

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

EVALUACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA LA PROPAGACIÓN *IN-VITRO*  
DE BAMBÚ (*Guadua angustifolia*; Poaceae); LA DEMOCRACIA, ESCUINTLA  
TESIS DE GRADO

**DILIA ALBERTINA SARAHÍ GALINDO GUZMÁN**  
CARNET 20292-07

ESCUINTLA, SEPTIEMBRE DE 2015  
SEDE REGIONAL DE ESCUINTLA

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

EVALUACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA LA PROPAGACIÓN *IN-VITRO*  
DE BAMBÚ (*Guadua angustifolia*; Poaceae); LA DEMOCRACIA, ESCUINTLA  
TESIS DE GRADO

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

POR  
**DILIA ALBERTINA SARAHÍ GALINDO GUZMÁN**

PREVIO A CONFERÍRSELE  
EL TÍTULO DE INGENIERA AGRÓNOMA CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES EN EL GRADO  
ACADÉMICO DE LICENCIADA

ESCUINTLA, SEPTIEMBRE 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 PROYECCIÓN:	ING. JOSÉ JUVENTINO GÁLVEZ RUANO
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. HÉCTOR ALFREDO SAGASTUME MENA

ING. CLAUDIA JOHANA MARTÍNEZ ORTIZ

Guatemala 22 de Septiembre de 2015

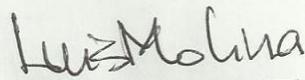
Consejo de Facultad  
Ciencias Ambientales y Agrícolas  
Universidad Rafael Landívar  
Guatemala

Honorables miembros del Consejo:

Por este medio hago constar que he asesorado el trabajo de graduación de la estudiante Dilia A. Sarahí Galindo Guzmán, carné 20292-07, titulada: **“Efecto de cuatro medios de cultivo sobre la propagación *in vitro* del cultivo de bambú (*Guadua angustifolia*; Poaceae), Finca San Patricio, La Democracia, Escuintla.**

El cual considero que cumple con los requisitos establecidos por facultad, previo a su autorización de impresión.

Atentamente,



Vo. Bo. Ing. Agr. Luis Molina

Código URL 10869

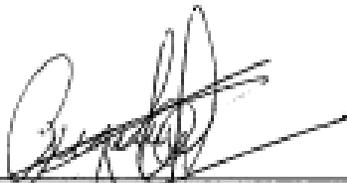
**Orden de Impresión**

De acuerdo a la aprobación de la Evaluación del Trabajo de Graduación en la variante Tesis de Grado de la estudiante DILIA ALBERTINA SARAHÍ GALINDO GUZMÁN, Carnet 20292-07 en la carrera LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES, de la Sede de Escuintla, que consta en el Acta No. 0693-2015 de fecha 29 de agosto de 2015, se autoriza la impresión digital del trabajo titulado:

**EVALUACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA LA PROPAGACIÓN *IN-VITRO*  
DE BAMBÚ (*Guadua angustifolia*; Poaceae); LA DEMOCRACIA, ESCUINTLA**

Previo a conferírsele el título de INGENIERA AGRÓNOMA CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES en el grado académico de LICENCIADA.

Dado en la ciudad de Guatemala de la Asunción, a los 10 días del mes de septiembre del año 2015.



---

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



## AGRADECIMIENTOS

**A:**

**Dios:** Que ha sido la fuente de la sabiduría, quién me ha dado y permitido todo lo que tengo y lo que soy. Mil palabras no alcanzan para agradecer tantas bendiciones, sin embargo quiero plasmar que estaré eternamente agradecida con Él por amarme y permitirme cumplir mis sueños.

**Familia:** Porque sin su apoyo nada de esta meta sería posible. Porque con amor me animaron a continuar por mis sueños.

**Herson Barrera:** Por marcar en mi vida un antes y un después, por ayudarme a crecer como persona y sobre todo por apoyarme. Gracias por aquellas palabras que vibran en mi mente para tomar fuerzas y seguir caminando hacia mis sueños.

**Amigos:** Sucelly Sandoval mil gracias por todo, por estar allí en los momentos cruciales de mi vida. Rayza Puluc ha sido un placer conocerte personal y profesionalmente.

**Universidad Rafael Landívar:** Mil gracias por abrirme sus puertas para formarme profesionalmente y hacer de mí una persona con ética, sueños y perseverancia.

**Ingenio Magdalena:** Por permitirme crecer profesionalmente y darme la oportunidad en todo momento para cumplir mis metas.

**Ing. Adán Rodas:** Mil gracias por su paciencia, su ánimo y apoyo incondicional en este proceso, ha sido un pilar fundamental para esta meta.

**Ing. Luis Molina:** Gracias por sus aportes y ayuda incondicional.

**Ing. Luis Guevara:** Gracias por proporcionarme el tiempo y el espacio necesario para lograr culminar con éxito este proceso.

## DEDICATORIA

**A:**

**Dios:** Quien es y será siempre mi punto de partida, mi principio y mi final, a quien le debo todo lo que soy, por estar conmigo en cada segundo de mi existir, dándome fuerzas, sabiduría, y fe para seguir caminando por la senda de mis sueños.

**Mis Ángeles Terrenales:** Abuela-madre, Raymunda Sicay por ser mi pilar fundamental aquí en la tierra y por amarme a pesar de todo. Abuelo-padre Eduardo Guzmán (Q.E.P.D.) sabe Dios cuán grande es mi deseo de elevar esta dedicatoria hasta el cielo, para dibujar una sonrisa en sus labios y que sepa su misión está cumplida.

**Madre:** Porque desde la distancia has guiado mi vida a través de tus oraciones, que este triunfo sea mérito tuyo por apoyarme y darme fortaleza en mis momentos de debilidad.

**Hermanas y sobrinas:** Marilyn que este pedacito de sueño cumplido sea un aliento para ti y sepas que no importa el tiempo Dios siempre permite que se cumplan nuestros anhelos. Melody y Emely por alegrar mis días con sus travesuras con sabor a cielo. Rosario (Q.E.P.D) que Dios te permita recibir este momento de alegría y que desde allá entonces con tu dulce voz una melodía de gozo por ésta meta que me animaste cada momento a cumplir.

**Padre y Tío:** Guillermo Sicay por apoyarme en todo momento y por creer en mí siempre. Este triunfo es para ti también porque recibí sin titubear tu apoyo incondicional.

**Familia:** Porque ha sido mi apoyo incondicional, por compartir conmigo ese lazo tan perfecto y hermoso que Dios ha creado.

## INDICE GENERAL

II	INTRODUCCIÓN .....	1
III	MARCO TEÓRICO .....	3
3.1	ANTECEDENTES .....	3
3.2	EL BAMBÚ .....	4
3.2.1	Ecología.....	4
3.2.2	Precipitación pluvial .....	5
3.2.3	Temperatura .....	5
3.2.4	Humedad relativa.....	5
3.2.5	Altitud.....	5
3.2.6	Suelos.....	5
3.3	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL BAMBÚ .....	6
3.4	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL BAMBÚ .....	7
3.5	CICLO DE VIDA DEL TALLO DE BAMBÚ .....	8
3.5.1	Brote o renuevo .....	8
3.5.2	Verde o biche.....	8
3.5.3	Maduro .....	9
3.5.4	Sobremaduro .....	9
3.6	<i>Guadua angustifolia</i> Kunth .....	9
3.7	BENEFICIOS DEL USO DE <i>Guadua angustifolia</i> Kunth.....	10
3.8	REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE <i>Guadua angustifolia</i> Kunth..	10
3.9	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA MUNDIAL DE <i>Guadua angustifolia</i> Kunth	10
3.10	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE <i>Guadua angustifolia</i> Kunth EN GUATEMALA.....	11
3.11	PROPAGACIÓN DE <i>Guadua angustifolia</i> Kunth .....	11
3.11.1	Por semilla.....	11
3.11.2	Rizomas con segmento de tallo .....	11
3.11.3	Segmentos de culmo.....	12
3.11.4	In vitro.....	12
3.11.5	Embriogénesis somática .....	13
3.11.6	Micropropagación por yemas axilares y microestacas .....	14
3.12	MEDIOS DE CULTIVO.....	14
3.13	ESTADO DEL MEDIO DE CULTIVO .....	15
3.14	TIPOS DE MEDIOS DE CULTIVO PARA LA PROPAGACIÓN <i>IN VITRO</i>	17
3.14.1	Medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) .....	17
3.14.2	Medio de cultivo B5 o de Gamborg, Miller y Ojeina.....	17
3.14.3	Medio de cultivo WPM (Woody Plant Medium) (Lloyd y McCown, 1980) 17	17
IV	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	18
4.1	DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO .....	18
V	OBJETIVOS .....	19
5.1	OBJETIVO GENERAL .....	19
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19

VI	HIPÓTESIS.....	20
VII	METODOLOGÍA.....	21
7.1	LOCALIZACIÓN DEL ÁREA EXPERIMENTAL.....	21
7.2	MATERIAL EXPERIMENTAL.....	21
7.3	FACTOR ESTUDIADO.....	21
7.4	DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS .....	24
7.5	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	24
7.6	MODELO ESTADÍSTICO ASOCIADO AL DISEÑO .....	24
7.7	UNIDAD EXPERIMENTAL.....	25
7.8	CROQUIS DEL EXPERIMENTO .....	25
7.9	MANEJO DEL EXPERIMENTO .....	25
7.9.1	Etapa de invernadero .....	26
7.9.2	Etapa de laboratorio .....	26
7.10	VARIABLES DE RESPUESTA.....	29
7.11	ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN .....	29
7.11.1	Análisis estadístico .....	29
7.11.2	Análisis económico.....	30
VIII	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	31
8.1	PORCENTAJE DE OXIDACIÓN .....	32
8.2	PORCENTAJE DE BROTAÇÃO .....	33
8.3	NÚMERO DE BROTES POR YEMA.....	34
8.4	ALTURA DE BROTES .....	36
8.5	COSTOS DEL PROCESO DE MICROPROPAGACIÓN DE BAMBÚ .....	37
IX	CONCLUSIONES .....	40
X	RECOMENDACIONES .....	41
XI	ANEXOS .....	42
XII	BIBLIOGRAFÍA.....	45

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Composición de medios de cultivo para células vegetales	15
Cuadro 2. Composición de los medios de cultivo evaluados (g/l)	23
Cuadro 3. Tratamientos evaluados	24
Cuadro 4. Porcentaje de contaminación en protocolo de desinfección	31
Cuadro 5. Análisis de varianza para porcentaje de brotación	34
Cuadro 6. Prueba de Tukey para porcentaje de brotación	34
Cuadro 7. Análisis de varianza para brotes por yema brotada	35
Cuadro 8. Prueba de Tukey para brotes por yema brotada	35
Cuadro 9. Análisis de varianza para altura de brotes	37
Cuadro 10. Prueba de Tukey para altura de brotes	37
Cuadro 11. Costos de producción (Q) por planta de bambú producida en laboratorio y adaptada en invernadero (con base en una producción estimada de 1,000,000 de plantas)	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Distribución de los tratamientos	25
Figura 2. Plantas de bambú en invernadero	26
Figura 3. Esterilización de yemas	27
Figura 4. Preparación de medios de cultivo	27
Figura 5. Corte y siembra de yemas en cámaras de flujo laminar	28
Figura 6. Desarrollo de yemas	28
Figura 7. Porcentaje de oxidación sin ácido cítrico	32
Figura 8. Porcentaje de oxidación con ácido cítrico	33
Figura 9. Total de brotes a los 90 dds	36
Figura 10. Distribución de porcentaje de costos de producción	39

**EFFECTO DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO SOBRE LA  
PROPAGACIÓN *IN VITRO* DEL CULTIVO DE BAMBÚ (*Guadua  
angustifolia*; Poaceae), FINCA SAN PATRICIO, LA DEMOCRACIA,  
ESCUINTLA**

**RESUMEN**

El estudio se realizó en el laboratorio de propagación de plantas del Ingenio Magdalena. El objetivo fue evaluar el efecto de los medios de cultivo MS, ½ MS, B5 y WPM sobre la propagación *in vitro* de plantas de bambú (*Guadua angustifolia* Kunth). Se utilizó un diseño completamente al azar. Las variables evaluadas fueron: oxidación, brotación, número de brotes por yema brotada, altura de brotes, costos del proceso. Se encontró que empleando un antioxidante (ácido cítrico) en el medio de cultivo MS se redujo hasta el 7% de oxidación en las yemas. Se manifestó que el medio B5 es el único incapaz de promover brotación; y no existió diferencia para los otros medios de cultivo. Para el número de brotes por yema brotada el medio que promovió mayor número fue el MS, con 2.6%, seguido del ½ MS que alcanzó el 1.7%, el WPM el 1.3% y el B5 el 0%. En las plantas propagadas la altura de los brotes no presentó diferencia en los cuatro medios, por lo que cualquiera de éstos es capaz de estimular la elongación de plantas, mientras que el medio B5 no tiene influencia positiva en su desarrollo. Según los resultados del análisis de los costos del proceso, el costo total de la producción de una plántula de bambú *in vitro* y establecida en invernadero es US \$ 0.18 ó Q 1.40, mientras que el costo a nivel de vivero es US \$ 0.39 ó Q. 20.00, a esto se suma la calidad que impacta directamente en la planta propagada.

**EFFECT OF FOUR CULTURE MEDIA ON THE *IN VITRO*  
PROPAGATION OF BAMBOO (*Guadua angustifolia*; Poaceae),  
SAN PATRICIO FARM, LA DEMOCRACIA, ESCUINTLA**

**SUMMARY**

The study was carried out in the propagation lab of the Magdalena sugar mill. The objective was to evaluate the effect of the MS, ½ MS, B5, and WPM culture media on the *in vitro* propagation of bamboo (*Guadua angustifolia* Kunth) plants. A complete randomized block design was used, and the evaluated variables were: oxidation, sprouting, number of shoots per bud, sprouts height, and process costs. It was determined that using a oxidation agent (citric acid) in the MS culture media reduced up to 7% the bud oxidation. It was determined that the B5 culture media is the only one that promotes the sprouting; and there is no difference for the other culture media. For the number of shoots per sprouted buds, the MS culture media promoted the highest number, with 2.6%; it was followed by ½ MS culture media, with 1.7%, the WPM with 1.3%, and B5 with 0%. In the propagated plants, the sprout height did not show any difference among the four culture media; thus, any of these can stimulate the plant lengthening, while the B5 culture media does not have a positive influence on development. According to the analysis results regarding the cost of the process, the total cost of the *in vitro* bamboo seedling production and greenhouse cultivation was of US\$0.18, or Q1.40, while the cost at the nursery was of US\$ 0.39, or Q 20.00, adding the quality that directly impacts the propagated plant.

# I INTRODUCCIÓN

El bambú es la especie vegetal de más rápido crecimiento en la naturaleza. Es utilizado para alimento, materia prima para extracción de celulosa, artesanías, medicinas, laminados, refrescos, licores e innumerables usos más. América, desde tiempos precolombinos, ha utilizado el bambú de diferentes formas, y hoy se vislumbra su uso de manera industrializada, para complementar o reemplazar el uso de la madera, cuyas existencias actuales y futuras, son inversamente proporcionales a su demanda, cada día más creciente (Muñoz, 1998).

El comercio de bambú oscila alrededor de 14 billones de dólares anuales en el mundo. Además, casi 1,000 millones de personas viven en casas de bambú. En la India, la moderna industria papelera consume 2.2 millones de toneladas de bambú. En China las exportaciones de bambú alcanzan los 500 millones de dólares. Además, se señala que los ingresos por hectárea en plantaciones industriales de bambú pueden alcanzar los 15 mil dólares anuales (Red Internacional del Bambú y el Ratán –INBAR-, 2007).

Pocas especies maderables se conocen que tengan tantas ventajas como el bambú, el que se llegue a usar correctamente en Guatemala depende de “la voluntad” que se tenga para llegar a esas “posibilidades” y se decida utilizarlas. Existen más de mil especies de bambú, muchas de ellas de origen asiático. Hay una especie nativa de América denominada *Guadua angustifolia* Kunth, que se caracteriza por su alta resistencia y ser apropiada para la construcción; sobresale dentro del género por sus culmos que alcanzan hasta 30 metros de altura y 25 centímetros de diámetro, debido a éstas características se considera una especie muy importante para la explotación a gran escala.

En esto radica la importancia de la expansión de este cultivo de forma acelerada. Se tiene conocimiento que la estrategia reproductiva más utilizada de esta planta

es la vegetativa, especialmente por sus rizomas. Sin embargo, a pesar del alto grado de prendimiento, no es lo más recomendable, debido a que implica la deforestación de un área para la repoblación de otra (Giraldo y Sabogal, 1999).

En esta investigación se generó información para determinar el potencial de propagación de la especie *Guadua angustifolia* Kunth, mediante la técnica de propagación *in vitro*; se utilizaron cuatro medios de cultivo, basados en los requerimientos nutricionales de la especie evaluada, pretendiendo a la vez determinar el medio de cultivo más adecuado para su desarrollo vegetativo en el menor tiempo posible permitiendo la obtención de plántulas de calidad, con características deseables, con respecto a: número de brotes por planta, longitud y diámetro requerido.

## II MARCO TEÓRICO

### 2.1 ANTECEDENTES

El bambú es considerado como el sustituto ideal de la madera, debido a que las ventajas que ofrece su utilización son innumerables, tales como materiales para la construcción de vivienda y decoración. Guatemala es un país con muchos recursos naturales, tanto por su clima como por la calidad de sus suelos, y puede convertirse en un gran productor, consumidor y exportador de bambú (Clark, 1990).

En 1950 se introdujo a Guatemala la planta de bambú, con el fin de desarrollarlo para beneficio de la economía local. En 1984 el INTECAP y la Misión Técnica Agrícola de Taiwán, iniciaron la ejecución conjunta del proyecto de fomento al cultivo y propagación del bambú. En los años siguientes, el programa de cooperación amplió la base de la transferencia tecnológica, lo que permitió la diversificación del uso de la planta (Polanco, 2008).

En el 2004 el ICTA se suma al proyecto, y datos muestran que en ese mismo año se produjeron 12,493 plantas de nueve especies, de las cuales se vendió el 60%. La demanda de las especies *Dendrocalamus asper*, *D. strictus*, *Gigantochloa verticillata*, *Guadua angustifolia*, *Bambusa dolichoclada* fue mayor a la oferta producida y se comprobó que el cultivo constituye una fuente adicional de ingresos para familias campesinas inmersas en la tradición agrícola del país (ICTA, 2006).

El bambú puede diversificarse aún más en la economía guatemalteca. Su importancia debe enfocarse desde varios aspectos, entre ellos, el económico y como fuente de materia prima. La planta es un material innovador, abundante y de bajo costo para suplir la demanda de vivienda en la población, sobre todo del área rural. Asimismo, es materia prima para la construcción, para la fabricación de artesanías y muebles, y su cultivo influye en la conservación de los recursos naturales (ICTA, 2006).

Se han empleado principalmente dos métodos para la multiplicación *in vitro* en bambú, propagación por yemas axilares y microestacas (Ramanayake, 2001) y embriogénesis somática (Lin y Chang, 2004). Las nuevas tecnologías, como es la multiplicación *in vitro*, contempla diferentes técnicas, dentro de las cuales se encuentra la proliferación de brotes axilares (Catasus, 2003).

## **2.2 EL BAMBÚ**

El bambú es un elemento común en el continente americano, ha sido la planta más extensamente utilizada en Asia en el transcurso de los siglos, y actualmente con la ayuda de los avances tecnológicos se han mejorado los usos que se le dan al mismo. Por su alta resistencia a la tensión, disponibilidad, fácil de trabajar, relativo bajo costo y una buena relación entre resistencia y peso; lo hacen apto como sustituto de otros materiales y métodos de construcción. Otros usos similares los comprenden las artesanías y mueblería. Los bambúes son plantas con una gran diversidad morfológica; los hay de pocos centímetros y tallos herbáceos, hasta bambúes de 30 metros de altura y tallos leñosos de 30 cm de diámetro, y son capaces de llegar a la madurez en un año; por lo que se les denomina plantas de rápido crecimiento. Debido a su naturaleza especializada y a su floración infrecuente, se le ha dado mucha importancia a estructuras morfológicas (Widmer, 1990).

### **2.2.1 Ecología**

Las condiciones más favorables para plantaciones de bambú, según Camargo (2004), son:

### **2.2.2 Precipitación pluvial**

Se desarrolla en zonas con precipitación anual de 6,350 mm como máximo y 762 mm como mínimo. La zona óptima para su desarrollo se reporta en un rango de 1,300 a 5,000 mm.

### **2.2.3 Temperatura**

La mayoría de las especies se desarrollan bien en temperaturas que varían 9 °C a 36 °C; aunque se han reportado bambúes creciendo en climas con nieves perpetuas.

### **2.2.4 Humedad relativa**

La mayoría de los bambúes se desarrollan en ambientes con humedad relativa entre 70 y 90 %.

### **2.2.5 Altitud**

Para Latinoamérica se ha reportado crecimiento de especies en la cordillera andina a 4,500 msnm; además crecimiento de algunas especies a la orilla de las playas en el caribe, en la zona asiática se han encontrado bambúes en el Himalaya a 3,500 msnm, y en las playas de Oceanía.

### **2.2.6 Suelos**

Los suelos que más favorecen el desarrollo de la Guadua son los arenos limosos, francos, francos-arenosos, franco - limosos. Los perfiles de suelos ideales son los que presentan texturas gruesas y medias. Suelos pesados o arcillosos no son buenos para el desarrollo de la planta. En suelos ricos en materia orgánica, con buenos drenajes, húmedos pero no inundables. La mayoría de los bambúes se

encuentran en suelos derivados de cenizas volcánicas, con un porcentaje bajo de saturación de bases, pobres en fósforo y medianos en potasio.

### 2.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL BAMBÚ

A pesar de que el bambú ha sido explotado por el hombre de muchas maneras, aún se desconocen muchos de sus aspectos botánicos. La mayoría de las especies en América poseen los tallos lisos y generalmente huecos, con paredes relativamente delgadas y rigidizadas transversalmente por tabiques o nudos. Debido a su floración poco frecuente 30, 60 y hasta más de 100 años, es difícil clasificarlo como las demás plantas basándose en las características de sus flores y frutos. Los bambúes pertenecen al grupo de las angiospermas, clase monocotiledónea, orden poales, familia Poaceae (Gramineae), subfamilia Bambusoideae (McClure, 1966; Calderón y Soderstrom, 1973).

En la subfamilia Bambusoideae existen dos tipos de forma de vida: el tipo bambusoideo herbáceo, poco conocido y más primitivo, y el tipo bambusoideo arborescente, donde se encuentran los representantes de culmos leñosos, o simplemente bambúes. El bambú es el único zacate grande y duro (Carmiol, 1998).

Existe diferentes especies de bambú, con características específicas como el color: verde, amarillo, blanco, rojo púrpura y negro. En cuanto a la forma de sus tallos, los hay cilíndricos y con entrenudos aplanados. Los tallos también difieren según la especie, en altura, diámetro y forma de crecimiento; el grueso de la pared o las dimensiones del diámetro pueden variar de una especie a otra, desde unos cuantos milímetros hasta aproximadamente 30 cm. En relación con la altura, sobresalen dos especies, *Guadua angustifolia* y *Dendrocalamus asper* (Carmiol, 1998).

## 2.4 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL BAMBÚ

Según Londoño (1998), el bambú está conformado por:

**El rizoma:** de tipo paquimorfo, con nudos y entrenudos, asegura su estabilidad bajo la superficie de la tierra de donde se desprenden las raíces y raicillas, es el elemento apto para la propagación asexual.

**Las raíces:** alcanzan un grosor de cinco mm, y profundidades hasta 1.50 metros, parte de ellas se profundizan y otras crecen en forma horizontal.

**El tallo:** de forma cilíndrica y cónica, con entrenudos huecos y nudos esparcidos que garantizan mayor rigidez y flexibilidad; formado por fibras longitudinales que de acuerdo a su edad (brote, verde, maduro) se lignifican proporcionando una extraordinaria resistencia en la parte maderable.

**Las ramas:** son macizas y crecen casi solitarias, en algunos casos se atrofian y son reemplazadas por unas espinas de 10 o 15 centímetros.

**Las hojas:** color verde, de formas lanceoladas y lisas. Aportan, a su vez, la denominada biomasa (en un año cuatro kilogramos por metro cuadrado). Tienen otro tipo de hojas denominadas caulinares; que son las que cubren el tallo desde su nacimiento, hasta su madurez, de color café, provistas de pelusillas como sistema de defensa.

**La semilla:** se asemeja a un grano de arroz, de color blanco muy claro en su interior y un café muy claro en su exterior, aproximadamente de 5 a 8 milímetros de largo y tres milímetros de espesor.

**Las flores:** muy diminutas, se asemejan a una orquídea de color violáceo o rosáceo, de vida muy corta, dura aproximadamente 48 horas, ubicada en las

partes terminales de las ramas superiores y en el primer tercio de la espiga, se considera imperfecta por tener las dos partes reproductoras en el mismo culmo. Según estudios apuntan a decir que su floración se da cada 120 años.

**El culmo:** brota del suelo con el diámetro máximo y final que tendrá hasta su madurez, desarrolla su longitud completa durante el período invernal, luego brotan las ramas y las hojas en un tiempo de hasta seis años, llamado período de maduración o sazonomiento, en el que adquiere las características físico mecánicas de la madera sólida.

## **2.5 CICLO DE VIDA DEL TALLO DE BAMBÚ**

Se estima que el ciclo de vida del tallo es de cuatro a siete años, dependiendo de las condiciones del ciclo y del manejo (Thomas, Michael, Barbour y Ralph, 1992):

### **2.5.1 Brote o renuevo**

El tiempo estimado desde que emerge hasta que alcanza su altura máxima es de seis meses. Al cabo de este tiempo, empieza a botar sus hojas caulinares para darle paso a las ramas apicales y así iniciar otro estado de desarrollo.

### **2.5.2 Verde o biche**

Esta fase tiene una duración de un año a un año y medio, se caracteriza por el color verde intenso, inicialmente posee ramas, conserva algunas hojas caulinares en su parte inferior y se aprecian claramente las bandas nodales. Cuando el tallo se torna verde claro y empieza a presentar manchas blancuzcas en su corteza está iniciando su maduración.

### **2.5.3 Maduro**

Esta es la fase de mayor duración (entre 2 y 4 años), presenta manchas en forma de plaquetas que corresponden a hongos, se inicia la formación de líquenes en los nudos. La sabiduría popular ha establecido que la madurez genera un sonido fino en el tallo cuando se golpea

### **2.5.4 Sobremaduro**

Se aprecia cuando los tallos están cubiertos de hongos y líquenes en su totalidad, se presentan algunos musgos en los nudos de aspecto gris, blanquizco, próximo a secarse, se estima que esta fase dura aproximadamente un año.

## **2.6 Guadua angustifolia Kunth**

Es una planta perenne, se encuentra entre los siete géneros de bambú leñosos registrados y económicamente más importante de América; donde se encuentra ocupando áreas aledañas a ríos y quebradas, en los valles y entre montañas formando las asociaciones llamadas guaduales. Incluida en las gramíneas más grandes del mundo, por lo tanto es familia de la caña de azúcar, trigo, arroz, que forman parte de nuestro vivir diario (Villegas, 2008).

En el mundo existen alrededor de 1,300 especies de bambú leñoso y herbáceo. Este género, reúne aproximadamente 30 especies, se puede distinguir de los demás por los tallos robustos y espinosos, por las bandas de pelos blancos en la región del nudo y por las hojas caulinares en forma triangular. La especie *Guadua angustifolia* sobresale dentro del género por sus culmos que alcanzan hasta 30 metros de altura y 25 centímetros de diámetro. En 1820 el botánico Kunth, constituye este género, utilizando el vocablo “guadúa”, con el que los indígenas de Colombia y Ecuador se referían a este bambú (Villegas, 2008).

## **2.7 BENEFICIOS DEL USO DE *Guadua angustifolia* Kunth**

Es una especie forestal que permite la regulación de agua. Sus rizomas y sistema radicular protegen de la erosión los terrenos de laderas y márgenes de fuentes y corrientes de agua, además de tener grandes valores ecológicos; purifica el ambiente y armoniza el paisaje. Se puede establecer como cualquier cultivo rentable; su crecimiento es rápido y se requieren cuidados mínimos y de fácil manejo. Grandes cualidades físicas, longitud, resistencia, flexibilidad y belleza le proporcionan gran versatilidad en actividades de construcción y artesanías (Morán, 2002).

## **2.8 REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE *Guadua angustifolia* Kunth**

De los tres principales componentes nutricionales, el nitrógeno es más importante que el fósforo o potasio. El nitrógeno es necesario por el bambú para el crecimiento de los tallos, ramas, hojas y rizomas. El potasio es necesario para el crecimiento de la raíz. El fósforo es muy utilizado por las plantas para la producción de flores, pero esto es de poca importancia al bambú como la mayoría de flores con muy poca frecuencia (Giraldo y Sabogal, 1999).

## **2.9 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA MUNDIAL DE *Guadua angustifolia* Kunth**

La especie *Guadua angustifolia* es endémica de América y se considera como nativa de Colombia, Venezuela y Ecuador. Los bambúes prefieren los hábitats húmedos de las selvas nubladas y selvas bajas tropicales, aunque algunos crecen en hábitats secos. En América existen 41 géneros y 451 especies, casi la mitad de la diversidad mundial, los cuales se distribuyen desde los Estados Unidos, a lo largo y ancho de Centro y Suramérica, en las Islas del Caribe, hasta el sur de Chile. También ha sido introducida a México y varios países centroamericanos, Isla del Caribe, Hawái y Asia (Soderstrom y Londoño, 1988).

## **2.10 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE *Guadua angustifolia* Kunth EN GUATEMALA**

Existen plantaciones ubicadas en fincas de la costa sur, específicamente en Mazatenango, Escuintla, Santa Lucía Cotzumalguapa, Huehuetenango, Retalhuleu, Suchitepéquez y también en el departamento de Petén (Polanco, 2008).

## **2.11 PROPAGACIÓN DE *Guadua angustifolia* Kunth**

La reproducción sexual presenta grandes dificultades logísticas para proyectos exitosos. La estrategia reproductiva más importante de esta planta es la vegetativa.

### **2.11.1 Por semilla**

La posibilidad de propagar bambúes por semilla no es un método práctico debido a los largos ciclos de semillación de los bambúes y a la dificultad de obtener semillas en algunos de ellos. En Asia el porcentaje de germinación de las semillas de varias especies fluctúa entre 26-52%; en América las semillas de algunas especies como *Guadua angustifolia* presentan porcentajes altos de germinación, 95-100%, sin embargo, la probabilidad de que esta especie produzca semillas es escasa, ya que un alto porcentaje de los flósculos de la espiguilla son parasitados en estado inmaduro por larvas de insectos, principalmente de los órdenes Díptera e Hymenoptera (Uchimura, 1980).

### **2.11.2 Rizomas con segmento de tallo**

Se considera como el mejor método de propagación; sin embargo, no se recomienda en muchos países para plantaciones a gran escala, por lo pesado y difícil del transporte. La actividad de brotes se da generalmente después del año

de sembrado y a pesar del alto grado de prendimiento no es lo más recomendable, debido a que implica la deforestación de un área para la repoblación de otra (Vongvijitra, 1988; Kamondo y Haq, 1988).

### **2.11.3 Segmentos de culmo**

Este método es efectivo para propagar bambúes de gran tamaño (8-12 cm diámetro) y pared gruesa, tales como *Bambusa vulgaris*, *B. blumeana*, *Dendrocalamus asper*, y *D. latiflorus*. Experimentos en India han indicado que este método provee solución al problema de escasez y peso del material a plantar, pero el éxito en la germinación ha sido limitado. Se observa que se deben utilizar culmos de un año de edad, y segmentos de culmo con uno o dos nudos por segmento; la siembra es mejor horizontal que vertical u oblicua, y se deben enterrar a 20 cm de profundidad, regando dos veces al día. Los nuevos brotes se pueden empezar a observar entre la segunda y cuarta semana. La aplicación de fungicidas e insecticidas se realiza entre los seis y doce meses después de transplantados. Este método no es ventajoso por su costo y por la limitación de usar culmos de un año, los cuales pueden ser usados para otros propósitos (Giraldo y Sabogal, 1999).

### **2.11.4 In vitro**

Este sistema de propagación se realiza en el laboratorio, bajo condiciones asépticas y mediante el uso de embriones de semilla o yemas axilares colocadas en un medio de cultivo complementado con fitohormonas y vitaminas. Presenta ventaja sobre los demás sistemas debido a: a) la múltiple obtención de material que se consigue a partir de una yema meristemática, ya que la multiplicación es logarítmica; b) se facilita el intercambio de germoplasma a nivel internacional por el tamaño de la muestra, y por que se minimiza la contaminación microbiológica; c) la propagación "*in vitro*" de materiales provenientes de semilla, evita la homogeneidad en las plantaciones comerciales futuras, ya que la propagación

masiva vegetativa conduce al degeneramiento genético del cultivo (Saxena, 1990).

Se han empleado principalmente dos métodos para la multiplicación *in vitro* del bambú: embriogénesis somática (Lin y Chan, 2004) y propagación por yemas axilares y microestacas (Ramanayake, 2001). Con las microestacas se puede tener una tasa de multiplicación muy alta que permita solucionar la carencia de material para producción en gran escala. La mayoría de las publicaciones relacionadas con multiplicación a gran escala de bambú se han efectuado con especies asiáticas.

En las especies *Guadua* sólo se conocen dos trabajos: Maruland, Carvajalino, Vargas, y Londoño (2002), citados por Jiménez, Castillo, Tavares, Guevara y Montiel (2004), lograron la regeneración por organogénesis directa de explantes nodales. Sin embargo, aún no existen sistemas de propagación eficientes.

Los principales problemas que se han presentado en la micropropagación, son los derivados de varios factores como: la presencia de contaminantes microbianos endógenos; la necrosis apical; la hiperhidracidad; la oxidación fenólica; la disponibilidad y respuesta estacional de los explantes, y la supervivencia *ex vitro*. Además, la edad y estado de desarrollo de la planta madre, representan aún hoy significativas limitaciones para la multiplicación masiva (Pérez, 1998).

#### **2.11.5 Embriogénesis somática**

Este método es ampliamente utilizado como el más eficiente para la producción masiva de plantas *in vitro*, debido a la naturaleza bipolar del embrión y la facilidad con que puede ser automatizado todo el proceso productivo, los altos coeficientes de multiplicación en cortos períodos de tiempo y la posibilidad de encapsular estas estructuras y obtener semillas artificiales (Redenbaugh, Paasch, Nichol, Kossler, Viss y Walker, 1986).

Sus desventajas radican en el desconocimiento que existe sobre la biología del proceso, siendo limitado el número de especies en los cuales se reporta una embriogénesis somática eficiente que permite un uso adecuado del método (Pérez, 1998).

#### **2.11.6 Micropropagación por yemas axilares y microestacas**

Técnica utilizada para la propagación masiva de plántulas a partir de fragmentos de tejidos, pequeñas estacas en un rango de 1-2 cm o más, para el cultivo aséptico y el saneamiento. Este método permite la multiplicación de plántulas diferenciadas e idénticas a partir de una planta madre, garantizando la conservación de las características que posea (Hernández, 1997).

### **2.12 MEDIOS DE CULTIVO**

El medio de White, fue el más utilizado en los primeros tiempos de la micropropagación, muchas mejoras han sido hechas desde entonces, siendo las más notables el mejoramiento en los niveles de N, P y K, la reducción del nivel de Ca y la prevención de la precipitación del Fe a pH altos (Orellana, 1994).

En la actualidad la mayor parte de publicaciones reportan el medio Murashige y Skoog (1962), más conocido como medio MS como medio basal, suplementado con dosis variables de citoquininas; combinadas, en algunos casos con auxinas. Aunque una pequeña cantidad de citoquinina 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 incluyen como suplemento alguna citoquinina (Hu y Wang, 1983). 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*.

En el Cuadro 1 se describe la composición de medios de cultivo para células vegetales de acuerdo a Echenique, Rubinstein y Mroginski (2004).

**Cuadro 1. Composición de medios de cultivo para células vegetales**

<b>Componentes</b>	<b>Características y ejemplos</b>
Agua destilada	Representa el 95% del medio nutriente.
Fuente de carbono	Generalmente se usa sacarosa. La fuente de carbono se necesita porque los explantes no son completamente autótrofos, y no pueden cubrir sus necesidades con la fotosíntesis que pueden realizar <i>in vitro</i> .
Sustancias inorgánicas	Macroelementos (N, P, K, Ca, Mg, S) y microelementos (Fe, Co, Zn, Ni, B, Al, Mn, Mo, Cu, I), en una proporción adecuada para la planta elegida.
Vitaminas	Vitaminas B1, B2, B6, vitamina H, vitamina E, ácido fólico, ácido nicotínico, entre otras.
Hormonas y reguladores del crecimiento	Auxinas: promueven la elongación celular, la formación de callos y raíces adventicias, inhiben la formación de brotes axilares adventicios y, a veces, inhiben la embriogénesis.  Citoquininas: promueven la división celular, regulan el crecimiento y el desarrollo de los tejidos vegetales  Otras: giberelinas, ácido abscísico, etileno.
Mezclas de sustancias poco definidas	Ejemplos: extracto de levadura, extractos vegetales.
Materiales inertes	Usados como soporte. Incluyen agar, azarosa, otros polisacáridos, lana de vidrio, papel de filtro, arena.

Fuente: Echenique, Rubinstein y Mroginski, (2004)

### **2.13 ESTADO DEL MEDIO DE CULTIVO**

Los medios de cultivo para la propagación de plantas, en su gran mayoría, son utilizados en estado semisólido, lo cual se logra con el empleo de distintos agentes gelificantes como el agar, gelrite o phytigel. Existen diferencias en el crecimiento y multiplicación de los explantes en dependencia del tipo de agente gelificante que se utilice. La utilización de medios semisólidos tiene una serie de inconvenientes

como son lo engorroso del proceso de preparación, dosificación y manipulación, así como el aumento de los costos por unidad, que puede oscilar entre 70% y 90% del costo del medio de cultivo. Además, algunos cultivos responden negativamente a la adición de gelificantes. Es por esto que en muchos casos se ha recurrido al empleo de medios de cultivo en estado líquido (Epp, 1987).

Los medios de cultivo líquidos tienen las siguientes ventajas (Epp, 1987):

- Mayor facilidad en la preparación, esterilización y manipulación.
- Más rapidez en la absorción de nutrientes y la difusión de sustancias tóxicas producidas por el propio metabolismo de las plantas.
- Incremento en el número de plantas que se obtienen, ya que se ha observado una disminución en el tiempo entre subcultivos, lo cual permite producir una mayor cantidad de brotes por unidad de tiempo y disminución en los plazos de propagación.
- Aumento de la productividad de los operarios de cabina de flujo laminar, debido a que los explantes solo deben ser colocados en contacto con el medio, sin necesidad de manipularlos de forma individual.
- Disminución en los costos del medio de cultivo.
- El cambio en la composición del medio de cultivo puede efectuarse por simple transferencia.
- Facilidad de automatización.

Sin embargo, el medio líquido tiene la limitante de que no todas las especies responden igual al crecimiento en éste.

## **2.14 TIPOS DE MEDIOS DE CULTIVO PARA LA PROPAGACIÓN *IN VITRO***

### **2.14.1 Medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962)**

Este medio de cultivo es muy usado, particularmente si el objetivo es regenerar plantas; existen numerosas variaciones comerciales de este medio.

### **2.14.2 Medio de cultivo B5 o de Gamborg, Miller y Ojeina**

Este medio de cultivo, o sus varios derivados, ha sido de un gran valor en el cultivo de células y protoplastos, y también es utilizado eficazmente en regeneración de plantas. La diferencia principal entre los medios MS y B5 es la menor concentración de nitratos en B5.

### **2.14.3 Medio de cultivo WPM (Woody Plant Medium) (Lloyd y McCown, 1980)**

Es un medio de baja concentración de sales, especialmente indicado para especies leñosas.

La composición detallada de los medios de cultivo se presenta en el cuadro 2 Composición de los medios de cultivo evaluados (g/l); página 23.

### III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 3.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

Para la especie de bambú *Guadua angustifolia* Kunth existe gran demanda, tanto en el mercado nacional como en el mercado internacional, debido a los numerosos usos que se le puede dar por las cualidades que le caracterizan. Sin embargo, esa demanda es difícil de cubrir debido a que las técnicas tradicionales de propagación no permiten la multiplicación en corto tiempo. La propagación convencional de bambú se hace por medio de semillas, secciones de culmos o de rizomas, las cuales generan varias desventajas, se pueden citar; una floración impredecible o muy espaciada en el tiempo y la baja eficiencia en el número limitado de propágulos y baja tasa de multiplicación. En especies americanas, como *Guadua angustifolia*, aún no se han definido sistemas de propagación eficientes.

En Guatemala, posiblemente por el desconocimiento de información sobre métodos alternativos para la propagación de la especie, no se ha podido cubrir la demanda existente en el mercado nacional, y menos aún, ampliar los horizontes a mercados internacionales.

Es en esto que radica la importancia para la evaluación de cuatro medios de cultivo para la propagación *in vitro* de la especie *Guadua angustifolia* Kunth, debido a que puede convertirse en una alternativa atractiva para la multiplicación eficiente en este grupo de plantas; pues permitiría generar un gran número de plantas por explante en un corto tiempo; garantizando su homogeneidad, la conservación de sus características genotípicas y fenotípicas, asegurando su pureza varietal, así como también la obtención de plantas libres de virus y enfermedades, con características agronómicas muy deseables, durante todo el año.

## IV OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GENERAL

- Desarrollar una metodología para la propagación *in vitro* de plantas de bambú *Guadua angustifolia* Kunth.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el porcentaje de oxidación que presenten las yemas en cada medio de cultivo.
- Determinar qué medio de cultivo promueve un mayor porcentaje de brotación de yemas.
- Establecer el medio de cultivo capaz de promover el mayor número de brotes posibles por yema.
- Identificar con cual de los cuatro tipos de medios de cultivo se obtiene la mayor altura de brotes.
- Determinar los costos derivados del proceso de micropropagación de bambú.

## V HIPÓTESIS

- Al menos un medio de cultivo disminuye el porcentaje de oxidación de los brotes de bambú *Guadua angustifolia* Kunth.
- Al menos en un medio de cultivo se obtendrá mayor brotación de los explantes.
- Al menos en un medio de cultivo se incrementará el número de brotes por yema.
- Por lo menos uno de los medios de cultivo permitirá un mayor crecimiento de las brotes.

## VI METODOLOGÍA

### 6.1 LOCALIZACIÓN DEL ÁREA EXPERIMENTAL

El experimento se realizó en el laboratorio de reproducción *in vitro* BIOMAG del Ingenio Magdalena S. A., ubicado en el casco de la finca San Patricio, en la zona baja del área cañera del sur de Guatemala, en el municipio de La Democracia, departamento de Escuintla, a una altura promedio de 60 msnm. La precipitación media anual está entre 2,000 a 3,000 mm, la temperatura media anual es de 20 a 25 °C y la humedad relativa media anual es de 60 % a 70 %, la ubicación geográfica de la finca San Patricio coordenadas: 90° 57' 54.11'' Oeste, 14° 7' 39.39'' Norte (Ingenio Magdalena, S. A, datos no publicados).

### 6.2 MATERIAL EXPERIMENTAL

- Yemas de la especie de bambú *Guadua angustifolia*, Kunth: estas yemas fueron previamente desinfectadas y cortadas con, con un tamaño de dos cm cada una.
- Reactivos del laboratorio de reproducción *in vitro*, macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, reguladores de crecimiento, gelificante, azúcar.

### 6.3 FACTOR ESTUDIADO

Medios de cultivo (M1, M2, M3 y M4), los cuales estuvieron compuestos por diferentes concentraciones de sales y reguladores de crecimiento.

**Medio de cultivo M1:** este medio de cultivo está constituido por 1MS, con una adición del regulador de crecimiento 6-BAP, a una concentración de 0.1 mg/l, en estado sólido.

**Medio de cultivo M2:** este medio de cultivo está constituido por  $\frac{1}{2}$  MS, con una adición del regulador de crecimiento 6-BAP a una concentración de 0.1 mg/l, en estado sólido.

**Medio de cultivo M3:** este medio de cultivo es el denominado B5 o de Gamborg, cuya diferencia principal entre los medios M1 y M2 es la menor concentración de nitratos, utilizando la misma concentración del regulador de crecimiento 6-BAP, 0.1mg/l, en estado sólido.

**Medio de cultivo M4:** es un medio de baja concentración de sales denominado WPM, al cual se le agregó el regulador de crecimiento 6-BAP, a una concentración de 0.1 mg/l en estado sólido.

La concentración de 6-BAP fue determinada con base en la experiencia en el desarrollo de otros cultivos bajo esa concentración y consideraciones técnicas de un laboratorio de propagación de bambú en Brasil.

La composición para cada uno de los medios de cultivos evaluados se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Composición de los medios de cultivo evaluados (g/l)

NOMBRE	FÓRMULA	M1 (MS)	M2 (1/2 MS)	M3 (B5)	M4 (WPM)
Nitrato de potasio	KNO <sub>3</sub>	1.9	0.95	2.5	
Nitrato de amonio	NH <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	1.65	0.825		0.4
Fosfato diácido de potasio	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.7	0.85		0.17
Sulfato de magnesio hepta-hidratado	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3.7	1.85	0.122	0.37
Cloruro de calcio di-hidratado	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	4.4	2.2	0.113	0.096
Sulfato ferroso hepta-hidratado	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.0278	0.0139	0.028	0.028
Etileno diamina tetra acético	Na <sub>2</sub> EDTA	0.037	0.01865	0.037	0.037
Sulfato de manganeso	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0.169	0.0845	0.01	0.022
Yoduro de potasio	KI	0.00083	0.0000415	0.001	
Cloruro de cobalto	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.000025	0.000013		
Sulfato de zinc	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.086	0.043	0.002	0.009
Ácido bórico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.062	0.031	0.003	0.006
Molibidato de sodio	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.00025	0.000125		
Sulfato de cobre	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.000025	0.000013		
Thiamine	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>5</sub> .HCl	0.0001	0.00001		
Kinetina	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> N <sub>5</sub> O	0.000005	0.000005	0.000005	0.000005
Bencylaminopurina	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub>	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001
Myo-Inositol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	0.1	0.1	0.1	0.1
Azúcar	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	30	30	30	30
Sulfato de amonio	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			0.134	
Ácido nicotínico	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>			0.001	0.001
Piridoxina	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>			0.001	0.001
Nitrato de calcio tetra-hidratado	CaNO <sub>3</sub> .4 H <sub>2</sub> O				0.556
Sulfato de potasio	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				0.99
Glicina	NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH				0.002
Phytigel		1.5	1.5	1.5	1.5

MS: Murashige & Skoog (1962); B5: Gamborg et al (1968); WPM: Woody Plant Medium (1980) (Lloyd y McCown 1980)

## 6.4 DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

En el cuadro 3 se muestran los tratamientos que se evaluaron para la propagación *in vitro* del cultivo de bambú, especie *Guadua angustifolia* Kunth:

Cuadro 3. Tratamientos evaluados

Tratamientos	Repeticiones	Descripción
1	4	M1 – MS
2	4	M2 – ½ MS
3	4	M3 – B5
4	4	M4 – WPM

## 6.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar (DCA), debido a que la evaluación se llevó a cabo en condiciones completamente controladas, a nivel de laboratorio. Se realizaron cuatro repeticiones por cada uno de los cuatro tratamientos evaluados.

## 6.6 MODELO ESTADÍSTICO ASOCIADO AL DISEÑO

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_j = \mu + \tau_i + \varepsilon_j \quad i = 1,2,3,\dots, t$$

donde:

$Y_i$  = Variable respuesta del i-ésimo tratamiento

$\mu$  = Media general

$\tau_i$  = Efecto del tratamiento i-ésimo

$\varepsilon_j$  = Error aleatorio, donde  $\varepsilon_j \sim N(0, \sigma^2)$

## 6.7 UNIDAD EXPERIMENTAL

Cada unidad experimental estuvo conformada por siete yemas emergidas en invernadero (el número de yemas se definió por el bajo porcentaje de sobrevivencia y la escasez del material vegetativo con que se contaba), colocando una yema por frasco de medio de cultivo. Haciendo un total de 28 yemas por cada tratamiento.

## 6.8 CROQUIS DEL EXPERIMENTO

La distribución de los tratamientos se muestra en la figura 1.

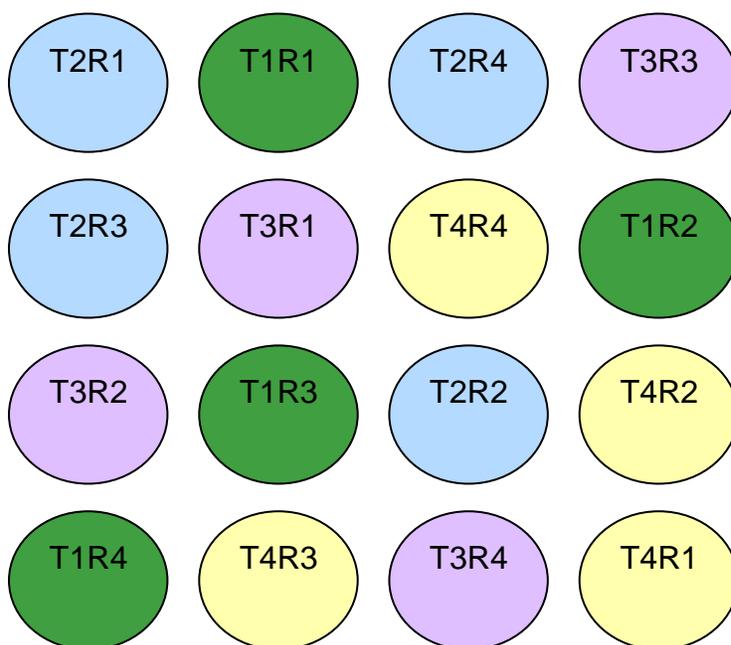


figura 1. Distribución de los tratamientos.

## 6.9 MANEJO DEL EXPERIMENTO

El experimento se llevó a cabo en dos etapas, las cuales fueron: etapa de invernadero y etapa de laboratorio.

### 6.9.1 Etapa de invernadero

Para iniciar la etapa de invernadero se procedió a transportar de la finca proveedora los culmos de la especie *Guadua angustifolia* Kunth, con las siguientes características: procedentes de plantas vigorosas y libres de enfermedades, altura de 1.5 m, edad 12 meses, entrenudos de 20 a 30 cm de longitud y diámetro entre 5-7 cm.

**Paso 1:** en esta fase se llevó cabo la siembra de los culmos o segmentos de tallos en el invernadero (figura 2) para generar las yemas que 15 días posteriores se introdujeron al laboratorio para el experimento. Previo a esta fase se procedió a una desinfección de los culmos.

**Paso 2:** al término de 15 días se llevó a cabo el corte de las yemas germinadas para introducirlas al laboratorio para el experimento.



figura 2. Plantas de bambú en invernadero

### 6.9.2 Etapa de laboratorio

**Paso 1:** recepción de yemas y desinfección. Lavado con detergente 2 g/l durante cinco minutos, inmersión en Derosal+Previcur 1 ml/l durante 20 minutos, 70% de alcohol durante tres minutos, 2.5% Cl durante 10 minutos (figura 3).



figura 3. Esterilización de yemas

**Paso 2:** Preparación de los medios de cultivo según los protocolos evaluados, distribución en frascos de vidrio limpios e identificados y esterilización en autoclave a una temperatura de 122 °C durante 45 minutos a una presión de 120 PSI (figura 4).



figura 4. Preparación de los medios de cultivo

**Paso 3:** corte de yemas a dos cm de largo y siembra en frascos de vidrio de 10 cm de alto por 8 de diámetro, los cuales permanecieron en oscuridad con un fotoperíodo de 12 h ( $50-60 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ ), temperatura de 24.4 °C y una humedad relativa de 47.9% durante ocho días. Posteriormente se ubicaron en la luz durante ocho días más (figura 5).

El 50% de las yemas fueron cortadas con instrumentos sumergidos en ácido cítrico y el otro 50% sin sumergir. Sin embargo este procedimiento se empleó solo para la siembra inicial; y de el se tomaron todas las yemas brotadas de los instrumentos sumergidos en ácido cítrico, y los subcultivos fueron trabajados también en su totalidad con ácido cítrico.



figura 5. Corte y siembra de yemas en cámara de flujo laminar

**Paso 4:** se procedió a cambiar los medios de cultivo cada 15 días para que los niveles de sales y reguladores de crecimiento se mantuvieran frescos y disponibles. Esta fase se repitió durante un tiempo de 90 días para poder obtener seis subcultivos (figura 6).



figura 6. Desarrollo de yemas

## 6.10 VARIABLES DE RESPUESTA

**Porcentaje de oxidación:** se realizaron conteos del total de yemas que presentaron oxidación a los 15 días de su siembra, tomando como base el total de la población por cada tratamiento y repetición.

Se aplicó la fórmula (Número de yemas oxidadas \* 100).

Número de yemas sembradas

**Porcentaje de brotación:** se realizaron conteos del total de yemas brotadas a los 30 días de su siembra. Se aplicó la fórmula (Número de yemas brotadas \* 100).

Número de yemas sembradas

**Número de brotes por yema:** se efectuaron conteos de brotes por cada yema establecida, a partir de los 30 días después de la brotación.

**Altura de brotes propagados:** se realizaron mediciones en cm, a partir de los 45 días de siembra para establecer la altura de los brotes en cada tratamiento.

**Costos del proceso:** se llevó registro de los costos para el proceso de micropropagación de bambú.

## 6.11 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

### 6.11.1 Análisis estadístico

Las variables de respuesta porcentaje de oxidación, porcentaje de brotación, número de brotes por yema y altura de plantas, fueron sometidas a un análisis de varianza (ANDEVA). Cuando se determinaron diferencias estadísticamente

significativas, se procedió a realizar una prueba de medias, utilizando para el efecto la prueba de Tukey (5%).

### **6.11.2 Análisis económico**

No se realizó ningún análisis económico, debido a que se consideró que la diferencia de costos entre un medio de cultivo y otro fue mínima, únicamente se determinó el costo del proceso de micropropagación de bambú, incluyendo: costo de producción de plantas de bambú a nivel de laboratorio e invernadero, mediante el cálculo de costos que se realizaron en el proceso productivo.

Considerando que la escala de la evaluación no fue tan amplia, y se redujo únicamente a siete yemas por repetición debido al bajo porcentaje de sobrevivencia por la influencia de la contaminación y la escasez del material vegetativo, no se presenta ningún cálculo sobre la tasa marginal de retorno al capital o una relación beneficio/costo, para no especular en resultados.

## VII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Uno de los factores determinantes para obtener un exitoso establecimiento del cultivo de bambú, radica en la metodología de desinfección, pues es un aspecto crítico; según muestra otro autor, en su trabajo de desinfección tan solo logró alcanzar del 2 al 8% de brotación libre de contaminación por hongos y bacterias (Marulanda *et al.*, 2002); debido a que aún no se cuenta con protocolos establecidos se tuvo que determinar antes, un protocolo que permitiera la obtención de yemas libres para la posterior evaluación de medios de cultivo para su multiplicación.

El protocolo establecido consistió en el lavado de las yemas con detergente comercial dos g/l durante cinco minutos, una inmersión en una solución de Derosal+Previcur un ml/l durante 20 minutos, agitación en alcohol al 70% durante tres minutos y 2.5% Cl durante 10 minutos, los resultados que se obtuvieron se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Porcentaje de contaminación en protocolo de desinfección

<b>Tratamiento</b>	<b>Yemas Sembradas</b>	<b>% Hongo</b>	<b>% Bacteria</b>	<b>% Contaminación</b>	<b>% Libre</b>
MS	100	11	59	70	30
½ MS	197	26	59	86	14
B5	251	13	76	89	11.2
WPM	169	27	56	82	17.8

Se debe mencionar que las diferencias en los resultados de contaminación entre los medios de cultivo probablemente se deba a los nutrientes y sus concentraciones, ya que podrían impactar directamente en el desarrollo o inhibición del crecimiento de determinados microorganismos, como por ejemplo la influencia de bacterias en el tratamiento M3 es notoria comparada con los otros tratamientos.

## 7.1 PORCENTAJE DE OXIDACIÓN

El impacto que puede causar la oxidación en el cultivo de bambú es crucial, debido a que es muy agresiva en la etapa de establecimiento. En la figura 7 se muestran los porcentajes de oxidación que se obtuvieron al sembrar las yemas realizando cortes con bisturí y tijeras, sin ninguna consideración o técnica preventiva (sin aplicación de ácido cítrico).

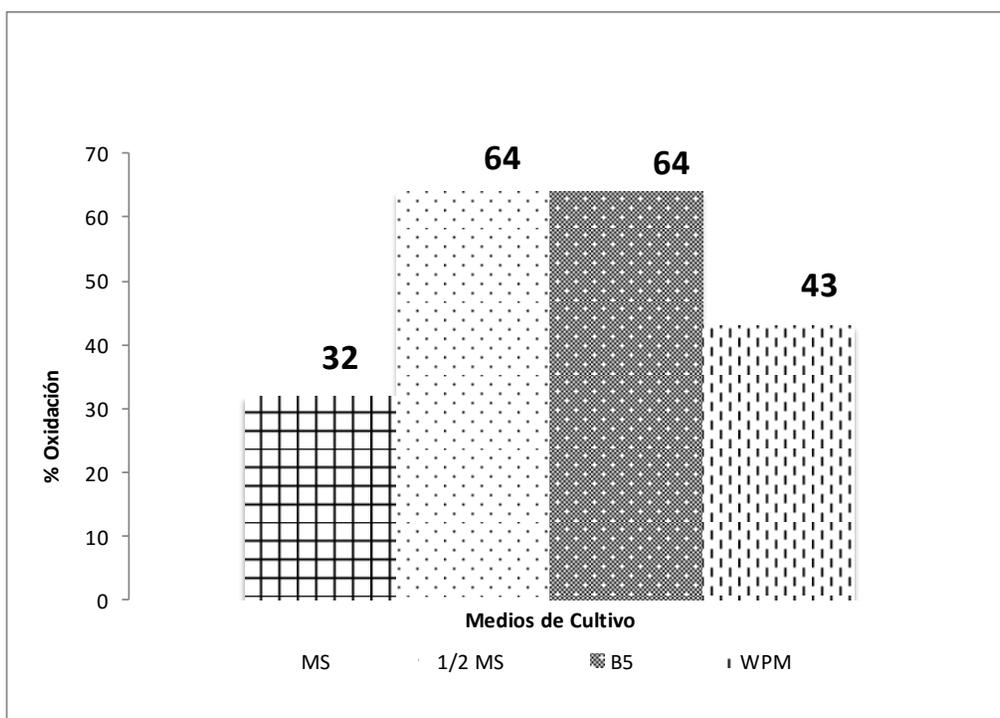


Figura 7. Porcentaje de oxidación sin ácido cítrico.

La incisión que se realiza en el momento de la siembra puede estimular una acelerada fenolización que conlleva a la muerte inmediata. Sin embargo, se puede observar que utilizando la misma técnica en diferentes medios de cultivo, éstos pueden provocar una influencia positiva o negativa con base en las concentraciones de sales que contienen.

En la figura 8 se muestra el porcentaje de oxidación en los cuatro medios de cultivo utilizando un antioxidante (ácido cítrico) en los instrumentos para el corte, con el objetivo de reducir la oxidación.

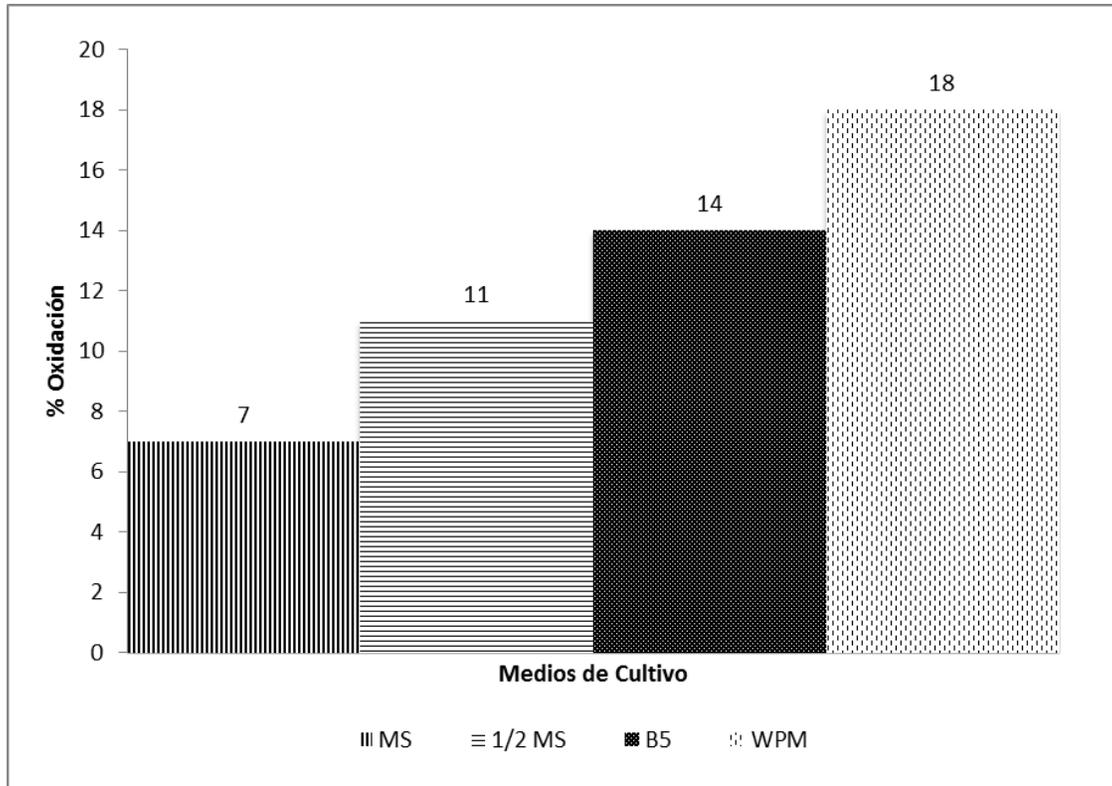


Figura 8. Porcentaje de oxidación utilizando ácido cítrico como antioxidante.

El uso de ácido cítrico permitió disminuir considerablemente la oxidación de los explantes en los cuatro medios de cultivo; sin embargo, el efecto de la diferencia entre ellos podría radicar en que el ácido cítrico actúa como secuestrante de iones metálicos inmersos en el medio de cultivo y que pueden actuar como catalizadores de la oxidación; según los resultados el medio de cultivo MS es el mejor para controlar la oxidación en combinación con ácido cítrico.

## 7.2 PORCENTAJE DE BROTAÇÃO

La variable del porcentaje de brotación se midió a partir del día treinta después de su siembra. Posteriormente se realizó un análisis de varianza, obteniéndose los resultados que se detallan en el cuadro 5.

Cuadro 5. Análisis de varianza para porcentaje de brotación

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Pr >F
Tratamientos	3	2815.85	938.6167	42.35	0.0001 **
Error	12	265.98	22.165		
Total	15	3081.83			
CV.	21.1%				

\*\* = Diferencia altamente significativa

La información que se presenta en el cuadro 5, indica que existió una diferencia altamente significativa para la variable porcentaje de brotación. Con base en éstos resultados, se realizó una prueba múltiple de medias (Tukey) para determinar los mejores tratamientos, presentando los resultados en el cuadro 6.

Cuadro 6. Prueba de Tukey para porcentaje de brotación

Tratamiento	Porcentaje de brotación	Grupo estadístico
½ MS	29	A
MS	28.2	A
WPM	17.4	A
B5	0	B

Según lo que se presenta en el cuadro 6, se observa que en el tratamiento M3 (medio de cultivo B5 de Gamborg) no se manifestó ninguna brotación; una de las razones pudo ser que en la composición de este medio se involucraron elementos limitantes como el amonio y el fósforo que inhiben la absorción o asimilación de otros elementos, así como también la influencia de oxidación que se muestra en el mismo. Los tratamientos ½ MS, MS y WPM formaron un mismo grupo estadístico, aunque los porcentajes de brotación tienden a ser superiores en los dos primeros medios.

### 7.3 NÚMERO DE BROTES POR YEMA

Se efectuaron conteos de brotes por cada yema brotada, a partir de los 30 días después de la brotación, y a los resultados obtenidos se les realizó un análisis de varianza, cuyos resultados se muestran en el cuadro 7.

Cuadro 7. Análisis de varianza para brotes por yema brotada

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Pr >F
Tratamientos	3	13.98188	4.66062	26.54	0.0001 **
Error	12	2.1075	0.17562		
Total	15	16.08938			
CV.	29.8%				

\*\* = Diferencia altamente significativa

Según se observa en el cuadro 7, los datos obtenidos presentaron una diferencia altamente significativa, por lo que se efectuó la prueba de Tukey que se muestra en el cuadro 8.

Cuadro 8. Prueba de Tukey para brotes por yema brotada

Tratamiento	Número de brotes por yema	Grupo estadístico
MS	2.6	A
½ MS	1.7	B
WPM	1.3	B
B5	0.0	C

Para los resultados presentados en el cuadro 8, con base en la prueba de Tukey, se puede establecer que para la variable número de brotes por yema brotada, se tiene al tratamiento MS como el mejor para estimular brotes, seguidamente los tratamiento ½ MS y WPM que no marcan diferencia entre ellos, el tratamiento B5 no mostró ninguna brotación.

En la figura 9 se muestra el desarrollo y proliferación de los brotes a los 90 días después de su siembra, la diferencia entre tratamientos, probablemente se deba a que la disponibilidad de nutrientes varía entre un medio y el otro, el tratamiento MS fue capaz de estimular mayor número de brotes debido a que contenía más disponibilidad de nutrientes y en mayores concentraciones.

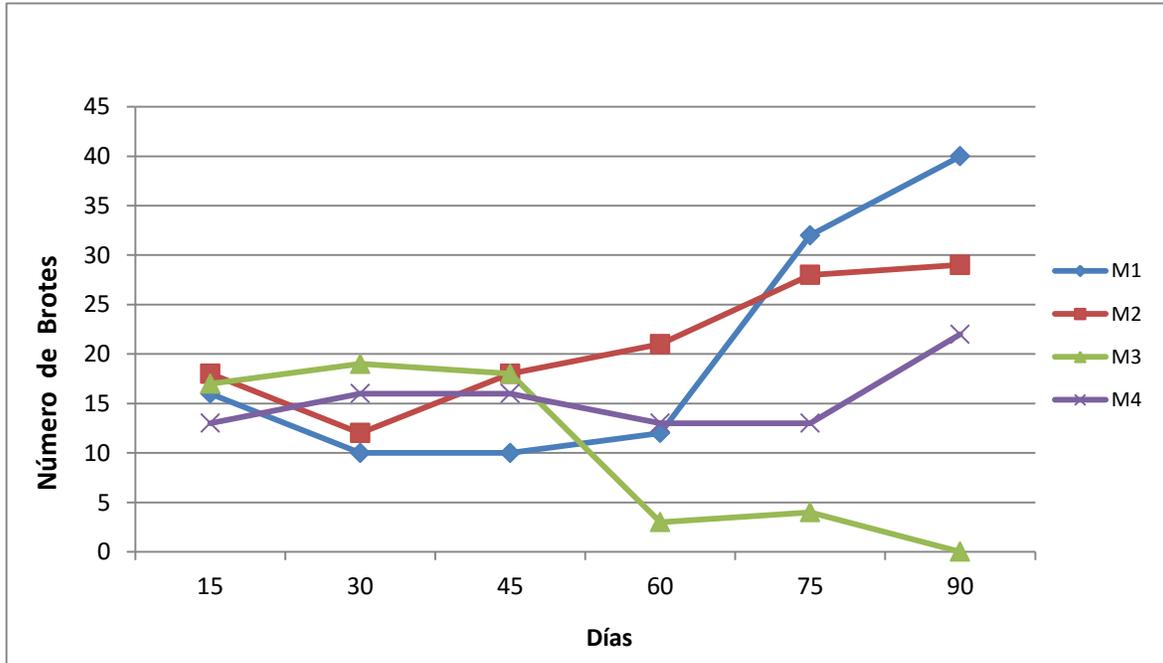


Figura 9. Total de brotes a los 90 días después de la siembra.

#### 7.4 ALTURA DE BROTES

Se realizaron mediciones en centímetros, a partir de los 45 días después de la siembra, a todas las yemas brotadas y nuevos brotes; para establecer la altura promedio en cada tratamiento. El análisis de varianza se presenta en el cuadro 9.

Cuadro 9. Análisis de varianza para altura de brotes.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Pr >F
Tratamientos	3	2815.85	938.6167	42.35	0.0001 **
Error	12	265.98	22.165		
Total	15	3081.83			
CV.	21.1%				

\*\* = Diferencia altamente significativa

Debido a que se obtuvo una diferencia altamente significativa entre los tratamientos se procedió a realizar una prueba de Tukey, los resultados se muestran en el cuadro 10.

Cuadro 10. Prueba de Tukey para altura de brotes.

Tratamiento	Altura promedio (mm)	Grupo estadístico
½ MS	32.6	A
MS	32.05	A
WPM	24.65	A
B5	0	B

Como se observa, según la prueba de Tukey para los tratamientos MS, ½ MS y WPM no existe variación con relación a la altura promedio que presentaron los brotes en cada medición; sin embargo, para el tratamiento B5 si existió una diferencia marcada debido a que en éste no hubo brotes que medir.

## 7.5 COSTOS DEL PROCESO DE MICROPROPAGACIÓN DE BAMBÚ

Para esta variable se realizó un registro detallado de los costos para el proceso de micropropagación de bambú de forma general, sin distinción en los tipos de medios de cultivo que se evaluaron; sino únicamente con el objetivo de determinar el costo de una plántula de bambú propagada *in vitro* y adaptada en invernadero; los cuales se detallan a continuación en el cuadro 11.

Cuadro 11. Costos de producción (Q) por planta de bambú producida en laboratorio y adaptada en invernadero (con base en una producción estimada de 1,000,000 de plantas).

Descripción	Costos		Total (Q)	%
	Laboratorio (Q)	Invernadero (Q)		
Costos fijos y variables				
Mano de obra	0.47	0.13	0.60	42.78
Energía eléctrica		0.01	0.31	

	0.30			22.13
Depreciación de equipo	0.04	-	0.04	2.95
Depreciación biofábrica	0.04	-	0.04	2.56
Depreciación invernadero	-	0.01	0.01	0.52
Sustrato	-	0.06	0.06	4.15
Depreciacion bandejas	-	0.03	0.03	2.12
Reactivos	0.04	-	0.04	2.92
Agroquímicos	-	0.16	0.16	11.41
Materiales varios	0.04	0.05	0.09	6.15
Papelería, útiles y accesorios	0.01	0.00	0.01	0.75
Otros servicios	0.01	0.00	0.01	0.85
Imprevistos	0.01	0.00	0.01	0.46
Viáticos	0.00	-	0.00	0.24
Total Q.	0.96	0.45	1.40	100.00
Total USD \$	\$ 0.123	\$ 0.058	\$ 0.181	

El costo específico para el cultivo de bambú depende directamente del volumen total de plantas a propagar en un ciclo, tiempo que lleva el proceso dentro del laboratorio, los medios de cultivo utilizados, manipulación (mano de obra) y requerimientos específicos.

Para el caso del bambú el costo de producción fue de US 0.18 ó Q 1.40. Estos costos están basados en una proyección de producción de 1,000,000 de plantas en un ciclo de siete meses, iniciando con 380 yemas establecidas; para el caso del laboratorio y respecto a las plantas adaptadas en el invernadero con una sobrevivencia del 85% de eficiencia.

Con base en los resultados obtenidos, se observa que el mayor impacto de los costos es ocasionado por la mano de obra y la energía eléctrica, esto basado en las horas efectivas de trabajo del personal y del equipo de laboratorio, directamente el uso de energía en las cámaras de flujo laminar, que se muestra en la figura 10.

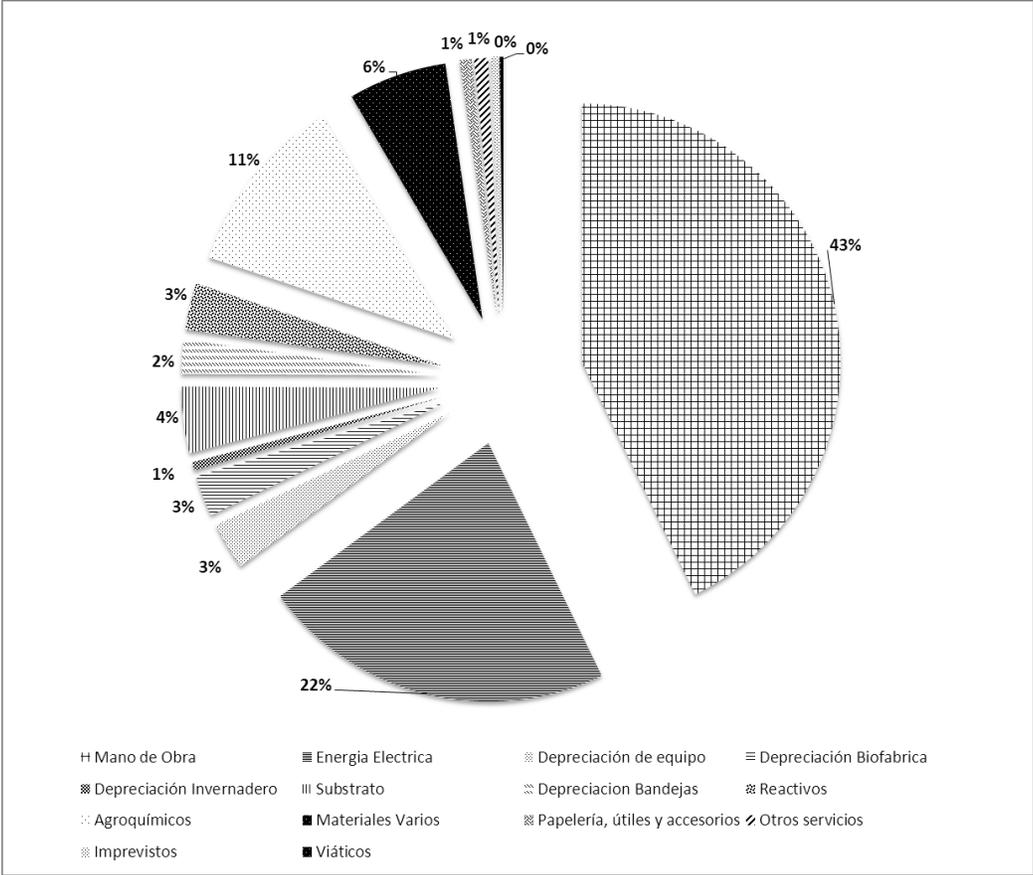


Figura 10. Distribución de porcentaje de costos de producción.

## VIII CONCLUSIONES

- La contaminación presente en las yemas de bambú pudo reducirse empleando un protocolo de desinfección eficiente, siendo el MS el medio que presentó menor contaminación con un 70%
- El nivel de oxidación en las yemas de bambú se pudo reducir sustancialmente al aplicar ácido cítrico en los instrumentos (bisturí y tijeras) de corte. Siendo el medio de cultivo MS el que mejores resultados mostró, al presentar solo un 7% de oxidación, en comparación con el resto de tratamientos que estuvieron entre el 11% y 18%.
- Para el porcentaje de brotación no existió diferencia significativa en tres de los medios evaluados; sin embargo, para el medio de cultivo B5 de Gamborg, si existió una marcada diferencia, pues su brotación fue 0%.
- Según los resultados presentados en esta evaluación, se puede establecer que para la variable número de brotes por yema brotada se tiene al medio MS como el mejor, le siguen los medios  $\frac{1}{2}$  MS y WPM que no marcan diferencia entre ellos; con el medio B5 de Gamborg no se logró promover el crecimiento de brotes.
- Para la variable altura promedio de brotes; los medios de cultivo MS,  $\frac{1}{2}$  MS WPM presentaron un efecto similar. Para el medio de cultivo B5 de Gamborg la diferencia fue marcada debido a que no existieron brotes, pues éste no fue capaz de promover el desarrollo de los mismos.
- Con base en la determinación de los costos del proceso de propagación de bambú, se puede concluir que el mayor impacto es ocasionado por la mano de obra y por la energía eléctrica. Sin embargo, el costo por planta (Q. 1.40) puede variar positiva o negativamente, pues está sujeto directamente con el volumen de plantas a propagar.

## IX RECOMENDACIONES

- Considerar el impacto que causa el alto nivel de contaminación en el establecimiento para el cultivo de bambú y profundizar en la investigación sobre métodos de desinfección para poder establecer un protocolo y así maximizar la fase de multiplicación.
- Emplear antioxidantes (ácido cítrico) en el momento de realizar los cortes, para minimizar la oxidación como principal influencia en la muerte de brotes.
- Se recomienda el medio de cultivo  $\frac{1}{2}$  MS para el establecimiento de yemas de bambú, pues es el medio de cultivo más económico, debido a la concentración de sales que contiene.
- Para la fase de multiplicación se debe recurrir al medio de cultivo MS, debido a que tiende a promover mayores índices de brotación comparado con el resto de medios, es decir, por cada yema brotada promovió el 2.6 % de brotes, mientras que con el medio M2 ( $\frac{1}{2}$  MS) se promovió el 1.7%, con el medio WPM 1.3% y con B5 0%.
- Se deben generar protocolos para mejorar la propagación *in vitro*, ya que resulta con un costo más bajo en comparación con los costos de vivero, y la calidad de plantas que se desarrollan es mejor, sumando a esto factores como tiempo de propagación y mayor número de plantas en espacio reducido.

## X ANEXOS

### ANEXO 1. Datos de campo originales

#### Porcentaje de oxidación

Sin Ácido Cítrico				Con Ácido Cítrico			
Tratamiento	Total Yemas	Oxidadas	% Oxidación	Tratamiento	Total Yemas	Oxidadas	% Oxidación
M1	7	2	29%	M1	7	0	0%
M1	7	1	14%	M1	7	0	0%
M1	7	3	43%	M1	7	2	29%
M1	7	3	43%	M1	7	0	0%
<b>M1</b>	<b>28</b>	<b>9</b>	<b>32%</b>	<b>M1</b>	<b>28</b>	<b>2</b>	<b>7%</b>
M2	7	5	71%	M2	7	1	14%
M2	7	5	71%	M2	7	1	14%
M2	7	4	57%	M2	7	0	0%
M2	7	4	57%	M2	7	1	14%
<b>M2</b>	<b>28</b>	<b>18</b>	<b>64%</b>	<b>M2</b>	<b>28</b>	<b>3</b>	<b>11%</b>
M3	7	2	29%	M3	7	0	0%
M3	7	4	57%	M3	7	3	43%
M3	7	7	100%	M3	7	1	14%
M3	7	5	71%	M3	7	0	0%
<b>M3</b>	<b>28</b>	<b>18</b>	<b>64%</b>	<b>M3</b>	<b>28</b>	<b>4</b>	<b>14%</b>
M4	7	2	29%	M4	7	0	0%
M4	7	3	43%	M4	7	4	57%
M4	7	3	43%	M4	7	1	14%
M4	7	4	57%	M4	7	0	0%
<b>M4</b>	<b>28</b>	<b>12</b>	<b>43%</b>	<b>M4</b>	<b>28</b>	<b>5</b>	<b>18%</b>

#### Porcentaje de brotación a los 90 dds

Tratamiento	Repetición	% Brotación	Transform
M1	1	43	41
M1	2	29	32.6
M1	3	29	32.6
M1	4	0	0
M2	1	29	32.6
M2	2	29	32.6
M2	3	29	32.6
M2	4	29	32.6
M3	1	14	22
M3	2	0	0
M3	3	0	0
M3	4	14	22
M4	1	14	22
M4	2	14	22
M4	3	0	0
4	4	29	32.6

### Altura (cm) promedio de brotes hasta los 90 dds

Tratamiento	Repetición	Altura Promedio (cm)
M1	1	0.286
M1	2	0.248
M1	3	0.324
M1	4	0.311
M2	1	0.240
M2	2	0.326
M2	3	0.184
M2	4	0.314
M3	1	0.00
M3	2	0.00
M3	3	0.00
M3	4	0.00
M4	1	0.250
M4	2	0.223
M4	3	0.00
M4	4	1.64

### Número de brotes por yema brotada

Tratamiento	Repetición	Yemas sembradas	Yemas brotadas	Número de brotes	% Brotación	% Transformado a grados
M1	1	7	5	14	71%	57.4
M1	2	7	4	9	57%	49
M1	3	7	3	17	43%	40.4
M1	4	7	4	0	57%	49
M2	1	7	3	5	43%	40.4
M2	2	7	6	7	86%	68
M2	3	7	4	10	57%	49
M2	4	7	5	7	71%	57.4
M3	1	7	3	0	43%	40.4
M3	2	7	4	0	57%	49
M3	3	7	6	0	86%	68
M3	4	7	4	0	57%	49
M4	1	7	5	4	71%	57.4
M4	2	7	3	4	43%	40.4
M4	3	7	3	0	43%	40.4
M4	4	7	2	10	29%	32.6

Total de brotes a los 90 dds.

Tratamiento	15 Días	30 Días	45 Días	60 Días	75 Días	90 Días
M1	16	10	10	12	32	40
M2	18	12	18	21	28	29
M3	17	19	18	3	4	0
M4	13	16	16	13	13	22

## XI BIBLIOGRAFIA

- Calderon, C. & Soderstrom, T. (1973). Morphological and Anatomical Considerations of the Grass Subfamily Bambusoideae based on the new genus *Maclurolyra*. *Smithsonian Contr. Bot.* 11, 1-54.
- Camargo, J. (2004). *Documento Memorias del Diplomado en Métodos y Técnicas de Manejo silvicultural de guaduales naturales y plantados*. Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Tecnológica de Pereira.
- Carniol, V. (1998). Bambú *Guadua* en puentes peatonales. *Revista Tecnología en Marcha*, 23, N.º 1, 29-38
- Catusus (2003). Efecto de diferentes métodos de desinfección en el establecimiento in vitro de *Guadua angustifolia* Kunth. *Revista Biotecnología Vegetal*, 4, 237 – 242.
- Clark, L. (1990). *Chusquea section Longiprophyllae .Poaceae: Bambusoideae*. Colombia.
- Echenique V., Rubinstein C. y Mroginski L. (2004). *Biotecnología y mejoramiento vegetal*. Buenos Aires. INTA.
- Epp, M. (1987). *Somaclonal variation in Bananas*. — Centro de Interpretación de la Agricultura y Regadío –CIAR- . México.
- Giraldo E. y Sabogal A. (1999). *Guadua bamboo*. Colombia.
- Gamborg, Miller y Ojeina (1968)
- Hernández, R. (1997). *Obtención de plantas libres de patógenos*. Instituto de Biotecnología de Plantas. Cuba.
- Hu, C. & Wang L. (1983). Meristem, shoot tip and bud culture. *MacMillan Publishing*, 1, 177-227.

- Instituto De Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA- (2006). *Informe general cultivo de bambú*. Escuintla.
- Jiménez, V.; Castillo, J.; Tavares, E.; Guevara, E. y Montiel, M. (2004). Micropropagación de *Guadua angustifolia* Kunth a partir de explantes nodales. Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.
- Kamondo, B. & Haq, A. (1988). *Evaluation of bamboo regeneration techniques*. India.
- Lin, C. Chang W. (2004). Effect of thidiazuron on vegetative tissue-derived somatic embryogenesis and flowering of bamboo *Bambusa edulis*. *Revista Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 76, 75–82.
- Londoño, X. (1998). *A decade of observations of a Guadua angustifolia plantation*. Colombia.
- Lloyd y McCown, 1980. *Practice Biotechnology*. Guerrero. Mexico.
- Marulanda, M.; Carvajalino, M.; Vargas, C. y Londoño, X. (2002). La biotecnología aplicada al estudio y aprovechamiento de la Guadua. In Seminario - Taller Avances en la Investigación sobre Guadua. Pereira, Colombia.
- McClure, F. (1966). *The bamboo: A fresh perspective*. Cambridge: Harvard University Press
- Morán, J. (2002). *Informe Anual Asociación de Productores de Guadua*. Chinácota.
- Muñoz, E. (1998). Regeneración in vitro de bambú gigante. *Revista de Biología Tropical*, 46, 11-18.
- Murashige, T. y Skoog, F. (1962). A revised médium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiol*, 5, 173-197.

- Orellana, P. (1994). *Tecnología para la propagación in vitro de clones de Musa sp.* Tesis de Doctorado. Instituto de Biotecnología de Plantas. Universidad Central de las Villas.
- Pérez, J. (1998). Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa Clara, Cuba.
- Polanco, Z. (2008). *Cultivo y comercialización de bambú en La Gomera, Escuintla.* Tesis de Licenciatura no publicada. School of business and economics, atlantic international university.
- Ramanayake, S. (2001). Organogenesis in callus derived from an adult giant bamboo. Institute of Fundamental Studies. Hantana, Road.
- Redenbaugh, K.; Paasch B.; Nichol J.; Kossler, M.; Viss, P. y Walker, K. (1986) Somatic seeds: encapsulation of asexual plant embryos. *Bio/Tech* 4,797-801.
- Red Internacional del Bambú y Ratán –INBAR- (2007) *Evaluation of bamboo resources in Latin America.* Ed. Londoño X. Cali.
- Saxena, S. (1990). *In vitro propagation of the bamboo (Bambusa tulda Roxb.) through shoot proliferation.* Colombia.
- Soderstrom, T. & Londoño, X. (1988) *A Morphological study of Alvimia (Poaceae: Bambuseae).* Brasil.
- Thomas L, Michael G. Barbour y C. Ralph S. (1992). *Introducción a la biología Vegetal.* México, Ed. Limusa, grupo Noriega.
- Uchimura, E. (1980). *Bamboo cultivation.* Colombia.
- Villegas, M. (2008). Diversidad de Colombia, *Guadua angustifolia* Kunth. Colombia.
- Vongvijitra, R. (1988). *Traditional vegetative propagation and tissue culture of some thai bamboos.* India.

Widmer, I. (1990). *Los bambúes: Biología, cultivo, manejo, usos*. El Chasqui.