada.

RESULTADOS ESTADISTICOS DE LOS DATOS OBTENIDOS DE LOS EXPERIMENTOS.

Donde: G.L. Grados de Libertad.

S.C. Suma de cuadrados.

C.M. Varianza o cuadrado medio.

L.S. Valor limite de significancia.

C.V. Coeficiente de variabilidad.

F_{exp.} F obtenida de los resultados.

F₀₅ F obtenida de tablas.

F₀₁ F obtenida de tablas.

Tabla A.1

Análisis de varianza de los datos de peso fresco y longitud del tallo de la incubación *in vitro* de venas axilares de *S. tuberosum* en Medio B (CIP) y ASA durante 35 días (fase I), y subcultivadas a medio B (CIP) sin ASA por 35 días. (fase II).

Peso fresco (fase I)

Causa	G.L.	S.C	C.M.	F _{exp.}	F ₀₅
tratamiento	5	204500.00	40900	0.92	2.29
error	105	44144.94			
total	110				

C.V. 41.79% F_{exp.} < F₀₅ no hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan (t Student multiple)

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S	
tes - ASA 10 ⁰ -4	132.0	272.76	no significativo
tes - ASA 10 ⁰ -5	76.4	320.00	no significativo
tes - ASA 10 ⁰ -6	12.5	415.00	no significativo
tes - ASA 10 ⁰ -7	74.3	357.80	no significativo
tes - ASA 10 ⁰ -8	86.1	293.10	no significativo

Longitud del tallo (fase I)

Causa	G.L.	S.C	C.M.	F _{exp.}	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	5	25.51	5.10	4.63	2.29	3.17
error	105	116.39	1.10			
total	110	141.90				

C.V. 25.09% F_{exp.} > F₀₅ F₀₁ diferencia altamente significativa

Continuación de la Tabla A.1

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedio	L.S.
tes - ASA 10 ⁰ -8	.27	.68 no significativo.
tes - ASA 10 ⁰ -6	.51	.72 no significativo.
tes - ASA 10 ⁰ -5	.52	.73 no significativo.
tes - ASA 10 ⁰ -7	.69	.76 no significativo.
tes - ASA 10 ⁰ -4	1.63	.83 significativo.
ASA 10 ⁰ -8 - ASA 10 ⁰ -4	1.36	.79 significativo.
ASA 10 ⁰ -6 - ASA 10 ⁰ -4	1.12	.77 significativo.
ASA 10 ⁰ -5 - ASA 10 ⁰ -4	1.11	.73 significativo.
ASA 10 ⁰ -7 - ASA 10 ⁰ -4	.94	.73 significativo.

Peso fresco (fase II)

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅
tratamiento	5	584481	116896.20	.4539	2.29
error	92	23689355	257492.99		
total	97	24278835			

C.V.68.75% Fexp. < F₀₅ no hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S.
tes - ASA 10 ⁰ -4	123.4	236.04 no significativo
tes - ASA 10 ⁰ -5	8.6	387.47 no significativo
tes - ASA 10 ⁰ -6	15.7	300.28 no significativo
tes - ASA 10 ⁰ -7	100.6	193.04 no significativo
tes - ASA 10 ⁰ -8	117.6	289.77 no significativo

Longitud del tallo (fase II)

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅
tratamiento	5	3.98	.079	.0358	2.37
error	91	200.43	2.202		
total	97	204.41			

C.V.29.09% F < F₀₅ no hay diferencias significativas.

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S.
ASA 10 ⁰ -4 - ASA 10 ⁰ -8	.87	1.14 no significativo

Tabla A.2

Analisis de variancia de los datos de peso fresco y longitud del tallo de la incubación in vitro de venas axilares de S. tuberosum en medio F (CIP) y ASA durante 35 dias (fase I) y subcultivadas a medio F (CIP) por 35 dias (fase II).

Peso fresco (fase I)

Causa	G.L.	S.C	C.M.	F _{exp}	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	5	1684891.4	336978.28	0.72	2.24	3.17
error	105	48771045.0	464486.14			
total	110	50455936.5				

C.V. 185% F_{exp} < F₀₅ no hay diferencia significativa

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S
ASA 10 ⁻⁶ - tes.	169.1	299.9 no significativo
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁷	229.9	311.6 no significativo
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁸	310.7	322.1 no significativo
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁵	353.7	324.8 significativo
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁴	459.1	340.6 significativo
Tes - ASA 10 ⁻⁴	290.5	334.2 no significativo

Longitud del tallo (fase I)

Causa	G.L.	S.C	C.M.	F _{exp}	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	5	559.72	111.94	23.61	2.29	3.17
error	99	469.94	4.74			
Total	104	1029.66				

C.V. 29.04 % F > F₀₅ F₀₁ si hay diferencia significativa.

Continuación de la Tabla A.2

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S	
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁷ -7	.05	.84	no significativo
ASA 10 ⁶ -6 - tes	3.35	.88	significativo
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁸ -8	4.25	.90	significativo
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁵ -5	5.17	.91	significativo
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁴ -4	5.4	.92	significativo
ASA 10 ⁷ -7 - tes.	3.3	.87	significativo
ASA 10 ⁷ -7 - ASA 10 ⁸ -8	4.2	.90	significativo
ASA 10 ⁷ -7 - ASA 10 ⁵ -5	5.12	.92	significativo
ASA 10 ⁷ -7 - ASA 10 ⁴ -4	5.35	.91	significativo
tes - ASA 10 ⁸ -8	0.9	.86	significativo
tes - ASA 10 ⁵ -5	1.8	.89	significativo
tes - ASA 10 ⁴ -4	2.0	.92	significativo
ASA 10 ⁸ -8 - ASA 10 ⁵ -5	0.9	.82	significativo
ASA 10 ⁸ -8 - ASA 10 ⁴ -4	1.1	.88	significativo
ASA 10 ⁵ -5 - ASA 10 ⁴ -4	0.2	.82	Significativo

Peso fresco (fase II)

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	5	8058728.4	1611745.7	43.36	2.29	3.17
error	100	3716634.6	37166.3			
total	105	11775363				

C.V. 30.84 % $F > F_{05}$ y F_{01} altamente significativo

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S	
ASA 10 ⁶ -6 - Tes	137.9	134.4	significativo
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁸ -8	379.1	135.1	significativo
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁷ -7	512.7	144.0	significativo
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁵ -5	637.4	141.0	significativo
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁴ -4	766.0	140.4	significativo
tes - ASA 10 ⁸ -8	240.8	132.7	significativo
tes - ASA 10 ⁷ -7	374.4	143.8	significativo
tes - ASA 10 ⁵ -5	499.5	142.8	significativo
tes - ASA 10 ⁴ -4	628.1	142.9	significativo
ASA 10 ⁸ -8 - ASA 10 ⁷ -7	133.6	130.5	significativo
ASA 10 ⁸ -8 - ASA 10 ⁵ -5	258.3	131.5	significativo
ASA 10 ⁸ -8 - ASA 10 ⁴ -4	386.9	132.7	significativo
ASA 10 ⁷ -7 - ASA 10 ⁵ -5	124.7	128.8	no significa.
ASA 10 ⁷ -7 - ASA 10 ⁴ -4	253.3	132.7	significativo
ASA 10 ⁵ -5 - ASA 10 ⁴ -4	128.6	120.0	significativo

Continuación de la Tabla A.2

Longitud del tallo (fase II)

Causa	G.L.	S.C	C.M	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
Tratamiento	5	559.72	559.72	111.94	23.61	2.29
error	99	469.94	46.94	4.74		
total	104	1029.66				3.17

C.V. 39.58% $F > F_{05}$ F_{01} diferencia altamente significativa

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁷	.12	1.4 no significativo
ASA 10 ⁻⁶ - tes	1.22	1.6 no significativo
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁸	3.52	1.5 significativo
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁵	4.9	1.5 significativo
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁴	5.7	1.6 significativo
ASA 10 ⁻⁷ - tes	1.1	1.5 no significativo
ASA 10 ⁻⁷ - ASA 10 ⁻⁸	3.4	1.5 significativo
ASA 10 ⁻⁷ - ASA 10 ⁻⁵	4.8	1.5 significativo
ASA 10 ⁻⁷ - ASA 10 ⁻⁴	5.6	1.6 significativo
tes - ASA 10 ⁻⁸	2.3	1.5 significativo
tes - ASA 10 ⁻⁵	3.7	1.5 significativo
tes - ASA 10 ⁻⁴	4.5	1.6 significativo
ASA 10 ⁻⁸ - ASA 10 ⁻⁵	1.4	1.4 significativo
ASA 10 ⁻⁸ - ASA 10 ⁻⁴	2.2	1.4 significativo
ASA 10 ⁻⁵ - ASA 10 ⁻⁴	0.73.7	1.3 significativo

Tabla A.3

Análisis de varianza de los datos de peso fresco y longitud del tallo de la incubación in vitro de yemas axilares de S. tuberosum en diferentes medios de cultivo durante 35 días, previamente incubados en ASA por 35 días.

Peso fresco explantes incubados en medio WH

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	1636887.6	818443.8	2.451	3.15	4.98
error	51	17029355	333908.92			
total	53	18666243				

C.V.143% $F < F_{05}$ no hay diferencia significativa.

Continuación de la Tabla A.3

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁶ -5	320.5	416.85 no significativo
ASA 10 ⁶ -6 - tes	439.1	515.0 no significativo

Longitud del tallo explantes incubados en medio WH

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	76.96	38.48	2.5	3.15	4.98
error	51	782.75	15.34			
total	53	859.71				

C.V. 47.18% $F < F_{05}$ no hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S
ASA 10 ⁶ -5 - tes	1.18	3.3 no significativo
ASA 10 ⁶ -5 - ASA 10 ⁶ -6	2.51	2.8 no significativo

Peso fresco de explantes incubados en Medio PG

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	10369856	51849228	4.53	3.32	5.39
error	35	39994354	1142701.5			
total	37	50364410				

C.V. 26.99% $F > F_{05}$ si hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S
ASA 10 ⁶ -6 - tes	939.2	831.8 significativo
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁶ -5	1302.5	982.9 significativo
ASA 10 ⁶ -6 - ASA 10 ⁶ -8	363.3	879.2 significativo

Longitud del tallo de explantes incubados en medio PG

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	130.01	65.00	5.58	3.32	5.39
error	35	407.19	11.63			
total	37	537.2				

C.V. 31.34 $F > F_{05}$ si hay diferencia significativa.

Continuación de la Tabla A.3

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S	"
tes - ASA 10 ⁻⁵	.4	2.6	no significativo
tes - tes	4.35	2.9	significativo
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁵	3.95	2.9	significativo

Peso fresco de explantes incubados en medio G

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	2894895.9	1447448	1.66	4.08	7.31
error	40	34679455	866986.38			
total	43					

C.V. 104.4 F < F₀₅ no hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S	"
ASA 10 ⁻⁶ - tes	1019.0	681.5	significativo
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁵	1450.4	772.6	significativo
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁸	431.4	681.5	no significativo

Longitud del tallo de explantes incubados en medio G

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F	F
tratamiento	2	3.12	1.56	.119	3.23	5.18
error	41	537.58	13.03			
total	43	540.70				

C.V. 27.1 % F < F₀₅ no hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S	"
ASA 10 ⁻⁵ - ASA 10 ⁻⁶	.07	2.8	no significativo
ASA 10 ⁻⁵ - tes	.79	2.7	no significativo

Peso fresco de explantes incubados en medio MSm

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	3761048	1880524	1.147	3.23	5.18
error	43	70464146	1638701.1			
total	45	74225194				

C.V. 35.1% F < F₀₅ no hay diferencia significativa.

Continuación de la Tabla A.3

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S
tes - 10 ⁻⁶	386.1	926.2 no significativo
tes - 10 ⁻⁵	706.4	989.8 no significativo

Longitud del tallo de explantes incubados en medio MSm

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	50.53	25.26	1.8	3.23	5.18
error	43	600.96	13.97			
total	45	651.49				

C.V. 31.34% $F < F_{05}$ no hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S
ASA 10 ⁻⁵ - ASA 10 ⁻⁶	0.37	2.68 no significativo
ASA 10 ⁻⁵ - tes	2.4	2.87 no significativo

Peso fresco de explantes incubados en medio MM

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	1912699	956349.5	1.53	2.56	3.75
error	28	17491026	624679.5			
total	30	19403725				

C.V. 91.7 $F < F_{05}$ no hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S
ASA 10 ⁻⁵ - ASA 10 ⁻⁶	441.1	765.3 no significativo
ASA 10 ⁻⁵ - tes	540.7	692.2 no significativo
ASA 10 ⁻⁶ - tes	99.5	765.3 significativo

Longitud del tallo de explantes incubados en medio MM

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	265.08	132.5	3.53	2.56	3.75
error	28	1049.34	37.47			
total	30	1314.42				

C.V. 54.3 $F > F_{05}$ si hay diferencia significativa.

Continuación de la Tabla A.3

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de medias	L.S
ASA 10 ¹¹ -5 - ASA 10 ¹¹ -6	.37	2.68 no significativa
ASA 10 ¹¹ -5 - tes	2.4	2.87 no significativa

Tabla A.4

Análisis de varianza de los datos de promedio de brotes de novo por explante de la incubación in vitro de yemas axilares de S. tuberosum en diferentes medios de cultivo, previamente incubados en ASA.

Medio de procedencia WH

Causa	G.L.	S.C	C.M.	F _{exp.}	F _{CS}	F _{CI}
tratamiento	2	13.18	6.59	2.9	3.35	5.49
error	27	61.52	2.27			
total	29	74.70				

C.V. 36.7 % $F < F_{CS}$, no hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de medias	L.S
ASA 10 ¹¹ -6 - ASA 10 ¹¹ -5	.5	1.84 no significativa
ASA 10 ¹¹ -6 - tes	1.5	1.57 no significativa

Medio de procedencia G

Causa	G.L.	S.C	C.M.	F _{exp.}	F ₀₅
tratamiento	2	.24	.12	.28	5.99
error	14	6.00	.42		
total	16	6.24			

C.V. 42.63 $F < F_{05}$, no hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de promedios	L.S
tes - ASA 10 ¹¹ -6	.1	.82 no significativa
tes - ASA 10 ¹¹ -5	.1	.83 no significativa

Continuación de la Tabla A.4

Medio de procedencia		PG				
Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F_{05}	F_{01}
tratamiento	2	374.1	187.05	23	3.32	5.39
error	31	251.9	8.12			
total	33	626.0				

C.V. 36.5 $F > F_{05}$ si hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de medias	L.S.
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁵	3	2.65 significativa
ASA 10 ⁻⁶ - tes	6	3.04 significativa
ASA 10 ⁻⁵ - tes	3	2.65 significativa

Medio de procedencia MSM

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F_{05}	F_{01}
tratamiento	2	369.98	184.99	22.3	3.23	5.18
error	44	364.25	8.27			
total	46	734.23				

C.V. 31.8 $F > F_{05}$ si hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	L.S.
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁵	1	2.07 No significa.
ASA 10 ⁻⁶ - tes	6	2.14 significativa
ASA 10 ⁻⁵ - tes	5	2.07 significativa

Tabla A.5

Análisis de varianza de longitud del tallo y peso fresco de 7 clones de *S. tuberosum* cultivados *in vitro* con ASA en condiciones de banco de germoplasma durante 10 meses.

Peso fresco clon 75065B

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F_{05}	F_{01}
tratamiento	2	7141715	3570857.5	20.4	3.35	5.49
error	27	4810280	178158.52			
total	29	11951995				

C.V. 49.7 $F > F_{05}$ F_{01} diferencia altamente significativa.

Continuación de la Tabla A.5

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de medias	L.S	"
ASA 10 ⁻⁶ - tes	1166.2	398.9	significativa
ASA 10 ⁻⁵ - tes	663.0	398.0	significativa

Peso fresco clon 77183b

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	3074659	1537329.5	3.48	3.42	
error	23	10152805	441426.3			
total	25	13227464				

C.V. 103.18% $F > F$ si hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de medias	L.S	
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁵	388.71	505.7	significativo
ASA 10 ⁻⁶ - tes	851.3	851.3	significativo
ASA 10 ⁻⁵ - tes	462.6	462.6	No significativo

Peso fresco clon 676002

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	8675389.3	4337694.7	9.63	3.39	5.53
error	26	11701436.0	450055.2			
total	28	20376825.0				

C.V. 68.8% $F > F_{05}$, F_{01} diferencia altamente significativa.

Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de medias	L.S	
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁵	432.1	632.5	no significativo
ASA 10 ⁻⁶ - tes	1317.9	665.1	significativo
ASA 10 ⁻⁵ - tes	885.7	617.3	significativo

Peso fresco clon 750489

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	1962977	981488.5	56.04	3.34	5.45
error	28	490308	17511			
total	30	734.23				

C.V. 29.1 $F > F_{05}$, F_{01} diferencia altamente significativa.

Continuación de la Tabla A.5
Prueba de Duncan

Tratamiento	diferencia de medias	L.S.
ASA 10 ⁰ -5 - ASA 10 ⁰ -6	1.6	121.3 no significativo
ASA 10 ⁰ -5 - tes	526.8	123.9 significativo
ASA 10 ⁰ -6 - ASA 10 ⁶ -3	525.2	118.2 significativo

Peso fresco clon 676087

Causa	G.L.	S.C.	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	1329551.3	664775.6	7.77	3.35	5.49
error	27	2307804.9	85474.25			
total	29	3637356.3				

C.V. 6.1% $F > F_{05}$, F_{01} diferencia altamente significativa.

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	L.S.
ASA 10 ⁰ -5 - ASA 10 ⁰ -6	26	269.0 no significativa
ASA 10 ⁰ -5 - tes	458.9	282.9 significativa
ASA 10 ⁰ -6 - ASA 10 ⁰ -5	432.9	269.0 significativa

Peso fresco clon 750783

Causa	G.L.	S.C.	C.M.	Fexp.	F ₀₅
tratamiento	2	312460.81	156230.41	2.05	3.42
error	23	1745179.1	75877.35		
total	25	2057639.9			

C.V. 38.7% $F < F_{05}$ no hay diferencia significativa.

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	L.S.
ASA 10 ⁰ -6 - ASA 10 ⁰ -5	126.5	260.0 no significativa
ASA 10 ⁰ -6 - tes	289.9	298.9 no significativa

Peso fresco clon 750759

Causa	G.L.	S.C.	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	1175260.2	587630.1	5.60	3.37	5.53
error	26	2725821.4	104839.28			
total	28	3901081.4				

C.V. 54.0% $F > F_{05}$, F_{01} diferencia altamente significativa.

Continuación de la Tabla A.5
Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	L.S	
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁵	129.1	297.9	no significativa
ASA 10 ⁻⁶ - tes	483.9	321.0	significativa
ASA 10 ⁻⁵ - tes	354.8	305.3	significativa

Longitud del tallo 750658

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	994.57	497.2	73.11	3.34	5.45
error	28	190.4	6.8			
total	30	1184.97				

C.V. 22.6% $F > F_{05}$, F_{01} diferencia altamente significativa.

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	L.S	
ASA 10 ⁻⁶ - ASA 10 ⁻⁵	3.4	2.3	significativa
ASA 10 ⁻⁶ - tes	13.1	2.5	significativa
ASA 10 ⁻⁵ - tes	10.1	2.3	significativa

Longitud del tallo clon 771836

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	E	F
tratamiento	2	703.37	351.68	13.08	3.42	5.66
error	23	618.38	26.88			
total	25	1321.75				

C.V. 51.9% $F > F_{05}$, F_{01} diferencia altamente significativa.

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	L.S	
ASA 10 ⁻⁵ - ASA 10 ⁻⁶	.2	5.2	no significativa
ASA 10 ⁻⁵ - tes	11.0	5.4	significativa
ASA 10 ⁻⁶ - tes	10.8	5.0	significativa

Longitud del tallo clon 676002

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F	F
tratamiento	2	811.49	405.7	30.27	3.37	5.53
error	26	350.26	13.46			
total	28	1161.75				

C.V. 36.7% $F > F_{05}$, F_{01} diferencia altamente significativa.

Continuación de la Tabla A.5

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	L.S	
ASA 10 ⁰⁰ -6 - ASA 10 ⁰⁰ -5	2.76	3.45	no significativa
ASA 10 ⁰⁰ -6 - tes	12.36	3.6	significativa
ASA 10 ⁰⁰ -5 - tes	9.6	3.3	significativa

Longitud del tallo cion 750489

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	606.82	303.41	26.87	3.33	5.42
error	29	327.51	11.29			
total	31	934.33				

C.V. 39.2% $F > F_{05}$ F_{01} diferencia altamente significativa.

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	L.S	
ASA 10 ⁰⁰ -6 - ASA 10 ⁰⁰ -5	1.31	2.99	no significativa
ASA 10 ⁰⁰ -6 - tes	9.71	3.52	significativa
ASA 10 ⁰⁰ -5 - tes	8.4	2.99	significativa

Longitud del tallo cion 676087

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	800.34	400.17	30.4	3.35	5.49
error	27	355.36	13.16			
total	29	1155.7				

C.V. 34.6% $F > F_{05}$ F_{01} diferencia altamente significativa.

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	L.S	
ASA 10 ⁰⁰ -6 - ASA 10 ⁰⁰ -5	2.8	3.3	no significativa
ASA 10 ⁰⁰ -6 - tes	12.1	3.4	significativa
ASA 10 ⁰⁰ -5 - tes	9.3	3.3	significativa

Longitud del tallo cion 750783

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	744.51	372.2	31.04	3.44	5.72
error	22	263.05	11.9			
total	24	1007.56				

C.V. 27.1% $F > F_{05}$ F_{01} diferencia altamente significativa.

Continuación de la Tabla A.5

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	DMS	"
ASA 10 ⁻⁵ - ASA 10 ⁻⁶	2.6	3.3	no significativa
ASA 10 ⁻⁵ - tes	13.0	3.6	significativa
ASA 10 ⁻⁶ - tes	10.4	3.6	significativa

Longitud del tallo clon 750759

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	2	720.76	360.38	43.5	3.37	5.53
error	26	215.02	8.27			
total	46	935.78				

C.V. 16.27% $F > F_{05}$, F₀₁ diferencia altamente significativa.

Prueba de Duncan.

Tratamiento	diferencia de medias	L.S	"
ASA 10 ⁻⁵ - ASA 10 ⁻⁶	.5	1.6	no significativa
ASA 10 ⁻⁵ - tes	11.0	1.7	significativa
ASA 10 ⁻⁶ - tes	10.5	1.6	significativa

Tabla A.6

Análisis de varianza de longitud y peso fresco de 2 clones de *S. tuberosum* cultivados *in vitro* con ASA 10⁻⁴ M en condiciones de banco de germoplasma durante 7 meses.

Peso fresco clon 750759

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	1	59743.49	59743.47	4.1	4.17	
error	34	475648.47	13989.66			
total	35	534391.96				

C.V. 45.6 % $F < F_{05}$ no hay diferencia significativa.

Peso fresco clon 676087

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	F ₀₅	F ₀₁
tratamiento	1	4149.64	4149.64	.324	4.17	7.56
error	32	409641.46	12801.29			
total	33	413791.1				

C.V. 39.4 % $F < F_{05}$ no hay diferencia significativa.

Continuación de la Tabla A.6

Longitud del tallo clon 750759

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Exp.	F_{05}	F_{01}
tratamiento	1	146.79	146.79	3.3	4.17	7.56
error	34	1474.90	43.37			
total	35	218.41				

C.V. 4.8 % $F > F_{05}$ F_{01} no hay diferencia significativa.

Longitud del tallo clon 676087

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Exp.	F_{05}	F_{01}
tratamiento	1	3.22	3.22	3.7	4.17	7.56
error	32	27.78	.868			
total	33	31.00				

C.V. 28.0 % $F < F_{05}$ no hay diferencia significativa.

Tabla A.7

Análisis de varianza de peso fresco, longitud del tallo, y brotación de 2 clones de S.tuberosum, previamente incubados en ASA 10⁻⁴ M en condiciones de banco de germoplasma durante 7 meses y subcultivados a Medio B (CIP) por 35 días.

Peso fresco clon 750759

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Exp.	F_{05}
tratamiento	1	4576.8	4576.8	4.76	4.17
error	31	29768.94	960.28		
total	32	34345.74			

C.V. 25.3 % $F < F$ si hay diferencia significativa.

Peso fresco clon 676087

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Exp.	F_{05}	F_{01}
tratamiento	1	4358.99	4358.99	2.7	4.17	7.56
error	32	50989.46	1593.42			
total	33	55348.45				

C.V. 38.9 % $F < F_{05}$ no hay diferencia significativa.

Continuacion de la Tabla 4.7

Longitud del tallo clon 750759

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	$F_{0.5}$	$F_{0.1}$
tratamiento	1	3.22	3.22	5.6	4.17	7.56
error	32	17.78	.573			
total	33	21.0				

C.V. 33.3 % $F < F_{0.5}$ si hay diferencia significativa.

Longitud del tallo clon 676087

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	$F_{0.5}$	$F_{0.1}$
tratamiento	1	4.63	4.63	3.10	4.17	7.56
error	32	47.96	1.49			
total	33	52.59				

C.V. 28.9 % $F < F_{0.5}$ no hay diferencia significativa.

Brotos promedio clon 750759

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	$F_{0.5}$	$F_{0.1}$
tratamiento	1	26.46	26.46	6.9	4.17	7.56
error	30	114.79	3.8			
total	31	141.25				

C.V. 43.8 % $F < F_{0.5}$ si hay diferencia significativa.

Brotos promedio clon 676087

Causa	G.L.	S.C	C.M.	Fexp.	$F_{0.5}$	$F_{0.1}$
tratamiento	1	13.18	13.18	4.49	4.17	7.56
error	29	85.06	2.93			
total	30	98.24				

C.V. 34.5 % $F < F_{0.5}$ si hay diferencia significativa.