

**UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA UTILIZACION DE 6-
BENZILAMINOPURINA (BAP) SOBRE LA PROPAGACION
IN VITRO DE DASHEEN (*Colocasia esculenta (L.) Schott.*)**

BERNABEL GUERRA J.

1-717-1895

**DAVID, CHIRIQUÍ
REPÚBLICA DE PANAMÁ**

2015

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA UTILIZACION DE 6-BENZILAMINOPURINA (BAP) SOBRE LA PROPAGACION *IN VITRO* DE DASHEEN *Colocasia esculenta (L.) Schott.*

TRABAJO DE GRADUACION SOMETIDA PARA OPTAR POR EL TITULO DE INGENIERO AGRÓNOMO EN CULTIVOS TROPICALES

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**

PERMISO PARA SU PUBLICACIÓN, REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DEBE SER OBTENIDA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

APROBADO:

PROF. M.Sc. SIMON VÁSQUEZ

DIRECTOR

PROF. ING. JOSE PINEDA

ASESOR

PROF. M.Sc .RICARDO BLAS

ASESOR

**DAVID, CHIRIQUI
REPUBLICA DE PANAMÁ
2015**

AGRADECIMIENTO

Le agradezco primeramente a Dios, por haberme permitido culminar mi estudio y ser mi ayudador en los momentos cuando más lo necesitaba.

Les agradezco a mis amados padres: Francisco Guerra y Leona Jiménez por apoyarme en todo momento, y por haberme dado la oportunidad de tener un nivel educación en el transcurso de mi vida.

Mis hermanas Carolina y Verónica Guerra, por tener la voluntad de apoyarme de manera incondicional en el transcurso de mi vida universitaria.

También les agradezco a los asesores; Ing. Simón Vázquez, Ing. Ricardo Blas, que me orientaron para que pudiera desarrollar la investigación bajo la supervisión de ellos y obtener el resultado de manera más eficaz posible.

A mis amigos Ing. Jaime Rodríguez y la Lic. Rosemaria Serrano que me brindaron el apoyo y el tiempo para que pudiera culminar la investigación y obtener el resultado satisfactoriamente.

Bernabel Guerra Jiménez

DEDICATORIA

A mi padres Francisco Guerra y Leona Jiménez que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento. Por darme la oportunidad de optar por una excelente carrera para mi futuro y por creer en mi sueño de convertirme en un profesional que tanto soñaba, les dedico este esfuerzo y agradezco que hayan estado a mi lado para apoyarme incondicionalmente.

A mi sobrinita Karen por ser un regalo de Dios para toda la familia.

A mi fallecido hermano, Francisco Guerra hijo, por haberme inspirado y aprender en la vida que si se puede lograr, a pesar de que provenimos de un estrato económico limitado, sin considerar las diferentes dificultades en la vida.

Bernabel Guerra J

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA UTILIZACION DE 6-BENZILAMINOPURINA (BAP) SOBRE LA PROPAGACION *IN VITRO* DE DASHEEN *Colocasia esculenta* (L.) Schott.

Guerra, Bernabel 2015 .Evaluación del efecto de la utilización de 6-Benzilaminopurina sobre la propagación *in vitro* de **Dasheen**, *colocasia esculenta* (L) Schott. Tesis ingeniería agronómica en cultivos tropicales .FCA.UP.

RESUMEN

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FCA) entre el 19 de Marzo de 2014 al 12 de Abril de 2015.

El objetivo fue evaluar el efecto de 6-Benzilaminopurina sobre la propagación *in vitro* de *Colocasia esculenta*. Los explantes fueron obtenidos de la planta madre proveniente de la provincia de Bocas del toro. Estos explantes fueron sometidos a un protocolo de desinfección la cual consta de alcohol, clorox y jabón antibacterial.

La investigación se dividió en tres fases: Establecimiento, Multiplicación y Enraizamiento; en la fase 1 se evaluó el porcentaje de sobrevivencia y longitud de plántulas con y sin regulador, en la fase 2 se evaluó el número de brotes y longitud de brotes con y sin regulador, mientras que en la fase tres se evaluó longitud y números de raíces sin regulador. Para determinar la significancia de los tramiento se utilizó la comparación de medias con la tabla de t de student, los datos arrojados fueron realizados manualmente, los resultados de la fase; uno, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos, y para la fase dos en la etapa de multiplicación, si hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Y por último se consideró los parámetros estadísticos para las variables longitudes y números de raíces la cuales el coeficiente de variación fue mayor para longitudes de raíces lo que indica menor homogeneidad en cuantos a la longitud.

Palabras clave: variables, colocasia esculenta, Dasheen, Benzilaminopurina

ABSTRACT

Guerra, Bernabel, 2015. Evaluation of the effect of the utilization of 6-Benzilaminopurina on Dasheen's in vitro spread, *Colocasia esculenta* (L) Schott. Thesis Agronomic engineering in Tropical Crops Sciences .FCA.UP.

This investigation was realized in the Laboratory of Vegetable Biotechnology of the Faculty of Agricultural Sciences (FCA) between March 19, 2014 to April 12, 2015.

The objective was to evaluate the effect of 6-Benzilaminopurina (BAP) on the in vitro spread of *Colocasia esculenta*. The seed were obtained of the parent plant from the Bocas Del Toro province. These explantes were submitted to a protocol of disinfection which consists of alcohol, Clorox and soap antibacterial. The research divided in three phases: Establishment, Multiplication and to take root; in the phase 1 evaluated the percentage of survival and length of plants with and without regulator, in the phase 2; I evaluate the number of outbreaks and length of outbreaks with and without regulator. To determine the significant of the treatments the comparison of averages was in use with the table of (t) of students, the brave information was realized manually, the results of the phase; One, there was no significant difference between the treatments, and for the phase two in the stage of multiplication, if there were significant differences between the treatments. And finally it was considered to be the statistical parameters for the variable lengths and numbers of roots which the coefficient of variation was major for lengths of roots what indicates minor homogeneity in all those to the length.

Key words: variables, colocasia esculenta, treatment, Benzilaminopurina.

INDICE DE CONTENIDO

APROBACIÓN.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE GRAFICOS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Antecedente.....	4
1.3. Justificación.....	5
1.4. Objetivos.....	6
1.4.1 .Objetivo general.....	6
1.4.2 .Objetivo específico.....	6
1.5. Hipótesis.....	7
1.6. Alcances y limitaciones.....	8
1.6.1. Alcances.....	8
1.6.2.Limitaciones.....	8

2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	9
2.1. Origen y características de Colocasia esculenta.....	9
2.2. Clasificación científica.....	11
2.3. Ecología de Colocasia.....	12
2.4. Control de malezas.....	13
2.5. Plagas y enfermedades.....	13
2.6. Concepto de micropropagación.....	14
2.7. Factores que afectan la micropropagación.....	15
2.7.1. Explantes.....	15
2.7.2. Factores físico.....	15
2.7.3. Medio de cultivo.....	15
2.8 .Reguladores de crecimiento.....	16
2.8.1. Citocinina.....	16
2.8.2. Efectos.....	17
2.8.2.1. Crecimiento.....	17
2.8.2.2. Dominancia apical.....	17
2.8.2.3. Diferenciación y morfogénesis.....	17
2.9. Bayardo, M (2013).....	17
2.10. Etapas del cultivo <i>in vitro</i>	18
2.10.1. Etapa de establecimiento.....	18
2.10.2 .Etapa de multiplicación.....	18
2.10.3 .Etapa de enraizamiento.....	18

2.10.4 .Etapa de aclimatación.....	18
3 .MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
3.1. Materiales.....	19
3.2. Metodología.....	21
3.2.1. Área de estudio	21
3.2.2. Descripción del estudio.....	21
3.2.3. Descripción de los tratamientos.....	22
3.3 .Fases del estudio.....	22
3.3.1. Etapa de establecimiento.....	22
3.3.2 .Etapa de Multiplicación.....	22
3.3.3 .Etapa de enraizamiento.....	22
3.4 .Variables a evaluar en la etapa de establecimiento.....	24
3.4.1 .Porcentaje de explantes vivos.....	24
3.4.2. Porcentaje de explantes contaminados.....	24
3.4.3. Porcentaje de explantes muertos.....	25
3.4.4. Longitud de plántulas.....	25
3.5. Etapa de multiplicación.....	26

3.5.1. Variables a medir en la etapa de multiplicación.....	26
3.5.2 .Número de brotes.....	26
3.5.3 .Longitud de los brotes (cm).....	26
3.6 Enraizamiento.....	26
3.6.1. Variables a evaluar durante la etapa de enraizamiento.....	27
3.6.2. Números de raíces.....	27
3.6.3 .Longitud de raíces.....	27
3.7. Preparación de soluciones madres.....	27
3.8. Preparación de los medios de cultivos.....	28
3.9. Esterilización de los materiales y equipo.....	29
3.10. Obtención del material.....	30
3.11. Reducción de los cormos.....	31
3.12. Introducción del material vegetal al laboratorio.....	32
3.13. Obtención del ápice dentro de la cámara de flujo laminar.....	33
3.14. Siembra de los ápices en el medio Murashige y Skoog 1962.	34
3.15 Condiciones físicas de incubación.....	35
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36

4.1. Etapa de establecimiento.....	36
4.2. Longitud de plántulas.....	37
4.3. Etapa de multiplicación.....	38
4.3.1. Primer Subcultivo.....	38
4.3.1.2 .Número de Brotes.....	38
4.3.1.3 .Longitud de Brotes.....	39
4.3 .2. Segundo subcultivo.....	40
4.3.2.1 Número de Brotes.....	40
4.3.2.2 Longitud de los Brotes.....	41
4.3.3 Tercer subcultivo.....	42
4.3.3.1 Número de Brotes.....	42
4.3.3.2. Longitud de Brotes.....	43
5. ETAPA DE ENRAIZAMIENTO.....	44
5.1 Números de raíces	44
5.2 Longitud de raíces.....	44
6. CONCLUSIONES.....	46
7. RECOMENDACIONES.....	47
8. REFERENCIA CITADAS.....	48
8.1 DE INTERNET.....	48

INDICE DE CUADROS

No.	TITULO	pág.
I.	Materiales y equipos utilizados en el laboratorio de cultivo <i>in vitro</i> para la propagación de colocasia esculenta.	19
II.	Componentes necesarios para preparación de medio MS para Dasheen	20
III.	Componentes MS utilizado en las diferentes etapas de micropropagación de Colocasia esculenta	23
IV.	Comparación de medias para la variable longitud de plántulas en la etapa de establecimiento	37
V.	Comparación de medias para la variable número de brotes en el primer sub cultivo en la etapa de multiplicación	38
VI.	Comparación de medias para la Variable longitud de brotes en el primer subcultivo de la etapa de multiplicación	39
VII.	comparación de medias para la variable número de brotes en el segundo subcultivo en la etapa de multiplicación.	40
VIII.	comparación de medias para la variable longitud de brotes en el segundo subcultivo de la etapa de multiplicación.	41
IX.	Comparación de medias para la variable número de brotes en el tercer subcultivo en la etapa de multiplicación.	42
X.	Comparación de medias para la variable longitud de brotes en el tercer subcultivo en la etapa de multiplicación	43
XI.	Resultados obtenidos producto de los parámetros estadísticos para la variable número y longitud de raíces sin regulador en la etapa de enraizamiento.	44
XII.	Resumen de resultados de comparación de media entre los tratamiento con regulador y sin regulador en el medio MS.	45

INDICE DE FIGURAS

FIGURAS	TITULO	Pág.
Figura N°1	Cormos de Dasheen empleado en el cultivo <i>In vitro</i> , 2015.	30
Figura N° 2	Reducción de los cormos para desinfección, 2015	31
Figura N°3	Batería de desinfección ,2015	32
Figura N° 4	Ápice meristemático, 2015	33
Figura N°5	Siembra de meristemo, 2015	34
Figura N° 6	Plántulas en sala de crecimiento, 2105	35

ÍNDICE GRÁFICOS

No.	TITULO	Pág.
1.	Resultados obtenido en la etapa de establecimiento de <i>Dasheen Colocasia esculenta</i> .	36

ÍNDICE DE ANEXO

ANEXO	TITULO	Pág.
Anexo N°1	Reactivos químicos utilizados para la preparación de los medios de cultivos.	55
Anexo N°2	Estereoscopio utilizado para observar los meristemas.	56
Anexo N°3	Balanza analítica para medir los reactivos.	56
Anexo N°4	Cámara de flujo laminar utilizado para la disección y siembra de los explantes de Dasheen .	57
Anexo N°5	propágulos de Dasheen utilizado en la investigación	57
Anexo N°6	Etapa de establecimiento de Dasheen.	58
Anexo N°7	Etapa de multiplicación de brotes laterales de Dasheen	58
Anexo N°8	Número de plantas obtenidas durante los Primeros tres subcultivos.	59
Anexo N° 9	Presupuesto.	60

1. INTRODUCCIÓN

La producción agrícola se ha diversificado cada vez más, debido a la búsqueda de alternativas potenciales que involucren la producción de alimentos de alto valor nutricional y de bajos costos. El hombre a través de los años ha domesticado un sin número de especies alimenticias. Inicialmente las pertenecientes a los granos y las legumbres al tiempo que lo hacía con especies del grupo de las raíces y tubérculos.

Los cultivos de raíces y tubérculos desempeñarán un papel fundamental en la alimentación de las personas a nivel mundial durante las próximas décadas. Para el año 2020, más de 2mil millones de personas de Asia, África y América Latina dependerán de estos cultivos como fuente de alimentos e ingresos en efectivo. Para los hogares rurales, el valor de las raíces y tubérculos reside en su capacidad de producir más energía digerible por hectáreas por día que cualquier otro producto básico, FAO (2003).

Ya se ha establecido que las condiciones ambientales tropicales, reúnen las condiciones necesarias para propiciar el desarrollo de un sinnúmero de especies de raíz, por lo que las mismas se pueden convertir en una opción altamente atractiva para el mercado, inclusive especies como el Dasheen (*Colocasia esculenta*) podría ser considerada como una especie exótica, puede ser entonces una opción viable para participar en la reconversión de cultivos que actualmente son poco rentables ,(IDIAP 2013).

El Dasheen conocido también como taro, está enmarcado dentro de los productos no tradicionales; cuyo consumo mundial ha tenido un auge importante (aprovechando el interés por parte de sectores crecientes de consumidores). Es un tubérculo el cual produce un cormo central comestible. Es nutricional esencialmente en energía por su alto contenido de carbohidratos. Este tubérculo también se propaga vegetativamente, Juárez y Úbeda (2011).

El objetivo de esta investigación fue conocer el efecto de 6-Benzilaminopurina sobre las diferentes fases de la propagación *In vitro* de la *Colocasia esculenta* en el laboratorio de cultivo de tejidos en la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el contexto nacional, la planta de Dasheen, es un cultivo poco conocido en Panamá, tan sólo se dedican a producirlo, pequeños productores para su subsistencia, además no existe un programa sostenido de producción, tampoco se conoce la cantidad de plantas obtenidas mediante su propagación, lo anterior limita su propagación y consecuente expansión.

Según Zettler. (1987), Indica que la propagación vegetativa de la malanga o Dasheen facilita la diseminación de plagas y enfermedades a través del material de siembra. Este autor reporta en aráceas la presencia del virus del mosaico del Dasheen (DsMV) cuyo principal efecto es retardar el crecimiento de la planta y reducir los rendimientos. La presencia de este patógeno en el material de siembra impide la obtención de rendimientos óptimos y con calidad, lo que significa menos ingresos a la economía de los productores.

1.2 ANTECEDENTES

El Dasheen, es originaria de Asia sur-central, probablemente de India y Malasia, se conocen dos grupos principales en la taxonomía de la malanga: el primero tipo eddoe (*Colocasia esculenta* var. *Antiquorum*) y el segundo tipo Dasheen (*Colocasia esculenta* var. *esculenta*). En general se les llama con nombres comunes como: eddoe, malanga, taro, cocoyam y Dasheen, en América su cultivo se realiza principalmente en las Islas del Caribe, Venezuela y Centro América. Montaldo, (1991).

La *Colocasia esculenta* (L.) Schott, conocida en Panamá como Dasheen, fue uno de los primeros cultivos domesticados por el hombre. El Dasheen o taro parecen originarse en el extremo oriente, la palabra "taro" viene de la polinesia, donde esta planta constituye la base de la alimentación indígena. Aunque también se conoce en china como taro, Torre (1994).

1.3 JUSTIFICACIÓN

Como no existe un programa para la producción del Dasheen y el material vegetativo utilizado por los pequeños productores es el cormo y sección basal, con el uso de la técnica de micro propagación de *esta especie*, se podría obtener sus respuesta a la propagación *in vitro*. Además, mediante la micro propagación de este cultivo es posible obtener mayor cantidad de plantas al año, en comparación con las obtenidas de cormos por planta madre que es la forma tradicional de multiplicar este rubro. Se garantizará plantas sanas o libres de patógenos para los productores dedicados a este cultivo, favoreciendo la seguridad alimentaria para el sector comarcal.

Se han realizado estudios en los cuales señalan que plantas producidas *in vitro*, obtuvieron cambios en el patrón de crecimiento, y tolerancia a enfermedades. Razones por las cuales la multiplicación *in vitro* es una herramienta de gran ayuda para la propagación de este rubro, generando una producción masiva, rápida y libre de patógenos, Bayardo (2013).

Es una planta con gran potencial para las zonas tropicales, su importancia radica principalmente como suplemento en la dieta humana, animal y diferentes usos industriales. Se consume cocido y como harina para diversos usos principalmente como frituras. <http://www.sica.gov.ec/agronegocios/>. Estudio de la malanga.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General.

- Determinar el efecto de la Citocinina 6-Benzilaminopurina sobre las fases de propagación *in vitro* de Dasheen (*Colocasia esculenta* (L) Schott.).

1.4.2 Objetivos Específicos.

- Establecer los índices de sobrevivencia, contaminación y muerte de los explantes durante la etapa de establecimiento *in vitro* del Dasheen con y sin la utilización de 6- Benzilaminopurina.
- Evaluar la tasa de producción de brotes con y sin la utilización de 6- Benzilaminopurina en la etapa de multiplicación.
- Contabilizar los números de plántulas micropropagadas al final de tres ciclos de sub cultivos.
- Estimar los promedios de las longitudes y del número de raíces en la etapa de enraizamiento.

1.5 HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

- **Ho:** No hay diferencias significativas en la respuesta que presenta el Dasheen a la micro propagación *in vitro* utilizando la citocinina 6-Benzilaminopurina en comparación con su no utilización.
- **Ha:** Hay diferencias significativas en la respuesta que presenta el Dasheen a la micro propagación *in vitro* utilizando la citocinina 6-Benzilaminopurina en comparación con su no utilización.

1.6 ALCANCES Y LIMITACIONES

1.6.1 ALCANCES

Los resultados de este trabajo podrán proporcionar información que servirá de base a los programas de multiplicación *in vitro* del Dasheen. Lo anterior potenciará la oferta de material de plantación de esta especie.

1.6.2 LIMITACIONES

Se requiere tener disponibilidad de utilización de una unidad o laboratorio de propagación *in vitro*. Además se debe contar con los materiales y reactivos en cantidades y condiciones adecuadas para el desarrollo de este trabajo. La contaminación endógena puede acarrear problemas en la etapa de establecimiento *in vitro*.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen y características de *Colocasia esculenta*

Según Oyenuga (1967), El taro o Dasheen, se encuentra entre los primeros cultivos domesticados por el hombre. El sitio en que se inició este cultivo con más frecuencia es el sudeste de Asia, entre India e Indonesia, se cree que la Colocasia es nativa de las áreas boscosas de Ghana y otros lugares de África occidental.

Montaldo (1991), Indica que el Dasheen es un cultivo muy antiguo y expandido en el mundo, cuya domesticación pudo hacerse entre la India e Indochina, en donde aún se encuentran poblaciones silvestres. También se han encontrado en países como Nueva Zelanda, Filipinas, China, Japón y países de África. Su introducción en América ocurrió poco después del descubrimiento.

Warid (1970), Señala que en Egipto el taro se ha cultivado desde hace 800 años; esta planta como se indica tiene innumerables nombres comunes en los trópicos, pero se verá que la variación "tallus" (tallas, tales y taloes) más importante, de la cual se deriva el nombre Hawaiano "taro".

El taro, papachina, ocumo o Dasheen mantiene números cultivares pero generalmente se clasifica en dos grupo principales: el tipo *eddoe* que posee cormelos pequeños y cormelos más grande. Y el tipo *Dasheen*, en el cual el cormo es grande y los comerlos pequeños, Onwueme (1978).

Barrett (1930), Indica que a través de la Polinesia esta planta junto con el árbol de pan (*Artocarpus altilis*) constituyeron alimento principal de sus habitantes repartidos en miles de islas que van desde Hawái (NE) a Isla de Pascua y Nueva Zelandia.

La Papachina o Dasheen; es una planta herbácea suculenta que consiste de un corno central comestible grande esférico, elipsoidal o cónico del que se origina los comerlos, raíces y parte aérea, Onwemen (1978) y Montaldo (1991).

La malanga o taro , además de ser un producto valioso en los países tropicales y subtropicales; utilizados preferentemente para la alimentación por su valor esencialmente energético, rico en carbohidratos y bajo contenido en proteínas; posee características agrícolas que contribuyen a su desarrollo como cultivo: su alto potencial de rendimiento y el poder de conservación en condiciones naturales, López (1995).

La taxonomía de taro es algo confusa, algunos autores consideran dos especies: *Colocasia esculenta* y *Colocasia antioquorum*. Mantiene *Colocasia antioquorum* como especie principal y reconoce varias subespecies como: *typica*, *euchlora*. Lo aceptado, generalmente es la especie *Colocasia esculenta*, Onwueme (1978).

2.2. Clasificación Científica

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Liliopsida
- Orden: Alismatales
- Familia: Aráceae
- Subfamilia: Aroideae
- Tribu: Colocasieae
- Género: Colocasia
- Especie: esculenta.

[http://es.wikipedia.org/wiki/Colocasia esculenta](http://es.wikipedia.org/wiki/Colocasia_esculenta)

Esta planta generalmente no produce semillas, quizá debido a que por selección clonal, a través de cientos de años de cultivo solo se hayan seleccionado los clones estériles, o bien como la cosecha se hace antes del año o al año, las inflorescencias no tienen la oportunidad de formarse.

Las plantas presentan tubos lactíferos que contienen un líquido blanco-amarillento, rico en taninos. Todas las partes de la planta son comestibles, pero como todas las aráceas, contiene oxalato de calcio lo cual limita el consumo de algunas variedades. Genera ácido cianhídrico, pero que puede eliminarse por lavado y cocción, Capus (1930).

Rodríguez (2008), Señala que es una planta herbácea suculenta que alcanza gran altura 1-2m. Sin tallo aéreo en los ejemplares bajo cultivo anual y con hojas de peciolo largos, láminas verdes, oblongo ovada, cordada. Flores en ápices, unisexuales. Flores pistiladas en la base del espádice y flores estaminadas en el extremo, con un grupo de flores estériles entre ambas zonas. Produce un cormo central comestible, grande, esférico, elipsoidal o cónico, o un cormo central que se ramifica en cormelo laterales, que son mayores que el central. Estos cormos o cormelos están recubiertos exteriormente por escamas fibrosas o pueden ser lisos. El color de la pulpa es por lo general blanco, pero también pueden presentarse clones coloreados hasta llegar al morado.

2.3 Ecología de *Colocasíae*

El taro es una planta esencialmente tropical; requiere precipitaciones alta (1800-2500 mm) bien distribuidas, con temperatura entre 25-30°C. El periodo normal de siembra del taro es a comienzos de la estación lluviosa sin embargo, los cultivos bajo leve inundación también pueden realizarse en la época que sea más conveniente. El periodo que va desde la plantación a la cosecha es muy variable, pudiendo llegar de 6 a 18 meses según las variedades y las localidades Plucknet (1970).

2.4 control de malezas

Según Montaldo (1991), Para el cultivo de taro en seco, el desyerbe se hace normalmente con herramientas de mano. Tal control mecánico debería ser con la mínima profundidad para evitar daño al sistema radicular del taro que es muy superficial.

2.5 Plagas y enfermedades

Según Sivan (1970), El taro es poco atacado por insectos, no obstante algunas especies pueden causar daños, ejemplo de ellas: *Taraphagus Proserpina* (Homoptera-Delphacidae), la cual se puede controlar biológicamente. Otras plagas secundarias señaladas por el mismo autor son: el cortador, *Prodenia litura* (Lepidóptera Noctuidae) y la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Homóptera – aleurodidae).

Enfermedades como *Phytophthora Colocasiae*, se encuentra a menudo condiciones favorables para su desarrollo, causan epidemia en 5-7 días. *Phythium* y *Fusarium solani* causan pudrición blanda de los cormos, Trujillo (1969).

La madurez del cultivo se produce cuando las hojas comienzan a tornarse amarillentas. Los cormos, en los suelos muy sueltos, se arrancan a mano, con azadón o máquina cosechadoras especiales. La siguiente operación será separación de los cormelos del corno principal y su limpieza. Sivan (1970).

Onwueme (1978). Indica que el tiempo desde el plantado hasta la cosecha varía según el cultivo así como del método del cultivo utilizado, puede variar de 7 a 11 meses.

2.6 Concepto de Micropropagación

Originalmente, la micro propagación se define como cualquier procedimiento aséptico que comprende la manipulación, en las plantas, de órganos, tejidos o células que produzcan poblaciones de plántulas y que permita el desvío tanto del proceso sexual normal, como la de la propagación vegetativa no aséptica que se practica convencionalmente, Roca y Mroginnski (1991).

A diferencia de las técnicas tradicionales del cultivo, esta herramienta permite la propagación de grandes volúmenes de plantas en menor tiempo; así como el manejo de las mismas en espacio reducidos. Por otro lado, la técnica es de gran utilidad en la obtención de plantas libres de patógenos, Escobar (1985).

2.7 Factores que afectan la Micropropagación

2.7.1 Explantes:

Si las plantas que se van a micropropagar tienen producción por semilla, las partes embrionales o de las plántulas son las fuentes más comunes de explantes. En el caso de especies propagadas vegetativamente, los brotes jóvenes y los ápices meristemáticos han sido generalmente la fuente de explante. Sólo en el caso de que se pretenda obtener plantas libres de virus, los meristemas (sin primordios foliares) tienen una alta probabilidad de diferenciar plantas libres de patógenos; sin embargo, es más fácil regenerar de ellos plantas completas, Villalobos y Thorpe (1991).

2.7.2 Factores físicos

La temperatura de incubación para la propagación de la mayoría de las familias fluctúa entre 24° y 28° grados centígrados. La luz es un factor fundamental en la morfogénesis, involucra varios componentes como son la intensidad, el fotoperiodo y la calidad, Hughes (1981).

2.7.3 Medio de cultivo

El éxito en el cultivo de tejidos depende de la selección del medio de cultivo, incluyendo su composición química y forma física, Villalobos y Thorpe (1991).

Una vez definido el objetivo perseguido con el cultivo *in vitro* de un determinado explante, es necesario elegir un medio apropiado de cultivo en el cual hay que considerar no sólo sus componentes sino su preparación; existen innumerables formulaciones cada una de las cuales contiene entre 15 y 35 compuestos químicos que suministran: carbono, nutrimento minerales, vitaminas, agente gelificante (en caso de medios semisólidos), sustancias reguladores de crecimiento y otros compuestos, Mroginski y Roca (1991).

2.8 Reguladores de crecimiento

Son compuestos orgánicos distintos de los nutrientes que en pequeñas cantidades, fomentan, inhiben o modifican de alguna forma cualquier proceso vegetal. En cultivo de tejidos se utilizan cuatro grupos como: auxina, ácido giberélico, citocinina y ácido abscísico, Hurtado y Merino (1994).

2.8.1 Citocinina

El nombre genérico de las citocininas es empleado para aquellas sustancias químicas que pueden estimular principalmente la división celular o citocinesis. Casi todas las citocininas conocidas, tanto naturales como sintéticas, son derivados de la adenina, en las cuales el grupo amino lleva determinados sustituyentes en la posición seis. Además, presentan actividad citocínica. Es un grupo más reducido de hormonas que deben su nombre a su función (citoquinesis). Derivan de adeninas, y las más frecuentes son la quinetina y benciladenina (sintéticas) y la zeatina (natural), Hurtado y Merino (1988).

2.8.2 Efectos

Los efectos que producen son:

2.8.2.1 Crecimiento: en conjunto con las auxinas estimulan la proliferación de células meristemáticas, y también estimulan la expansión de los cotiledones tras el primer haz de luz que reciben.

2.8.2.2 Dominancia apical: estimulan el crecimiento de yemas laterales inhibiendo la apical (contrario a las auxinas, por lo que deben estar en equilibrio).

2.8.2.3 Diferenciación y morfogénesis: provocan cambios en la morfología según el tipo de crecimiento, Junto a las auxinas estimulan la formación de raíces y tallos.

2.9 Bayardo M (2013), Realizó una investigación que consistió en evaluación de medio líquido y semisólido en la micropropagación de malanga (*Colocasia esculenta* L. Schoot), el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del medio líquido y semisólido suplementado con BAP y Kinetina en la formación de brotes durante establecimiento y multiplicación *in vitro* de malanga, encontró diferencias significativas entre los cuatro tratamientos siendo superior el semisólido. Este autor concluye que el medio más apropiado para la micropropagación de malanga es el medio basal de M y S (1962) semisólido modificado y suplementado con 2.87 mg/L de BAP para establecimiento y 4.3 mg/L de BAP para multiplicación. Ya que se tiene el mayor número de brotes por explante y número de microesquejes totales.

2.10 ETAPAS DEL CULTIVO *IN VITRO*

2.10.1 Etapa de establecimiento

Es la etapa más crítica dentro del cultivo *in vitro* el objetivo es lograr la inoculación de los explantes en los medios de cultivo, el éxito dependerá de la edad fisiológica, el proceso de desinfección y tamaño del explante.

2.10.2 Etapa de multiplicación

El objetivo de esta etapa es mantener y aumentar la cantidad de plantas establecidas, esto se logra por medio de cortes a los nuevos brotes provenientes de las plantas establecidas. En esta etapa son importantes los reguladores de crecimiento como auxinas, giberelinas y citoquininas y las condiciones de crecimiento para la multiplicación.

2.10.3 Etapa de enraizamiento

Se produce la formación de raíces adventicias, por medio de concentraciones elevadas de auxinas se promueve la rizogénesis.

2.10.4 Etapa de aclimatación

Es la segunda etapa más crítica dentro del cultivo *in vitro*, debido al estrés causado por la evapotranspiración acelerada de las plantas. Por lo tanto se tiene una alta reducción en la supervivencia de las plantas, se utilizan diferentes tipos de sustratos, Mroginski y Roca (1991).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1- MATERIALES

Cuadro I. LOS MATERIALES Y EQUIPO UTILIZADOS EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL PARA LA MICRO PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE DASHEEN (*Colocasia esculenta*).

Semillas de Dasheen	Imanes
Medio universal MS	Lápices
Vasos químico	Elernmeyers
Cuchillo	Policías
Pinzas	Microondas
Hojas de bisturí	Fósforos
Mango de bisturí	Estereoscopio
Papel toalla	Bandejas
Probeta	Mechero Bunsen
Autoclave	Cinta adhesiva
Medidor de pH	Desinfectantes
Balanza analítica	Cámara de flujo laminar
Espátulas	Frascos de vidrio
Embudos	Refrigerador
Agitador magnético	Goteros

Fuente: El autor

CUADRO II. COMPONENTES NECESARIOS PARA PREPARACIÓN DE MEDIO Murashige & Skoog (MS) PARA DASHEEN (*Colocasia esculenta*).

	Componente	Inicio	Multipliación	Enraizamiento
I	Macronutrientes	Mg/L		
	Nitrato de amonio (NH ₄ NO ₃)	2.178	4356	3276
	Fosfato mono potásico(KH ₂ P0 ₄)	330	440	330
	Sulfato de magnesio (Mg SO ₄ . 7H ₂ O)	720	960	720
	Cloruro de calcio (CaCl ₂ 2H ₂ O)	870	1160	870
	Nitrato de potasio (KNO ₃)	2508	5016	3762
II	Micronutrientes			
	Sulfato de manganeso(MnSO ₄ . 4 H ₂ O)	1680	3360	1680
	Sulfato de zinc (ZnSO ₄ .7H ₂ O)	860	1290	860
	Molibdato de sodio(Na ₂ MO ₄ ,2H ₂ O)	25	50	25
	Sulfato de cobre (CUSO ₄ .5H ₂ O)	2.5	10	2.5
	Cloruro de cobalto(COCl ₂ .6H ₂ O)	2.5	5	2.5
	Yoduro de potasio (KI)	82	328	82
	Ácido Bórico(H ₃ BO ₃)	620	930	
III	Quelatos de Hierro			
	Sulfato Ferroso(FeSO ₄ .7H ₂ O)	37.3	111.9	37.3
	Na ₂ EDTA	27.8	83.4	27.8
IV	Vitaminas			
	Tiamina HCl	0.1	0.3	0.1
	Ácido nicotínico	0.5	1.5	0.5
	Piridoxina HCl	0.5	1.5	0.5
	Glicina	2	6	
V	Reguladores de crecimiento			
	Inositol	0.1	0.3	0.1
	BAP	3.5	10.5	
VI	Fuente de carbono			
	Sacarosa	30000	90000	30000
VII	Agente Gelificantes			
	Agar	3500	10500	3500

Fuente: El autor

3.2.-METODOLOGÍA

3.2.1 Área de estudio

La investigación se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales en el Departamento de Fitotecnia, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Panamá , localizado en la provincia de Chiriquí, corregimiento de Chiriquí, en el período comprendido entre 19 de marzo de 2014 al 12 de abril de 2015.

3.2.2 Descripción del estudio

La metodología empleada en el estudio se hizo siguiendo el protocolo realizado por Marvin Bayardo (2013); mediante la utilización de un medio líquido y semi sólido en la propagación de *Colocasia esculenta* y el medio básico Murashige & Skoog (1962).

Las condiciones de crecimiento fueron las siguientes; temperatura de 26 ± 1 °C, intensidad lumínica de $215 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, bajo luz blanca fluorescente con un fotoperiodo de 16 horas de luz más 8 horas de oscuridad continua.

3.2.3 DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Las plantas madres fueron traídas de la provincia de Bocas del Toro. Los explantes fueron sembrados en los frascos de 125 ml con tratamientos sin regulador y con regulador, y el regulador utilizado fue 6- Benzilaminopurina (BAP) con una concentración de 3.5ppm. Los resultados obtenidos fueron comparados con la medias de t de student, la cual se realizó manualmente.

3.3 Fases del estudio

El estudio se desarrolló en tres fases:

3.3.1 Etapa de establecimiento: Se procedió a sembrar los ápices meristemático de Dasheen (*Colocasia esculenta*) en cada uno en los frascos de 125 ml que contenía el medio básico Murashige y Skoog 1962 (MS) suplido con regulador de crecimiento 6-Benzilaminopurina (BAP).

3.3.2 Etapa de multiplicación: Se realizaron tres subcultivos de las vitro plantas de Dasheen en donde los brotes se procedieron a separar de forma individual y se sembraron en el medio (MS) suplido con regulador de crecimiento (BAP)

3.3.3 Etapa de enraizamiento: En esta etapa de formación de raíces, las plántulas procedentes de los subcultivos realizado en la etapa de multiplicación se sembraron en el medio (MS), en donde no se utilizó el regulador (BAP).

Cuadro III.COMPONENTE MURASHIGE & SKOOG UTILIZADO EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE MICROPROPAGACION DE *Colocasia esculenta*.

ETAPAS	Componente Murashige & Skoog
Establecimiento	Macronutrientes, micronutrientes, quelatos de Hierro, vitaminas, reguladores de crecimiento (BAP), fuente de carbono, agente gelificantes.
Multiplicación	Macronutrientes, micronutrientes, quelatos de Hierro vitaminas, reguladores de crecimiento (BAP), fuente de carbono, agente gelificantes.
Enraizamiento	Macronutrientes, micronutrientes, quelatos de Hierro vitaminas, fuente de carbono, agente gelificantes.

Fuente: El autor

3.4 VARIABLES A EVALUAR EN LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO

Para la etapa de establecimiento *in vitro* (aproximadamente 20 a 30 días) se evaluaron las siguientes variables:

3.4.1 Porcentaje de explantes vivos

Se contaron las plántulas y se determinó el porcentaje de sobrevivencia a los 20, 27 días, para:

- Determinar la efectividad del regulador 6-Benzilaminopurina en la *Colocasia esculenta*.
- Para conocer los números de plántulas sobrevivientes con el regulador BAP.

3.4.2 Porcentaje de explantes contaminados

Se determinó el porcentaje de contaminación a los 20, 27 días, para:

- Estimar el desarrollo de colocasia esculenta en el medio Murashige y Skoog (1962.) el 6-Benzilaminopurina.

3.4.3 Porcentaje de explantes muertos.

Se contaron las plántulas y se determinó el porcentaje de explantes muertos a los 20, 27 días, para:

- Determinar la adaptabilidad de *Colocasia esculenta* en el medio Murashige y Skoog (1962.) y el 6-Benzilaminopurina.
- Conocer la efectividad entre el uso y no de regulador.

3.4.4 Longitud de plántulas

Para estimar la longitud de plántulas, se utilizó una regla milimetrada y los datos se registraron en centímetros.

3.5 ETAPA DE MULTIPLICACIÓN

Se procedió a separar los brotes de forma individual para realizarles un corte transversal por encima del meristemo central, a una altura de 1.5 cm, a fin de homogeneizar su tamaño. Luego se transfirieron a los medios de cultivo específicos para la etapa de multiplicación donde se consideraron las variables: Números de brotes y longitud de brotes (cm).

3.5.1 Variables a medir en la etapa de multiplicación

En cada uno de los tres sub cultivos se tomaron las siguientes variables a los 60 días.

3.5.2 Número de brotes

Se contaron luego del tercer subcultivo el total de los brotes.

3.5.3 Longitud de los brotes (cm)

Se midieron con una regla en centímetros desde la base del corno hasta la zona distal de la hoja, los brotes más largos.

3.6 ENRAIZAMIENTO

Finalizada la etapa de multiplicación a los 120 días; se evaluó dos variables importantes; número de raíces por brotes y longitud de las raíces. En esta etapa no se utilizó regulador, esto con el fin de reducir el efecto de la citoquinina y así favorecer el crecimiento de raíces adventicias.

3.6.1 Variables a evaluar durante la etapa de enraizamiento

3.6.2 Números de raíces: se contabilizó los números de raíces por frascos.

3.6.3 Longitud de raíces: con una regla milimetrada se midieron la longitud desde la base hasta extremo de la raíces

3.7 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES MADRES

Antes de empezar a preparar los medios a priori se preparó la solución madre, con los compuestos que esta lleva (Macronutrientes, micronutrientes, Quelatos de Hierro, Fuente de carbono, vitaminas y reguladores de crecimiento), en su debida concentración para cada etapa.

Ya preparadas las soluciones madres, se procedió a preparar los medios. Se colocaron las soluciones madres sobre una mesa y se hicieron los cálculos correspondientes para luego determinar la cantidad que se necesitaba de cada uno de ellos, tal como lo indica el protocolo para la preparación de iniciación en el medio MS (1962).

Para esta investigación se procedió a utilizar 2/3 de los componentes básico MS. También 6- Benzilaminopurina (BAP) como regulador de crecimiento utilizado cuya cantidad fue de 3.5 ppm.

3.8 PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS

La preparación del medio de cultivo se realizó de la siguiente manera:

- Se procedió a colocar un vaso químico en el agitador magnético con aproximadamente 200 ml de agua.
- Luego se procedió a medir la cantidad necesaria de cada una de las soluciones madres y fueron agregadas al vaso químico.
- Seguidamente se aforó la cantidad que se preparó hasta 1000ml.
- Luego se midió el pH de la solución y se ajustó a ± 5.8 .
- Posteriormente se agregó el agar o Gelrite a razón de (3.5 g/l)
- El medio se pasó al microondas por tiempo de 10-12 minutos.
- Luego se procedió a verter 20 ml del medio básico a los frascos para ser utilizado.
- Después los frascos con los medio de cultivo, se introdujeron en la autoclave y se esterilizaron a 121°C /15lbs. de presión /PIS² durante 15 minutos, luego se almacenaron en los anaqueles de la sala de crecimiento.

3.9 ESTERILIZACIÓN DE LOS MATERIALES Y EQUIPO

Los utensilios utilizados en el trabajo de investigación fueron lavados con agua de grifo y detergente, posteriormente se enjuagaron con agua destilada. Seguido se procedió a esterilizar en la autoclave por 15 minutos a 121 grados centígrados y una presión de 15 libras por pulgadas cuadradas. Se esterilizaron otros instrumentos como: pinzas metálicas, mango de bisturíes, papel manila y agua destilada para trabajar dentro de la cámara de flujo laminar.

Antes de empezar las labores en la cámara de flujo laminar, se procedió a encender el flujo laminar de aire, se limpió la cámara con alcohol al 95 y 70 por ciento respectivamente, y se esperó aproximadamente media hora para que el aire circulara y se purificara en el recinto antes de trabajar.

3.10 OBTENCIÓN DEL MATERIAL

El material vegetal que se utilizó para el trabajo de investigación fue traído de la provincia de Bocas del Toro.

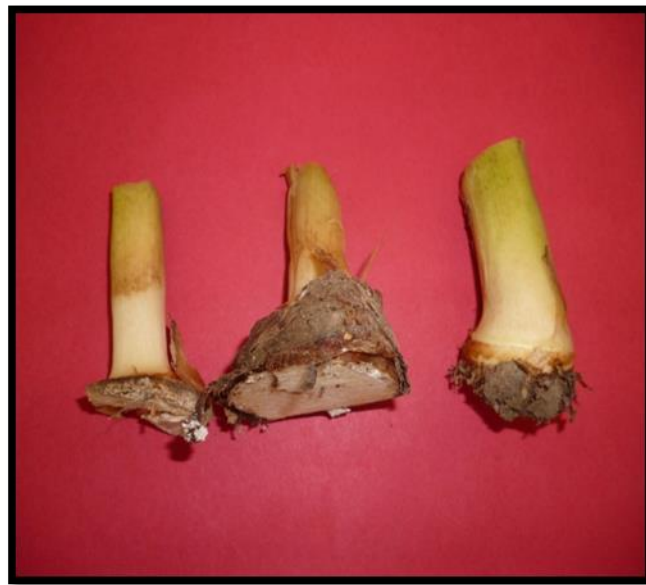


FIGURA 1: Cormos de Dasheen empleado en el cultivo *In vitro*, 2015.

Las plantas objeto de esta investigación fueron seleccionados de un suelo con baja humedad y plantas sanas para evitar limitaciones en la propagación *in vitro*. El número de propágulos utilizados fue de 40 cormos de Dasheen para los tratamientos.

3.11 REDUCCIÓN DE LOS CORMOS

Después de recibido el material, se procedió a eliminar gran parte de los peciolo y capas externa del cormo (ectocormo) con la finalidad de obtener los meristemas apicales. El cormo se redujo aproximadamente hasta dos centímetro para su manipulación en el laboratorio, tal como se aprecia en la Figura 2.



FIGURA 2: Reducción de los cormos para desinfección, 2015

3.12 INTRODUCCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL AL LABORATORIO

Después de haber reducido los cormos al tamaño adecuado de (dos centímetros), se procedió a realizar un lavado con agua y jabón antibacterial, después se sumergió en una batería de desinfección (Figura 3), que consistió en:

- Un vaso químico de 500 ml con alcohol al 70 % por 5 minutos.
- Luego se colocó otro vaso químico de 500 ml con cloro (94 por ciento) al 30 por ciento de este por 10 minuto
- Seguido se colocó otro vaso químico de 500 ml con cloro al 25 % por 15 minutos.
- Además se utilizó agua estéril y tres gotas de tween, esto para eliminar posible patógenos y permitir que se adhiriera los desinfectante, antes de entra a trabajar en la cámara de flujo laminar porque podría ser foco de contaminación.



FIGURA 3: Batería de desinfección ,2015.

3.13. OBTENCIÓN DEL ÁPICE DENTRO DE LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR.

El material vegetal obtenido de aproximadamente dos centímetros, se introdujo en la cámara de flujo laminar.

Luego con la ayuda de un estereoscopio, bisturí y pinzas metálicas, se procedió a eliminar parte del endocormo hasta reducirlo a un tamaño aproximado de 1.5 centímetros para finalmente sembrar los ex plantes.

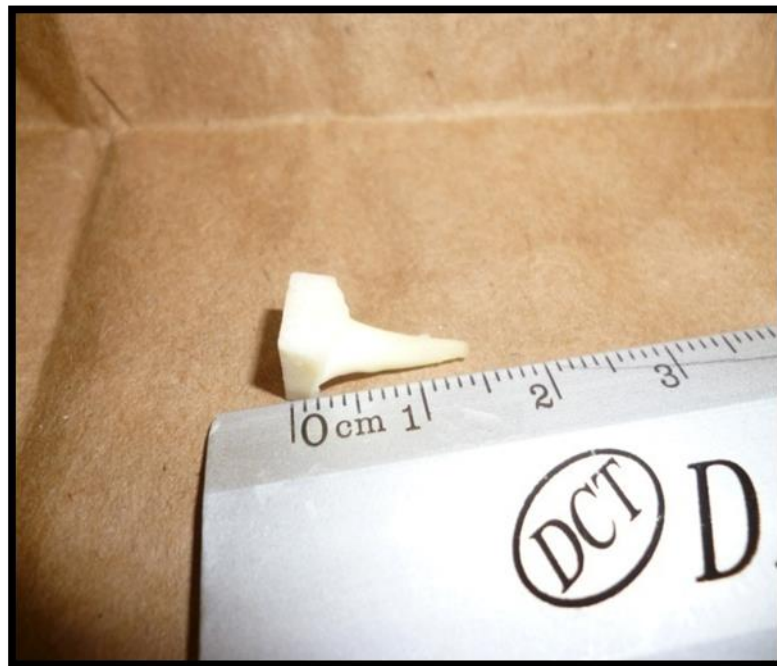


FIGURA 4: Ápice meristemático luego del proceso de retirar Parte del endocormo, 2015.

3.14-SIEMBRA DE LOS ÁPICES EN EL MEDIO MURASHIGE Y SKOOG (MS) 1962.

Después de haber reducido los ápices, se sembraron en el medio de iniciación básico de Murashige y Skoog (1962) por un periodo de 28 días; hasta obtener una elongación aproximada de dos a cinco centímetro de longitud y adquirir una coloración verde.



Figura 5: Siembra de ápices en el medio de iniciación básico de Murashige y Skoog, 2015.

3.15- CONDICIONES FÍSICAS DE INCUBACIÓN

Los explantes se mantuvieron a una temperatura de 26 ± 1 grados centígrados, con intensidad lumínica de $215 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$, bajo luz blanca fluorescente continua, por un periodo de 27 días.

Desde la etapa de establecimiento hasta enraizamiento se mantuvieron en esta condición, para facilitar el proceso de crecimiento y desarrollo de las plántulas *in vitro*.



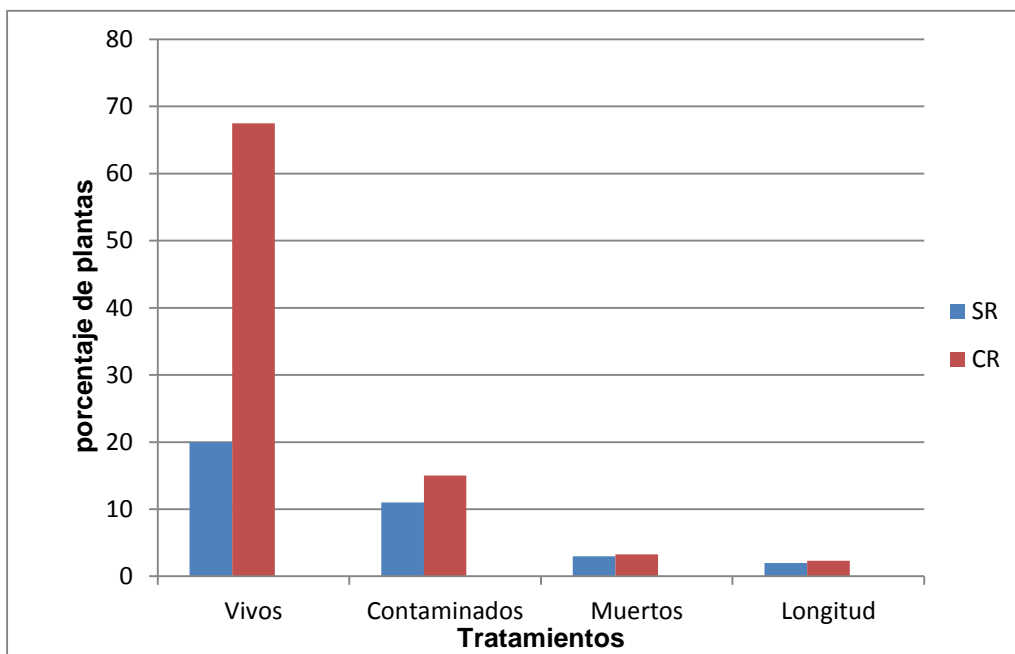
Figura 6: Plántulas en sala de crecimiento, 2105.

4-RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 ETAPA DE ESTABLECIMIENTO

Se presenta en la siguiente gráfica, los resultados obtenidos en los tratamientos con y sin regulador de *colocasia esculenta* en esta etapa.

GRAFICA N°1 .RESULTADOS OBTENIDOS EN LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO DE DASHEEN (*Colocasia esculenta*)



SR=SIN REGULADORES, C.R.=CON REGULADORES

Fuente: El autor

En la gráfica N°1, se presentan los resultados a los 27 días después de la incubación, se reflejan los porcentajes de explantes vivos, contaminados, muertos y la longitud promedio de los tratamientos de los 40 cormos utilizados. El índice de los explantes vivo fue de 67.5 por ciento utilizando 3.5 partes por millón de BAP, inferior al resultado de Bayardo 2013 ,en la que utilizó 40 cormos con 2.87 partes por millón de BAP, y obtuvo mejor resultado en medio sólido con 93 por ciento de sobrevivencia.

4.2 LONGITUD DE PLÁNTULAS

En el siguiente cuadro (Cuadro IV), se muestra el resultado para la variable longitud de plántulas producto de la comparación de medias.

CUADRO IV. COMPARACIÓN DE MEDIAS PARA LA VARIABLE LONGITUD DE PLÁNTULAS EN LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO.

TRAT	N	SC	GL	M	α	Tt	Tc
S.R	20	7.95	38	2.62	0.05	2.03	0.61
C.R	20	4.59	38	2.51	0.05		

S.R = SIN REGULADORES, C.R.=CON REGULADORES.

Tc=t calculada Tt=t de la tabla.

Fuente: El autor

No se encontró diferencia estadísticamente significativa ($\alpha \geq 0.05$) entre los tratamientos aplicados (con regulador y sin regulador). La media de mayor altura sin el uso de regulador fue de 2.4 centímetros y la media de mayor altura con el uso de regulador fue de 2.9 centímetros. El promedio de longitud de ambos fue de 2.6 centímetros.

4.3 ETAPA DE MULTIPLICACIÓN

4.3.1 Primer Subcultivo

4.3.1.2-Número de brotes

Se presenta en el cuadro V, el resultado del análisis de varianza realizado a la variable Número de Brotes en el primer subcultivo.

CUADRO V. COMPARACIÓN DE MEDIAS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE BROTES EN EL PRIMER SUB CULTIVO DE LA ETAPA DE MULTIPLICACION

TRAT	N	SC	GL	M	A	Tt	tc
S.R	20	24.95	38	2.55	0.05	2.03	2.58
C.R	20	12.2	38	1.7	0.05		

S.R = SIN REGULADORES, C.R.=CON REGULADORES

Tc=t calculada Tt=t de la tabla

Fuente: El autor

Los resultados obtenidos en la comparación de medias, del primer sub cultivo, para la variable número de brotes; reflejaron que hay diferencias estadísticamente significativas ($\alpha \geq 0.05$) entre los tratamientos. El mayor número de brotes promedios fue de seis, y se obtuvo con el tratamiento con regulador en donde se incluyó la 6-benzilaminopurina con 3.5 mg/L. Este resultado es congruente con lo señalado por Bayardo (2013), al considerar que la inducción de nuevos brotes está directamente relacionada con la incorporación de BAP en el medio utilizando 4.3 mg/L.

4.3.1.3 Longitud de Brotes

Se realizó el análisis de varianza para conocer si los tratamientos aplicados tendrían algún efecto en la longitud de los brotes. Los resultados se presentan en el siguiente cuadro.

CUADRO VI. COMPARACIÓN DE MEDIAS PARA LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES EN EL PRIMER SUB CULTIVO DE LA ETAPA DE MULTIPLICACION

TRAT	N	SC	GL	M	α	Tt	tc
S.R	20	36.75	38	1.58	0.05	2.03	2.12
C.R	20	6.88	38	0.88	0.05		

SR=SIN REGULADORES CR= CON REGULADORES

Tc=t calculada , Tt=t de la tabla

Fuente: El autor

Los resultados obtenidos producto de la comparación de medias, del primer sub cultivo, para la variable longitud de los brotes, reflejaron que hay diferencias estadísticamente significativas ($\alpha \geq 0.05$) entre los tratamientos. La mayor longitud de brotes promedios fue de cuatro centímetros y se obtuvo en el tratamiento con regulador en donde se incluyó la 6-benzilaminopurina.

4.3.2 Segundo Subcultivo

4.3.2.1-Número de brotes.

Se presenta en el cuadro VII, el resultado del análisis de varianza realizado a la variable número de brotes en el segundo subcultivo en la etapa de multiplicación.

CUADRO VII. COMPARACIÓN DE MEDIAS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE BROTES EN EL SEGUNDO SUBCULTIVO EN LA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

TRAT	N	SC	GL	M	α	Tt	tc
S.R	30	24.8	58	1.80	0.05	2.00	2.35
C.R	30	11.87	58	1.73	0.05		

S.R = SIN REGULADORES, C.R.=CON REGULADORES

Tc=t calculada Tt=t de la tabla

Fuente: El autor

Para la variable número de brotes del cuadro VIII, los resultados obtenidos producto de la comparación de medias, del segundo sub cultivo, reflejaron que hay diferencias estadísticamente significativas ($\alpha \geq 0.05$) entre los tratamientos. Esto significa que el mayor número de brotes de Dasheen se obtuvo en el tratamiento con regulador donde se incluyó la 6-benzilaminopurina.

4.3.2.2 Longitud de los Brotes

Así como en el subcultivo uno, se realizó el análisis de varianza para conocer si los tratamientos aplicados tendrían algún efecto en la longitud de los brotes en el subcultivo dos. Los resultados se presentan en el siguiente cuadro.

CUADRO VIII. COMPARACIÓN DE MEDIAS PARA LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES EN EL SEGUNDO SUB CULTIVO DE LA ETAPA DE MULTIPLICACION.

TRAT	N	SC	GL	M	α	Tt	tc
S.R	30	11.94	58	1.32	0.05	2.004	4.84
C.R	30	16.92	58	1.16	0.05		

S.R = SIN REGULADORES, C.R.=CON REGULADORES

Tc=t calculada , Tt=t de la tabla

Fuente: El autor

En cuanto a la variable longitud de los brotes se observa en el cuadro VIII, los resultados obtenidos producto de la comparación de medias, del segundo sub cultivo, reflejaron que hay diferencias estadísticamente significativas ($\alpha \geq 0.05$) en entre los tratamientos. La mayor longitud fue de 4.5 centímetro y se obtuvo en el tratamiento con regulador en donde se incluyó la 6-benzilaminopurina.

4.3.3 Tercer Subcultivo

4.3.3.1-Número de brotes

Similar a los subcultivos uno y dos; se realizó el análisis de varianza para la variable número de brotes en el tercer subcultivo. Los resultados se presentan en el siguiente cuadro.

CUADRO IX. COMPARACIÓN DE MEDIAS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE BROTES EN EL TERCER SUBCULTIVO EN LA ETAPA DE MULTIPLICACION.

TRAT	N	SC	GL	M	α	Tt	tc
S.R	30	24.8	58	1.80	0.05	2.00	2.50
C.R	30	11.87	58	1.73	0.05		

S.R = SIN REGULADORES, C.R.=CON REGULADORES

Tc=t calculada, Tt=t de la tabla.

Fuente: El autor

Los resultados obtenidos producto de la comparación de medias de la variable los números de brotes, del tercer subcultivo; reflejaron que hay diferencias estadísticamente significativas ($\alpha \geq 0.05$) entre los tratamientos. El mayor número de brotes promedio fue de cinco, y se obtuvo en el tratamiento con regulador en donde se incluyó la 6-benzilaminopurina.

4.3.3.2- Longitud de Brotes

Así como en el subcultivo uno y dos, se realizó el análisis de varianza para conocer si los tratamientos aplicados tendrían algún efecto en la longitud de los brotes pero del subcultivo tres. Los resultados se presentan en el siguiente cuadro.

CUADRO X. COMPARACIÓN DE MEDIAS PARA LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES EN EL TERCER SUBCULTIVO EN LA ETAPA DE MULTIPLICACION.

TRAT	N	SC	GL	M	α	Tt	tc
S.R	30	24.8	58	1.80	0.05	2.00	2.70
C.R	30	11.87	58	1.73	0.05		

S.R = SIN REGULADORES, C.R.=CON REGULADORES

Tc=t calculada Tt =t de la tabla

Fuente: El autor

La comparación de medias, para esta variable en el tercer sub cultivo, reflejó que hay diferencias estadísticamente significativas ($\alpha \geq 0.05$) en el tratamiento con regulador. La mayor longitud de brotes promedio fue de siete, y se obtuvo en el tratamiento con regulador en donde se incluyó la 6-benzilaminopurina. Tanto para la variable número de brotes y longitud de brotes, de acuerdo a los resultados el tratamiento con regulador resultó ser más efectivo.

5. ETAPA DE ENRAIZAMIENTO

Se presenta en el cuadro XI, los resultados del análisis estadístico del número y longitud de raíces sin el regulador de crecimiento para esta etapa.

CUADRO XI. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS PARA LA VARIABLE NÚMERO Y LONGITUD DE RAÍCES SIN REGULADOR EN LA ETAPA DE ENRAIZAMIENTO.

PARÁMETROS	NÚMEROS DE RAÍCES	LONGITUDES DE RAÍCES(cm)
MEDIA (\bar{x})	9.12	2.86
MODA (M)	10	2
RANGO (R)	16	5.8
V MAXIMO	10	6
V MINIMO	4	0.2
VARIANZA (V)	4.49	1.70
D.E	2.12	1.31
C.V	23	45

Fuente: El autor

5.1 Números de raíces

Se presenta los resultados después de finalizar el tercer sub cultivo a los 120 días sin regulador. Para la variable números de raíces , el coeficiente de variación (CV) fue de 23 por ciento y promedio de 9.12. Lo que indica que hay homogeneidad en cuanto a número de raíces.

5.2 Longitud de raíces

El análisis realizado a la variable longitud de raíces resultó en una media de 2.86 centímetros y coeficiente de variación de 45 por ciento; lo que indica que no hubo homogeneidad en cuanto a la longitud de raíces para esta etapa.

En el Cuadro XII se presenta un resumen estadístico de la comparación de medias para las variables longitud y número de brotes en los dos tratamientos aplicados (con regulador y sin regulador).

CUADRO XII. RESUMEN DE RESULTADOS DE COMPARACION DE MEDIA ENTRE LOS TRATAMIENTO CON REGULADOR Y SIN REGULADOR EN LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO Y MULTIPLICACION EN EL MEDIO MS.

TRATAMIENTOS	LONGITUD DE BROTES		NUMERO DE BROTES	
	Tc	Tt	Tc	Tt
Establecimiento	0.61	2.03	-	-
Subcultivo I	2.12	2.03	2.58	2.03
Subcultivo II	4.84	2.04	2.35	2.00
Subcultivo III	2.50	2.00	2.7	2.00

S.R = SIN REGULADORES, C.R.=CON REGULADORES

Fuente: El autor

Se presenta los tratamientos analizados CR y SR para las variables longitud y número de brotes en los subcultivos, cabe señalar que en el establecimiento solo se consideró la variable longitud de brotes por ser etapa de inicio.

6 -CONCLUSIONES

- ❖ Hubo un efecto comprobado en el uso de la 6- Benzilaminopurina sobre las fases de la propagación *in vitro* del Dasheen. Este rubro mostró una buena adaptación a las técnicas de micropropagación *in vitro*.
- ❖ El índice de sobrevivencia al final de la etapa de establecimiento fue de 67.5 por ciento en el tratamiento con regulador; mientras que el índice de sobrevivencia en el tratamiento sin regulador fue de 20 por ciento.
- ❖ Se evaluó la tasa de multiplicación de brotes con y sin la utilización de BAP en la etapa de Multiplicación donde se reflejó diferencia significativa en los subcultivos con respecto a las variables, longitud y número de brotes.
- ❖ Se contabilizaron los números de plántulas en los tratamientos luego del tercer subcultivo con la utilización de (BAP), de las cuales se obtuvo 258 plántulas, y hubo diferencias significativas al aplicar el regulador.
- ❖ Para la variable número de raíces la media fue de 9.12 raíces y el coeficiente de variación fue de 23 por ciento, mientras que para la variable longitud, la media fue de 2.86 centímetros y el coeficiente de variación fue de 45 por ciento.

7 -RECOMENDACIONES

- Para la obtención de mejores explantes, se recomienda la utilización de plantas que hayan crecido en viveros o ambiente controlado, de esta forma se reduce la contaminación endógena.
- De acuerdo a esta investigación para este tipo de cultivo, se recomienda sumergir los explantes en alcohol al 70 por ciento durante 12 minutos ya que por más tiempo los explantes se debilitan y se tienen más plantas muertas.
- Para una mejor respuesta en la etapa de establecimiento es recomendable utilizar 2.87 partes por millón de BAP. Ya que de utilizar mayor cantidad se altera el proceso fisiológico de las plantas.
- Utilizar en la etapa de multiplicación BAP con una concentración de 3.5 partes por millón para estimular la proliferación de brotes.
- No aplicar reguladores en la etapa de enraizamiento para reducir el efecto de la citoquinina 6-Benzilaminopurina.

8 -REFERENCIAS CITADAS

Barret, O.1930.Citado por Montaldo 1991. Raíces y tubérculos tropicales segunda edición, editorial IICA, p 408.

Bayardo, M.2013.Multiplicación *in vitro*, evaluación de medio líquido y semisólido en Colocasia esculenta, Tesis de Ingeniero Agrónomo, Zamorano Honduras, p 17.

Castillo, A. 2004. Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Unidad de Biotecnología, INIA. Uruguay.

Capus, B. 1930 citado por Montaldo 1991. Raíces y tubérculos tropicales segunda edición, editorial IICA, p 55.

Escobar, H 1985. Micropropagación y almacenamiento *in vitro* de *Opuntia amylocea Tenore*. Tesis .Centro de Fruticultura, colegio de posgraduados, Chapingo, México.

Guerra, L. 2013. Desarrollo de una metodología para el establecimiento *in vitro* de *Mussaenda erythrophylla*. David Chiriquí, Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, tesis de ingeniero agrónomo en cultivo Tropicales Panamá 50 pág.

Hurtado, V.D Merino E.M 1988. Cultivos de tejidos vegetales. Editorial trillas.
México.

Hughes, K, 1981, Ornamental especies, En conger, B .V (Ed). Cloning
agriculture plant via in vitro techniques. C.R.S, Pres, Boca raton, Florida
.EE.UU.P 270.

León, J. 1987, Botánica de los cultivos tropicales, segunda edición, San José
Costa Rica revisada y aumentada IICA, p 445.

López, Z.1995.Citado por Ena M Rivers, 2007, incidencia de (DMV) Virus de
Mosaico del Dasheen, Tesis Universidad de Nicaragua, p 32.

Montaldo, A. 1991, Raíces y tubérculos tropicales, segunda edición, editorial
IICA, p 408.

Mroginski, L .A. y Roca, W.M 1991. Propagación clonal *in vitro* .cultivo de tejidos
en la agricultura. pp. 19 -40.

Oyenuga, V. 1967.Citado por Francisco Montaldo 1991, Raíces y tubérculos
tropicales, segunda edición, editorial IICA, p 408.

Onwueme, I 1978 Citado por Lozada 2005, Producción de papachina y método de propagación asexual bajo 4 niveles de fertilización orgánica, Tesis Ecuador p 120.

Pitty, R. 2009. Respuesta de ocho variedades de plátano. Facultad de Ciencias Agropecuarias Tesis p 68.

Plucknett, E .1979; Citado por Fernando Lozada 2005, Producción de papachina y método de propagación asexual bajo 4 niveles de fertilización orgánica, Tesis, Ecuador p 120.

Rodríguez, W.E 2008. Evaluación de tres cultivares de malanga, Guatemala, trabajo de grado, p 91.

Salazar, I. 1985. Citado por Ena M Rivers, 2007, Incidencia de (DMV) Virus de Mosaico del Dasheen, Tesis Universidad de Nicaragua, p 32.

Sivan, P. 1970. Desarrollo de la investigación en la isla fiji, 2do simposio internacional sobre cultivos de raíces tropicales. Universidad de Hawái, instituto de investigación tropical, P 154.

Trujillo, E. 1967.Citado por Fernando Lozada 2005, Producción de papachina y método de propagación asexual bajo 4 niveles de fertilización orgánica, Tesis, Ecuador p 120.

Torre, P. 1994. Compendio de agronomía tropical. Costa Rica, IICA. Tomo 2.

Villalobos, V.M. y Thorpe, T.A .1991. Micropropagación, conceptos metodología y resultados en: cultivo de tejido en la agricultura .Fundamentos y aplicaciones. Ed. por William Roca y Luis A .Mroginski Cali, Colombia. CIAT. (Centro Internacional de Agricultura Tropical) pp. 127-141.

Warid, W.1970.Citado por Lozada 2005, Producción de papachina y método de propagación asexual bajo 4 niveles de fertilización orgánica, Tesis Ecuador p 120.

Zettler FW.1987.Citado por Ena M Rivers, 2007, incidencia de (DMV) Virus de Mosaico del Dasheen, Tesis; Universidad de Nicaragua, p 32.

8.1- DE INTERNET

Sin autor, s/f CEDAF, Colocasia esculenta, consultado 6 de febrero de 2014 disponible en http://www.cedaf.or.dop/eventos/cfcs_presentaciones.pdf.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación,).2003. La agricultura amazónica y caribeña consultado el 2 de junio de 2014.

Disponible:<http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro09>.

IDIAP. 2013 Producción de Colocasia esculenta en Panamá, Artículo consultado el 10 abril de 2014 .[Disponible http://www.idiap. Com .pa](http://www.idiap.com.pa).

Juárez, E y Úbeda M. 2011. Productos no tradicionales, consultado el 20 de enero de 2015 .disponible [http.www. Productos no tradicionales. / Colocasiae](http://www.Productos no tradicionales. / Colocasiae).

León 1987.s/f .La *Colocasia esculenta* y otros miembros del mismo género Monografía, consultado el 7 de marzo 2014. Disponible [http//.es veracruz.gob.mx .monografía malanga.pdf](http://es.veracruz.gob.mx .monografía malanga.pdf).

Lozada F; 2005, Informe técnico del proyecto de investigación, Ecuador 120 P. consultado 7 de febrero 2014, Disponible en [http/. www.TESPE-IASA I](http://www.TESPE-IASA I).

Sin autor, s/f sica. malanga consultado 20 de marzo de 2014. Disponible en [/http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/raices/malanga/malanga.pdf](http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/raices/malanga/malanga.pdf). Estudio de la malanga.

Sin autor, s/f consultado el 4 de junio de 2014. Disponible en [http://es.wikipedia.org/wiki/Colocasia esculenta](http://es.wikipedia.org/wiki/Colocasia_esculenta).

Anexos

Anexo N° 1: REACTIVOS QUÍMICOS UTILIZADOS PARA LA PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS.



Anexo N°2: ESTEREOSCOPIO UTILIZADO PARA OBSERVAR LOS MERISTEMOS.



Anexo N°3: BALANZA ANALÍTICA PARA MEDIR LOS REACTIVOS.



Anexo N° 4 CÁMARA DE FLUJO LAMINAR UTILIZADO PARA LA DISECCION Y SIEMBRA DE LOS EXPLANTES DE DASHEEN.



Anexo N°5: PROPAGULOS DE DAHEEN UTILIZADO EN LA INVESTIGACION



Anexo N°6 ETAPA DE ESTABLECIMIENTO DE DASHEEN.



Anexo N°7: ETAPA DE MULTIPLICACION DE BROTES LATERALES DE DASHEEN.



Anexos N°8: Número de plantas obtenidas durante los primeros tres subcultivos.

Dasheen	Dasheen
Propágulos para la etapa inicial sin regulador 40	Propágulos para la etapa inicial con regulador 40
Numero de explante al final de establecimiento sin reguladores 20	Numero de explante al final de establecimiento con reguladores 34
1^{er} subcultivo	1^{er} subcultivo
34	56
2^{do} Subcultivo	2^{do} subcultivo
56	74
3^{er} subcultivos con reguladores	130 frascos
Enraizamiento sin reguladores	258
Total de plantas	258

ANEXO N°9: PRESUPUESTO**COSTO DE REACTIVOS**

MACRONUTRIENTES	CANTIDAD (g)	PRECIOS
NH ₄ NO ₃	500	39.45
Ca (NO ₃) ₂ .4H ₂ O	500	80.47
CaCl ₂ .2H ₂ O	500	56.55
K ₂ SO ₄	250	46.67
MgSO ₄ .7H ₂ O	500	37.70
KH ₂ PO ₄	500	55.77
Sub total		316.61
MICRONUTRIENTES		
Zn (NO ₃) ₂ .6H ₂ O	500	42.12
MnSO ₄ .H ₂ O	500	41.99
CuSO ₄ .5H ₂ O	250	28.99
H ₃ BO ₃	500	34.25
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	100	41.47
FeSO ₄ .7H ₂ O	500	41.92
Na.EDTA	500	95.03
Total		642.38

REACTIVOS	CANTIDAD (g)	PRECIOS
VITAMINAS		
MYO-Inositol	500	173.62
Tiamina-HCL	100	60.32
Acido Nicotínico	100	18.95
Piridoxina	100	106.47
Glicina	25	101.79
Sub total		461.15
Reguladores de crecimientos		
BAP	10	21.45
Gelrite	250	68.28
Total		89.73
Costo total de los reactivos		1509.87
OTRO COSTO		
Costo de equipo de protección desechables		10.00
Costo de transporte de semillas		30.00
Costo de desinfectantes		5.00
Costo de uso internet		20.00
Costo de impresión		125.00
COSTO TOTAL DE LA INVESTIGACION		1699.87