

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDIVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES

EFFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE EL ESTABLECIMIENTO
in vitro DE MERISTEMOS APICALES DE CANA DE AZUCAR
TESIS DE GRADO

JORGE GEOVANNY SAZO BARAHONA
CARNET 20980-06

ESCUINTLA, MARZO DE 2015
SEDE REGIONAL DE ESCUINTLA

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES

EFFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE EL ESTABLECIMIENTO
in vitro DE MERISTEMOS APICALES DE CAÑA DE AZÚCAR
TESIS DE GRADO

TRABAJO PRESENTADO AL CONSEJO DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

POR
JORGE GEOVANNY SAZO BARAHONA

PREVIO A CONFERÍRSELE
TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES EN EL GRADO
ACADÉMICO DE LICENCIADO

ESCUINTLA, MARZO DE 2015
SEDE REGIONAL DE ESCUINTLA

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR

RECTOR:	P. EDUARDO VALDES BARRIA, S. J.
VICERRECTORA ACADÉMICA:	DRA. MARTA LUCRECIA MÉNDEZ GONZÁLEZ DE PENEDO
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y PROYECCION:	DR. CARLOS RAFAEL CABARRÚS PELLECCER, S. J.
VICERRECTOR DE INTEGRACIÓN UNIVERSITARIA:	P. JULIO ENRIQUE MOREIRA CHAVARRÍA, S. J.
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO:	LIC. ARIEL RIVERA IRÍAS
SECRETARIA GENERAL:	LIC. FABIOLA DE LA LUZ PADILLA BELTRANENA DE LORENZANA

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

DECANO:	DR. ADOLFO OTTONIEL MONTERROSO RIVAS
VICEDECANA:	LIC. ANNA CRISTINA BAILEY HERNÁNDEZ
SECRETARIA:	ING. REGINA CASTAÑEDA FUENTES
DIRECTOR DE CARRERA:	MGTR. LUIS MOISÉS PEÑATE MUNGUÍA

NOMBRE DEL ASESOR DE TRABAJO DE GRADUACIÓN
ING. LUIS GERARDO MOLINA MONTERROSO

TERNA QUE PRACTICÓ LA EVALUACIÓN
MGTR. ADÁN OBISPO RODAS CIFUENTES
MGTR. ALMA LETICIA CIFUENTES ALONZO
MGTR. HÉCTOR ALFREDO SAGASTUME MENA



Universidad
Rafael Landívar
Tradición Jesuita en Guatemala

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
No. 06260-2015

Orden de Impresión

De acuerdo a la aprobación de la Evaluación del Trabajo de Graduación en la variante Tesis de Grado del estudiante JORGE GEOVANNY SAZO BARAHONA, Carnet 20980-06 en la carrera LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES, de la Sede de Escuintla, que consta en el Acta No. 065-2015 de fecha 31 de enero de 2015, se autoriza la impresión digital del trabajo titulado:

**EFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE EL ESTABLECIMIENTO
in vitro DE MERISTEMOS APICALES DE CAÑA DE AZÚCAR**

Previo a conferírsele el título de INGENIERO AGRÓNOMO CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES en el grado académico de LICENCIADO.

Dado en la ciudad de Guatemala de la Asunción, a los 17 días del mes de marzo del año 2015.



ING. REGINA CASTAÑEDA FUENTES, SECRETARIA
CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
Universidad Rafael Landívar



Guatemala, 19 de Enero de 2015.

Honorable Miembros
Consejo de la Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas
Universidad Rafael Landívar
Guatemala

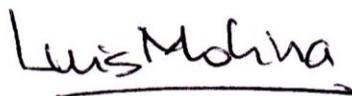
Distinguidos Miembros del Consejo:

Por este medio informo a ustedes que he asesorado en su trabajo de tesis al estudiante: Jorge Geovanny Sazo Barahona, carné: 2098006, titulada: **“Evaluación de cuatro concentraciones de reguladores de crecimiento sobre el establecimiento in vitro de caña de azúcar a partir de meristemas apicales a nivel de laboratorio”**.

Considero que el mismo cumple con los requisitos establecidos por la Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas, de la Universidad Rafael Landívar, por lo que sugiero la aprobación del curso Tesis II.

Sin otro particular,

Atentamente:



Ing. Agr. Luis Gerardo Molina

ÍNDICE GENERAL

		Página
	Resumen	i
	Summary	ii
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	MARCO TEÓRICO	2
2.1	CAÑA DE AZUCAR	2
2.1.1	Exigencias edafoclimáticas	2
2.2	REGULACION HORMONAL DEL CRECIMIENTO	3
2.2.1	Acciones generales de las hormonas	4
2.2.2	Clasificación de las hormonas	4
2.2.3	Biosíntesis de las auxinas	5
2.2.4	Biosíntesis de las giberelinas	6
2.2.5	Biosíntesis de las citocininas	6
2.3	CULTIVO DE TEJIDOS EN CAÑA DE AZUCAR	7
2.4	ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE EL TEMA DE CULTIVO DE TEJIDOS Y REGULADORES DE CRECIMIENTO EN CAÑA DE AZUCAR	8
2.5	CARACTERISTICAS DE LA VARIEDAD DE CAÑA DE AZUCAR CP-881165	9
2.6	MEDIO DE CULTIVO PARA LA PROPAGACION DE PLANTAS IN VITRO	10
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
3.1	DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	12
IV.	OBJETIVOS	13
4.1	GENERAL	13
4.2	ESPECÍFICOS	13
V.	HIPÓTESIS	14

		Página
VI.	MATERIALES Y MÉTODOS	15
6.1	LOCALIZACIÓN DEL TRABAJO	15
6.2	MATERIAL EXPERIMENTAL	15
6.2.1.	Material vegetal	15
6.2.2.	Cristalería y materiales de laboratorio	15
6.2.3.	Equipo de laboratorio	15
6.3	FACTOR ESTUDIADO	15
6.4	DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS	16
6.5	DISEÑO EXPERIMENTAL	16
6.6	MODELO ESTADÍSTICO	16
6.7	UNIDAD EXPERIMENTAL	17
6.8	CROQUIS DEL EXPERIMENTO	17
6.9	MANEJO DEL EXPERIMENTO	17
6.10	VARIABLES DE RESPUESTA	18
6.11	ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	19
6.11.1	Análisis estadístico	19
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
7.1	PLÁNTULAS REGENERADAS	20
7.2	NÚMERO DE BROTES	20
7.3	ALTURA DE PLANTULAS	22
7.4	DIÁMETRO DE PLANTULAS	23
7.5	TIEMPO DE REGENERACIÓN DE LAS PLÁNTULAS	23
VIII.	CONCLUSIONES	25
IX.	RECOMENDACIONES	26
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
XI.	ANEXO Y DATOS	28

ÍNDICE DE CUADROS

		Página
Cuadro 1	Composición y preparación del medio Murashige y Skoog (1962).	11
Cuadro 2	Concentraciones de bencilaminopurina (BAP) evaluadas en el establecimiento <i>in vitro</i> de caña de azúcar.	16
Cuadro 3	Análisis de varianza para la variable de respuesta plántulas regeneradas (%), en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemas de caña de azúcar.	20
Cuadro 4	Análisis de varianza para la variable de respuesta número de brotes, en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemas de caña de azúcar.	21
Cuadro 5	Prueba de separación de medias Tukey para la variable de respuesta número de brotes, en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemas de caña de azúcar.	21
Cuadro 6	Análisis de varianza para la variable de respuesta altura de plántulas, en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemas de caña de azúcar.	22
Cuadro 7	Prueba de separación de medias Tukey para la variable de respuesta altura de plántulas, en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemas de caña de azúcar.	22
Cuadro 8	Análisis de varianza para la variable de respuesta diámetro de plántulas (cm), en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemas de caña de azúcar.	23
Cuadro 9	Análisis de varianza para la variable de respuesta período de regeneración (días a regeneración), en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemas de caña de azúcar.	23

	Página
Cuadro 10 Prueba de separación de medias Tukey para la variable de respuesta período de regeneración (días a regeneración), en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemas de caña de azúcar.	24
Cuadro 11 Datos Obtenidos	29

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Clasificación de los reguladores de crecimiento	4
Figura 2 Aleatorización de los tratamientos durante la investigación.	17
Figura 3 Desinfección en baño maría.	29
Figura 4 Soluciones madre.	29
Figura 5 Disección de meristemas.	29
Figura 6 Fase de establecimiento.	29
Figura 7 Medición de plántula regenerada.	29

Efecto de la bencilaminopurina (BAP) sobre el establecimiento *in vitro* de meristemos apicales de caña de azúcar.

RESUMEN

La investigación se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos del ingenio Santa Ana. El objetivo de la investigación fue determinar el efecto de la bencilaminopurina (BAP) sobre el establecimiento *in vitro* de meristemos apicales de caña (*Saccharum* spp., Poaceae). Los tratamientos evaluados fueron 0.000, 0.100, 0.010, 0.050 y 0.005 mg/L de BAP. En todos los tratamientos se utilizaron las sales básicas del medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962), suplementado con 0.1 mg/L de ácido giberélico (GA₃). La variedad de caña utilizada fue CP-881165. El diseño experimental utilizado fue bloques completos al azar, con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. Las variables evaluadas fueron: plantas regeneradas, número de brotes, altura de plántulas, diámetro de tallo y tiempo de regeneración de las plantas. De acuerdo con los resultados, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para las variables de plantas regeneradas y diámetro de tallo. Por el contrario, sí se encontraron diferencias altamente significativas para las variables de respuesta número de brotes, altura de plántulas y tiempo de regeneración. Se obtuvo un mayor número de brotes (promedio 2.2) y mayor altura (5.4 cm) con los tratamientos con 0.005 y 0.050 mg/L de BAP. El período de regeneración (39.9 días) fue mayor en los tratamientos con 0.000, 0.005, 0.050 mg/L de BAP. Se recomienda evaluar en campo el comportamiento de las plántulas provenientes de los tratamientos con 0.050 y 0.005 mg/L de BAP, evaluar otras concentraciones de GA₃ y evaluar otras variedades de caña.

Effect of benzylaminopurine (BAP) on the establishment of *in vitro* sugarcane apical meristem

SUMMARY

The research was carried out in the tissue culture lab of the Santa Ana mill. The objective was to determine the effect of benzylaminopurine (BAP) on the establishment of *in vitro* sugarcane (*Saccharum* spp., Poaceae) apical meristems. The evaluated treatments were 0.000, 0.100, 0.010, 0.050, and 0.005 mg/L of BAP. For all treatments, basic salts from the MS (Murashige y Skoog, 1962) growth medium, supplemented with 0.1 mg/L of gibberellic acid (GA₃), were used. The sugarcane variety used was CP-881165. A complete randomized block design with five treatments and four replicates was used. The evaluated variables were: regenerated plants, number of shoots, seedling height, stem diameter, and time for the regeneration of plants. According to the results, no significant differences were found among the treatment for the regenerated plants and stem diameter. In contrast, there were highly significant differences for the following response variables: number of shoots, seedling height, and regeneration time. There was higher amount of shoots (average of 2.2) and greater height (5.4 cm) in treatments with 0.005 and 0.050 mg/L of BAP. The regeneration period (39.9 days) was higher in treatments with 0.000, 0.005, and 0.050 mg/L of BAP. It is recommended to evaluate in the field the behavior of the seedlings from the treatments with 0.050 and 0.005 mg/L of BAP, to evaluate other concentrations of GA₃, and to evaluate other sugarcane varieties.

I. INTRODUCCIÓN

En Guatemala la mayor extensión de área cultivada con caña de azúcar se localiza en la planicie costera del Pacífico, con alrededor de 230,000 hectáreas. Se producen aproximadamente 20.8 millones de toneladas de caña de azúcar (ASAZGUA, 2009), lo cual lo convierte en el cultivo más importante en los últimos años en la generación de empleos y divisas para el país.

El sector azucarero genera de forma directa e indirecta, un total de 300,000 empleos al año. De éstos, 33,000 son cortadores de caña que laboran en el período que dura la zafra. El incremento de las áreas de cultivo y renovación de las ya establecidas, implica la utilización de metodologías y técnicas definidas en la búsqueda de mejorar la eficiencia en la producción, sin sacrificar la calidad del cultivo, el cual se puede optimizar a través del uso de productos fitosanitarios que contribuyan al mejor desarrollo de la planta. Cuando se habla de mejorar la producción de un cultivo, en la mayoría de ocasiones se piensa en mejorar las labores culturales, tales como chapeo, sistema de conducción, mejorar el aprovechamiento de luz para estimular una buena fotosíntesis y en consecuencia, la asimilación de nutrientes. Algunas veces la baja producción se debe a que existen mezclas de variedades por lo que la población no es homogénea (CENGICAÑA, 2010).

Cuando se utiliza la técnica del cultivo de tejidos, existe mayor seguridad del origen de las plantas, ya que implica la aplicación de normas y cuidados que permiten trazabilidad en el grupo de plantas que son llevadas a campo definitivo. Por otra parte, el uso de reguladores de crecimiento vegetal se ha ampliado en el cultivo de caña de azúcar, ya que se puede estimular a la planta a regenerar el tejido, multiplicarse y enraizarse.

La fase de establecimiento es la etapa más difícil del cultivo de tejidos (Skene, 1968), por lo que en esta investigación se evaluó el efecto de concentraciones de 6-bencilaminopurina (BAP), con el objetivo de regenerar el tejido de caña de azúcar, para su establecimiento *in vitro*, a partir de meristemas apicales y así poder propagar dicha especie.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. CAÑA DE AZÚCAR

La caña es un cultivo de zonas tropicales o subtropicales del mundo. Requiere agua y suelos adecuados para un buen desarrollo. Es una planta que asimila muy bien la radiación solar, es un cultivo eficiente, puede producir 100 a 150 toneladas de caña por hectárea por año. La caña se propaga de muchas formas, la más tradicional es mediante la siembra de trozos de caña, de cada nudo sale una planta nueva idéntica a la original; una vez plantada, la planta crece y acumula azúcar en su tallo, el cual se corta cuando está maduro. La planta retoña varias veces y puede seguir siendo cosechada. Estos cortes sucesivos se llaman "zafras". La planta se deteriora con el tiempo y por el uso de la maquinaria que produce daños a las raíces, así que se debe resembrar cada cierto tiempo dependiendo el estado del cultivo (CENGICAÑA, 2010). La caña pertenece a la familia Poaceae, género *Saccharum*. Las variedades cultivadas son híbridos de la especie *Saccharum officinarum*. Es un cultivo plurianual. Se corta cada 12 meses y la plantación dura aproximadamente cinco años. Tiene un tallo de 2 a 5 metros de altura con 5 ó 6 cm de diámetro. El sistema radicular lo compone un robusto rizoma subterráneo; puede propagarse por estos rizomas y por trozos de tallo (Estévez, 1986).

2.1.1. Exigencias edafoclimáticas

La temperatura, la humedad y la luminosidad, son los principales factores del clima que controlan el desarrollo de la caña. La caña de azúcar es una planta tropical y se desarrolla mejor en lugares calientes y soleados. Cuando prevalecen temperaturas altas la caña de azúcar alcanza un gran crecimiento vegetativo y bajo estas condiciones la fotosíntesis se desplaza hacia la producción de carbohidratos de alto peso molecular, como la celulosa y otras materias que constituyen el follaje y el soporte fibroso del tallo. Se tienen reportes que a bajas temperaturas todas las variedades de caña tienen una menor eficiencia y más baja proporción de desarrollo. La caña de azúcar se cultiva con éxito en la mayoría de suelos, estos deben contener materia orgánica, presentar buen drenaje, tanto externo como interno y

que su pH oscile entre 5.5 a 7.8 para su óptimo desarrollo. Se adapta a casi todos los tipos de suelos, vegetando mejor y dando más azúcar en los ligeros, si el agua y el abonado es el adecuado. En los suelos pesados y de difícil manejo constituye muchas veces el único aprovechamiento rentable. Los suelos muy calizos a veces dan problemas de clorosis (Estévez, 1986).

2.2. REGULACIÓN HORMONAL DEL CRECIMIENTO

Durante muchos años se creyó que las hormonas determinaban directamente los procesos del desarrollo y que actuaban sobre los grandes fenómenos como la emisión de raíces, de flores, entre otros. Así, la teoría de las calinas de Went postulaba la existencia de tres hormonas o grupos hormonales: la rizocalina, inductora del desarrollo de la raíz; la caulocalina, determinante del crecimiento del tallo y la filocalina, generadora de las hojas (Vásquez, 1982).

En la actualidad existe evidencia suficiente para postular dos hechos básicos sobre la acción fundamental de las fitohormonas (Vásquez, 1982):

- Las fitohormonas no actúan directamente a nivel del organismo sino de la célula, por ejemplo sobre la mitosis, el alargamiento celular, entre otros. De modo que sus efectos se hacen sentir en todos los fenómenos fisiológicos que se basen en los fenómenos citológicos afectados.
- La acción básica de las hormonas ocurre sobre los ácidos nucleicos a nivel de la transcripción del mensaje ADN → ARN o de su traducción ARN → aminoácido.

Se sabe que el crecimiento de las plantas no sólo está determinado por la absorción de sustancias minerales a través de las raíces y por los hidratos de carbono sintetizados en las hojas, sino también por ciertas sustancias químicas que actúan como agentes específicos y correlacionan el crecimiento entre las diversas partes de la planta. Estos agentes son las hormonas vegetales o fitohormonas. Una hormona es una sustancia orgánica que se produce dentro de la planta y que en bajas concentraciones promueve, inhibe o modifica cualitativamente el crecimiento. Una característica común de las hormonas es su capacidad para inducir o reprimir algún

proceso de crecimiento en la planta o actuar en forma localizada en un sitio que no es el de su síntesis (Zurfluh, 1982).

2.2.1. Acciones generales de las hormonas

Los procesos del desarrollo descansan sobre fenómenos celulares, que es donde actúa la hormona, en cierta forma todos los procesos del desarrollo están influenciados, en diverso modo e intensidad, por todas las hormonas de la planta. Este concepto debe tenerse presente cuando se hacen aplicaciones de fitoreguladores, pues ello implica que van a presentarse otros efectos además del deseado. Sin embargo, los diversos grupos de fitohormonas poseen ciertas acciones características sobre el metabolismo. Dentro de cada grupo hormonal, cada hormona favorece específicamente algunos procesos. Así, en la práctica, existen productos hormonales propios para estimular el enraizamiento, la floración, entre otros, pero su especificidad no es absoluta (Tizio, 1980).

2.2.2. Clasificación de las hormonas

Las hormonas se han clasificado en cinco grupos: auxinas, giberelinas, citocininas, inhibidores y etileno (Tizio, 1980).

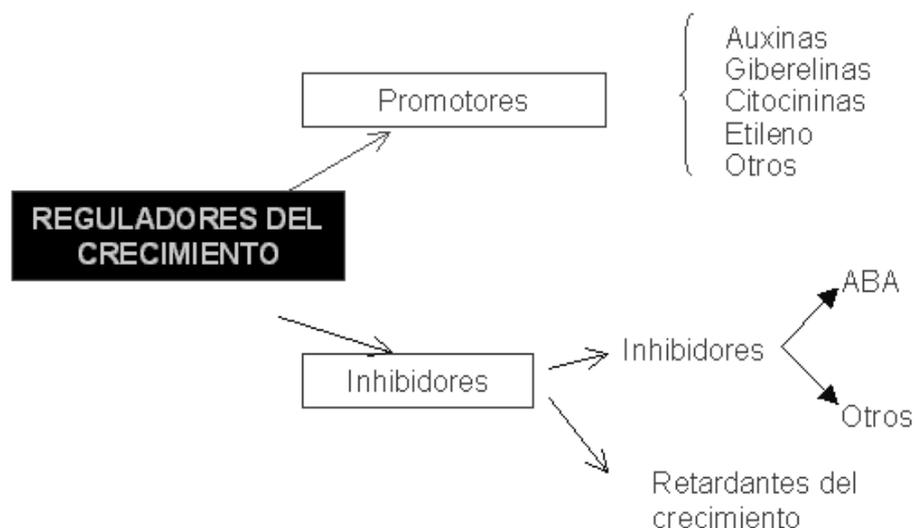


Figura 1. Clasificación de los reguladores del crecimiento (Tizio, 1980).

2.2.3. Biosíntesis de las auxinas

El término auxina designa cualquier hormona perteneciente al grupo auxínico, pero a menudo se usa como sinónimo del ácido indolacético (AIA), que es la principal auxina natural y que posiblemente se sintetiza a partir del aminoácido triptófano. La auxina se sintetiza principalmente en el ápice del tallo y ramas jóvenes, en las yemas y hojas jóvenes y en los meristemas. El AIA es transportado como AIA-inositol, principalmente. El transporte de las auxinas endógenas es basipétalo por el floema con los productos fotosintetizados. Así, en el lugar donde va a actuar se desliga y pasa a auxina libre que se adhiere a la proteína receptora para efectuar su acción. Cuando se sintetiza en el ápice de la raíz tiene transporte acropétalo. En muchos casos las diversas hormonas inducen efectos parecidos y la interacción hormonal dificulta el reconocimiento de efectos típicos para cada hormona. Sin embargo, es posible hablar de efectos característicos para cada grupo, sin pretender que exista una discriminación perfecta (Bidwell, 1983).

El principal efecto auxínico es la estimulación del alargamiento celular o su depresión, según la concentración del producto. Este fue el síntoma que más llamó la atención a los primeros investigadores y ha sido bien establecido incluso para las auxinas usadas como herbicidas (Rojas y Rovalomerino, 1979).

Los efectos citológicos se basan en efectos bioquímicos. Las auxinas activan a las enzimas de la deshidrogenación respiratoria en el ciclo de Krebs. Además, el contenido enzimático de las plantas tratadas con auxinas es diferente al de las no tratadas. Un efecto compartido con otras hormonas es el de activar el transporte de nutrientes por el floema. El AIA induce una acumulación de fósforo en el sitio que se aplica (Smith, 1978).

Los tipos de auxinas más comunes son: ácido indolacético (AIA); ácido naftalenacético (ANA); ácido indolbutírico (AIB); 2,4-D; y 2,4,5-T.

Las funciones de las auxinas son las siguientes: dominancia apical, aumentar el crecimiento de los tallos, fototropismo y promover la división celular (Smith, 1978).

2.2.4. Biosíntesis de las giberelinas

Las giberelinas son ácidos giberélicos (AG) que se sintetizan principalmente en hojas jóvenes y en la semilla, en cuyo endospermo se ha encontrado un receptor no identificado. El nivel de AG aumenta conforme se desarrolla el embrión y luego decrece cuando la semilla madura. Se conocen 72 giberelinas, pero no todas aparecen en las plantas superiores y muchas de ellas no son activas, posiblemente por carecer de receptor. Las giberelinas actúan sobre el ARN desreprimiendo genes que en algunos casos se han identificado. A diferencia de las auxinas, la acción estimulante del crecimiento se manifiesta en un rango muy amplio de concentraciones, lo cual parece indicar que el número de receptores es muy grande o bien hay una continua síntesis de ellos (Van Overbeek, 1968).

El AG alarga los tallos de plantas en roseta y otras formas enanas, mientras que el efecto en plantas normales es mucho menor. El enanismo en las plantas se debe a varios genes, en algunos casos el enanismo no se debe a la carencia de AG sino a la presencia de un inhibidor. El AG es quizá la única hormona que interacciona con el fitocromo, el receptor que “dice” a la planta las horas de luz diarias que recibe y que hace que las plantas se ajusten a su fotoperíodo para florecer. Las funciones principales de las giberelinas son las siguientes: estimulan el desarrollo de raíces, promueven el desarrollo de los cloroplastos, estimulan la división celular (Rojas y Rovalomerino, 1979).

2.2.5. Biosíntesis de las citocininas

Las citocininas se sintetizan principalmente en la raíz y su presencia en las yemas del tallo, donde tienen efecto hormonal, puede ser transportado de la raíz, pero hay informes de su síntesis en las hojas. Por tener adenina en su molécula, se cree que provenga parcialmente de productos de hidrólisis de fracción proveniente del isopentenil fosfato. Se ha demostrado en cultivo de tejidos que cuando se dan citocininas “marcadas”, éstas aparecen en la cadena de ARN a la que se incorporan por llevar adenina en su molécula; esta incorporación es muy probable que tenga un efecto en la expresión fisiológica de los genes, pero realmente no se ha demostrado que se encuentre en los ribosomas de la raíz, tiene una gran capacidad de ligar

citocininas. Aun cuando todas las hormonas activan la división celular, lo hacen indirectamente como efecto de la activación metabólica; las citocininas son típicamente las hormonas de la división celular y activan el proceso directamente con las auxinas. Los diferentes tipos de citocininas son: zeatina, cinetina y benziladenina (Luca d' Oro y Trippi, 1982).

Las citocininas se sintetizan en los meristemos apicales de las raíces, aunque también se producen en los tejidos embrionarios y en las frutas. Transporte en la planta por vía acropétala, desde el ápice de la raíz hasta los tallos, moviéndose a través de la savia en los vasos correspondientes al xilema.

Las funciones de las citocinina son: estimular la división celular y el crecimiento, inhibir el desarrollo de raíces laterales, romper la latencia de las yemas axilares, promover la organogénesis en los callos celulares, retrasar la senescencia o envejecimiento de los órganos vegetales, promover la expansión celular en cotiledones y hojas (Luca d' Oro y Trippi, 1982).

2.3. CULTIVO DE TEJIDOS EN CAÑA DE AZÚCAR

Las investigaciones sobre cultivo de tejidos y células de caña de azúcar comenzaron en Hawaii en 1961 en el Hawaiian Sugar Cane Research Center. Después se iniciaron en Taiwán las investigaciones de cultivo de tejidos y células para el mejoramiento de caña de azúcar. desde 1970, en el Taiwán Sugar Research Institute. Posteriormente se formaron otros institutos de investigación de cultivos de tejidos en caña de azúcar, los principales están en Estados Unidos de Norteamérica, Filipinas, Brasil, Francia, Cuba, Colombia y México.

Algunas plantas se propagan fácilmente *in vitro* (geranio, piña, clavel, entre otros), mientras que otras, incluyendo la caña de azúcar, presentan mayor dificultad. Generalmente es más difícil propagar *in vitro* las monocotiledóneas que las dicotiledóneas. El cultivo de tejidos de caña de azúcar se dificulta, ya que esta planta posee algunos compuestos fenólicos que se oxidan y los productos de esta oxidación inhiben la actividad enzimática del tejido y lo matan (Luca d' Oro y Trippi, 1982).

2.4. ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE EL TEMA DE CULTIVO DE TEJIDOS Y REGULADORES DE CRECIMIENTO EN CAÑA DE AZÚCAR

López (2010) evaluó la eficiencia biológica del ácido indol-3-butírico (Radix 35 % TB) para la inducción y desarrollo del sistema radicular en el cultivo de caña de azúcar. El ensayo se realizó en la finca Sabana Grande, El Rodeo, Escuintla, teniendo como factores de estudio la época de aplicación y concentraciones del ácido indol-3-butírico. Se evaluaron cuatro tratamientos, siendo estos 0 ppm, 30 ppm, 60 ppm y 90 ppm; en dos épocas de aplicación, a los 15 y 30 días después del corte. Como variables de respuesta se evaluaron: peso húmedo y seco de follaje, peso húmedo y seco de tallo, peso húmedo y seco de raíz, altura de las plantas, diámetro de tallos. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, en arreglo de parcelas divididas y tres repeticiones. Los resultados indicaron que la aplicación del ácido indol-3-butírico, dentro de los primeros 30 días después del corte, no influye directamente en la producción de biomasa. Para la variable peso húmedo de follaje, con la dosis de 90 ppm, se obtuvieron 1234 gramos a los 75 días después de la aplicación. La dosis de 60 ppm fue la que presentó la mejor producción en peso seco de tallos, alcanzando 798 gramos. Con la dosis de 90 ppm, se obtuvo un peso seco de follaje de 508 gramos a los 75 días después de la aplicación. La dosis de 90 ppm fue la que más influyó en la biomasa de raíz, alcanzando 116 gramos. Las variables diámetro y altura de plantas no variaron significativamente en ninguno de los tratamientos evaluados, por lo tanto ni la época de aplicación, ni la dosis de ácido indol-3-butírico influyeron en éstas dos variables evaluadas en la planta de caña de azúcar.

Cruz (2007), evaluó el efecto de la 6-bencilaminopurina para inducir proliferación de brotes en la fase de multiplicación de la caña de azúcar. En dicho estudio se evaluaron tres variedades, CP 7222086, SP 792233 y PR 872080, las cuales se encuentran en el banco de germoplasma vegetal del Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar; dicho germoplasma sirvió como fuente de material para la siembra en el laboratorio. Se utilizó el medio de cultivo descrito por Murashige y Skoog, como agente inductor. La 6-bencilaminopurina (BAP) es un regulador del crecimiento catalogada dentro del grupo de las citocininas, considerada en varios estudios por ser un compuesto muy activo en la

proliferación de brotes en diversas especies vegetales. Se evaluaron cinco niveles 0.15, 0.30, 0.45, 0.60 y 0.75 mg/L, más un testigo (sin la aplicación de BAP). Se observó que la variedad PR 872080 presentó el mayor número de brotes a los 15 y 30 días después de la siembra, con 10.0 y 17.9 brotes por explante. Fue la que presentó la mayor longitud de brotes, pero la producción de hojas fue intermedia con 4.1 y 4.5 hojas/brote. La variedad SP 792233 con 5.5 y 13.9 brotes/explante fue intermedia, a la vez fue la que presentó un tamaño de brote de 1.4 y 1.6 cm, siendo el más pequeño de todo el estudio, igual que en el número de hojas, con 4.0 a 4.5. Con una menor respuesta en el número de brotes, la variedad CP 722086, con 5.8 y 9.8, pero intermedia en la longitud con 1.6 y 2.2 cm/brote, y con el mayor número de hojas diferenciadas, con 4.2 a 4.8 hojas/brote.

2.5. CARACTERÍSTICAS DE LA VARIEDAD DE CAÑA DE AZÚCAR CP- 881165

Según CENGICAÑA (2010), la variedad CP-881165 presenta las características que se describen a continuación:

Aspecto de la planta: no deshoja naturalmente, hábito de crecimiento de tallos ligeramente inclinado, follaje abundante.

Entrenudo: verde amarillento con manchas negras, crecimiento cilíndrico y ligeramente curvado al lado contrario de la yema.

Nudo: forma de crecimiento conoidal, posee raíces primordiales protuberantes y de color obscuro, yema predomina la forma de triángulo ovalada, cuya base está separada un mm de la cicatriz foliar, la mayoría de los ápices de la yema no sobrepasan el anillo de crecimiento, anillo de crecimiento semiabultado, al quitar la vaina, las raíces primordiales son de color morado.

Cuello: color café obscuro, textura semicorrugada en la base.

2.6. MEDIO DE CULTIVO PARA LA PROPAGACIÓN DE PLANTAS *IN VITRO*

En la actualidad la mayor parte de publicaciones reportan el medio conocido como MS (Murashige y Skoog, 1962), como medio basal, suplementado con dosis variables de citocininas, combinadas, en algunos casos con auxinas (cuadro 1). Este medio de cultivo es muy usado, particularmente si el objetivo es regenerar plantas; existen numerosas variaciones comerciales de este medio. Aunque una pequeña cantidad de citocinina puede ser sintetizada por los brotes en crecimiento, es reconocido que ésta es insuficiente para soportar el crecimiento y desarrollo *in vitro*. Por tal razón, en más del 85% de los medios de cultivo empleados en la micropropagación se incluye como suplemento alguna citocinina. La tendencia actual en la propagación de plantas es el empleo de medios de cultivo cada vez más simples, lo que ha sido posible gracias al dominio cada vez mayor, que se tiene de los demás factores que influyen en el cultivo *in vitro*.

Cuadro 1. Composición y preparación del medio MS (Murashige y Skoog, 1962).

Constituyentes	Concentración de la solución madre (g/L)	Volumen de la solución madre por litro de medio
Macroelementos		
NH ₄ NO ₃	16.5	100 mL
KNO ₃	19	
CaCl ₂ .2H ₂ O	4.4	
MgSO ₄ .7H ₂ O	3.7	
KH ₂ PO ₄	1.7	
Microelementos		
MnSO ₄ .H ₂ O	1.69	10 mL
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.86	
H ₃ BO ₃	0.62	
KI	0.083	
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.025	
CuSO ₄ .5H ₂ O		
10 ml de solución 25 mg/100mL		
CoCl ₂ .6H ₂ O		
10 ml de solución 25 mg/100mL		
Hierro		
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.00556	10 mL
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0.00746	
Vitaminas y aminoácidos		
Inositol	10	10 mL
Ácido nicotínico	0.05	
Piridoxina-HCl	0.05	
Glicina	0.2	
Tiamina-HCl	0.01	

Adicionar al medio 3% de sacarosa y 0.7% de agar.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Actualmente, en Guatemala, la reproducción de caña de azúcar en plantaciones comerciales se hace exclusivamente por medio de material vegetativo. En innumerables ocasiones la baja producción se debe a problemas en la planta, tales como daños fisiológicos, un sistema dañado por hongos o bacterias, pudriciones por exceso de riego o por suelos mal drenados, presencia de nemátodos en el suelo, entre otros (CENGICAÑA, 2010). Además de los factores mencionados, la planta de caña de azúcar, en sus primeros días de vida, no tiene la capacidad de fotosintetizar, es decir, la planta joven sobrevive de las reservas presentes en el trozo de semilla y utiliza parcialmente el agua y los nutrientes suministrados por sus tejidos (Cortéz, 1985). De manera que es mucho más eficiente la producción de plántulas por cultivo de tejidos; convirtiendo ésta técnica en una gran herramienta para producir plantas homogéneas, bajo condiciones controladas, libre de enfermedades y listas para ser trasplantadas a invernadero. Después de un lapso de tiempo, ya son llevadas a campo, donde se desarrollan para completar su ciclo.

Uno de los principales problemas que existen en el cultivo de tejidos de caña de azúcar, es que no todos los meristemas logran regenerarse, debido a los diferentes requerimientos de hormonas que tienen algunas variedades. Cuando estas no se encuentran disponibles en los niveles demandados la planta produce fenolización excesiva y muere. Por ello, es de vital importancia conocer cuáles son las concentraciones más adecuadas para regenerar los explantes de caña de azúcar (Ramírez, 1981).

Con la presente investigación se determinó cuál es la concentración idónea del regulador de crecimiento bencilaminopurina (BAP) para regenerar el tejido de caña de azúcar, que permita aumentar la cantidad de explantes para su propagación y ahorrar tiempo, aumentar material disponible que servirá como semilla en campo, garantizando que la planta se encuentre libre de enfermedades y agentes patógenos que dañan al cultivo.

IV. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de cinco concentraciones de bencilaminopurina (BAP), sobre el establecimiento *in vitro* en caña de azúcar (*Saccharum spp.*; Poaceae), a partir de meristemos apicales.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto de cinco concentraciones de bencilaminopurina (BAP), sobre el porcentaje de plantas regeneradas.
- Conocer el efecto de cinco concentraciones de bencilaminopurina (BAP), sobre la altura y diámetro de las plantas regeneradas.
- Conocer el tiempo promedio de la regeneración del tejido de los explantes, con el uso de cinco concentraciones de bencilaminopurina (BAP).
- Determinar el número de brotes por explante, con el uso de cinco concentraciones de bencilaminopurina (BAP).

V. HIPÓTESIS

- Existe al menos una concentración de bencilaminopurina (BAP) que estimula una mayor regeneración de tejido en la caña de azúcar.
- Al menos una de las concentraciones de bencilaminopurina (BAP) aumentará la altura y diámetro de las plantas regeneradas.
- Al menos una de las concentraciones de bencilaminopurina (BAP) permitirá reducir el tiempo de regeneración del tejido en caña de azúcar.
- Al menos una de las concentraciones de bencilaminopurina (BAP) permitirá obtener un mayor número de brotes por explante, en caña de azúcar.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. LOCALIZACIÓN DEL TRABAJO

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología, del Ingenio Santa Ana, S.A., localizado en finca Cerritos, en el municipio de Escuintla. El área se ubica en las coordenadas 14° 14' 31.09" latitud norte y 90° 50' 32.74" longitud oeste, a una altura de 161 msnm. La precipitación media anual está entre 2,200 a 3,000 mm, la temperatura media anual es de 25.5 °C y la humedad relativa media anual es de 64% (Ingenio Santa Ana, S.A., datos no publicados).

6.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

6.2.1. Material vegetal

La variedad de caña de azúcar utilizada en el experimento fue la CP-881165 (donada por CENGICAÑA).

6.2.2. Cristalería y materiales de laboratorio

La cristalería más importante utilizada fue la siguiente: beackers de 1000 mL, pipeta de cinco mL, agitador de vidrio, piseta con agua, balón aforado, embudo pequeño, frascos de 50 mL y espátula.

6.2.3. Equipo de laboratorio

El equipo más importante utilizado en la investigación fue: cámara de flujo laminar, balanza analítica, estufa industrial para baño de maría, estanterías, autoclave de 25 galones y vernier de laboratorio.

6.3. FACTOR ESTUDIADO

En la investigación se estudió un solo factor, las concentraciones de bencilaminopurina (BAP).

6.4. DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Para todos los tratamientos se utilizaron las sales básicas del medio de cultivo MS (Murashigue y Skoog, 1962), suplementado con 30 gramos por litro de sacarosa, siete gramos por litro de agar y 0.1 mg/L de ácido giberélico (GA₃). Los cinco tratamientos evaluados se describen en el cuadro 2.

Cuadro 2. Concentraciones de bencilaminopurina (BAP) evaluadas en el establecimiento *in vitro* de caña de azúcar.

Tratamiento	BAP (mg/L)
T1	0.100
T2	0.010
T3	0.050
T4	0.005
T5	0.000

6.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se condujo bajo un diseño en bloques completos al azar, con cinco tratamientos y cuatro repeticiones por tratamiento.

6.6. MODELO ESTADÍSTICO

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = variable de respuesta observada.

μ = media general de la variable de respuesta.

T_i = efecto del i -ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j -ésimo bloque.

ϵ_{ij} = error asociado a la ij -ésima unidad experimental.

6.7. UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental estuvo conformada por 25 meristemas, cada meristemo fue implantado en recipientes individuales.

6.8. CROQUIS DEL EXPERIMENTO

La distribución de los tratamientos en el laboratorio se muestra en la figura 2.

BLOQUE	TRATAMIENTO				
1	T2	T3	T1	T4	T5
2	T3	T4	T5	T2	T1
3	T4	T1	T3	T5	T2
4	T2	T5	T1	T3	T4
5	T5	T3	T4	T2	T1

Figura 2. Aleatorización de los tratamientos durante la investigación.

6.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO

Características de la planta para su selección para establecimiento *in vitro*:

- Libres de enfermedades.
- Material joven, de 6 a 10 meses de edad.
- Sin daños físicos causados por mecanización o agentes patógenos.

Se utilizaron plantas de entre 6 y 10 meses de edad. Los tallos fueron cortados en secciones de siete cm de longitud, cada una conteniendo una yema. Las yemas luego de ser lavadas con agua y jabón fueron sometidas a un tratamiento térmico en un baño de agua a 51°C durante una hora, con el objetivo de eliminar bacterias endógenas que pudieran estar presentes.

Después, dentro de la cámara de flujo laminar, se enjuagaron tres veces con agua esterilizada. Luego con la ayuda de bisturí y pinzas de disección, se extrajeron los

meristemas apicales, con uno o dos primordios foliares (aproximadamente cuatro mm de diámetro).

Se obtuvieron meristemas siguiendo la metodología arriba descrita y cada meristemo fue colocado en el medio de cultivo, conteniendo diferentes concentraciones de 6-bencilaminopurina (BAP). Los medios de cultivo fueron servidos en frascos de vidrio, a razón de 10 mL por frasco.

Todos los explantes fueron incubados a 25 °C, en oscuridad los primeros siete días y posteriormente bajo un fotoperiodo de 16 horas de luz y ocho horas de oscuridad.

6.10. VARIABLES DE RESPUESTA

Plantas regeneradas: a los 45 días de su siembra se contabilizaron los meristemas regenerados. Se aplicó la siguiente fórmula para conocer el % de regeneración:

$$\% \text{ de regeneración} = \frac{\text{número de meristemas regenerados}}{\text{número de meristemas sembrados}} \times 100$$

Altura de plantas: se realizaron mediciones con una regla graduada en mm, a partir de los 45 días después de siembra.

Diámetro de las plantas: se realizaron mediciones con un vernier de laboratorio, a partir de los 45 días después de siembra, para establecer el grosor de las plántulas en cada tratamiento.

Período de regeneración de las plantas: se hicieron observaciones continuas para cuantificar los días necesarios para que se diera la regeneración del tejido de los explantes en cada uno de los tratamientos.

6.11. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

6.11.1 Análisis estadístico

Las variables de respuesta fueron sometidas a análisis de varianza. Cuando se dieron diferencias significativas entre tratamientos, se procedió a realizar una pruebas de separación de medias, utilizando, para el efecto, la prueba de Tukey (alfa = 0.05). Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico SAS, versión 6.12.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. PLÁNTULAS REGENERADAS

En el cuadro 3 se presentan los resultados del análisis de varianza practicado a los datos correspondientes a las plántulas regeneradas, expresado como porcentaje de regeneración.

Cuadro 3. Análisis de varianza para la variable de respuesta plántulas regeneradas (%), en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemos de caña de azúcar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor "F"	Probabilidad *
Bloques	4	60.0536	15.0134	0.25	0.9039 NS
Tratamientos	4	438.8976	109.7244	1.84	0.1696 NS
Error	16	951.5784	59.47365		
Total	24	1450.5296			

C.V. = 12.4%; NS = diferencia no significativa.

Los resultados indican que las concentraciones evaluadas de los reguladores de crecimiento, no tuvieron efecto significativo sobre el porcentaje de regeneración de plántulas, es decir, el comportamiento de esta variable fue independiente de la concentración de reguladores de crecimiento aplicada. El valor del coeficiente de variación (menor del 20%) indica que existe poca variabilidad dentro de tratamientos.

7.2. NÚMERO DE BROTES

El análisis de varianza correspondiente al número de brotes de caña de azúcar generados en la evaluación de las cinco concentraciones de reguladores de crecimiento evaluadas, se presenta en el cuadro 4.

Los resultados del ANDEVA indican que en el experimento se manifestó diferencia estadísticamente significativa para la fuente de variación bloques (repeticiones); así mismo, diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos evaluados. De lo anterior se deduce que las concentraciones de BAP afectaron de forma distinta el número de brotes que manifestó cada uno de los tratamientos, es

decir, al menos una concentración provocó un mayor número de brotes. El coeficiente de variación indica que existe poca variabilidad dentro de tratamientos.

Cuadro 4. Análisis de varianza para la variable de respuesta número de brotes, en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemos de caña de azúcar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor "F"	Probabilidad *
Bloques	4	1.246704	0.311676	3.68	0.0261 *
Tratamientos	4	3.232504	0.808126	9.55	0.0004 **
Error	16	1.354616	0.084664		
Total	24	5.833824			

C.V. = 15.7%; * = Diferencia significativa; ** = diferencia altamente significativa

Con base en los resultados anteriores, se procedió a realizar la respectiva prueba de separación de medias para los tratamientos. Los resultados se muestran en el cuadro 5.

Cuadro 5. Prueba de separación de medias Tukey para la variable de respuesta número de brotes, en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemos de caña de azúcar.

Tratamiento	Número de Brotes	Tukey (5%) *
4	2.384	A
3	2.096	A
2	1.762	B
1	1.706	B
5	1.328	B

* = Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes

Los resultados indican que se forman dos grupos estadísticos. En el primero de ellos se ubicaron los tratamientos 4 (0.005 mg/L de BAP) y 3 (0.05 mg/L de BAP). Los tratamientos mencionados superaron al tratamiento 5, que no implicó la adición de reguladores de crecimiento (BAP y GA₃); así como aquellos en que la concentración de BAP fue de 0.1 mg/L y de 0.01 mg/L. El comportamiento anterior es congruente con lo discutido por diversos autores, en cuanto a que el efecto de las hormonas es distinto (estimulo hasta inhibición), de acuerdo a las concentraciones aplicadas de las mismas.

7.3. ALTURA DE PLÁNTULAS

Los datos correspondientes a la medición de la altura de las plántulas, fueron trabajados en un análisis de varianza, cuyos resultados se presentan en el cuadro 6.

Cuadro 6. Análisis de varianza para la variable de respuesta altura de plántulas, en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemos de caña de azúcar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor "F"	Probabilidad
Bloques	4	0.825216	0.206304	1.26	0.3276 NS
Tratamientos	4	7.085936	1.771484	10.79	0.0002 **
Error	16	2.627904	0.164244		
Total	24	10.539056			

C.V. = 8.4%; NS = diferencia no significativa; ** = diferencia altamente significativa (<0.01).

Los resultados indican que no se manifestaron diferencias estadísticas entre los bloques (repeticiones), pero sí diferencias altamente significativas entre los tratamientos evaluados. El coeficiente de variación bajo indica que esta hubo poca variabilidad dentro de tratamientos.

Por el comportamiento anterior, fue necesario realizar la prueba de medias para los tratamientos evaluados, los resultados se presentan en el cuadro 7.

Cuadro 7. Prueba de separación de medias Tukey para la variable de respuesta altura de plántulas, en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemos de caña de azúcar.

Tratamiento	Altura de Plántulas (cm)	Tukey (5%) *
4	5.51	A
3	5.35	A
5	4.66	B
2	4.32	B
1	4.20	B

* = medias con distinta letra son estadísticamente diferentes.

De acuerdo con los resultados mostrados en el cuadro siete, se formaron dos grupos estadísticos de tratamientos. En el primero de ellos se ubicaron los tratamientos 4 (0.005 mg/L de BAP) y 3 (0.05 mg/L de BAP), éstos superaron en promedio 1.04 cm al promedio de los tratamientos del segundo grupo.

7.4. DIÁMETRO DE PLÁNTULAS

Los resultados del análisis de varianza para la variable de respuesta diámetro de plántulas (cm) se presentan en el cuadro 8.

Cuadro 8. Análisis de varianza para la variable de respuesta diámetro de plántulas (cm), en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemos de caña de azúcar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor "F"	Probabilidad
Bloques	4	0.003936	0.000984	0.73	0.5874 NS
Tratamientos	4	0.016216	0.004054	2.99	0.0509 NS
Error	16	0.021704	0.001356		
Total	24	0.041856			

C.V. = 7.9%; NS = diferencia no significativa.

Se deduce que el diámetro de las plántulas no fue afectado significativamente por los tratamientos evaluados; es decir, las concentraciones de hormonas evaluadas no estimularon ni afectaron a esta variable.

7.5. PERÍODO DE REGENERACIÓN DE LAS PLÁNTULAS

El análisis de varianza correspondiente a los registros del período de regeneración de las plántulas (días a regeneración), se muestra en el cuadro 9.

Cuadro 9. Análisis de varianza para la variable de respuesta período de regeneración (días a regeneración), en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemos de caña de azúcar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor "F"	Probabilidad
Bloques	4	2.903416	0.725854	1.82	0.1738 NS
Tratamientos	4	19.987256	4.996814	12.55	0.0001 **
Error	16	6.371984	0.398249		
Total	24	29.262656			

C.V. = 1.6%; NS = diferencia no significativa; ** = diferencia altamente significativa.

De acuerdo con los resultados, los tratamientos evaluados influyeron en forma distinta en cuanto a los días a regeneración de la caña de azúcar. El valor del coeficiente de variación indica que esta variable tuvo poca variabilidad dentro de tratamientos.

Con base en lo anterior, se procedió a realizar la respectiva prueba de medias para los tratamientos evaluados. Los resultados de la misma se muestran en el cuadro 10.

Cuadro 10. Prueba de separación de medias Tukey para la variable de respuesta período de regeneración (días a regeneración), en la evaluación de cinco concentraciones de BAP en el establecimiento de meristemos de caña de azúcar.

Tratamiento	Días a Regeneración	Tukey (5%) *
5	40.4	A
4	39.9	A
3	39.6	A
2	38.5	B
1	38.0	B

* = Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes

Los resultados del cuadro 10 muestran que se formaron dos grupos estadísticos de tratamientos. En el primero de ellos se ubicaron los tratamientos 5 (0.000 mg/L de BAP), 4 (0.005 mg/L de BAP) y 3 (0.05 mg/L BAP). Estos superaron en promedio 1.7 días al promedio del segundo grupo, conformado por los tratamientos 2 (0.01 mg/L de BAP) y 1 (0.1 mg/L de BAP).

VIII. CONCLUSIONES

- Las concentraciones de bencilaminopurina (BAP) no afectaron significativamente el porcentaje de plantas regeneradas, ni el diámetro de las mismas.
- Las concentraciones de BAP afectaron diferencialmente la altura de las plántulas. La misma fue mayor en los tratamientos 4 (0.005 mg/L de BAP) y 3 (0.05 mg/L de BAP).
- El período de regeneración fue afectado por las concentraciones de BAP evaluadas. El mismo fue mayor en el tratamiento testigo (0.000 mg/L de BAP), en los tratamientos 4 (0.005 mg/L de BAP) y 3 (0.05 mg/L de BAP), los cuales, en promedio, necesitaron 40.0 días, en comparación con 38.3 días promedio de los tratamientos 2 (0.01 mg/L de) y 1 (0.1 mg/L de BAP).
- El número de brotes fue dependiente de las concentraciones de reguladores de crecimiento. El mismo fue mayor en los tratamientos 4 (0.005 mg/L de BAP) y 3 (0.05 mg/L de BAP).

IX. RECOMENDACIONES

- Evaluar en campo el comportamiento de las plántulas provenientes de los tratamientos 4 (MS + 0.005 mg/L BAP + 0.1 mg/L GA₃) y 3 (MS + 0.05 mg/L BAP + 0.1 mg/L GA₃).
- Evaluar otras concentraciones de GA3 en los medios de cultivo.
- Evaluar los tratamientos en otras variedades de caña actualmente utilizadas por la agroindustria azucarera.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASAZGUA (Asociación de Azucareros de Guatemala). (2009). Boletín Tecnología de caña de azúcar. p. 28-46.
- Bidwell, R.G.S. (1983). Fisiología vegetal. 29 ed. AGT editor, México. p. 134-210.
- CENGICAÑA (Centro de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar). (2010) Estudio semidetallado de usos de la zona cañera del sur de Guatemala. Guatemala. p. 110-242.
- Cortéz, D. (1985). Técnicas de propagación en agricultura. México. p. 128-175
- Cruz Sic (2007), Evaluación de la 6-bencilaminopurina en el nivel más adecuado para inducir la mayor proliferación de brotes en la fase de multiplicación. Universidad San Carlos de Guatemala.
- Estévez, A. (1986). Morfología de la caña de azúcar. *In* Congreso del cultivo de la caña de azúcar (1986, Cali, Colombia). Ed. por Carlos Buenaventura. Memoria. Cali, Colombia, Centro de Investigaciones de la Caña de Azúcar. p. 21-303.
- López, W. (2010). Evaluación del ácido indol-3-butírico para la inducción y desarrollo del sistema radicular en el cultivo de caña de azúcar. Universidad San Carlos de Guatemala.
- Luca d'Oro, G.M.; Trippi, V.S. (1982). *Phyton technology*. p. 83-92.
- Murashige, T.; Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiol*, p. 173-197.
- Ramírez, H. (1981). Up Grade News. p. 205-214.
- Rojas, M; Rovalomerino, M. (1979.) Fisiología vegetal. (2 ed.) Monterrey, México, McGraw-Hill. 230 p.
- Skene, K.G.M. (1968). *Science*. p. 159-165.
- Smith, E.W. (1978). *Weed Science*. p. 349-351.
- Tizio, R.M. (1980). Fisiología Vegetal. (edit. E.M. Sivori). Hemisferio sur, Buenos Aires.
- Van Overbeek, J. (1968). The control of plant growth in agriculture. Ed. Freeman, San Francisco.
- Vásquez, A. (1982). *Phyton*. Argentina. p. 171-174.
- Zurfluh, L.L. (1982). *Plant physiology*. p. 335-337.

X. ANEXO



Figura 3. Desinfección en baño de María.



Figura 4. Soluciones madre.



Figura 5. Disección de meristemas.



Figura 6. Fase de establecimiento.



Figura 7. Medición de plántula regenerada.

Cuadro 11. Datos obtenidos.

Tratamiento	Bloque	Regeneración (%)	Altura de planta (cm) a los 45 días	Diámetro de planta (cm) a los 45 días	Días a regeneración	Número de Brotes
1	1	68	4.1	0.5	38.0	1.9
1	2	76	4.3	0.5	37.4	1.7
1	3	48	4.2	0.4	38.4	1.3
1	4	64	3.9	0.4	38.0	2.8
1	5	72	4.4	0.4	38.2	1.6
2	1	84	4.6	0.4	37.1	2.0
2	2	92	4.5	0.4	38.8	1.4
2	3	88	3.9	0.4	38.8	1.6
2	4	84	4.2	0.4	38.7	1.8
2	5	72	4.2	0.4	38.7	2.0
3	1	68	5.5	0.5	38.8	2.5
3	2	76	5.4	0.4	38.5	1.5
3	3	84	5.2	0.4	40.8	2.2
3	4	76	4.9	0.5	40.4	2.2
3	5	92	5.6	0.4	39.0	1.8
4	1	96	5.5	0.4	40.2	2.9
4	2	60	6.5	0.5	39.7	1.8
4	3	80	5.1	0.3	40.0	1.4
4	4	76	4.5	0.4	40.3	2.9
4	5	68	5.7	0.4	38.9	2.3
5	1	84	4.4	0.4	39.6	1.0
5	2	72	4.2	0.4	41.0	1.0
5	3	80	5.3	0.4	40.5	1.4
5	4	76	4.6	0.5	40.4	1.3
5	5	88	4.6	0.5	40.5	1.3