

51
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"

**EFFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES
DE AIB Y ANA EN EL ENRAIZAMIENTO EN
TIERRA DE BROTES DE FRAMBUESA ROJA
CULTIVADOS** in vitro.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO AGRICOLA

P R E S E N T A :

ADELA RODRIGUEZ GOMEZ



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.

C O N T E N I D O

	PAGINA
LISTA DE CUADROS	iii
LISTA DE TABLAS	iii
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	2
III. REVISION DE LITERATURA	4
1. Propagación <i>in vitro</i>	4
1.1 Generalidades	4
1.2 Etapas de la micropropagación o cultivo de tejidos	6
1.2.1 Establecimiento del cultivo aséptico	6
1.2.2 Multiplicación del propágulo o proliferación	6
1.2.3 Enraizamiento	6
1.2.4 Etapa <i>in vivo</i>	7
2. Factores que influyen en el enraizamiento	8
2.1 Auxinas	8
2.2 Luz	10
2.3 Temperatura	11
3. Enraizamiento directo de brotes en suelo	12
4. Conclusiones de la revisión de literatura	20
IV. MATERIALES Y METODOS	22
1. Tratamientos	23
2. Preparación de las soluciones	23

	PAGINA
3. Cama de enraizamiento	24
4. Transplante	24
5. Diseño experimental	27
6. Toma de datos	28
7. Análisis de datos	29
V. RESULTADOS Y DISCUSION	30
1. Selección 4	30
2. Selección 5	33
3. Selección 8	35
VI. CONCLUSIONES	46
VII. SUGERENCIAS	47
VIII. BIBLIOGRAFIA	48

LISTA DE CUADROS

NUMERO		PAGINA
1	Algunas características de las selecciones de frambuesa roja, utilizadas en el enraizamiento de brotes en suelo . . .	22
2	Concentración de AIB, ANA y Rootone utilizados como enraizadores	23
3	Procedimiento durante el período de enraizamiento	26

LISTA DE TABLAS

NUMERO		PAGINA
I	Prueba de separación de medias de porcentaje de enraizamiento, longitud de raíz, número de raíces y número de hojas en la Selección 4, para cada uno de los tratamientos	38
II	Prueba de separación de medias de porcentaje de enraizamiento, longitud de raíz, número de raíces y número de hojas en la selección 5, para cada uno de los tratamientos	39
III	Prueba de separación de medias del porcentaje de enraizamiento, longitud de raíz, número de raíces y número de hojas en la selección 8, para cada uno de los tratamientos	40
IV	Comparación de medias del porcentaje de enraizamiento en las 3 selecciones de frambuesa en cada uno de los 6 tratamientos	41

TABLA NUMERO		PAGINA
V	Comparación de medias de longitud de raíz de las 3 selecciones de frambuesa roja en cada uno de los tratamientos	42
VI	Comparación de medias del número de raíces de las 3 selecciones probadas, en cada uno de los 6 tratamientos.	43
VII	Comparación de medias del número de hojas de las 3 selecciones probadas en cada uno de los 6 tratamientos	44
VIII	Porcentaje (%) de sobrevivencia en el trasplante a vasos de unicel (número 12) de 3 selecciones de frambuesa roja variedad Malling Exploit en cada uno de los 6 tratamientos	45

I. RESUMEN

Hasta la fecha el enraizamiento directamente en suelo de brotes obtenidos *in vitro* ha sido poco estudiado, a pesar de que es una forma de reducir costos y tiempo en la producción masiva de plantas, con objeto de acelerar este proceso se pusieron a enraizar brotes de frambuesa roja (*Rubus idaeus*) obtenidos *in vitro*; en charolas conteniendo suelo esterilizado. Tres selecciones del cv Malling Exploit fueron sometidas a 6 tratamientos en inmersión por 10 segundos, antes de ser transplantadas, en las siguientes soluciones:

1. AIB 25 ppm
2. AIB 50 ppm
3. ANA 25 ppm
4. ANA 50 ppm
5. Enraizador comercial Rootone
6. Testigo sin auxinas

Los resultados mostraron que cada selección responde de manera diferente ante cada uno de los tratamientos. En general el AIB y el Rootone presentaron los mejores resultados en el porcentaje de enraizamiento. Con el primero se logró un promedio de 76.7% y con el Rootone 71.7%, el testigo mostró muy buenos resultados sobre todo en la Selección 4 con 86.7% y en la Selección 5 con 93.3%, lo que representa una gran ventaja para la propagación de frambuesa roja a través de este procedimiento.

II. INTRODUCCION

La frambuesa roja (*Rubus idaeus*), es comúnmente propagada mediante chupones de raíz (llamados sierpes); sin embargo, el método de propagación *in vitro*, puede ser muy adecuado ya que tiene dos ventajas principales: 1) resuelve el problema de contaminación por virus cuando es acompañado de tratamientos de termoterapia, y 2) puede producir más plantas idénticas en un período más corto que con cualquier otro método; no así el de propagación por acodo o por estaca, que implica elevados costos y representa gran incidencia de enfermedades en las plantas hijas. Por lo tanto, la utilidad del cultivo de tejidos de frambuesa roja está encaminado a un crecimiento rápido de nuevas bases para producir grandes cantidades comercialmente usables, mantenimiento de germoplasma e incremento de materiales libres de virus. Con estos propósitos han trabajado algunos investigadores como: Pyott *et al.* (1981) quienes realizaron trabajos para obtener clones de frambuesa libres de virus mediante la aplicación de un tratamiento previo de calor de 8 semanas a 37°C y puestos en un medio sintético de Anderson con un cuarto de pureza de niveles de sales de Murashige y Skoog. De esta forma se han venido ampliando las perspectivas, con el fin de obtener mejores resultados en la propagación de esta especie, pudiendo de esta forma seleccionar las mejores plantas y formar clones de las plantas más apreciadas por sus características tanto agronómicas como de mercado. Así también se han probado diferentes

concentraciones de hormonas hasta lograr buenos resultados tanto en la proliferación como en el enraizamiento, Anderson (1980), Avitia (1985). Se han realizado también, estudios para probar el sinergismo entre auxina-floroglucinol para lograr enraizamiento. Se puede decir que la producción masiva de plantas por cultivo de tejidos ha sido ampliamente investigada, no así el enraizamiento directo en suelo de brotes obtenidos *in vitro*, en lo que pocos son los autores a la fecha que han trabajado para probar este método, por ejemplo; Snir (1981) en frambuesa roja (*Rubus idaeus*), Simonds (1984) en el híbrido begonia x hiemalis, Sobczykiewicz (1980) en *Rubus idaeus*. Estos autores concuerdan en que este método de propagación, elimina la etapa de enraizamiento *in vitro*, simplificando así el programa de micropropagación, y con ello reduciendo el trabajo y los costos de material, por ello este método de enraizamiento es una promesa en la propagación masiva, ya que es una vía fácil y sencilla.

Considerando lo anterior, el objetivo de este experimento es observar el efecto que tienen diferentes concentraciones de AIB (ácido indolbutírico) y ANA (ácido naftalenacético), así como el de un enraizador comercial (Rootone) sobre el enraizamiento y establecimiento en suelo, de brotes vegetativos de frambuesa roja, desarrollados *in vitro*.

III. REVISION DE LITERATURA

1. Propagación *in vitro*

1.1 Generalidades

El cultivo de tejidos, ha tenido gran importancia en los últimos años, debido a las ventajas que representa para el mejoramiento genético (acortando los ciclos de selección), la multiplicación masiva y uniforme de plantas; la obtención de plantas libres de virus, y como banco de germoplasma (Murashige, 1974; Cheng, 1978; citados por Ochoa, 1983), por ello a medida que pasa el tiempo son más y más las especies que se tratan de propagar por este método.

El medio de cultivo para cualquier especie susceptible de micropropagación generalmente está compuesto de sales ba sales o minerales (elementos mayores y menores) y suplementos orgánicos. Aunque estos últimos varían considerablemente, todos incluyen una fuente de carbono, vitaminas y reguladores de crecimiento vegetal (Dennelly *et al.*, 1980; Slak, 1980).

Los compuestos son los siguientes; una fuente de carbohidratos en forma de sacarosa a una concentración de 2 a 3 por ciento (Murashige, 1974; Thorpe, 1982), vitaminas como la tiamina, ácido nicotínico y piridoxinas que son las más

comúnmente usadas. La tiamina es la más utilizada en un rango de 0.1 a 0.4 mg/l, aunque no se descarta el uso del ácido fólico, ácido pantoténico y rivo flavina (Murashige, 1974); el inositol no es esencial, sin embargo su adición es benéfica y se ha utilizado en proporción de 100 mg/l (Murashige, 1974); los reguladores de crecimiento más comúnmente usados son las auxinas y las citocininas. Las auxinas más utilizadas son el ácido indolbutírico (AIB), el ácido indolacético (AIA) y el ácido naftalenacético (ANA). De las citocininas la más utilizada es la benciladenina (BA), aunque en ocasiones también se utilizan las cinetinas y la 2iP, generalmente se usan concentraciones de 30 mg/litro (Murashige, 1974).

Otras sustancias que parecen alterar la efectividad de las auxinas y las citocininas son los compuestos fenólicos, tales como el floroglucinol (FG), ácido florético, ácido caféico, pirogalol y catecol. Los compuestos fenólicos actúan sobre la AIA oxidasa permitiendo la acción de la auxina; como antioxidantes se utilizan el ácido ascórbico, ácido cítrico y la cistefna (Murashige, 1974; Bonga, 1982).

Para el cultivo de *Rubus idaeus*, las mezclas inorgánicas que han sido utilizadas incluyen los macroelementos de Morel y Martin (1955), microelementos de Heller (1953), los macroelementos y microelementos de Murashige y Skoog (1962), de Nitisch y Nitisch (1969), de Linsmaier y Skoog (1965) y Anderson (1978).

Avitia (1985) probando sales basales en la proliferación de frambuesa roja, encontró que las de Anderson (1978), dan mejores resultados que las de Murashige y Skoog (1962).

1.2 Etapas de la micropropagación o cultivo de tejidos

Según Villegas (1982b) citado por Ochoa (1983), son cuatro las fases en las que se divide el proceso de la micropropagación, tres *in vitro* y una *in vivo*, a saber:

1.2.1 Establecimiento del cultivo aséptico

La finalidad principal es evitar la contaminación y que el propágulo logre tener crecimiento, adaptándose así a las condiciones *in vitro*, en algunos casos cuando se presentan problemas de contaminación por oxidación, se requiere de antioxidantes.

1.2.2 Multiplicación del propágulo o proliferación

En esta fase se busca el rápido aumento del material a propagar (brotes vegetativos o callo), siendo importante de terminar la concentración de auxinas y citocininas más apropiado para cada caso.

1.2.3 Enraizamiento

Esta etapa comprende la inducción y crecimiento de raíces a partir de los brotes obtenidos durante la proliferación,

requiriéndose de un medio nutritivo diluido y la eliminación de citocininas del medio de cultivo.

1.2.4 Etapa *in vivo*

Consiste en una aclimatización paulatina de la planta obtenida *in vitro* para que esté en condiciones de ser establecida en campo.

Avitia (1985), reporta que en *Rubus idaeus*, el período total de micropropagación es de 206 a 220 días, distribuidos en las cuatro fases de la siguiente manera:

- 1) Establecimiento aséptico ----- 50 días
- 2) Multiplicación del propágulo ----- 48 a 60 días
- 3) Enraizamiento ----- 48 a 60 días
- 4) Aclimatización en suelo ----- 60 días

Broome y Zimmerman (1978) mencionan que el ciclo completo de punta de brote o meristemo apical hasta que los propágulos establecidos alcanzan una longitud de 25 cm, toma de 14 a 16 semanas, tres semanas para el establecimiento en cultivo cuatro semanas para proliferación de brotes, de tres a cuatro semanas para enraizado y de cuatro a cinco semanas para la aclimatización en invernadero.

2. Factores Que Influyen en el Enraizamiento

2.1 Auxinas

Entre otros efectos que tienen las auxinas sobre las plantas, está el de estimular la iniciación de raíces en esquejes, acodos y cualquier tipo de estacas, de ahí que sean muy utilizadas en el campo de la fruticultura, tanto en especies de madera dura, suave, de fácil y difícil enraizamiento. Asimismo, las auxinas han sido utilizadas para promover el enraizamiento en la micropropagación o cultivo de tejidos, obteniéndose buenos resultados.

Las auxinas más comúnmente usadas en el género *Rubus*, son: el ácido indol-3-acético (AIA), ácido naftalenacético (ANA) y ácido indolbutírico (AIB) (Donnelly, 1980).

El AIA rara vez resulta tóxico para las plantas, a pesar de que a concentraciones elevadas, puede inhibir muchos procesos y provocar síntomas de toxicidad durante algún tiempo; éstos suelen desaparecer al degradarse el exceso de auxina por un complejo enzimático llamado AIA oxidasa (Hill, 1977).

Anderson (1980) menciona que el enraizamiento de fresa roja *in vitro*, no requiere de la adición de auxinas; sin embargo, encontró que a concentraciones de 0.5 - 8 μM de AIB las plántulas se desarrollaban mejor.

Donnelly (1980) encontró que aun cuando el ANA es usado comúnmente como hormona de enraizamiento para Rosáceas, no tuvo el mismo efecto cuando se probó en frambuesa roja; en la cual causó proliferación de callo e indujo la formación de raíces en peciolo de hojas y lámina foliar que estuvieron en contacto con el medio, mientras que utilizando AIB raramente se producen callos, y las raíces son desarrolladas normalmente.

Pyott (1980) muestra que utilizando el medio de Anderson (1978) sin AIB y sin BA (benciladenina) para el enraizamiento de frambuesa roja, se logra sólo un 23.5% de enraizamiento. Las auxinas también pueden actuar en forma sinérgica con los compuestos fenólicos para promover en enraizamiento. Así, James (1979), reporta que el AIB en combinación con el floriglucinol (FG), actúan sinérgicamente para promover el enraizamiento *in vitro* del híbrido *Rubus* 2143/6, logrando un incremento significativo en el número de hojas, obteniéndose los mismos resultados en frambuesa roja.

Otros investigadores (Piafoswiki *et al.*, 1973; Jan-kiewicz *et al.*, 1973, citados por James, 1979), encontraron que la efectividad de una combinación particular de auxina-fenol, depende de la especie de planta utilizada. Así, establecen que entre las Rosáceas hay posibilidad de que el control del enraizamiento por el sinergismo auxina-fenol, pueda ser importante sólo en plantas que forman tejidos

maderables. Basu *et al.* (1964), confirman lo anterior, pues encontraron que los ácidos p-hidroxibenzoico aplicados individualmente a estacas de hojas de *Chrysanthemum livicolor*, no promovieron la inducción de raíces a pesar de que fueron aplicados en combinación con AIB y ANA.

Torre *et al.* (1980) establecen que el número de raíces está fuertemente influenciado por la concentración de auxinas en el medio, es decir que a determinada concentración se promueve la iniciación de raíces pero excediendo esta cantidad se produce necrosis y hojas cloróticas. Según Welander (1983) el medio líquido *in vitro*, incrementa ligeramente el número de raíces del brote; también incrementa significativamente el porcentaje de sobrevivencia de los brotes cuando son transplantados a condiciones no estériles.

2.2 Luz

La calidad de luz para las especies de *Rubus*, no ha sido estudiada, pero generalmente se ha usado luz blanca fluorescente (Broome y Zimmerman, 1978; Harper, 1978; Anderson, 1980). Usualmente estas especies han sido expuestas a un fotoperíodo que varía de 16 horas (Putz, 1971; Donnelly *et al.*, 1980; Pyott y Converse, 1981; Snir, 1981; Skirvin *et al.*, 1981) a 18 horas luz (Anderson, 1980), y las intensidades de luz usadas varían de 1,500 lux (Harper, 1978) a 5,000 lux (Pyott y Converse, 1981).

Según Zimmerman (1984), un tratamiento previo de oscuridad a los brotes durante una semana antes de ser transferidos al medio de enraizamiento, favorece la formación de raíces. Este estudio fue hecho en *Passiflora*, en la cual se obtuvo un buen porcentaje de enraizamiento, pero también aclara que la respuesta depende de la especie y del medio de cultivo. Por otra parte, Welander (1983) menciona que las plantas crecidas en oscuridad, son más fáciles de enraizar, aunque cabe aclarar que al ser transferidas a suelo y puestas en invernadero, son débiles y de difícil aclimatización.

2.3 Temperatura

La temperatura comúnmente usada para el cultivo de *Rubus* varía de 20°C (Putz, 1971) a 29°C (Donnelly *et al.*, 1980), aunque generalmente la más utilizada se aproxima a los 26°C (Snir, 1981).

Zimmerman (1984) reporta que un previo tratamiento de oscuridad con temperatura de 30°C durante una semana, incrementa el enraizamiento de manzano, de las variedades "Delicious (NI)" y "Royal Red Delicious", pero no tiene el mismo efecto en la variedad "Golden Delicious", también menciona que el floroglucinol en presencia de temperaturas elevadas de 30°C, promueve el enraizamiento más rápidamente.

3. Enraizamiento Directo de Brotes en Suelo

Pocos son los trabajos que se han realizado con el objeto de enraizar brotes directamente en suelo, aunque hay varios que tratan la adaptación de los mismos cuando son transplantados.

Brainerd y Fuchigami (1981b) reportan que la aclimatización y aclimatación son términos que describen el proceso de adaptación de un organismo para un cambio ambiental. Siendo el primero un proceso regulado por el hombre y la aclimatación un proceso regulado por la naturaleza, definiciones aceptadas durante el Simposio de Acondicionamiento del Medio Ambiente celebrado en Chicago, 1977.

Las técnicas utilizadas en el enraizamiento y/o adaptación en invernadero, por diferentes autores son semejantes, así, Simonds (1984) tomó brotes (provenientes de cultivo de tejidos) de un híbrido *begonia* y *hiemalis* y las puso a enraizar. Los brotes fueron tratados con un enraizador comercial y puestos en una cama caliente a 21°C en una mezcla de turba + arena: suelo en una proporción 4:2:1, fertilizando con la fórmula 20-20-20 y bajo rocío intermitente. De esta forma, los brotes produjeron sistemas radiculares resistentes, que se adaptaron a las condiciones ambientales del invernadero sin pérdidas; por este método se logró 49% de enraizamiento y mostró que las raíces producidas de esta forma son más vigorosas que aquéllas obtenidas *in vitro*.

Skierwicz (1984) desarrolló un experimento en el cual los brotes de frambuesa roja (*Rubus idaeus*) son sometidas a 3 tratamientos:

1. Entalcados con Seradix (un enraizador comercial que contiene 0.1% de AIB).
2. Entalcado con carbón activado.
3. Y un testigo sin auxinas.

Transplantadas las plantas a macetas, conteniendo una mezcla de arena-turba en una proporción 2:1, los tres tratamientos fueron rociados con Benlate al 0.05% para evitar enfermedades fungosas, después de haberlos puesto en invernadero, se cubrieron las macetas con bolsas de plástico y después se regaron. Encontró que el primordio de raíz, se observó a los 14 días y raíces ya normales después de 3-4 semanas; el mayor porcentaje de enraizamiento, se logró con Seradix 79.9%, le siguió el del carbón activado 69.9% y el testigo 59.8%, en cuanto al número de raíces también fue mayor en el tratamiento con Seradix.

Este autor hace mención de que existen diferencias en el enraizamiento entre cultivares.

Skirvin *et al.* (1981) trabajaron con brotes (provenientes de cultivo de tejidos) de zarzamora con espinas, en las

que probaron su sobrevivencia al ser transplantadas a pastillas de turba Jiffy-7, y posteriormente a suelo, comparando su enraizamiento con el de los brotes transplantados directamente a suelo. En ambos casos, las plántulas sin raíz se entalaron con un enraizador comercial (Rootone-F) y se cubrieron con bolsas de plástico para evitar su deshidratación; el resultado de este experimento fue que únicamente uno de 23 brotes transplantados primero a pastillas Jiffy-7 y luego a suelo, sobrevivieron mientras que las transplantadas de cultivo de tejidos directamente a suelo, sobrevivieron 15 de 21 plántulas.

Broome y Zimmerman (1978) enraizaron brotes de zarzamora sin espinas, los brotes fueron tratados con una preparación comercial de auxinas (Rootone-F), se pusieron bajo niebla (6 segundos cada minuto) durante las 24 horas del día y suplementada con 400 watts de 8:00 hrs. a. m. a 12:00 hrs. p. m. Con este método se obtuvo un enraizamiento de 90%, no habiendo grandes pérdidas en la aclimatización; también utilizaron el método de enraizamiento en pastillas de turba Jiffy-7, poniendo en éstas las plántulas que enraizaron en medio sólido con agar, del total de las plántulas transplantadas a las pastillas, sólo el 60% sobrevivieron.

En la mayoría de los casos, la transferencia de las plántulas (producidas *in vitro*) a suelo, ha sido una vez que éstas han enraizado en el medio sintético, tal es el caso de

Cucumis sativus, reportado por Handley *et al.* (1979). Después de 6 semanas de desarrollo *in vitro*, los brotes enraizados fueron transferidos con gran éxito a una mezcla de suelo; turba; perlita, en igual proporción con un pH ajustado a 6.9 mediante la adición de limo, las macetas en las cuales fueron plantadas se cubrieron con plástico para asegurar la mayor humedad relativa alrededor de las mismas.

Otro trabajo semejante a los anteriores, lo llevaron a cabo Kitto y Young (1981), en *Citrangé carrizo*, en el que probaron el establecimiento en suelo de brotes provenientes de cultivo de tejidos, con raíz y sin ella. Estos brotes fueron puestos bajo rocío intermitente (10 segundos cada 10 minutos) por 10 horas al día, se obtuvo como resultado 44% de establecimiento para las plantas no enraizadas *in vitro* y 80% para las enraizadas *in vitro*.

Brainerd *et al.* (1981) reporta que la aclimatización de los brotes bajo condiciones de reducida humedad relativa y elevada temperatura antes de ser transplantadas a suelo en invernadero, favorece el establecimiento de los brotes sin muchas pérdidas. Brainerd y Fuchigami (1981) mencionan que entre las causas que originan el shock al trasplante, se encuentra el paso de los brotes de crecimiento en alta humedad relativa (en medio de cultivo sintético), al de baja humedad relativa en invernadero, de ahí que la aclimatización se puede referir al proceso por el cual las plantas crecen en elevada humedad relativa y se adaptan a baja humedad relativa.

Donnelly y Vidaver (1984) mencionan que algunas de las características de hojas de las plántulas desarrolladas *in vitro* son: lámina delgada, células más pequeñas, hojas unifoliadas; mientras que las de campo son trifoliadas; ésto es reportado en frambuesa roja. Las hojas producidas *in vitro* permanecen en campo después de transplantada la planta por espacio de 4 semanas, estas hojas además carecen de pelos filiformes, lo que puede acelerar la pérdida de agua por transpiración. Según estos autores, las características mencionadas son debidas a las condiciones ambientales en las que se desarrollan, principalmente en relación a la amplia disponibilidad de humedad, lo que también influye en el número de estomas y en la apertura de éstos, en los brotes reducidos por cultivo de tejidos, es mayor el número de estomas y se encuentran siempre abiertos.

En la aclimatización como en el enraizamiento de brotes en suelo juegan un papel muy importante las características de los mismos, producidas éstas por las condiciones ambientales del medio de cultivo sintético (Donnelly y Vidaver, 1984; Sutter, 1979).

Grout y Aston (1978) trabajando con coliflor encontraron otras características de las plantas cultivadas en medio sintético que también influyen en el establecimiento en suelo y son: la poca cera epicuticular y una pobre conexión entre la raíz y el brote. Estas características hacen

a los brotes vulnerables a la marchitez, por lo que en su trasplante hay pérdidas; además, encontraron que los brotes contribuyen poco o casi nada al balance de carbono mediante la fotosíntesis al tiempo del trasplante, debido a que las hojas producidas *in vitro* contienen muy pocos cloroplastos.

Brainerd *et al.* (1981) reportan las diferencias anatómicas entre las hojas de brotes de *Prunus insisia* obtenidas *in vitro* y las desarrolladas en suelo. La profundidad de las células en empalizada fue significativamente menor en brotes y el porcentaje de espacios intercelulares mayor; además la pérdida de agua es mayor, en 30 minutos pierden hasta el 50% del total de agua mientras que las desarrolladas en invernadero, pierden 50% en 90 minutos.

Sutter y Langhans (1979) explican que la desecación de los brotes en suelo y la reducida tasa de sobrevivencias se debe a la falta de estructura epicuticular cerosa en los brotes como es el caso de los brotes de clavel transplantados a suelo en invernadero (Early y Langhans, citado por Sutter, 1979).

Schönherr, citado por Sutter, 1979, menciona que los componentes de la cera cuticular, determinan completamente la difusión directa del agua a la cutícula y que la absorción, transporte de agua, funcionamiento de estomas y funcionamiento

fisiológico también podrían contribuir a la reducida tasa de sobrevivencia de los brotes; aunque no se han esclarecido bien las razones por las cuales las plántulas provenientes de cultivo de tejidos carecen de epicutícula cerosa; se cree que la producción de cera es afectada por las mismas condiciones del medio de cultivo como son: alta humedad relativa, alta temperatura, bajas intensidades de luz y hasta la misma concentración de hormonas reducen la producción de epicutícula cerosa, ésto se registró en *Brassica oleracea* y *B. napus*.

Grout y Aston (1978) muestran que las hojas crecidas en invernadero tienen un mesofilo bien definido, esponjoso y en empalizada, todas las células de ambos mesofilos contienen cloroplastos. Las hojas regeneradas del cultivo de meristemos sobre medio líquido, muestran ningún desarrollo del mesofilo; ésto posiblemente se deba a que las condiciones mantenidas en ese medio es de alta humedad relativa y los gases y nutrientes son absorbidos directamente del medio; por consiguiente no hay requerimientos para crear estructuras en las hojas que realicen la transferencia de gases en ella.

Fuchigami *et al.* (1981) establece que la sobrevivencia después de la transferencia a las condiciones del invernadero limita comercialmente la producción *in vitro* de muchas plantas, cerca del 50% de clavel, 60% de zarzamora y de 50 a 81% en rosas; esta pobre sobrevivencia en invernadero se debe a la desecación y a la marchitez, así lo han demostrado

estudios en coliflor (Grout y Aston, 1977) y en clavel (Sutter y Langhans, 1979) y la causa principal de esta desecación y marchitez, es la carencia de epicutícula cerosa. En hojas de *Prunus insisia* L. "Pixie" se encontró que la cera epicuticular aparece primeramente en la superficie adaxial en las plantas climatizadas, de ahí que la pérdida de agua es menor en la superficie adaxial que en la abaxial.

Donnelly y Vidaver (1984) encontraron que la contribución fotosintética de las hojas de plantas cultivadas *in vitro* fue baja o nula y las primeras hojas cuando la planta es ta ba en s ue lo, presentaron capacidad intermedia; la a c l i m a t i z a c i o n a las condiciones del suelo depende del mismo y r e q u i e r e de la producción de hojas desarrolladas en el nuevo ambiente. La producción de plántulas de 4 semanas de desarrollo *in vitro* comparado con las plantas desarrolladas en campo, fue significativamente menor, la tasa de respiración es mayor en los brotes que en las plantas crecidas en campo. De acuerdo con este autor, las condiciones ambientales del cultivo influyen profundamente en las características anatómicas y fisiológicas de las plantas propagadas por proliferación de yemas *in vitro*.

Donnelly *et al.* (1984) muestran que la anatomía de la h o j a y la habilidad para la fijación de carbono en coliflor (*Brassica* sp) y frambuesa roja (*Rubus idaeus*) son afectadas por las condiciones ambientales que se dan *in vitro*. Las

coliflores muestran absorción de CO_2 sólo hasta dos semanas después de que son transferidas a suelo, ya que después de este tiempo se forman hojas nuevas, en el caso de la fram-buesa roja, ésta sí presenta absorción de CO_2 y fotosíntesis inmediatamente después de ser transplantadas.

4. Conclusiones de la Revisión de Literatura

El cultivo de tejidos es una realidad en la producción masiva de plantas, aunque ésto implica una estructura tecnificada y una actividad laboriosa.

La producción de una planta por cultivo de tejidos consta de 4 fases, que son:

1. Establecimiento del cultivo aséptico
2. Multiplicación del propágulo o proliferación
3. Enraizamiento
4. Aclimatización

Estas fases están influenciadas por algunas condiciones como son: medio de cultivo (concentración de hormonas), temperatura, humedad relativa, luz y condiciones de esterilidad.

Las auxinas promueven el enraizamiento, pero sólo a concentraciones específicas para cada especie, por lo que cuando ésta es elevada produce en los tejidos necrosis, según

algunos autores. Respecto al tipo de auxinas se ha observado que el mejor resultado lo presenta el AIB con respecto al ANA y el AIA.

La calidad e intensidad de la luz también participa en la producción de planta *in vitro*, en *Rubus idaeus* la intensidad usada es de 1,500 a 5,000 lux y la calidad, generalmente se ha usado luz fluorescente y un fotoperíodo de 16 a 18 horas luz.

La temperatura varía entre 20 y 29°C.

En el enraizamiento en suelo, se han utilizado hormonas como AIB, ANA, enraizadores comerciales, encontrándose que los mejores son estos últimos; aun cuando tienen bajas cantidades de hormonas, generalmente de AIB. Además de que se ha encontrado que no es necesaria la adición de alguna hormona para el enraizamiento en suelo, aunque sí favorece su mejor desarrollo y más elevado porcentaje. Se ha entendido que las características fisiológicas de las plantas producidas *in vitro* son diferentes de las producidas en campo y debido a ello hay diferencias en el porcentaje de aclimatización de las plantas producidas *in vitro* cuando son transferidas a campo.

IV. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se desarrolló en el invernadero del Centro de Fruticultura del Colegio de Postgraduados de Chapingo, México.

Se utilizaron brotes de tres selecciones de frambuesa roja que crecieron *in vitro*, en el cuarto de incubación del laboratorio de Fruticultura Sección San Martín, las cuales estuvieron bajo condiciones controladas (Avitia, 1985) cuyas características se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Algunas características de las selecciones de frambuesa roja, utilizadas en el enraizamiento de brotes en suelo

No. de selec.	Fecha de brotación	Fecha de floración	Fecha de inic. de madurez	Características generales
4	19-02-79	30-03-81	4-05-81	Fruto redondo, color uniforme, precocidad, regular sabor, hijuelos vigorosos
5	ND	ND	8-05-81	Planta enana con muchas laterales fructificantes, laterales flexibles, buena brotación y muy productiva
8	ND	ND	ND	Fruto alargado, de buen sabor, algo ácido, hijuelos vigorosos

ND : No determinado.

1. Tratamientos

Como promotores de enraizamiento se usaron auxinas: AIB (ácido indolbutírico), ANA (ácido naftalenacético) y un enraizador comercial Rootone, las concentraciones de las soluciones se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Concentración de AIB, ANA y Rootone utilizados como enraizadores

Solución	Concentración (ppm)	No. del tratamiento
AIB	25	I
AIB	50	II
ANA	25	III
ANA	50	IV
Rootone	-- ⁺	V
Testigo	Agua destilada	VI

⁺ El Rootone se utilizó en polvo y no en solución.

2. Preparación de las soluciones

El AIB y ANA se disuelven en 20% de alcohol etílico y 80% de agua destilada. Se prepararon 75 ml de AIB a 50 ppm, de ahí se tomaron 25 ml y se diluyeron en 25 ml de agua y alcohol, 80 y 20%, respectivamente, obteniendo así 50 ml de una solución de AIB a 25 ppm y la primera a 50 ppm. De la misma forma se prepararon las dos soluciones de ANA, el Rootone (polvo) sólo fue aplicado a la base de los brotes.

Los cálculos se hacen tomando en cuenta que un gramo de el compuesto en un litro de agua esterilizada, equivale a una solución de 1000 ppm. A cada una de las soluciones se les agregó Captán a razón de 1 g/100 ml de solución. Las soluciones fueron puestas en una caja de petri, en ellas se sumergieron los brotes durante 10 segundos.

3. Cama de enraizamiento

El medio de enraizamiento consistió de suelo previamente esterilizado a vapor; utilizando para ello tubos perforados colocados de 15 a 20 cm debajo de la superficie formando especies de camas, éstas se cubren con plástico y el tratamiento dura 30 minutos siendo la temperatura utilizada de 60 a 82°C. Este tratamiento mata a la mayoría de las especies de hongos de suelo, bacterias nocivas, así como nemátodos, insectos y a la mayoría de semillas de maleza. El suelo ya esterilizado se puso en charolas perforadas para permitir la circulación del agua de riego.

En cada charola fueron sembradas 45 plantas con una distancia entre ellas de aproximadamente 4 cm.

4. Transplante

Con unas pinzas, se procedió a sacar cada una de las plántulas del tubo de ensayo donde se desarrollaron, una vez separadas del medio con agar fueron sumergidas durante 10 seg.

en la solución correspondiente, en el caso del Rootone se en talcó la base del brote únicamente y fueron sembradas inmediatamente en el suelo, aplicando después de la siembra un riego con una aspersora manual.

Después, cada una de las charolas fueron cubiertas con una bolsa de plástico para mantener la mayor humedad relativa posible, de esta manera fueron transplantados los brotes de los diferentes tratamientos. El trasplante se llevó a cabo en el invernadero bajo completa sombra y con el mayor cuidado para no causar daño a los brotes, así también con la mayor rapidez para evitar su deshidratación.

Cabe aclarar que todos los brotes utilizados para este experimento, sólo presentaban la parte vegetativa, todos carecían de raíces.

Una vez sembrados todos los brotes, regados y cubiertos con bolsas de plástico, las charolas fueron colocadas dentro de una caseta del invernadero donde la radiación solar no fue directa.

En el Cuadro 3 que se muestra a continuación, se describe el procedimiento llevado a cabo durante los días transcurridos desde el trasplante hasta la cosecha.

Cuadro 3. Procedimiento durante el período de enraizamiento

Fecha (1985)	Actividad realizada
24 de mayo	Transplante
31 de mayo	Riego ligero con agua con captan 50. Las bolsas de plástico que cubren las charolas fueron abiertas por 30 minutos
3 de junio	Las bolsas fueron abiertas durante una hora. No se aplicó riego
5 de junio	Las bolsas se abrieron durante una hora y 30 minutos. Se aplicó riego con agua con captan.
10 de junio	Las bolsas se abrieron durante una hora y treinta minutos. Se aplicó riego ligero.
12 de junio	Las bolsas se abrieron durante una hora y treinta minutos. Se aplicó riego ligero.
14 de junio	Las bolsas se abrieron durante dos horas. Se aplicó riego ligero.
17 de junio	Las bolsas se abrieron durante dos horas. Se aplicó riego ligero.
19 de junio	Las bolsas se abrieron durante tres horas. Se aplicó riego ligero.
21 de junio	Las bolsas se abrieron durante tres horas y se aplicó un riego ligero.
24 de junio	Las bolsas se abrieron durante seis horas. Se aplicó riego ligero con agua con captan.

Continúa

Continuación Cuadro 3.

Fecha (1985)	Actividad realizada
26 de junio	Las charolas fueron cambiadas a un lugar con mayor luz y más alta temperatura dentro del mismo invernadero. A partir de este día, las bolsas se dejaron permanentemente abiertas. Se dio un riego pesado, con agua con captán 50.
28 de junio al 10 de julio	Durante este período se dieron riegos ligeros cada tercer día

El 11 de julio se realizó la evaluación final y las plantas enraizadas después de tomar los datos, fueron transplantadas a vasos de unicel llenados previamente con suelo esterilizado. En el transplante a vasos, se usó la misma técnica que en el transplante a charolas, las bolsas de plástico que cubrieron los vasos de unicel, fueron eliminadas dos semanas después.

5. Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar constituido por 6 tratamientos, con tres repeticiones cada uno. Cada unidad experimental constó de 5 plantas.

6. Toma de datos

La toma de datos se llevó a cabo al final del experimento sin embargo a lo largo de éste se hicieron observaciones como:

1. Apariencia física de las plantas
 - a) Coloración de la planta
 - b) Presencia de enfermedades

2. Presencia de hongos en el suelo

Los datos tomados al final del experimento son los siguientes:

1. Porcentaje de establecimiento de la planta
2. Longitud de la raíz
3. Número de hojas
4. Número de raíces

Para obtener el porcentaje de establecimiento, se tomaron en cuenta el número de plantas que sobrevivieron al término de 48 días y el total de plantas que se transplantaron.

En las plantas que se transplantaron a vasos, también se obtuvo el porcentaje de establecimiento del total de plantas transplantadas.

7. Análisis de datos

Se desarrolló un análisis de varianza para cada una de las variables registradas, obteniéndose también las medias para cada una de las selecciones y los porcentajes de enraizamiento de cada una de ellas.

La prueba de medias utilizadas, fue hecha de acuerdo al método de Duncan (DMSH) al 0.05 de nivel de significancia.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

1. Selección 4

La Tabla I muestra que los mejores resultados se obtienen en los tratamientos con AIB 50 ppm y el testigo sin auxinas, lo cual concuerda con Anderson (1980) quien menciona que el enraizamiento de frambuesa roja *in vitro* no requiere de la adición de auxinas; sin embargo encontró que a concentraciones de 0.5 a 8 mg de AIB se obtienen mejores resultados. En los dos tratamientos mencionados se obtuvo un muy buen porcentaje de enraizamiento, 86.7%; mientras que la aplicación de AIB a la concentración de 25 ppm fue muy bajo al porcentaje logrado, no se puede decir que haya requerido de mayor concentración de hormonas (AIB) sino más bien que otras condiciones como temperatura, luz y algunas características fisiológicas de la planta influyeron para la emisión de raíces.

En el caso de los tratamientos con ANA, el enraizamiento en general no fue muy bueno, pues a la concentración de 25 ppm se logró un 60% y a 50 ppm un 30%, de acuerdo con lo encontrado por Donnelly (1980), se puede decir que el ANA aunque es muy bueno en el enraizamiento en Rosáceas (es la hormona más comúnmente usada), en frambuesa roja no causó el mismo efecto, en la cual provoca proliferación de callo, interfiriendo así en la emisión de raíces, en este caso también

pudo haber sido que a mayor concentración de hormonas (ANA) ésta inhibe muchos procesos y provoca toxicidad (Hill, 1977) que aunque no dure mucho tiempo por la producción de AIA oxidada que destruye a la auxina en exceso, ese tiempo bastó para provocar la muerte de la planta.

En el tratamiento con Rootone se logró un 60% de enraizamiento, cantidad intermedia entre el más alto de 86.7% en el testigo y AIB a 25 ppm y el más bajo con ANA a 50 ppm con 30%. Por otra parte, la longitud de raíz fue mayor en el tratamiento con Rootone, alcanzando 3.5 cm en promedio, aunque en el tratamiento con AIB 50 ppm no quedó muy por debajo de éste, obteniendo 3.03 cm en promedio.

Como podemos observar en la Tabla I se muestra que los tratamientos donde hubo mayor porcentaje de enraizamiento, se localizó también mayor número de raíces.

Si bien es cierto que los mejores resultados se obtuvieron con el tratamiento AIB 50 ppm y el testigo, es oportuno aclarar que existen diferencias en cuanto a longitud y número de raíces. En el tratamiento con AIB 50 ppm se logró una longitud de raíz de 3.03 cm en promedio y 3.2 en número de raíces, mientras que en el testigo sin auxinas logró una longitud de 2.4 cm y 5.2 en número de raíces, estos parámetros son muy importantes pues el establecimiento de las plantas depende en gran medida del número y tamaño de sus raíces. Otro

parámetro también importante es el número de hojas, pues como puede observarse en la Tabla, en el tratamiento con mayor número de hojas se logró el mayor porcentaje de enraizamiento, de la misma forma aumenta el número y la longitud de raíces, esto puede explicarse porque las hojas son las que proveen de fotosintatos a la planta para su mantenimiento y desarrollo; otra explicación podría ser que, dado que las condiciones ambientales no fueron estrictamente controladas se les puede atribuir a ellas el bajo porcentaje de enraizamiento logrado pues en trabajos reportados por Simond (1984), Broome y Zimmerman (1978), Kitto y Young (1981) en enraizamiento en suelo utilizan el rocío intermitente debido a que según Brainerd y Fuchigami (1981) lo que provoca la muerte de la planta antes de emitir raíces es el agobio al transplante; esto es, el paso de los brotes de alta humedad relativa (en el medio de cultivo sintético) al de baja humedad relativa en invernadero, y esto es porque las hojas producidas *in vitro* (Donnelly y Vidaver, 1984) son muy delgadas, con células muy pequeñas, mayor número de estomas que se encuentran siempre abiertos, lo que provoca una pérdida de agua por transpiración y si en su medio ambiente no hay la suficiente se deshidratan y muere la planta. Otra característica de las plantas crecidas *in vitro* es la falta de cera epicuticular que en este caso también pudo haber afectado el enraizamiento de los brotes ya que ésta interfiere en la difusión del agua a la cutícula.

De lo antes dicho se deduce que en la Selección 4 no es necesaria la aplicación de auxinas para el enraizamiento pues la planta responde de muy buena manera sin su aplicación. Lo que es muy importante es el manejo durante el enraizamiento y las condiciones ambientales bajo las que se pongan ya que en este caso fueron las que influyeron fuertemente en el logro de un alto o bajo porcentaje de enraizamiento.

El análisis estadístico muestra que los tratamientos II y VI son iguales estadísticamente, pero superiores de igual forma al tratamiento IV, el cual fue el más bajo con 30%.

2. Selección 5

La Tabla II muestra que el mejor porcentaje de enraizamiento se logró en el tratamiento testigo (sin auxinas) con 93.3% (el mejor porcentaje logrado sin la adición de auxinas) lo cual viene a corroborar lo ya dicho en la Selección 4, que estas selecciones no necesitan de la aplicación de auxinas para lograr un buen porcentaje de enraizamiento, sin embargo es importante hacer notar que este tratamiento muestra un muy reducido número de raíces (1.6), el más bajo de todos los tratamientos, pero en contraste con ello obtiene la mayor longitud de la misma (4.9 cm); ésto puede deberse a que la distribución de los fotosintatos fue por ende menor y se expresó en crecimiento en longitud de las raíces. El número de hojas influye en el porcentaje de enraizamiento debido al aporte de

fotosintatos, también la concentración de auxinas pudo haber influido en la reducción del porcentaje de enraizamiento debido a que al incrementar los niveles endógenos de auxinas ésta dispara la síntesis de etileno provocando con ello la senescencia del brote, por ello los tratamientos II y IV en los que fue mayor la concentración de auxinas se obtuvo un bajo porcentaje, 50 y 40%, respectivamente, al igual que lo ya descrita en la Selección 4, en esta Selección también influyeron otros factores como: luz, temperatura, características morfológicas y fisiológicas de la planta, aunque se trató de proporcionar las mismas condiciones ambientales a todos los tratamientos.

El tratamiento con Rootone obtuvo un 66.7% de enraizamiento, puede decirse que a pesar de que no fue el mayor porcentaje, es bueno, si observamos que el número de raíces fue el mayor y de no muy reducida longitud.

Después de lo ya observado en estas dos Selecciones, 4 y 5, puede decirse que aunque su respuesta hacia los diferentes tratamientos no fue similar, sí concuerda en que no es necesaria la aplicación de auxinas para lograr un buen porcentaje de enraizamiento, sino más bien proporcionar los mayores cuidados durante el manejo de los brotes, ya que son tan delicados por haberse desarrollado en condiciones especiales de nutriente, luz, temperatura y humedad relativa que son muy débiles cuando se les saca a un medio de invernadero.

En cuanto al porcentaje de establecimiento, en esta Selección fue el máximo, es decir de 100%, excepto en el tratamiento I de AIB a 25 ppm, lo cual pudo deberse al manejo durante el trasplante.

3. Selección 8

Esta Selección muestra resultados un poco diferentes a las Selecciones 4 y 5; primero el mayor porcentaje de enraizamiento es logrado en el tratamiento de AIB a una concentración de 50 ppm con 93.3%, de lo cual podemos desprender que es la concentración adecuada para lograr un buen porcentaje de enraizamiento en esta Selección, y concuerda con Anderson (1980) quien dice que el enraizamiento en frambuesa roja se puede lograr sin la adición de auxinas, pero que la adición de ellas favorece en un sentido positivo el mismo.

Los tratamientos con AIB y ANA cada uno por separado a la concentración de 50 ppm, obtuvieron los más altos porcentajes de enraizamiento, 93.3 y 90.0%, respectivamente; así también el Rootone logró 86.7%, lo cual viene a demostrar que aun cuando las plantas provengan de una misma variedad las selecciones responden de diferente manera ante los tratamientos con auxinas.

Por otra parte, no se excluye que el manejo de los brotes al trasplante y durante su enraizamiento haya podido

contribuir de alguna manera en el porcentaje de enraizamiento, lo mismo que en las selecciones anteriores hay que tomar en cuenta las características de las plantas producidas *in vitro*, ésto es descrito por algunos autores; sin embargo, no estaría por demás que en lo sucesivo si se hacen este tipo de trabajos en otras especies, se hiciera un estudio fisiológico a la planta antes de ponerla a enraizar y otro después de haber logrado este proceso.

Los tratamientos I, II, IV y V son estadísticamente iguales pero numéricamente el mejor fue con AIB 50 ppm.

A pesar de que en los tratamientos de las selecciones anteriores el mayor número de hojas determina de alguna manera el porcentaje de enraizamiento, en ésta no se expresa del todo así, sin embargo ésto puede estar relacionado con las características de las plantas crecidas *in vitro* pues también a mayor número de hojas habrá mayor transpiración, lo que provoca la deshidratación de los tejidos y por consiguiente su muerte.

En esta Selección variaron los porcentajes de establecimiento; sin embargo, en general fue muy bueno, el menor logrado fue en el tratamiento con Rootone, 84.6%, el testigo 85.7%. Estas disminuciones se le atribuyen a la deshidratación de las plantas durante el transplante a vasos de unicel.

El establecimiento en vasos de unicel de las Selecciones 4 y 5 fue excelente, obteniéndose 100% en ambas. La duración del período de enraizamiento de 48 días y de 15 para su aclimatización en vasos de unicel, con ésto se observa que reducimos el tiempo de enraizamiento *in vitro*, que varía de 48 a 60 días, según Avitia (1985), sin considerar la fase de establecimiento en suelo. Además de reducir los costos que implica la preparación del medio de cultivo para enraizamiento.

Selección 4

Tabla I. Prueba de separación de medias de porcentaje de enraizamiento, longitud de raíz, número de raíces y número de hojas en la Selección 4, para cada uno de los tratamientos

No. de tratamiento	Concentración hormonas (ppm)	% de enraizamiento	Longitud de raíz (cm) \bar{x}	No. de raíces \bar{x}	No. de hojas \bar{x}	
I	AIB	25	53.3 ab	2.3 c	3.2 b	3.8 b
II	AIB	50	86.7 a	3.0 a	3.2 b	4.3 ab
III	ANA	25	60.0 ab	0.5 a	4.0 b	4.0 ab
IV	ANA	50	30.0 b	1.5 b	2.0 c	3.7 b
V	Rootone		60.0 ab	3.5 a	5.0 a	4.1 ab
VI	Testigo		86.7 a*	2.4 b	5.2 a	5.1 a

Prueba de separación de medias según Duncan al 0.5% del nivel de significancia.

* Valores con la misma letras, son estadísticamente iguales.

Selección 5

Tabla II. Prueba de separación de medias de porcentaje de enraizamiento, longitud de raíz, número de raíces y número de hojas en la selección 5, para cada uno de los tratamientos

No. de tratamiento	Concentración hormonas (ppm)	% de enraizamiento	Longitud de raíz (cm) \bar{x}	No. de raíces \bar{x}	No. de hojas \bar{x}	
I	AIB	25	86.6 a*	4.5 a	2.8 b	5.3 a
II	AIB	50	50.0 b	2.8 b	3.2 b	4.4 a
III	ANA	25	66.7 ab	2.5 b	4.4 a	5.0 a
IV	ANA	50	40.0 b	2.2 b	2.0 c	4.0 a
V	Rootone		66.7 ab	4.1 a	4.2 a	4.3 a
VI	Testigo		93.3 a	4.9 a	1.6 c	5.1 a

Prueba de separación de medias según Duncan, al 0.5% del nivel de significancia.

* Valores con la misma letra, son estadísticamente iguales.

Selección 8

Tabla III. Prueba de separación de medias del porcentaje de enraizamiento, longitud de raíz, número de raíces y número de hojas en la selección 8, para cada uno de los tratamientos

No. de tratamiento	Concentración hormonas (ppm)	% de enraizamiento	Longitud de raíz (cm) \bar{x}	No. de raíces \bar{x}	No. de hojas \bar{x}
I	AIB 25	73.3 ab	2.9 ab	1.6 cd	4.1 a
II	AIB 50	93.3 a*	4.2 a	3.0 b	4.4 a
III	ANA 25	53.3 b	1.2 b	1.5 d	4.5 a
IV	ANA 50	90.0 a	3.5 a	3.6 a	4.8 a
V	Rootone	86.7 ab	2.8 ab	3.8 a	4.2 a
VI	Testigo	60.0 b	2.0 b	2.3 bc	4.0 a

Prueba de separación de medias según Duncan al 0.5% del nivel de significancia.

* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales.

Tabla IV. Comparación de medias del porcentaje de enraizamiento en las 3 selecciones de frambuesa en cada uno de los 6 tratamientos

No. de tratamiento	Concentración hormonas (ppm)		Selección 4 x	Selección 5 x	Selección 8 x	$\frac{\Sigma}{x}$
I	AIB	25	53.3 ab	86.6 a	73.3 ab	71.1
II	AIB	50	86.7 a*	50.0 b	9.3 a	76.7
III	ANA	25	60.0 ab	66.7 ab	53.3 b	60.0
IV	ANA	50	30.0 b	40.0 b	90.0 a	53.3
V	Rootone		60.0 ab	66.7 ab	86.7 ab	71.1
VI	Testigo		86.7 a	93.3 a	60.0 b	80.0
		$\frac{\Sigma}{x}$	62.8	67.2	76.1	

Separación de medias según Duncan al 0.05% del nivel de significancia.

* Cantidades con la misma letra son estadísticamente iguales.

Tabla V. Comparación de medias de longitud de raíz de las 3 selecciones de frambuesa roja en cada uno de los tratamientos

No. de tratamiento	Concentración hormonas (ppm)		Selección 4 \bar{x} (cm)	Selección 5 \bar{x} (cm)	Selección 8 \bar{x} (cm)
I	AIB	25	2.3 b	4.5 a	2.9 ab
II	AIB	50	3.0 a	2.8 b	4.2 a
III	ANA	25	0.5 d	2.5 b	1.2 b
IV	ANA	50	1.5 c	2.2 b	3.5 a
V	Rootone		3.5 a*	4.1 a	2.8 ab
VI	Testigo		2.4 b	4.9 a	2.0 b

Separación de medias según Duncan al 0.05% del nivel de significancia.

* Cantidades con la misma letra son estadísticamente iguales.

Tabla VI. Comparación de medias del número de raíces de las 3 selecciones probadas, en cada uno de los 6 tratamientos

No. de tratamiento	Concentración hormonas (ppm)	Selección 4 \bar{x} (cm)	Selección 5 \bar{x} (cm)	Selección 8 \bar{x} (cm)
I	AIB 25	3.2 b	2.8 b	1.6 cd
II	AIB 50	3.2 b	3.2 b	3.0 b
III	ANA 25	4.0 b	4.4 a	1.5 d
IV	ANA 50	2.0 c	2.0 c	3.6 a
V	Rootone	5.0 a	4.2 a	3.8 a
VI	Testigo	5.2 a*	1.6 c	2.3 bc

Separación de medias según Duncan al 0.05% del nivel de significancia.

* Cantidades con la misma letra son estadísticamente iguales.

Tabla VII. Comparación de medias del número de hojas de las 3 selecciones probadas, en cada uno de los 6 tratamientos

No. de tratamiento	Concentración hormonas (ppm)		Selección 4 \bar{x}	Selección 5 \bar{x}	Selección 6 \bar{x}
I	AIB	25	3.8 b	5.3 a	4.1 a
II	AIB	50	4.3 ab	4.4 a	4.4 a
III	ANA	25	4.0 ab	5.0 a	4.5 a
IV	ANA	50	3.7 b	4.0 a	4.8 a
V	Rootone		4.1 ab	4.3 a	4.2 a
VI	Testigo		5.1 a*	5.1 a	4.0 a

Separación de medias según Duncan, al 0.05% del nivel de significancia.

* Cantidades con la misma letra son estadísticamente iguales.

Tabla VIII. Porcentaje (%) de sobrevivencia en el trasplante a vasos de unicel (número 12) de 3 selecciones de frambuesa roja variedad Malling Exploit en cada uno de los 6 tratamientos

No. de tratamiento	Concentración hormonas (ppm)		Selección 4	Selección 5	Selección 8
I	AIB	25	100	92.3	90.9
II	AIB	50	100	100	100
III	ANA	25	100	100	100
IV	ANA	50	100	100	100
V	Rootone		100	100	84.6
VI	Testigo		100	100	85.7
T o t a l (%)			100	98.71	92.8

VI. CONCLUSIONES

1. Existe una marcada diferencia entre las selecciones respecto al enraizamiento, al menos en la Selección 8 y las Selecciones 4 y 5 (que son similares).
2. Las Selecciones 4 y 5 no necesitan de la adición de auxinas para su enraizamiento, obteniéndose 86.7 y 93.3% respectivamente en el testigo.
3. La adición de AIB a una concentración de 25 ppm favoreció el desarrollo de raíces en la Selección 5, logrando 86.6% y en la Selección 4 el mismo porcentaje con 50 ppm de AIB.
4. La Selección 8 respondió de mejor manera al tratamiento de AIB 50 ppm, logrando un 93.3% de enraizamiento y lo mismo con el tratamiento ANA 50 ppm en el que se observó un 90% de enraizamiento.
5. El establecimiento en vasos de unicel en las selecciones probadas fue superior al 90%.
6. El enraizamiento en suelo, de plantas desarrolladas *in vitro* debe explotarse pues reduce costos y tiempo.

VII. SUGERENCIAS

- o No abrir la cubierta de plástico hasta 15 días después de haber sido transplantadas.
- o No regar antes de 15 días de haber sido transplantadas.
- o Regar uniformemente.
- o La abertura de la bolsa de plástico que cubre la charola, debe estar hacia arriba para que la aireación cuando se abra sea uniforme.
- o No mover las charolas de su sitio una vez transplantados los brotes.
- o El riego deberá hacerse con un aspersor de mano de boquilla fina.
- o Cuidar que el suelo utilizado esté bien esterilizado.
- o Las charolas una vez transplantados los brotes no se deben exponer a la radiación solar directa.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Anderson, W. C. 1980. Propagation for tissue culture in raspberries red and black (*Rubus idaeus*) and (*Rubus acadentalis*). Acta Hort. 112: 13-20.
- Avitia, G. E. 1985. Propagación *in vitro* de selecciones de frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.). Tesis de Maestría en Ciencias. C. P.
- Brainerd, K. E.; L. H. Fuchigami; S. Kwiatkowski, and C. S. Clark. 1981. Leaf anatomy and water stress of aseptically cultured "Pixy" Plum grown under different environments. HortScience 16(2): 173-175.
- Basu, R. N.; T. K. Bose; B. N. Roy, and A. Mukhopadhyay. 1969. Auxin synergists in rooting of cuttings. Physiol. Plant 22: 649-652.
- Broome, O. C., and R. H. Zimmerman. 1978. *In vitro* propagation of blackberry. HortScience 13(2): 151-153.
- Brainerd, E. K., and L. H. Fuchigami. 1981. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. 1981. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106(4): 515-518.
- Boxus, Ph. and Quorin, M. 1974. The culture of meristemes apicaux of quelmes species of Prunus. Bull. Soc. Bot. Belg. 107: 91-101.
- Carrillo, C. G. y J. L. Mendoza. 1979. Efecto de productos naturales sobre el desarrollo *in vitro* de yemas de *Rubus* sp. Turrialba. Vol. 29 No. 4: 209-303.
- Donnelly, D. J., and W. E. Vidaver. 1984. Leaf anatomy of red raspberry transferred from culture to soil. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109(2): 172-176.
- Donnelly, D. J., and W. E. Vidaver. 1984. Pigment content and gas exchange of red raspberry *in vitro* and *ex vitro*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109(2): 177-181.
- Donnelly, D. J.; W. E. Vidaver, and K. Colbow. 1984. Fixation of $^{14}\text{CO}_2$ in tissue cultured red raspberry prior to and after transfer to soil. Plant. Cell Tissue Organ Culture. 3: 313-317.
- Donnelly, D. J.; S. L. Smith, and F. C. Viellar. 1980. *In vitro* culture of three *Rubus* species. Acta Hort. 112: 69-76.

- Fuchigami, L. H.; T. Y. Cheng, and A. Soeldner. 1981. Abxial transpiration and water loss in aseptically culture plum. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106(4): 519-522.
- Grout, B. W., and M. J. Aston. 1978. Modified leaf anatomy of cauliflower plantlets regenerated from meristem culture. *Ann. Bot.* 42: 993-995.
- Gisterad, H. R. 1975. The influence of the temperature and water on rooting of poinsettia cuttings. *Acta Hort.* 127-139.
- Handley, W. L., and L. Chamblis. 1979. *In vitro* propagation of *Cucumis sativus* L. *HortScience* 14(1): 22-23.
- Hartmann, H. T. y D. E. Kester. 1982. Propagación de plantas. Principios y prácticas. 3a. impresión. Ed. CECSA.
- James, D. J. 1979. The role of auxins and phloroglucinol in adventitious root formation in *Rubus* and *Fragaria* grown *in vitro*. *J. Hort. Sci.* 54(4): 273-277.
- James, D. J.; V. H. Knight, and I. J. Thurbon. 1980. Micropropagation of red raspberry and the influence of phloroglucinol. *Sci. Hortic.* 12: 313-319.
- Kitto, Sol, and M. J. Young. 1981. *In vitro* propagation of carrizo citrange. *Hort. Sci.* 16(3): 305-306.
- Mellor, F. C., and R. Slace. 1976. Influence of heat the ramy on rooting of and elimination of raspberry dwarf virus from shoot cuttings of red raspberry. *Acta Hort.* 66: 63-70.
- Ochoa, F. E. L. 1983. Efecto de AIB, ANA y carbón activa do sobre el enraizamiento de fresa *in vitro*. Tesis. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM. 72 p.
- Putz, C. 1971. Obtention de framboisiers (Var Bois Blanc) sans virus par la technique des cultures de méris têmes. *Ann. Phytopathol.* 3(4): 493-501.
- Pyott, J. L., and R. H. Converse. 1981. *In vitro* propagation of heat-treated raspberry clones. *HortScience* 16(3): 308-309.
- Snir, I. 1981. Micropropagation of red raspberry. *Sci. Hort.* 14: 139-143.

- Swartz, H. J. 1983. Field performance and phenotypic stability of tissue cultured-propagated thornless blackberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108(2): 285-290.
- Sutter, E., and R. W. Langhans. 1979. Epicuticular wax formation on carnation plantlets regenerated from shoot tip culture. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104(4): 493-496.
- Torre, L. C.; R. P. Doss, and B. H. Barrit. 1980. Rooting of young root-shoots of red raspberry in auxin solution. *HortScience* 15(2): 152-154.
- Welander, M. 1983. *In vitro* rooting of the apple rootstock M.26 in adult and juvenile growth phases and acclimatization of the plantlets. *Physiol.* 58: 231-238.