

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE AGRONOMIA



EFFECTOS DEL BENLATE SOBRE PROPAGACION  
IN VITRO DE SABILA (Aloe spp. L.)

## TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

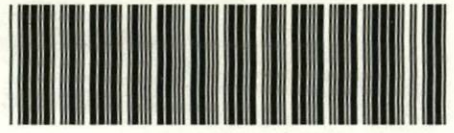
PRESENTA

JOSIAS SALAZAR RODRIGUEZ

MARIN, N. L.

NOVIEMBRE DE 1996

T  
SB295  
.A45  
S3  
C1



1080072022

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE AGRONOMIA



EFFECTOS DEL BENLATE SOBRE PROPAGACION  
IN VITRO DE SABILA (Aloe spp L.)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

PRESENTA

JOSIAS SALAZAR RODRIGUEZ

MARIN, N. L.

NOVIEMBRE DE 1996

BIBLIOTECA Agronomía U.A.N.L.

12628

5358

T  
SB120  
S3

040.632  
FA2  
1996  
C.5



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE AGRONOMIA

TESIS


EFFECTOS DEL BENLATE SOBRE POROPAGACION *IN VITRO* DE  
SABILA ( *Aloe spp L.* )


ELABORADA POR


JOSIAS SALAZAR RODRIGUEZ

ACEPTADA Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

  
Dra. Ma. ELIZABETH CARDENAS CERDA  
PRESIDENTE

  
Ph.D. FRANCISCO ZAVALA GARCIA  
SECRETARIO

  
Ing. M.C. JOSE ELIAS TREVIÑO RAMIREZ  
VOCAL

**MIRAD LAS AVES DEL CAMPO QUE NO SIEMBRAN, NI  
SIEGAN, NI ALLEGAN A LOS GRANEROS Y NUESTRO PADRE  
CELESTIAL LAS ALIMENTA QUE NO SOMOS VOSOTROS  
MUCHO MEJORES QUE ELLA.**

**MATEO 6:26**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Facultad de Agronomía por haberme brindado sus conocimientos que ahora comprendo que fueron muy valiosos.

A la Dra. Elizabeth Cárdenas Cerda, por su gran apoyo, confianza y buenos consejos durante la dirección del presente trabajo.

Al Ph.D. Francisco. Zavala García, Por su valiosa colaboración durante el desarrollo de esta investigación, así por los grandes conocimientos ofrecidos en la carrera.

Al M.C. José Elías Treviño Ramírez, por su valiosa colaboración durante el desarrollo de este trabajo.

A todos los maestros que demuestran ser buenos, y a los que lo intentan.

*A todo el personal administrativo que labora en la Institución.*

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología ( CONACYT ) por el gran apoyo ofrecido para la terminación del presente trabajo.

Al Dr. Héctor Menchaca Solís Por su gran apoyo y comprensión que me ha brindado.



Al personal administrativo que labora en CONACYT por apoyarme siempre en el desarrollo del este trabajo.

Al Sr. Rodolfo Tenorio Sánchez.

A la Sra. Ana María Barbosa.

A la Sra. Carmen Gutiérrez

A la Sra. Teresa López por su gran amistad y apoyo que me dio durante toda mi carrera.

A todos mis compañeros de generación por las grandes experiencias que compartimos juntos en la carrera.

## **DEDICATORIAS**

A mi Dios:

Por haberme permitido el éxito y la bondad de ser partidario con mis conocimientos en el desarrollo de mi trabajo.

A mis Padres: Sr. Romualdo Salazar y Sra. Sara Rodríguez de Salazar

Por no exigirme resultados y darme todo el apoyo del mundo, por que han sido para mí, como un padre y yo como un hijo, como un hermano y yo como su hermano, como un amigo y yo como su amigo. Gracias padres por darme el ser y ser el porque y el todo para mí. Ahora que soy grande comprendo el porque de las cosas, el porque de Dios, el porque del amor, el porque del sufrir.

A mi hermana: Angélica

Por darme siempre el todo sin tener nada y por el gran cariño que siempre me ha regalado.

A mis hermanas:

Blanca e Irasema por apoyarme siempre incondicionalmente.

A mis hermanos:

Nemecio, Javier, Romualdo, Jonás, por apoyarme siempre en las buenas y en las malas y por el gran equipo que hemos formado siempre.

A mis primos:

C.P. Santos Avalos, C.P. Aracely García de Avalos, por el gran apoyo que siempre me mostraron durante mi carrera, y por aguantar todos mis errores, por todo gracias.

A mi cuñada:

Anabel Torres de Salazar y mis sobrinos, por el gran cariño y respeto que me dan.

A la Srita. Idalia E. Santiago Nevarez

Por apoyarme siempre, y por todo lo que hemos compartido juntos.

# INDICE

	PAG
INDICE DE CUADROS.....	IX
INDICE DE FIGURAS.....	XI
RESUMEN.....	XII
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1. Cultivo de tejidos vegetales.....	3
2.2. Micropropagación.....	3
2.2. Factores que afectan la micropropagación.....	5
2.2.1. Medio de cultivo.....	5
2.2.2. Inoculo.....	5
2.3. Condiciones ambientales.....	6
2.3.1. Luz.....	6
2.3.2. Temperatura.....	6
2.3.3. Otros factores.....	6
2.4. Material stock o parental.....	7
2.5. Fases de la micropropagación.....	7
2.6. Aplicaciones de la micropropagación.....	11
2.6.1. Multiplicación rápida.....	11
2.6.2. Eliminación de virus, enfermedades y propagación de material indexado para stock.....	12
2.6.3. Almacenamiento de germoplasma.....	12

2.7. Descripción botánica de la sábila.....	12
2.7.1. Clasificación taxonómica de la especie.....	14
2.8. Condiciones de cultivo.....	14
2.8.1. Condiciones climáticas.....	14
2.8.2. Condiciones edáficas.....	15
2.9. Localización geográfica de la especie.....	15
2.10. Usos y propiedades de la planta.....	17
2.11. Composición química.....	17
2.12. Reproducción natural de la especie.....	19
2.12.1. Reproducción sexual.....	19
2.12.2 Reproducción asexual.....	19
2.13. Efectos del benlate sobre la propagación in vitro de plantas.	19
<b>III. MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>21</b>
3.1. Material Experimental.....	21
3.2. Medio de Cultivo .....	22
3.2.1. Preparación del Medio de Cultivo.....	24
3.2.2. Preparación de los Tratamientos.....	24
3.2.3. Esterilización del Material.....	25
3.3. Siembra del Cultivo.....	25
3.4. Variables de Estudio.....	26
3.4.1. Número de Hojas.....	26
3.4.2. Longitud de Hojas.....	26
3.4.3. Número de Raíces.....	27
3.4.4. Longitud de Raíces.....	27
3.4.5. Peso Fresco.....	27

3.4.6. Número de Brotes.....	27
3.5. Análisis Estadístico.....	28
IV. RESULTADOS.....	30
4.1. Efectos de las Concentraciones del Benlate.....	30
4.4.1. Número de Hojas Totales.....	30
4.4.2. Longitud de Hojas Totales.....	32
4.4.3. Número de Raíces.....	33
4.4.4. Longitud de Raíces.....	34
4.4.5. Peso Fresco.....	35
4.4.6. Número de Brotes Totales.....	36
V. DISCUSION.....	38
VI. CONCLUSIONES.....	39
VII. RECOMENDACIONES.....	40
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	41

**BIBLIOTECA Agronomía U.A.N.L**

## INDICE DE CUADROS

CUADRO 1	Clasificación taxonómica de la sábila.....	14
CUADRO 2	Superficie cultivada de sábila en el país.....	16
CUADRO 3	Material, equipo y reactivos utilizados para la preparación del medio de cultivo.....	22
CUADRO 4	Soluciones concentradas y cantidad adicionada en la preparación del medio de cultivo.....	23
CUADRO 5	Material y equipo usado en la disección de brotes de sábila.....	25
CUADRO 6	Análisis de varianza para la variable número de hojas bajo concentraciones de benlate.....	30
CUADRO 7	Resultados de comparación de medias por diferencia mínima significativa para la variable número de hojas promedio.....	31
CUADRO 8	Análisis de varianza para la variable tamaño de hojas.....	32
CUADRO 9	Análisis de varianza para la variable número de raíz.....	33
CUADRO 10	Análisis de varianza para la variable longitud de raíz.....	34
CUADRO 11	Análisis de varianza para la variable peso fresco.....	35
CUADRO 12	Análisis de estadístico para la variable número de brotes.....	36

CUADRO 13	Resultado de comparación de medias para la variable número de brotes.....	37
-----------	--	----



## INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Número de hojas totales al final del experimento por cada uno de los tratamientos.....	30
Figura 2	Tamaño de hojas totales al final del experimento.....	32
Figura 3	Número de raíces totales por tratamiento al final del experimento.....	33
Figura 4	Longitud de raíces promedio para cada tratamiento.....	34
Figura 5	Peso fresco promedio al final del experimento.....	35
Figura 6	Número de brotes promedio al final del experimento.....	36

## RESUMEN

La micropropagación es una operación que involucra mucha mano de obra, y es costosa. El principal problema en la mayoría de los laboratorios de cultivo de tejidos es la contaminación por bacterias y hongos. Este problema, junto con la búsqueda de sistemas que permitan la preparación de medios de cultivos que no se necesiten ser esterilizados ha motivado algunos investigadores el posible uso de pesticidas como parte integral de los medios de cultivo de tejidos.

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto que tiene como regulador de crecimiento el producto químico benlate, (así como su actividad de tipo fungicida en el cultivo in vitro de sábila) ( *Aloe spp L.* ).

Los tratamientos aplicados consistieron en someter a los explantes de sábila a diferentes concentraciones de benlate de 10,20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100  $\text{mg l}^{-1}$ .

Los resultados estadísticos indicaron una respuesta favorable para la formación de hojas en el tratamiento número uno lo cual indica que a concentraciones de 10  $\text{mg l}^{-1}$  la formación de hojas fue significativa y conforme se aumentaba la concentración tuvo la tendencia a disminuir.

Por otra parte en concentraciones altas de 90 a 100  $\text{mg l}^{-1}$  se observó una producción de brotes en el tratamiento número 10

disminuyendo relativamente la formación de brotes en concentraciones menores.

## I. INTRODUCCION

Por su facilidad de adaptación y sus propiedades, la sábila (*Aloe spp*) ha despertado el interés como cultivo, habiéndose establecido hasta 1991, plantaciones en aproximadamente 1752 ha. del país. Por sus características de adaptación, es un cultivo que puede explotarse bajo condiciones de temporal, o bien como cultivo bajo riego.

Debido a la gran demanda que ha adquirido en los últimos años, la sábila como cultivo se encuentra creciendo en grandes extensiones de países tales como Antillas Holandesas, Portugal, Estados Unidos, España, Japón y Rusia, etc. (Vickery, 1994).

Para el establecimiento de una plantación, generalmente se utiliza la reproducción por hijuelos (asexual), los cuales pueden ser recolectados de plantaciones silvestres o provenientes de cultivos en explotación. Igualmente, éstos pueden ser reproducidos en vivero ya sea por medio de la propagación tradicional o por micropropagación. Diversos estudios han demostrado que es posible la propagación *in vitro* de *Aloe*. Varias especies de este género se han propagado por medio de cultivo de tejidos. Meyer y Van Staden (1992) obtuvieron la propagación *in vitro* de *Aloe vera* a partir de yemas axilares utilizando reguladores de crecimiento, principalmente citocininas. Sin embargo, investigaciones previas han demostrado que las citocininas pueden ser sustituidas por otros compuestos inorgánicos. Ejemplo de lo anterior lo constituye el hecho de Thurston *et al.* (citados por Fay y Gratton, 1992), quienes investigaron el efecto fitotóxico de diferentes pesticidas y fungicidas. Entre estos se encuentra el fungicida benlate, el cual ha mostrado efectos fitotóxicos en algunos cultivos; sin embargo, en otros ha estimulado el crecimiento de raíces y vástagos (Fay y Gratton, 1992).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad del benlate como posible regulador de crecimiento en la propagación *in vitro* de *Aloe* spp así como, su efecto en la formación de brotes y raíces.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. Cultivo de tejidos vegetales.

Entre los múltiples aspectos que presenta el cultivo de tejidos vegetales, posiblemente el más estudiado, el que más avances ha tenido y el que más se aplica en la práctica es la micropropagación de especies herbáceas. Consiste en el incremento masivo de individuos mediante su fragmentación y el posterior desarrollo de las plantas completas de dichos fragmentos en condiciones artificiales. Este procedimiento, es posible en cientos de especies, sólo se justifica económicamente en aquellas de alto valor individual, de lenta o deficiente propagación en condiciones naturales, para obtener poblaciones genéticamente uniformes o para disponer de planta todo el año. Actualmente esta técnica se emplea satisfactoriamente en plantas de ornato y flores (Roca y Mroginski, 1991).

#### 2.1.1. Micropropagación.

Micropropagación, propagación por cultivo de tejidos y propagación *in vitro* son sinónimos de un procedimiento para incrementar el número de individuos en condiciones artificiales y asépticas, con nutrición, luminosidad y temperatura controladas. Generalmente es la multiplicación asexual de propágulos pequeños (desde micras hasta pocos centímetros de longitud), aunque en algunos casos (orquídeas y helechos), se utiliza como material de siembra esporas y semilla sexual o botánica.

La micropropagación ha demostrado su utilidad práctica en especies de multiplicación deficiente o relativamente lenta (orquídeas, espárrago, fresa, cactáceas, etc.) y en plantas que, aunque sean fácilmente propagables asexualmente, su número se incrementa mucho más cuando se

trabaja *in vitro* que con los métodos tradicionales de esqueje, estolón o bulbo, como es el caso de las plantas de ornato y flores. La utilización sistémica de esta técnica para fines comerciales también se enfoca hacia la uniformidad genética del material de siembra cuando el inoculo asexual está ya diferenciado (ápices, yemas axilares, ramas, brotes, etc.), evitándose las variaciones genotípicas propias de poblaciones generadas por semilla sexual. Sin embargo hay que reconocer el riesgo de epifitias en el campo en comunidades vegetales genéticamente homogéneas.

Otras de las bondades de la técnica son la factibilidad de propagación y la disponibilidad de la planta durante todo el año, así como la obtención de material de siembra de alta calidad fitosanitaria, pues además de eliminarse virus y otros parásitos obligados, el sistema exige asepsia absoluta, es decir, ausencia de otros microorganismos no parásitos obligados fácilmente detectables.

En el cultivo de tejidos, la multiplicación se puede presentar a través de varios fenómenos:

- a) Estimulando la formación de ramas y tallos axilares.
- b) Por inducción de tallos adventicios.
- c) Promoviendo embriogénesis somática.

Una vez obtenido el material asépticamente, se puede fraccionar para que cada yema axilar origine una nueva planta, y esta a su vez sufra el mismo proceso, incrementándose la población en forma considerable cada determinado período. En los primeros casos (desarrollo axilar y adventicio), se conserva íntegro el patrimonio genético; no así en la embriogénesis somática, pues ésta, al provenir de tejido no especializado o

callosidad, puede no reproducir las características de la planta de donde se tomó el inóculo (Cárdenas, 1994).

## 2.2. Factores que afectan la micropropagación.

El cultivo de tejidos en general es un sistema de detalles. La mayoría de las veces no se puede ni extrapolar ni trabajar con aproximaciones de los factores físicos y químicos que intervienen para un determinado propósito. Los cambios en las dosificaciones del medio, principalmente fotoperíodo, temperatura y de pH entre otros, pueden ocasionar alteraciones morfológicas, retraso de crecimiento, toxicidad, etc.

### 2.2.1. Medio de cultivo.

se compone de sales minerales, fuentes de carbono, vitaminas, reguladores de crecimiento, con o sin agar, y otros compuestos orgánicos (carbón activado, agua de coco, etc.), antioxidantes (como ácido cítrico y ascórbico), fungicidas y antibióticos. En micropropagación se utiliza con más frecuencia las sales de Murashige y Skoog (1962) por estar en dosis relativamente altas, aunque hay combinaciones con menor cantidad, o relativamente pobres (Roca y Mroginski, 1991).

### 2.2.2. Inóculo.

También llamado explante, es un fragmento extraído de la planta donadora con el propósito de cultivarlo asépticamente. Cuanto más pequeño sea, menos posibilidad hay de contaminación del medio por microorganismos adheridos al inóculo, pero también existen menos probabilidades de prendimiento o desarrollo. El lugar de la planta de donde se extrae también es importante, según sea el propósito de la siembra (raíz,



tallo, hoja, anteras, etc.) Para la micropropagación se prefieren órganos o fragmentos grandes de la planta (ápices, yemas y ramas). La edad fisiológica determina el tipo y la velocidad de morfogénesis; generalmente los tejidos jóvenes tienen mayor capacidad de diferenciación que los viejos (Cárdenas, 1994).

### 2.3. Condiciones ambientales favorables para el crecimiento de sábila.

#### 2.3.1. Luz.

Tanto la duración diurna (fotoperíodo) como la calidad (longitud de onda e intensidad) son importantes, ya que al influir en la síntesis y la acumulación de almidón y en las hormonas endógenas, entre otras sustancias, afectan el desarrollo del inoculo. Dependiendo de la especie, se pueden requerir desde 12 horas diarias de luminosidad hasta luz continua; y de 1,000 a 10,000 luxes de intensidad.

#### 2.3.2. Temperatura.

Cuando el calor es un factor de variación o de estudio en los experimentos, una temperatura que oscile entre 25 y 30°C es aceptable para la incubación; aunque según la especie, las temperaturas específicas pueden estar entre 20 y 32 °C.

#### 2.3.3. Otros factores.

El material con que se cierra el frasco que se utiliza para la incubación del material puede influir en el intercambio gaseoso (aluminio, plástico, parafilm, etc.) así como el tipo de flama que se utiliza para el

flameo o esterilización de las herramientas de disección del material (de gas o alcohol). Los gases que participan más son el oxígeno, el bióxido de carbono y el etileno. La posición de siembra, sobre todo de yemas, tiene efecto sobre la organogénesis, pues influye en el gradiente químico y en el transporte hormonal. Finalmente, el subcultivo puede mermar el potencial morfogénico por fragmentación excesiva de las áreas especializadas, por reducción de los niveles endógenos de hormonas.(Roca y Mroginski, 1991).

#### 2.4. Material stock o parental.

El material parental (donador) debe provenir de plantas seleccionadas. Las semillas, plántulas o embriones no son adecuados ya que se desconocen las características anatómicas y de productividad del genotipo y no se puede tampoco definir la fidelidad de los individuos clonales. El estatus nutricional y fisiológico de las plantas madres es fundamental para todo proceso.

#### 2.5. Fases de la micropropagación.

En el proceso de la micropropagación (cultivo *in vitro*) intervienen las siguientes fases:

Fase 0. Precultivo de materiales parentales ( Maene, 1981).

Preparación de las plantas madres o los explantes (previa a la iniciación del cultivo) para disminuir los niveles de contaminación por microorganismos y preparar los tejidos u órganos para una multiplicación más eficiente (Maene, 1981).

Fase I. Establecimiento o iniciación de cultivos asépticos (Murashige, 1974).

Para un adecuado establecimiento o iniciación de cultivo deben considerarse los siguientes puntos:

1) Desinfección

2) corte

3) incubación de los explantes En la selección del explante deben considerarse:

- Estado fisiológico y la edad de la planta madre.
- El estado de desarrollo de los tejidos u órganos.
- Posibles variaciones estacionales.

3) En la selección del explante deben considerarse:

- Estado fisiológico y la edad de la planta madre.
- El estado de desarrollo de los tejidos u órganos.
- Posibles variaciones estacionales.

4) Tipos de explante: Como son:

- Meristemos apicales, Meristemos axilares, Hojas, Tallos, Raíces, Cotiledones, Embriones cigóticos.

4) En esta fase debe vigilarse continuamente la contaminación para evitar problemas en las fases subsecuentes. Se recomienda un mínimo de 4 subcultivos antes de pasar a la fase II (Murashige, 1974).

Fase II. Multiplicación. En esta fase se caracteriza por el incremento en el número de propagulos y puede lograrse a partir de:

- Inducción del desarrollo de brotes axilares a través de la inhibición de la dominancia apical.
- Inducción de brotes adventicios. Estos pueden formarse directamente del explante o indirectamente de un callo intermedio. La principal desventaja es la generación de variantes epigenéticas y aberraciones genéticas. No se recomienda para la producción de microplantas en las que la estabilidad genética es de fundamental importancia, ejemplo cultivares valiosos o líneas parentales para la producción de híbridos.
- Embriogénesis somática. Es la formación de embriones a partir de tejidos somáticos y no del desarrollo de un cigoto. Puede ser directa cuando los embriones se forman directamente del explante o indirectamente cuando derivan de un callo. Esta última representa el método más eficiente y rápido de propagación y ofrece importantes alternativas para el futuro de esta industria (semillas artificiales). Sus principales limitantes son que no se han reportado métodos de inducción en la mayoría de las especies y existe gran incidencia de variación somaclonal.

Fase III. Enraizamiento y preadaptación de microcortes *in vitro*.

Una descripción más adecuada de la fase III es la preparación de los tallos para su trasplante a tierra, por lo tanto incluye:

- 1). Enraizamiento: Que consiste en inducir al explante a la formación de raíces.

- 2). Endurecimiento para incrementar su resistencia a la deshidratación y a las enfermedades, síntesis de ceras epicuticulares y desarrollo de estomas funcionales.
- 3). Inducción de autotrofismo. Permitiendo el desarrollo de un aparato fotosintético funcional.
- 4). Satisfacer las condiciones de dormancia que requieren algunos cultivos (ejem. bulbos).

Las concentraciones de azúcares y gelificantes, la temperatura, la intensidad luminosa, el fotoperíodo y las concentraciones de gases en la atmósferas del frasco del cultivo, modifican el proceso de preadaptación y deben ser cuidadosamente establecidas.

#### Fase IV. Transplante a tierra y adaptación.

Establecimiento en tierra *in vivo* de microcortes o de plántulas previamente enraizadas.

Se puede transferir a mezclas de suelos o sustratos artificiales:

- rockwool.
- plugs.
- filtros.

La aclimatación requiere de condiciones especiales para proteger a las plántulas contra la desecación y las enfermedades, entre estos se pueden utilizar cuartos de crecimiento o invernaderos con control de luz, temperatura y humedad. El empleo de incubadoras con cubierta de plástico

y sistemas de nebulización fina, dan los mejores resultados en la mayoría de los cultivos.

## 2.6. Aplicaciones de la micropropagación.

### 2.6.1. Multiplicación rápida.

La multiplicación rápida de nuevos genotipos en:

- a). Individuos seleccionados (mutantes o élite).
- b). Híbridos o líneas masculinas infértiles.
- c). Material parental para la producción de semilla.
- d). Nuevas variedades transgénicas.
- e). Individuos escasos de especies en peligro de extinción.

### 2.6.2. Eliminación de virus, enfermedades y propagación de material indexado para stock.

Muchos cultivos vegetales comerciales, particularmente los que son propagados vegetativamente, contienen virus sistémicos, los cuales afectan su funcionamiento o abaten su rendimiento. Por tanto, antes de liberarse comercialmente es deseable producir plantas libres de virus, que puedan ser micropropagadas.

Dentro de la micropropagación, la alternativa con más éxito en la obtención de plantas sanas es la de cultivo de meristemos apicales, frecuentemente combinado con quimioterapia o tratamientos con calor. Sin embargo, a pesar de todos los cuidados pertinentes, muchas veces micropropagamos material enfermo. De aquí la importancia de incorporar programas de indexación en varios pasos del proceso de la

micropropagación, para asegurarnos de que nuestras plantas propagadas sean plantas sanas (Roca y Mroginski, 1991).

Una vez que estamos seguros de que nuestro material es material sano (indexación) generamos nuestro material stock.

### 2.6.3. Almacenamiento de germoplasma.

La conservación de germoplasma valioso se ha planteado como una medida inaplazable y prioritaria. La forma más eficiente es el almacenamiento de semillas, aunque en ciertos casos es difícil. Por ejemplo, las plantas con semillas recalcitrantes de especies de reproducción vegetativa. Es en estas situaciones, donde los métodos de cultivo de tejidos vegetales se presentan como una opción viable.

### 2.7. Descripción botánica de la sábila.

El género *Aloe* pertenece a la tribu Aloineae de la familia Liliaceae, la cual es una tribu fundamentalmente Africana, pero algunos de los géneros que la comprenden pueden ser encontrados en cualquier otra parte del mundo, ya sea por dispersión natural, o bien porque fueron introducidos por sus múltiples ventajas y actualmente están siendo objeto de cultivo comercial.

Del género *Aloe* se han descrito aproximadamente 320 especies, entre las cuales destaca *Aloe vera*. En México, la especies cultivadas más frecuentes son: *A. vera* y *A. ferox*.

Las plantas de esta especie son herbáceas, de tallo corto, vivaces, perennes con aspecto arrosetado, de color verde grisáceo que presenta

manchas rojizas por la exposición prolongada al sol, en su etapa adulta llegan a medir de 65-80 cm de altura (Anónimo, 1990).

\* La raíz Es medianamente superficial, con estructura carnosa.

\* Sus hojas son lineadas (larga y angosta), acuminadas (terminada en punta). Los márgenes son espinoso-dentados; de textura coriácea (similar al cuero, resistente pero flexible); suculentas (jugosas, carnosas); de 30-60cm de longitud, se encuentran usualmente apiñadas en una roseta densa, de color intenso en tonos variables de verde.

\* Su Inflorescencia de 1-1.3 m de alto, simple o escasamente ramificado (una o dos ramificaciones laterales).

\* Las flores de color amarillo-verdoso; acompañadas de una bráctea membranosa, lanceolada de color blanco, rosada, con líneas oscuras de 6 mm; perianto cilíndrico, curvo, segmento erguido; estambres con 6 filamentos tan largos como el perianto; anteras oblongo-triangular, con varios óvulos en cada cavidad; estilo filiforme; estigma pequeño.

\* Su fruto es una cápsula loculicidad o septicidad, con paredes inconsistentes y se conforma de tres válvulas localizadas, oblongas y triangulares.



### 2.7.1. Clasificación taxonómica de la especie.

En el Cuadro No.1 se describe la clasificación taxonómica de la especie.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la sábila.

Reino	Vegetal
División	Embriophyta-siphonogama
Subdivisión	Angiospermae
Clase	Monocotiledoneae
Orden	Liliales
Subfamilia	Asfodeloideae
Familia	Liliaceae
Tribu	Aloineae
Género	Aloe
Especie	Vera

### 2.8. Condiciones de cultivo.

#### 2.8.1. Condiciones climáticas:

La sábila presenta un amplio rango de adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales; se desarrolla generalmente en áreas entre los 15° Norte y Sur del Ecuador; no obstante, puede encontrarse en un espectro climático bastante amplio. Los climas en que se desarrolla van de tropicales y subtropicales a desérticos.

Se establece preferentemente en áreas con temperaturas medias anuales de 18 a 25°C y con una precipitación media anual de 400-800

mm anuales, encontrándose en sitios hasta 200 mm al año, donde su desarrollo es más lento.

Esta planta puede encontrarse en bosques ecuatoriales, climas templados y montañas, se adapta bien a zonas de pronunciada sequía, a la intensidad de los rayos solares y concentración de sales, condiciones que caracterizan a grandes superficies localizadas en las zonas áridas y semi áridas.

En México crece en áreas con precipitación pluvial anual entre los 200 y 800 mm, soporta temperaturas extremas de  $-5^{\circ}\text{C}$  durante el invierno y  $42^{\circ}\text{C}$  en verano (Granados y Castañeda, 1988)

#### 2.8.2. Condiciones edáficas:

Se desarrolla en suelos provenientes de rocas de origen sedimentario, principalmente en calizas y conglomerados; puede crecer en suelos pedregosos y pocos profundos, escasos en materia orgánica, bien drenado con pH alcalino a neutro o ligeramente ácido y diferentes clases texturales.

#### 2.9. Localización geográfica de la especie.

En México, la sábila puede ser encontrada en casi todo el país, como de ornato en los jardines domésticos y en algunos lugares como plantas silvestres o bien en plantación, Cuadro 2.

Hernández y Villanueva (citados por Granados y Castañeda, 1988) mencionaron que se encontraba alrededor de antiguas haciendas y con el

tiempo se han establecido en forma rudimentaria formando parte de algunas comunidades vegetales.

En las regiones centro, sur y sureste del país, es común observar plantas aisladas de *Aloe* desde las selvas bajas en Yucatán y el Istmo de Tehuantepec. En el estado de Hidalgo se localiza en altitudes desde los 100 hasta los 2000 msnm (Granados y Castañeda, 1988).

Cuadro 2. Superficie cultivada de sábila (*Aloe spp*) por Estados en Has.

ESTADO	RIEGO	%	TEMPORAL	%	TOTAL	%
San Luis Potosí	-	-	362	46.4	362	20.66
Tamaulipas	946	97.3	418	53.6	1363	0.74
Nuevo León	13	1.4	-	-	13	0.74
Zacatecas	3	0.3	-	-	3	0.19
Guanajuato	5	0.5	-	-	5	0.28
Chiapas	5	0.5	-	-	5	0.28
<b>TOTAL</b>	<b>972</b>		<b>780</b>		<b>1,752</b>	

Particularmente, en los Estados de San Luis Potosí, Hidalgo, Tamaulipas y Guanajuato, las colonias silvestres de sábilas son mayores. Sin embargo, las poblaciones naturales de este género no han sido delimitadas y cuantificadas en nuestro país (Granados y Castañeda, 1988).

## 2.10. Usos y propiedades de la planta.

*A. barbadensis* (Mill) es nativa del norte de Africa y de los países del Mediterráneo como Grecia y del sur de Italia. En estado silvestre solo crece en las islas de Chipre, Malta, Sicilia, Canarias y en la India (Reynolds, 1966).

La historia de la *Aloe barbadensis* se remonta al año 2000 AC. (Reynolds, 1966). Las propiedades medicinales del jugo de la planta fueron por primera vez descritas en el año 1º D.C. por Pedanos Dioscorides en su herbario griego (Reynolds, 1966). El jugo de las hojas es actualmente muy usado en cosméticos así como purgativos.

Las propiedades de esta planta la hacen el sustituto de los productos enzimáticos de la industria farmacéutica. Es en la perfumería y cosmetología donde se aprovechan más sus cualidades humectantes, hidratantes y desinfectantes, su contenido de glucósidos polisacáridos se aprovecha en la elaboración de cremas faciales, shampoos, tonificantes, jabones, lociones para la piel, filtros solares y otros.

Recientemente, se está haciendo uso del jugo en la preparación de bebidas refrescantes saludables, dado su contenido en proteínas aminoácidos, minerales, enzimas y otros complementos que le dan cualidades nutritivas, tónicas y reconstruyentes (Reynolds, 1966).

## 2.11. Composición química.

Las especies del género *Aloe* contienen una mezcla de glucósidos llamada aloína, la cual es el principio activo de la planta. El

contenido de aloína en la planta puede variar según la especie, la región y la época de recolección.

El principal constituyente de la Aloína es la barbaloína, un glucósido amarillo pálido soluble en agua. Otros constituyentes son la emodina, isobarbaloína, betabarbaloína y resinas.

De manera general, la proporción de los compuestos anteriores es la siguiente:

- \* Dos resinas amarillo-brillantes, solubles en bicarbonato de sodio 30%
- \* Una resina muy activa soluble en bicarbonato de sodio 6.8%
- \* Aloína, ligeramente activa 15%
- \* Emodina, ligeramente activa 1.5 a 1.8%
- \* Substancias hidrosolubles inactivas 15.2%
- \* Substancias que producen alteraciones estomacales porque no llegan al efecto purgativo 5.1%

Los diferentes análisis realizados a las plantas y su estructura han permitido identificar la naturaleza de las sustancias que la componen. Algunas de ellas se mencionan (Granados y Castañeda, 1988).

- \* Polisacáridos. glucosa, manosa, galactosa, xilosa, arabinosa.
- \* Ácidos. glucorónico, cítrico, sucínico, málico.
- \* Enzimas. oxidasa, celulosa, bradiquinasa, catedasa.
- \* Taninos.
- \* Esteroides.
- \* Proteínas.
- \* Estimuladores biogénicos.
- \* Saponina.

\* Magnesio.

\* Esteroles.

## 2.12. Reproducción natural de la especie.

### 2.12.1. Reproducción sexual

Este método es menos eficaz y poco utilizado. Consiste en depositar las semillas en suelos arenosos, bien drenados, teniendo lugar la germinación en un lapso de 3 a 4 semanas a una temperatura de 20°C .

### 2.12.2. Reproducción asexual

Consiste en cortar las hojas grandes de las plantas más viejas y se trozan en pedazos de 10 cm, se dejan suberizar para que al plantarlas no se pudran; éste método es conocido como "estaca de hoja".

Existe otro método conocido como "estaca de raíz". Consistió en cortar tramos de raíces de aproximadamente 2 a 5 cm, sumergiéndolos en cinetina en concentraciones de 0.1 a 10 ppm y plantándolas a poca profundidad, obteniendo nuevas plantas en un término de 2 a 3 semanas, con un 100% efectividad. (Alvarez, 1987).

## 2.13. Efectos del benlate sobre el crecimiento *in vitro* de especies vegetales.

La absorción, traslocación y acumulación de benlate, un fungicida sistémico en varios órganos vegetales ha sido reportada. Su presencia resulta en la prevención de enfermedades fungosas pero también posee algunas propiedades de regulador de crecimiento de las plantas.

Inhibe el crecimiento de semillas de olmo americano (*Ulmus americana* L.), sicomoro (*Platanus occidentalis* L.), sin embargo el benlate promovió el vigor del tallo de vides, tabaco y mejoró el enraizamiento de pino blanco del este (*Pinus strabus* L.).

La actividad parecida a la citocinina de benlate se ha observado en callos de soya y bioensayos cotiledonares.

Trabajos previos han reportado el efecto del benlate involucrado en el crecimiento de yemas y raíces de plántulas *in vitro* (Tripathi, 1982).

### **III MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1. Material experimental.**

El material biológico utilizado para la realización del presente trabajo, fueron plántulas que se tenían en condiciones *in vitro* en etapa de brotación en el laboratorio de biotecnología vegetal de la Facultad de Agronomía de la U.A.N.L.

Los plántulas fueron seleccionados en cuanto a longitud (0.5 cm) de brotes, número y tamaño de hojas, con el propósito de lograr un material totalmente homogéneo.

El experimento se realizó en el mes de noviembre de 1994, en el laboratorio antes mencionado, con unas condiciones ambientales que se mantuvieron durante todo el proceso, las cuales consistieron en una temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , con un fotoperiodo de 16 h luz, y una intensidad de 400 lux.



3.2. Medio de cultivo. El medio de cultivo utilizado fue el de Murashige-Skoog (1992).

En la elaboración del medio se utilizó lo siguiente.

Cuadro 3. Material, equipo y reactivos utilizados para la preparación del medio de cultivo.

- 
1. - Vasos de precipitados y probetas.
  2. - Pipetas de 0.5, 1, 2, 5, 10 ml.
  3. - Pizetas.
  4. - Plancha magnética.
  5. - Balanza analítica Sartorius 125v.
  6. - Potenciómetro corning M103.
  7. - Papel aluminio.
  8. - Horno de microondas y autoclave (olla de presión).
  9. - Agua bidestilada.
  - 10.- Solución de 0.1 y 1.0 N de HCl y NaOH
  - 11.- Solución Buffer.
  - 12.- Soluciones concentradas de sales inorgánicas.
- 

Los constituyentes del medio de cultivo empleado se adicionaron a partir de las soluciones que se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Soluciones concentradas y cantidad adicionada en la preparación del medio de Murashige-Skoog (1962).

			Cantidad adicionada por litro
solución	A.....	CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O.....44.00 g l <sup>-1</sup>	1.00 ml
"	B.....	KNO <sub>3</sub> ..... 0.95 "	1.90 g
		NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> ..... 0.825 "	1.65 g
"	C.....	KI.....83.00 mg l <sup>-1</sup>	1.00 m
		CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O..... 2.50 "	
"	D.....	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....6.80 g l <sup>-1</sup>	2.50 ml
		H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> ..... 0.248 "	
		Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O..... 5.00 mg l <sup>-1</sup>	
"	E.....	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O..... 14.80 g l <sup>-1</sup>	2.50 ml
		MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O..... 0.89 "	
		ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O..... 0.344 "	
		CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O..... 1.00 "	
	F.....	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.....0.557 "	5.00 ml
		Na <sub>2</sub> EDTA.....0.746 "	
"	G.....	Glicina..... 50.00 "	10.0 ml
		Piridoxina.HCL..... 12.50 mg l <sup>-1</sup>	
		AC.Nicotinico..... 12.50 "	
		Tiamina..... 12.50	
		Sacarosa.....30.0 g	
		* Agar-gel.....5.0 g	

\* El agar-gel es un agente gelificante para solidificar el cultivo. Este material fue agregado al final de la preparación de los tratamientos.

### 3.2.1. Preparación del medio de cultivo.

En un vaso de precipitado de 1000 ml se le agregó 900 ml agua destilada, posteriormente se fueron agregando las sales en el orden que aparecieron anteriormente. Previo a esto, el vaso fue colocado en un agitador magnético eléctrico para la disolución de los componentes del medio. (únicamente sales inorgánicas), sin incluir el benlate que es otro de los componentes pero en diferente concentración para cada tratamiento, una vez disueltas todas las sales inorgánicas se aforó a 1000 ml y se dividió en cantidades de 100 ml para tener un total de 10 tratamientos.

### 3.2.2. Preparación de los tratamientos.

Se pesaron 10,20,30,40,50,60,70,80,90,100  $\text{mg l}^{-1}$  de benlate para la preparación de cada tratamiento, de los cuales a cada 100 ml del medio se les aplicó el producto químico con una concentración que varió de 10 en 10  $\text{mg l}^{-1}$  hasta 100  $\text{mg l}^{-1}$ . Como testigo se preparó un tratamiento con "0"  $\text{mg l}^{-1}$  del producto químico antes mencionado.

Una vez preparado cada tratamiento, se le agregó agar-gel (componente de solidificación), con una concentración 5  $\text{g l}^{-1}$  y se sometió a un proceso de fundición en horno de microondas por dos minutos. Posteriormente se prepararon cuatro repeticiones de cada tratamiento, utilizando frascos de vidrio de 100 ml de capacidad agregándoles 25 ml para cada frasco, identificándose cada uno con una etiqueta que contenía el número de tratamiento y repetición.

### 3.2.3. Esterilización del material.

Los frascos preparados con el medio fueron cerrados con una tapa plástica. Posteriormente fueron colocados en una autoclave (olla de presión) para someterse a esterilización a una temperatura de 121°C y una presión de 1.1 kgcm<sup>-2</sup> durante 15 minutos.

### 3.3 Siembra del cultivo.

Una vez esterilizado el material se dejó enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se pasó al cuarto de transferencia para la siembra, la cual consistió en una disección de brotes provenientes de material *in vitro* existente en laboratorio. Este material se seleccionó con características homogéneas, como tamaño, # de hojas, etc, los cuales fueron colocados en los frascos que contenían el medio de cultivo y puestos en un cuarto de crecimiento para su desarrollo. El material utilizado para la disección de brotes de sábila se presenta en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Materiales, equipo y reactivos usados en la disección de brotes de sábila.

- 
- 1.- Vasos de precipitados.
  - 2.- Probetas.
  - 3.- Bisturí, pinzas, mechero de alcohol.
  - 4.- Cajas petri esterilizadas.
  - 5.- Hojas de papel milimétrico.
  - 6.- Agua bidestilada esterilizada.
-

### 3.4. Variables de estudio.

Algunos trabajos realizados por diferentes autores como Fay y Gratton (1992), reportaron que existe la posibilidad de que los reguladores pueden ser sustituidos por otros compuestos; en base a las investigaciones realizadas para la evaluación del presente trabajo se tomó como variables de estudio las siguientes.

#### 3.4.1. Número de hojas.

Se contaron las hojas desplegadas provenientes del brote original y de los brotes nuevos, considerando como hoja desplegada aquella que se encuentra totalmente abierta unida únicamente por la base.

Esta variable se evaluó a las ocho semanas posteriores al establecimiento *in vitro* con una transformación de  $\sqrt{x+1}$  en los conteos de cada tratamiento.

#### 3.4.2. Longitud hojas.

En una caja petri se extrajo el explante de cada repetición y auxiliándose con una hoja milimétrica puesta abajo de la caja se midió la longitud en cm de cada una de las hojas desde la base a la parte apical o terminal . Esta evaluación se realizó al final del experimento que en total fueron ocho semanas empleando una transformación de  $\sqrt{x+1}$  para su correspondiente análisis estadístico.

### 3.4.3. Número de raíces

Esta variable fue medida visualmente contabilizando el número de raíces producidas por cada brote original y adventicio, la cual fue evaluada a las ocho semanas posteriores al establecimiento *in vitro* utilizando una transformación de  $\sqrt{x+1}$  en la evaluación de esta variable.

### 3.4.4. Longitud de raíz.

Es la distancia en centímetros medida desde la base de la unión al brote hasta la parte terminal, esta variable fue medida directamente con un papel milimétrico al final del experimento que en total fueron 8 semanas y para su análisis estadístico se empleo una transformación de  $\sqrt{x+1}$ .

### 3.4.5. Peso fresco.

Es el peso expresado en gramos para cada repetición. Para la realización de esta evaluación se utilizó una balanza analítica sartorios 125 v. El explante fue extraído del frasco y se eliminó el medio de cultivo adherido a las raíces y diferentes partes del explante.

La medición se realizó a las ocho semanas después de la siembra *in vitro* y se utilizó una transformación de  $\sqrt{x+1}$  para su evaluación.

### 3.4.6. Número de brotes.

En cada repetición se contó el número de brotes laterales producidos por el brote original los cuales fueron contabilizados al final del experimento que duró un total de ocho semanas y se realizó una transformación de  $\sqrt{x+1}$  para su evaluación estadística.

### 3.5. Análisis estadístico.

El análisis estadístico empleado en esta evaluación correspondió a un modelo completamente al azar ya que es un modelo muy utilizado y el que mas se ajusta a experimentos de laboratorios por lo que su empleo requiere de material totalmente homogéneo o relativamente homogéneo. Una de las ventajas de este diseño es que es posible tener diferente repeticiones por tratamiento. Esta situación permite eliminar en el transcurso del experimento algunos explantes que se contaminen o mueran.(Olivares, 1993).

De esta manera el modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ij} = M + T_i + E_{ij}$$

Donde:

- $Y_{ij}$  = Es la observación del tratamiento  $i$  en la repetición  $j$ .
- $M$  = Es el efecto verdadero de la media general.
- $T_i$  = Es el efecto verdadero de  $i$ -ésimo tratamiento.
- $E_{ij}$  = Es el error experimental.

De tal forma las hipótesis establecidas fueron las siguientes:

Ho: No existe diferencia significativa entre los tratamientos de benlate probados en los explantes de sábila *Aloe* spp Empleado como material biológico para las diferentes concentraciones.

Ha: Hay diferencia significativa entre los tratamientos de benlate el cual corresponde a diferentes concentraciones que se encuentran entre 0 y 100 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> de benlate en el medio de cultivo.



## IV. RESULTADOS

4.1. A continuación se presentan algunos de los efectos de las concentraciones de diferentes niveles de benlate en la propagación de sábila.

### 4.1.1. Número de hojas totales.

El cuadro 6 presenta el análisis de varianza para esta variable.

Cuadro 6. Análisis de varianza para la variable número de hojas bajo concentraciones de benlate. Evaluación de la concentración de benlate. Marín N.L.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	9	2.1712	0.2412	2.5807	0.026
ERROR	28	2.6174	0.0934		
TOTAL	37	4.7886			

C.V. = 12.85%

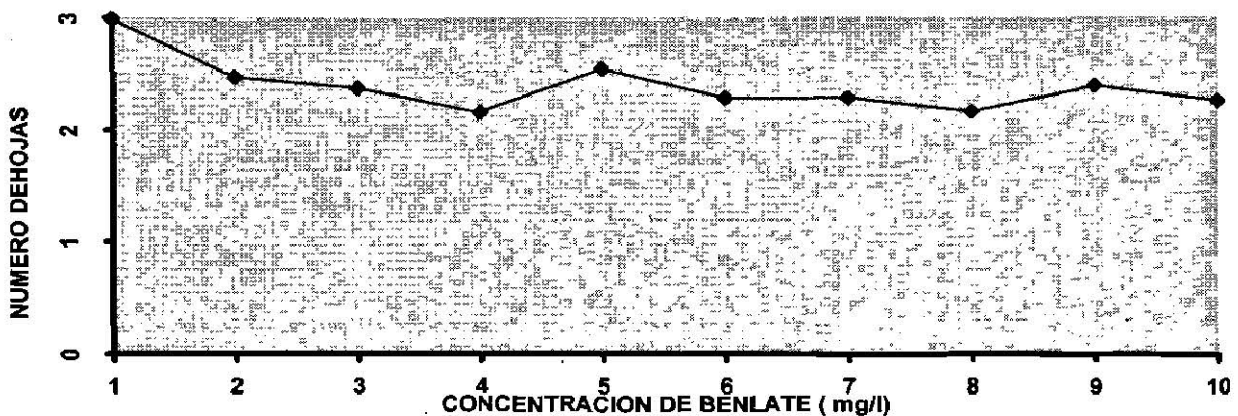


Figura 1. Número de hojas totales al final del experimento por cada uno de los tratamientos.

El análisis estadístico indicó una diferencia significativa por el efecto de las concentraciones de benlate que manifestó una producción alta en bajas concentraciones del producto; conforme se aumentó la concentración el número de hojas disminuyó relativamente mostrando para esta variable una producción favorable en el tratamiento número 1, la cual se muestra en la Figura 1.

Cuadro 7. Resultados de comparación de medias por diferencia mínima significativa para la variable número de hojas promedio de cuatro repeticiones.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	2.9875 A *
5	2.5400 AB
2	2.4675 B
9	2.3850 B
3	2.3700 B
6	2.2775 B
7	2.2750 B
10	2.2250 B
8	2.1575 B
4	2.1525 B

Nivel de significancia = 0.05

\* letras iguales significa igualdad estadística.

#### 4.12. Tamaño de hojas.

Para esta variable de estudio el análisis estadístico indicó que no existió diferencia significativa entre los diferentes niveles de benlate, (Cuadro 8). El tamaño de hojas fluctuó entre 1.5 y 1.59 cm de longitud los cuales se muestra en la Figura 2.

Cuadro 8. Análisis de varianza para la variable tamaño de hojas.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	9	0.036758	0.004084	0.3285	0.958
ERROR	28	0.348175	0.0124.35		
TOTAL	37	0.384933			

C.V. = 7.265704

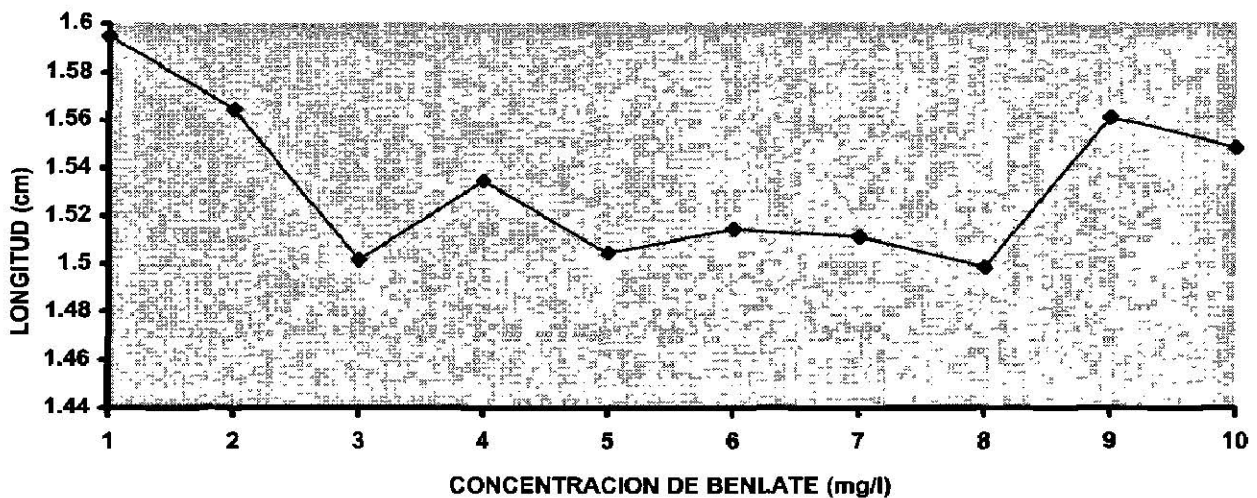


Figura 2. Tamaño de hojas totales por tratamiento al final del experimento.

#### 4.1.3. Número de raíz.

El análisis estadístico, para la formación de raíces, (Cuadro 9) entre los tratamientos no mostró una diferencia significativa en los niveles de concentración de benlate. El comportamiento del número de raíces en respuesta a las concentraciones de benlate se aprecia en la Figura 3.

Cuadro 9. Análisis de varianza para la variable Número de raíces.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	9	8.276764	0.919640	1.2472	0.307
ERROR	28	20.645493	0.737339		
TOTAL	37	28.922256			

C.V. = 46.957153

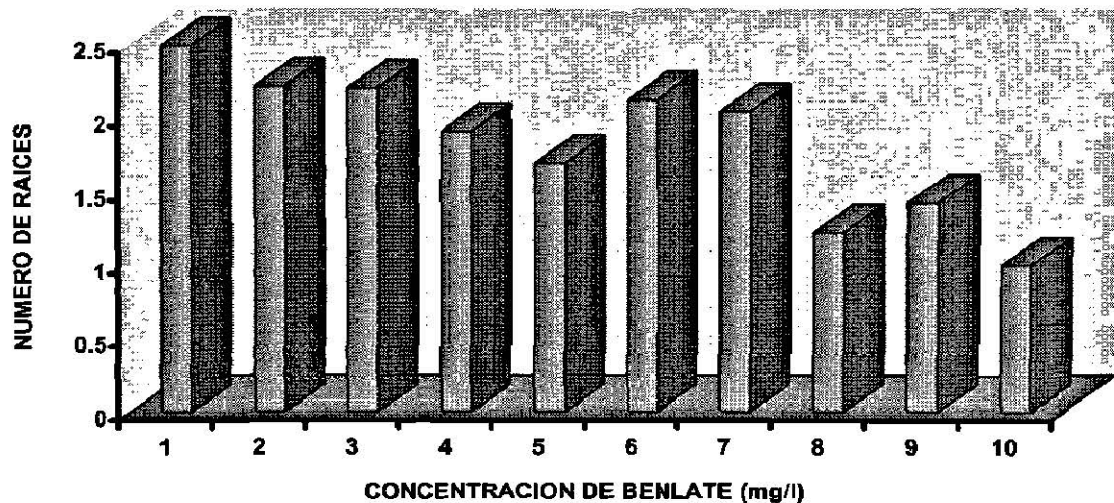


Figura 3. Número de raíces totales por tratamiento al final del experimento.

#### 4.1.4. Tamaño de raíz.

Los resultados estadísticos (Cuadro 10) indicaron que no existe diferencia significativa entre los tratamientos. Cabe mencionar que hubo una tendencia en el tamaño de las mismas a ser alto en los tratamientos uno y dos. El comportamiento de la longitud de las raíces en respuesta a los tratamientos de benlate se aprecia en la Figura 4.

Cuadro 10. Análisis de varianza para la variable longitud de raíz.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	9	6.229080	0.692120	1.7013	0.136
ERROR	28	11.390892	0.406818		
TOTAL	37	17.619972			

C.V. = 44.403019

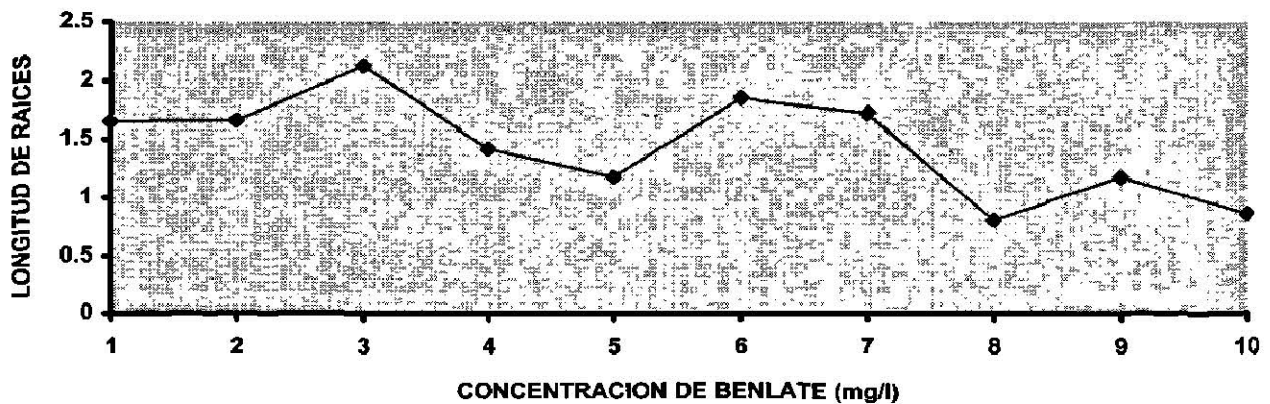


Figura 4. Longitud de raíces promedio para cada tratamiento.

#### 4.1.5. Peso fresco

Al termino de la evaluación, para la variable peso fresco (Cuadro 11) el análisis mostró una diferencia no significativa.

Sin embargo, si hubo efectos del benlate en la respuesta en peso fresco; pues al comparar con un tratamiento sin benlate (datos no reportados) la diferencia fue significativa.

La respuesta de peso fresco en función de las concentraciones de benlate se muestran en la Figura 5.

Cuadro 11. Análisis de varianza para la variable peso fresco.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTO	9	0.069294	0.007699	1.0330	0.440
ERROR	28	0.208691	0.208691		
TOTAL	37	0.277985			

C.V. = 7.215660

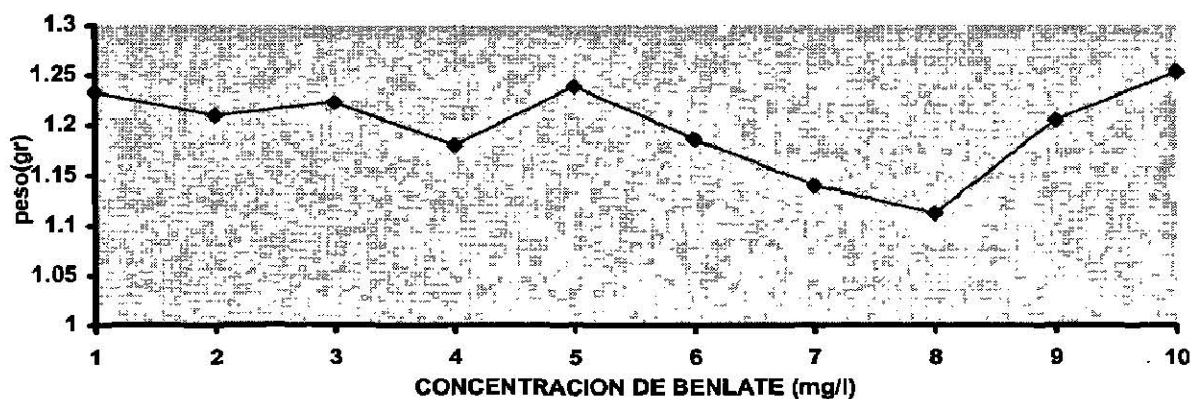


Figura 5. Peso fresco promedio al final del experimento.

#### 4.1.6. Número de brotes totales.

El análisis estadístico mostró una diferencia significativa entre tratamientos (Cuadro 12). La comparación de medias manifestó igualdad entre los tratamientos uno y nueve (Cuadro 13). Sin embargo el tratamiento 10 fue estadísticamente superior; por lo que puede haber una correlación positiva entre concentración de benlate y número de brotes.

La respuesta en el número de brotes en función de las concentraciones del benlate se presentan en la Figura 6.

Cuadro 12. Análisis estadístico para la variable número de brotes.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	9	1.043709	0.115968	4.0288	0.002
ERROR	28	0.805962	0.028784		
TOTAL	37	1.84967			

C.V. = 11.139478

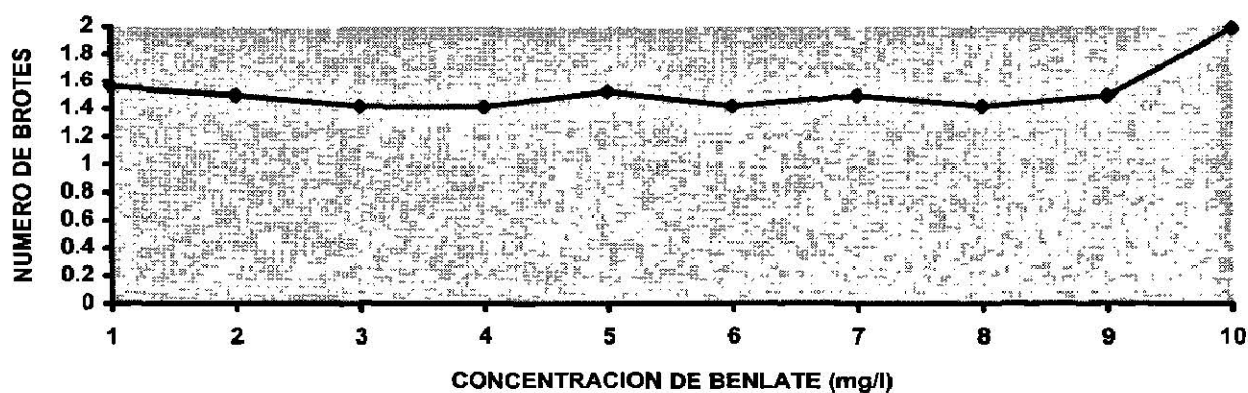


Figura 6. Número de brotes promedio al final del experimento.

Cuadro 13. Resultado de comparación de medias para la variable número de brotes.

TRATAMIENTO	MEDIA	
10	1.9840	A *
1	1.5605	B
5	1.5201	B
7	1.4936	B
9	1.4936	B
2	1.4936	B
4	1.4142	B
8	1.4142	B
3	1.4142	B
6	1.4142	B

Nivel de significancia = 0.05 y 0.01

\* letras iguales significa igualdad estadística.



## V. DISCUSION

Los resultados obtenidos indican una formación da hojas en los niveles mas bajos de concentración de benlate los cuales corresponden entre 10 y 20 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> pero nõ fue significativo para el tamaño de las mismas, éstos resultados coinciden con lo reportado en otros trabajos para otras especies como *Daucus carota* (Tripathi, 1992), en los cuales concluyen que el benomyl tiene propiedades como regulador de crecimiento.

Por otra parte en altas concentraciones de benlate existe una producción de brotes por lo que los resultados indicaron que entre 90 y 100 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> de benlate aumenta favorablemente la formación de esta variable.

Trabajos previos en otras especies como *Asparagus officinalis* y *Amaranthus* sp (Schruft,1970) obtuvieron resultados similares en los cuales mencionaron que el benlate tiene actividad similar a la citocinina la cual es un regulador de crecimiento.

Cabe mencionar que durante el desarrollo del experimento no se presentaron problemas de contaminación puesto que el producto utilizado tiene actividad de tipo fungicida, el cual redujo al máximo los riesgos de contaminación; Así mismo no se observaron efectos fitotóxicos con las dosis empleadas por lo que el benlate puede ser una alternativa como regulador de crecimiento.

## VI. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos y al metodología empleada en la presente investigación se concluye lo siguiente.

- 1.- Dosis altas de benlate entre 90 - 100 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> estimulan la producción de brotes; por lo que se considera que estas dosis del producto presenta actividad como regulador de crecimiento tipo citocinina.
- 2.- Utilizando dosis bajas del fungicida benlate entre 10 y 20 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> hay una tendencia a la formación de hojas en condiciones *in vitro* .
- 3.- Este producto químico redujo al máximo la contaminación sin presentar problemas fitotóxicos.

## **VII. RECOMENDACIONES**

Se recomienda utilizar el benlate como un sustituto de regulador de crecimiento de tipo citocinina para la propagación *in vitro* de plántulas estimulando la formación de hojas y brotes.

Asi mismo se puede utilizar para reducir al máximo los niveles de contaminación que se presenten durante el desarrollo de un trabajo en condiciones *in vitro*.

## BIBLIOGRAFIA

- Barbera, C. 1989. Pesticidas agrícolas. Editorial Omega S.A. Barcelona. 286-289 p.
- Brown, D.M.; Groom, C.L.; Cvitanik, M., 1982. Efectos of fungicides and bactericides on orchid seed germination and soot tip cultures *in vitro*. Plant Cell Tissue Organ Cult.1:165-180.
- Cárdenas, E. 1994. Clase de micropropagación, Facultad de Agronomía Universidad Autónoma de Nuevo León, Marín N. L.
- Font, Q.P. 1962 Plantas medicinales, Editorial Labor, S.A. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Granados, S. y Castañeda. A. 1988, Sábila planta agriondustrial del desierto, Universidad Autónoma de Chapingo México.
- Maene, L. 1990. Handbook of plant cell culture, vol.5 New York: McGraw-Hil Publishing Cy; 337-351
- Roca, W. M. y L. A. Mroginski. 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Colombia. 145-160 p.

12628

Thurston, K. C.; Spencer, S.J.; and Arditti, J. 1979. Phytotoxicity of fungicides and bactericides in orchid culture media. *Am. J. Bot.* 66:825-835

Tripathi, R.K.; Ram, S. 1982. Induction of growth and differentiation of carrot callus cultures by carbendazim and benzimidazole. *Ind. J. Exp. Biol.* 20:674-677.

Vickerly, A. P. 1994. *Flora mesoamericana*. Missouri Botanical Garden, the Natural History Museum México. 31 p.

