

**Producción *in vitro* de helecho Cola de  
Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*) comparando  
y evaluando los costos de dos sistemas de  
multiplicación y dos concentraciones de  
kinetina**

**Adela Sarahí Oliva Chávez**

**Zamorano, Honduras**  
Carrera de Ciencia y Producción  
Diciembre, 2003

ZAMORANO  
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Producción *in vitro* de helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*) comparando y evaluando los costos de dos sistemas de multiplicación y dos concentraciones de kinetina**

Trabajo de graduación como requisito parcial para optar al título de  
Ingeniera Agrónoma en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**Adela Sarahí Oliva Chávez**

## **Honduras**

El autor concede permiso a Zamorano para distribuir y reproducir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

---

Adela S. Oliva Ch.

**Producción *in vitro* de helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*)  
comparando y evaluando los costos de dos sistemas de multiplicación y  
dos concentraciones de kinetina**

Presentado por

Adela Sarahi Oliva Chávez

Aprobada:

---

Dinie de Rueda, M. Sc.  
Asesora Principal

---

Cinthy Martínez, Ing. Agr.  
Asesora

---

Alfredo Rueda, Ph. D.  
Asesor

---

Alfredo Rueda, Ph. D.  
Coordinador de Área Temática

---

Jorge I. Restrepo, M.B.A  
Coordinador de la Carrera de  
Ciencia y Producción  
Agropecuaria

---

Antonio Flores, Ph. D.  
Decano Académico

---

Kenneth L. Hoadley, D.B.A  
Rector

## **DEDICATORIA**

A Dios por ser el acompañante que nunca me falló en ningún momento de mi vida, estar en lo bueno y en lo malo.

A mis padres Carlos Oliva y Adela Chávez por siempre apoyarme en todo y llevarme por el buen camino siendo mi motivo de inspiración en todos estos años de carrera.

A mis hermanos por siempre estar en las cosas pequeñas y grandes.

A mis colegas de la clase STIGMA 03 por ser como mi familia en estos 4 años de vida en Zamorano.

A la gente del Laboratorio de Cultivo de Tejidos por su apoyo.

A mis amigos por regalarme sonrisas y buenos recuerdos que nunca se escaparán.

A mis amigos “lejanos” los que siempre me demostraron estar más cerca de lo que yo creía.

A mi Alma Mater que me enseñó la importancia del trabajo, lo bello del tener algo nuevo que aprender cada día y llevarme a conocer personas especiales que nunca olvidaré.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por regalarme esta vida tan especial y que vale tanto, por nunca dejarme y por encender esa luz que nunca se apago en mi corazón.

A mis padres por los momentos de desvelo, los sacrificios que tuvieron que afrontar para que llegara este momento y por ser ejemplo de valentía para su hija.

A mis hermanas por su apoyo incondicional y ayudarme en todo lo que necesitaba.

A Erick N., Gracia D., Sonia P., Sofía M., Ernesto C., David G., Franklin V., Carlos S., Adriana S., Andrea O., Lorena P., Gabriela S., Maria I., Calixto G, Elizabeth B., Carlos M., Natalia G., Ricardo C., Juan Pablo S., Byron J., Flor N., Pamela V., Beatriz R., Kristian M. y todos los que no menciono, pero que significan mucho para mi; por darme su apoyo, su tiempo y regalarme miles de sonrisas en los momentos en que más triste me sentía.

A Zoila S., Erika R. y Maria Bravo por su comprensión y darme ánimos en mis momentos de desvarío en el Laboratorio.

A Carla I., Rocio M. y María C. por ser las mejores compañeras de cuarto que se pueden pedir y por aguantarme en estos dos últimos años.

A Juan L. por ser el mejor guía de todos y por ser más que eso un muy buen amigo.

A Dinie de R. y Cinthya M., mis asesoras, por su paciencia y su apoyo para realizar este proyecto.

Al Dr. Rueda por la ayuda brindada.

A la gente del CVA por los momentos inolvidables que compartí con ellos.

A Paul S. y Ximena S. por mantener siempre la puerta de su oficina abierta, por la confianza que me ofrecieron y por siempre darme la oportunidad de ser mejor.

A Danny y Ximena por ser mi familia en Zamorano y abrirme siempre la puerta de su hogar.

A Johana C. compañera en tesis y pasantía, quien muchas veces me hizo reír entre momentos de tensión.

A Aninha, Davs, Gabs, Tamara, Vanesa y Juanjo que me acompañaron en las noches de desvelo y me demostraron que la distancia sólo esta dentro de nuestras mentes.

A todos mis colegas con los cuales compartí cuatro años de mi vida.

## **AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES**

A mis padres que con mucho sacrificio financiaron mis estudios en esta institución.

Al Fondo Dotal Hondureño.

## RESUMEN

Oliva Chávez, Adela Sarahí. 2003. Producción *in vitro* de helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*) comparando y evaluando los costos de dos sistemas de multiplicación y dos concentraciones de kinetina. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, El Zamorano, Honduras. 38 p.

En el mercado de los ornamentales, el Helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*) siempre ha tenido gran demanda para la decoración de jardines exteriores e interiores. Diferentes mercados buscan material de este helecho y el Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación (LCTM) de Zamorano está en disposición de abastecer parte de las demandas del material. El objetivo de este estudio fue validar los protocolos de producción de *Nephrolepis cordifolia* y evaluar los costos de este proceso. Durante la validación del protocolo se evaluaron las tasas de multiplicación *in vitro* (TMSF) y los promedios totales de pérdida (PTP) durante la multiplicación y enraizamiento en el laboratorio y la sobrevivencia, número de hojas y apariencia del material en la etapa de aclimatación en el invernadero, además de una estructura de costos para definir el precio de venta del producto. Para la etapa de multiplicación se evaluaron las TMSF utilizando dos sistemas de producción (en tubos de ensayo y suspensiones celulares) bajo dos concentraciones de kinetina (2 y 4 mg/L). Durante la etapa de aclimatación se utilizaron tres sustratos: (A) arena:compost (2:1); (B) casulla:compost:arena:musgo:fibra de coco (5:3:1:1:1); y (C) compost:carbón:arena:musgo (3:2:1:1). Los datos estadísticos se evaluaron utilizando el programa MINITAB 13<sup>®</sup> a un nivel de significancia de 0.05. En la evaluación de las TMSF y los PTP, el sistema de suspensiones celulares presentó la mejor respuesta con una diferencia significativa de  $P < 0.05$ . Para la aclimatación, la mayor sobrevivencia se observó en el sustrato A, ya que las vitroplántulas tenían mejor apariencia y más hojas. La forma más económicamente factible de producción fue utilizando suspensiones con una concentración de 2 mg/L de kinetina y utilizando para la aclimatación el sustrato A, con un costo aproximado de \$0.77 por planta aclimatada.

**Palabras clave:** Hormonas, micropropagación de helechos, suspensiones celulares, sustratos, tasas de multiplicación.

## CONTENIDO

|  |           |
|--|-----------|
| Portadilla.....  | i         |
| Autoría.....   | iii       |
| Página de firmas.....  | iv        |
| Dedicatoria.....   | v         |
| Agradecimientos.....   | vi        |
| Agradecimientos a patrocinadores.....  | vii       |
| Resumen.....   | ix        |
| Contenido.....   | x         |
| Índice de cuadros.....   | xii       |
| Índice de figuras.....   | xiii      |
| Índice de anexos.....  | xiv       |
| <br>   |           |
| <b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>1.1 OBJETIVOS.....</b>  | <b>3</b>  |
| <br>   |           |
| <b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>  | <b>4</b>  |
| <b>2.1 UBICACIÓN.....</b>  | <b>4</b>  |
| <b>2.2 MATERIALES.....</b>   | <b>4</b>  |
| 2.2.1 Material Vegetal.....  | 4         |
| <b>2.3 PROCEDIMIENTO PARA LA PROPAGAGACIÓN <i>IN VITRO</i></b><br><b>DE HELECHOS.....</b>  | <b>4</b>  |
| 2.3.1 Flujo de Actividades.....  | 4         |
| <b>2.4 PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN,</b><br><b>PREPARACIÓN, ESTERILIZACIÓN SUPERFICIAL Y</b><br><b>ESTABLECIMIENTO <i>IN VITRO</i> DE SEGMENTOS DE RIZOMA</b><br><b>DE HELECHO EN TUBOS DE ENSAYO.....</b> | <b>6</b>  |
| 2.4.1 Procedimiento general para la elaboración de medio de cultivo.....   | 6         |
| 2.4.2 Recolección y desinfección de explantes de rizoma de helecho.....  | 10        |
| 2.4.3 Procedimiento para el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos de<br>rizoma de helechos en tubos de ensayo.....  | 10        |
| <b>2.5 PROCEDIMIENTO PARA EL ESTABLECIMIENTO DEL</b><br><b>SISTEMA DE SUSPENSIONES CELULARES.....</b>  | <b>11</b> |
| <b>2.6 PROCEDIMIENTO PARA EL ESTABLECIMIENTO DEL</b><br><b>SISTEMA DE TUBOS DE ENSAYO.....</b>   | <b>11</b> |
| <b>2.7 PROCEDIMIENTO PARA EL ENRAIZAMIENTO <i>IN VITRO</i></b><br><b>DE HELECHOS.....</b>  | <b>12</b> |
| <b>2.8 EVALUACIÓN DE LAS TASAS DE MULTIPLICACIÓN Y</b><br><b>PÉRDIDAS.....</b>   | <b>12</b> |
| 2.8.1 Tasa de Multiplicación (TM).....   | 12        |
| 2.8.2 Promedio Total de Pérdidas (PTP).....  | 13        |

|   |    |
|---|----|
| <b>2.9 PROCEDIMIENTO PARA LA ACLIMATACIÓN DE HELECHOS</b>                         | 13 |
| 2.9.1 Preparación y pasteurización de los substratos.....                         | 13 |
| 2.9.2 Establecimiento del experimento de aclimatación de Helechos.....            | 14 |
| 2.9.3 Medición de las variables evaluadas.....                                    | 14 |
| <b>2.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</b>   | 15 |
| <b>2.11 ANÁLISIS DE COSTOS.....</b>   | 15 |
| <b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>   | 16 |
| <b>3.1 ETAPA DE ESTABLECIMIENTO <i>IN VITRO</i> DE SEGMENTOS DE RIZOMA.....</b>   | 16 |
| <b>3.2 ETAPA DE MULTIPLICACIÓN A PARTIR DEL SUBCULTIVO 2 (S<sub>2</sub>).....</b> | 16 |
| 3.2.1 Tasas de Multiplicación (TM).....   | 16 |
| 3.2.2 Promedio Total de Pérdida (PTP).....  | 17 |
| <b>3.3 ACLIMATACIÓN.....</b>  | 18 |
| 3.3.1 Supervivencia.....  | 18 |
| 3.3.2 Cantidad de follaje de la planta.....                                       | 19 |
| 3.3.3 Altura de la planta.....  | 21 |
| 3.3.4 Apariencia.....   | 22 |
| <b>3.4 ANÁLISIS DE COSTOS.....</b>  | 23 |
| 3.4.1 Costos variables.....   | 23 |
| 3.4.2 Costos fijos.....   | 24 |
| 3.4.3 Costos unitarios.....   | 25 |
| <b>4. CONCLUSIONES.....</b>   | 27 |
| <b>5. RECOMENDACIONES.....</b>  | 28 |
| <b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>   | 29 |
| <b>7. ANEXOS.....</b>   | 30 |

## ÍNDICE DE CUADROS

### Cuadro

|    |   |    |
|----|---|----|
| 1. | Medio de cultivo utilizado para el establecimiento <i>in vitro</i> de helechos del género <i>Nephrolepis</i> en el LCTM. Zamorano, Honduras, 2003.....  | 7  |
| 2. | Medio de cultivo utilizado para la multiplicación <i>in vitro</i> e iniciación de suspensiones celulares de helechos del género <i>Nephrolepis</i> en el LCTM. Zamorano, Honduras, 2003.....  | 8  |
| 3. | Medio de cultivo utilizado para el enraizamiento <i>in vitro</i> de helechos del género <i>Nephrolepis</i> en el LCTM. Zamorano, Honduras, 2003.....  | 9  |
| 4. | Número de contenedores iniciales y finales desde el subcultivo 2 (S <sub>2</sub> ) hasta la etapa de enraizamiento <i>in vitro</i> utilizando dos sistemas de producción de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003..... | 16 |
| 5. | Pérdida total promedio (PTP) de contenedores al final de la etapa III en dos sistemas de producción <i>in vitro</i> de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003. ....   | 18 |
| 6. | Costos variables incurridos en la producción <i>in vitro</i> de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando dos sistemas de multiplicación y dos concentraciones de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....                                  | 24 |
| 7. | Costos Fijos del Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación (LCTM). Zamorano, Honduras, 2003.....   | 25 |
| 8. | Costos unitarios en la producción <i>in vitro</i> de <i>Nephrolepis cordifolia</i> en dos sistemas de producción <i>in vitro</i> , dos niveles de kinetina y tres tipos de sustratos para aclimatación. Zamorano, Honduras, 2003.....     | 26 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Figura

|    |   |    |
|----|---|----|
| 1. | Flujo del proceso de producción <i>in vitro</i> de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....  | 5  |
| 2. | Aumento en el número de brotes según la etapa o subcultivo en el proceso de producción <i>in vitro</i> de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003..... | 17 |
| 3. | Efecto del tipo de sustrato en la sobrevivencia durante la aclimatación de vitroplantas de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....                | 19 |
| 4. | Efecto del tipo de sustrato en el número de hojas durante la aclimatación de vitroplantas de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....              | 20 |
| 5. | Efecto del tipo de sustrato en el incremento en masa foliar durante la aclimatación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....                    | 21 |
| 6. | Efecto del tipo de sustrato en la altura durante la aclimatación de vitroplantas de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003....                        | 22 |
| 7. | Efecto del tipo de sustrato en la apariencia durante la aclimatación de vitroplantas de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....                   | 23 |

## ÍNDICE DE ANEXOS

### Anexo

|    |  |    |
|----|--|----|
| 1. | Análisis de Varianza del número de plantas al final de la etapa III en las evaluaciones de sistemas de multiplicación y concentraciones de kinetina en <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras 2003.....              | 30 |
| 2. | Análisis de Varianza sobre el Promedio Total de Pérdida en las evaluaciones de sistemas de multiplicación y concentraciones de kinetina en <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras 2003.....                          | 30 |
| 3. | Probabilidades de varianza sobre la variable de Supervivencia en la evaluación de sustratos durante la aclimatación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....   | 30 |
| 4. | Probabilidades de varianza sobre la variable de Número de Hojas en la evaluación de sustratos durante la aclimatación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....   | 31 |
| 5. | Probabilidades de varianza sobre la variable de Altura en la evaluación de sustratos durante la aclimatación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....  | 31 |
| 6. | Probabilidades de varianza sobre la variable de Apariencia en la evaluación de sustratos durante la aclimatación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....  | 31 |
| 7. | Costos de los medios de cultivo utilizados en la producción <i>in vitro</i> de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003..... | 32 |
| 8. | Costos de mano de obra en el proceso de micropropagación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....                    | 32 |

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 9.  | Costos por desinfección e insumos en el proceso de micropropagación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....                  | 32 |
| 10. | Costos de los medios utilizados en la producción <i>in vitro</i> de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....                     | 33 |
| 11. | Costos de mano de obra en el proceso de micropropagación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....                             | 33 |
| 12. | Costos por desinfección e Insumos en el proceso de micropropagación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....                  | 34 |
| 13. | Costos de los medios de cultivo en la producción <i>in vitro</i> de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....              | 34 |
| 14. | Costos de mano de obra en el proceso de micropropagación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....                      | 34 |
| 15. | Costos por desinfección e Insumos en el proceso de micropropagación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....           | 35 |
| 16. | Costos de los medios de cultivo en la producción <i>in vitro</i> de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....              | 35 |
| 17. | Costos de mano de obra en el proceso de micropropagación de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.....                      | 35 |
| 18. | Costos por desinfección e Insumos en el proceso de producción <i>in vitro</i> de <i>Nephrolepis cordifolia</i> utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003..... | 36 |

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 19. | Costo por planta aclimatada utilizando el sustrato A durante la aclimatación de vitroplantas de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003..... | 36 |
| 20. | Costo por planta aclimatada utilizando el sustrato B durante la aclimatación de vitroplantas de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003..... | 37 |
| 21. | Costo por planta aclimatada utilizando el sustrato C durante la aclimatación de vitroplantas de <i>Nephrolepis cordifolia</i> . Zamorano, Honduras, 2003..... | 37 |
| 22. | Costos por depreciación del equipo del Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación (LCTM). Zamorano, Honduras, 2003.....                             | 38 |
| 23. | Costos por Servicios/año del LCTM. Zamorano, Honduras, 2003.....  | 38 |
| 24. | Costos Administrativos/año del LCTM. Zamorano, Honduras, 2003...  | 38 |

# 1. INTRODUCCIÓN

En el mercado de los ornamentales, los helechos siempre han sido uno de los productos con mayor demanda para ser utilizados en la decoración de jardines exteriores e interiores. Esto hace necesario la constante búsqueda de métodos que garanticen una producción constante y rápida de material para propagar.

Según Castro (1999), una de las principales ventajas de la propagación mediante técnicas de cultivo *in vitro* es que no solamente se puede obtener una cantidad masiva de plantas, sino que estas son más sanas, uniformes y de mejor apariencia que las propagadas de manera convencional.

Según Pollard y Walker (1990) esta regeneración se observa cuando los explantes son expuestos a altas concentraciones de citocininas/auxinas, proveídos en medios de cultivo, para estimular la formación de yemas adventicias. En el caso de helecho Cola de Quetzal, para su multiplicación *in vitro* se utilizan altas concentraciones de kinetina en un medio líquido.

De acuerdo a Hartmann y Kester (1990), en el proceso de organogénesis del helecho hay varias etapas que se describen a continuación:

- a. **Establecimiento (Etapa I):** Los segmentos de estolón de aproximadamente 1 cm, se desinfectan y se establecen en un medio líquido conteniendo una concentración de 1 mg/L de Kinetina. Estos segmentos contienen rizomas jóvenes y verdes y comienzan brotación a las 4 – 5 semanas de establecido el cultivo.
- b. **Multiplicación de brotes (Etapa II):** En esta etapa cada multi-brote es separado en brotes más pequeños que crecen de una masa basal de callo. Al igual que en la etapa anterior se utiliza un medio líquido con la diferencia de que se le duplica el nivel de kinetina a razón de 2 mg/L. En la etapa de multiplicación se llevan a cabo un total de 3 – 4 subcultivos, debido a que después del 4to subcultivo hay presencia de brotes fuera de tipo. Las vitroplantas se mantienen en esta etapa de 4 – 5 meses.
- c. **Enraizamiento (Etapa III):** El propósito de la tercera etapa es preparar las vitroplantas para el trasplante del ambiente artificial del laboratorio a un ambiente autotrófico en el invernadero mediante la inducción a la formación de raíces. Se eliminan las kinetinas del medio, se mantiene la concentración de ANA (auxina) a razón de 0.1 mg/L y se aumenta la diversidad de vitaminas, añadiéndose Piridoxina y Àcido nicotínico. Se reduce la cantidad de sucrosa en el

medio de 30 a 20 g/L. El tiempo de duración de esta etapa es de aproximadamente 4 semanas. Se continúa con el medio líquido para reducir los problemas de oxidación en las plantas, que se aumentan cuando los medios son sólidos.

- d. Aclimatación (Etapa IV):** Para su trasplante al invernadero los brotes enraizados se extraen de los contenedores en que han permanecido creciendo y multiplicándose en el laboratorio y se lavan para eliminar los residuos de sucrosa que pudieran atraer el ataque de hormigas. Las plantas son transplantadas a bandejas múltiples donde se mantienen por un mes. Durante este tiempo la planta comienza a fotosintetizar completamente y luego se transplanta a contenedores individuales sacando las plantas de las bandejas múltiples con el pilón para no dañar las raíces y poniéndolos en los nuevos contenedores. Las vitroplantas deben ser transplantadas en un medio pasteurizado y debe mantenerse un alto grado de humedad para evitar su deshidratación.

La etapa de aclimatación es una de las más importantes en determinar la sobrevivencia de las plantas. En esta etapa es determinante el grado de desarrollo que tienen las plantas antes de salir al invernadero; este desarrollo consiste en una buena cantidad de masa foliar y radicular la que permita a la planta soportar mejor el cambio de ambiente. Según Castro (1999) esta etapa consiste en el trasplante de las vitroplantas a un sustrato colocadas en el invernadero donde se vuelvan autótrofas. Para esto las vitroplantas tienen que tener un ambiente favorable que les permita tener una mayor resistencia a la deshidratación y a patógenos.

La principal limitante en la micropropagación de helechos es que sufren de un grado elevado de deshidratación al salir del laboratorio por tanto la pérdida de vitroplantas es bastante alta (Castro, 1999). Es necesario contar con un sustrato adecuado que retenga la humedad necesaria y además le provea a las plantas de todos los nutrientes necesarios para un buen desarrollo post-laboratorio. Esto convierte a la etapa de aclimatación en el principal “cuello de botella” del proceso debido a las altas tasas de mortalidad de plantas durante esta etapa. El éxito entonces de la producción *in vitro* consiste en la habilidad de transferir y establecer cultivos vigorosos de plantas *in vitro* a condiciones *ex vitro* (Castro, 1999).

La Zamoempresa de Cultivos Intensivos (ZECI) presenta una demanda anual de helecho Cola de Quetzal. Estas plantas deben presentar un aspecto vigoroso, frondoso y sus hojas deben verse completamente verdes para satisfacer las expectativas del mercado. Esta empresa debe abastecerse constantemente de material para la preparación de maceteros colgantes y el Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación (LCTM) de Zamorano está dispuesto a suplir esta demanda. Para esto es necesario validar los protocolos de producción y manejo del cultivo, evaluando las tasas de multiplicación *in vitro*, la capacidad de producción y la sobrevivencia de las vitroplantas hasta la etapa de aclimatación. De esta manera se podrá establecer los costos y planificar una producción para satisfacer las demandas existentes de material.

## 1.1 Objetivos

### 1.1.1 Objetivo general

1. Validar los procesos de producción *in vitro* y aclimatación del helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*) en el LCTM de Zamorano.
2. Evaluar los costos de producción *in vitro* y aclimatación del helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*) en el LCTM de Zamorano.

### 1.1.2 Objetivos específicos

1. Evaluar dos sistemas de producción *in vitro* del helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*) utilizando el sistema convencional de multiplicación en tubos de ensayo y el sistema de suspensiones celulares.
2. Evaluar dos concentraciones de Kinetina para la producción *in vitro* del helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*) en el sistema convencional de multiplicación en tubos de ensayo y en el sistema de suspensiones celulares.
3. Evaluar las tasas de multiplicación *in vitro* del helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*).
4. Establecer la tasa de sobrevivencia *ex vitro* en el proceso de aclimatación del helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*).
5. Definir cuál es el mejor sustrato a utilizar durante el proceso de aclimatación para optimizar el desarrollo y aclimatación de las plantas en invernadero.
6. Elaborar una estructura de costos de producción *in vitro* y aclimatación del helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordifolia*).

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 UBICACIÓN**

Este estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación (LCTM) de Zamorano y en los invernaderos de Propagación de la Zamoempresa de Cultivos Intensivos (ZECI), Zamorano, Honduras.

### **2.2 MATERIALES**

#### **2.2.1 Material Vegetal**

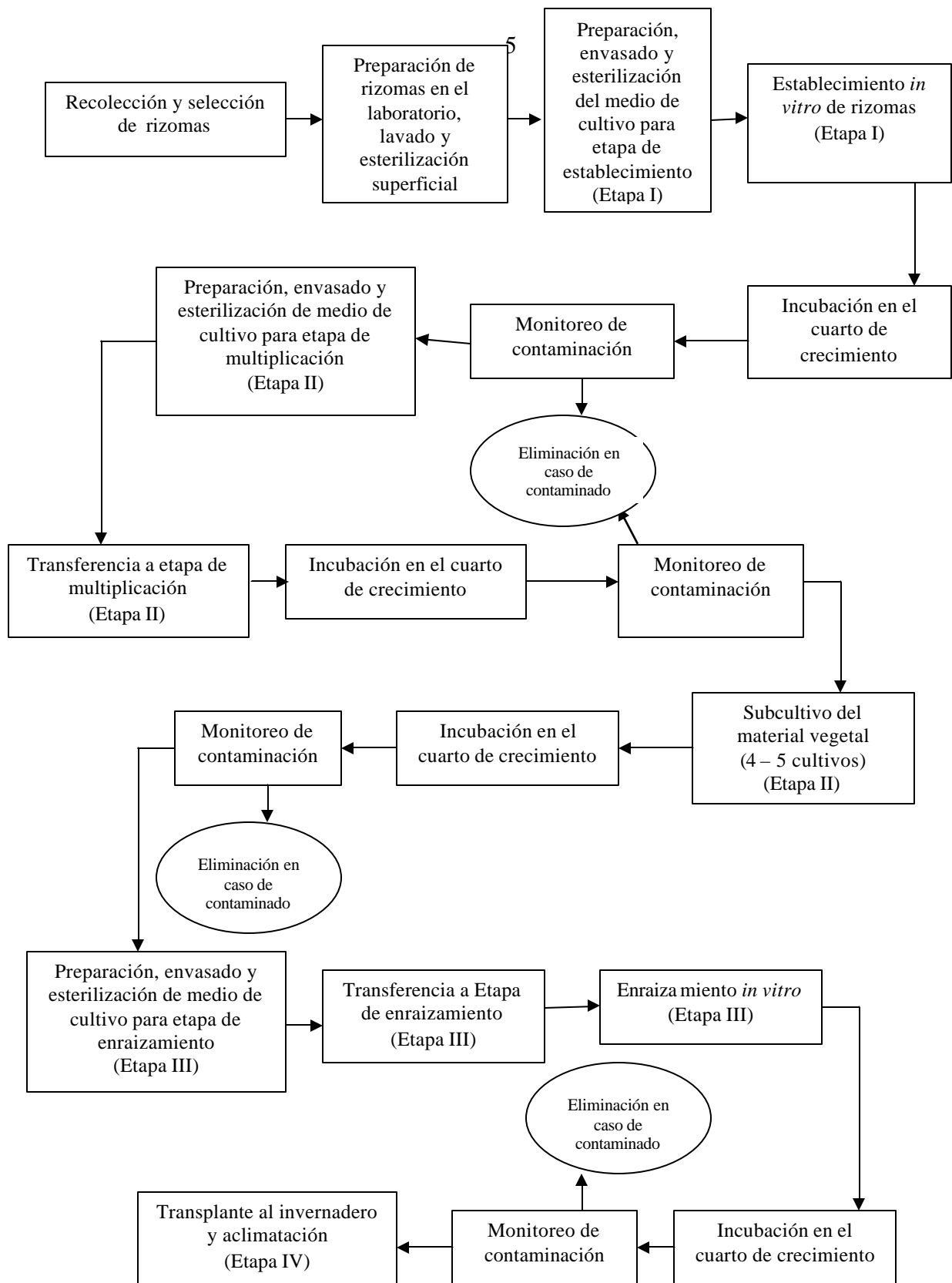
Se utilizaron explantes de rizomas jóvenes en crecimiento activo, que fueron recolectados y seleccionados de los helechos ubicados en la sección de propagación de la ZECI. Se seleccionaron los segmentos de rizomas de las plantas más vigorosas durante los meses de diciembre de 2002 a marzo de 2003.

Por la falta de respuesta en la etapa de establecimiento de los explantes se hizo necesaria la elaboración de suspensiones celulares utilizando material ya establecido en el laboratorio.

### **2.3 PROCEDIMIENTO PARA LA PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE HELECHOS**

#### **2.3.1 Flujo de Actividades**

La producción *in vitro* de helechos incluye una serie de actividades las cuales se presentan a continuación:



**Figura 1.** Flujo del proceso de producción *in vitro* de *Nephrolepis cordifolia*, Zamorano, Honduras, 2003.

## **2.4 PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN, PREPARACIÓN, ESTERILIZACIÓN SUPERFICIAL Y ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE SEGMENTOS DE RIZOMA DE HELECHO EN TUBOS DE ENSAYO**

### **2.4.1 Procedimiento general para la elaboración de medio de cultivo**

Los medios de cultivo que se utilizan en el LCTM de Zamorano para el establecimiento (Cuadro 1), multiplicación (Cuadro 2) y enraizamiento *in vitro* (Cuadro 3) del helecho cola de quetzal son modificaciones de los medios basales de Murashige y Skoog.

El medio se elaboró en bikers de diferentes volúmenes dependiendo del volumen a elaborar. Éstos se llenaron con agua destilada manteniéndola en agitación constante con una barra magnética; poco a poco se añadieron las soluciones de macronutrientes, micronutrientes y hierro, seguido por los demás componentes de acuerdo con el medio que se trabajó. Luego, de agregados todos los componentes, se midió el pH de la solución con un potenciómetro; para nivelarlo se utilizaron soluciones de hidróxido de potasio y ácido clorhídrico. Luego el medio se distribuyó en tubos de 18 x 25 mm de diámetro con una aguja dispensadora automática a razón de 10 ml por tubo. Estos tubos fueron previamente preparados con un puente de papel filtro de 8 x 1.5 cm en donde se colocaron los pequeños explantes. Finalmente, los tubos con medio líquido se llevaron a un autoclave para su esterilización durante 20 minutos a 120°C y 15 PSI de presión.

**Cuadro 1.** Medio de cultivo utilizado para el establecimiento *in vitro* de helechos del género *Nephrolepis* en el LCTM<sup>1</sup>. Zamorano, Honduras, 2003.

| <b>Componente</b>                  | <b>Fórmula</b>                                       | <b>Cantidad (mg/l)</b> |
|------------------------------------|--|------------------------|
| <b>Macroelementos</b>              |  |                        |
| Nitrato de Potasio                 | KNO <sub>3</sub>                                     | 1900.000               |
| Nitrato de Amonio                  | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>                      | 1650.000               |
| Cloruro de Calcio Dihidratado      | CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O                | 440.000                |
| Sulfato de Magnesio Heptahidratado | MgSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O                | 370.000                |
| Fosfato de Potasio Monobásico      | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                      | 170.000                |
| <b>Microelementos</b>              |  |                        |
| Ácido Bórico                       | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                       | 6.200                  |
| Sulfato de Manganeso Monohidratado | MnSO <sub>4</sub> • H <sub>2</sub> O                 | 16.900                 |
| Sulfato de Zinc Monohidratado      | ZnSO <sub>4</sub> • H <sub>2</sub> O                 | 8.600                  |
| Ioduro de Potasio                  | KI   | 0.830                  |
| Molibdato de Sodio Dihidratado     | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> • 2H <sub>2</sub> O | 0.250                  |
| Sulfato de Cobre Pentahidratado    | CuSO <sub>4</sub> • 5H <sub>2</sub> O                | 0.025                  |
| Cloruro de Cobalto Hexahidratado   | CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O                | 0.025                  |
| <b>Hierro</b>                      |  |                        |
| EDTAFeNa                           |  | 50.000                 |
| <b>Hormonas</b>                    |  |                        |
| Kinetina                           |  | 1.000                  |
| ANA                                |  | 0.100                  |
| <b>Vitaminas</b>                   |  |                        |
| Inositol                           |  | 100.000                |
| Tiamina                            |  | 0.400                  |
| <b>Carbohidratos</b>               |  |                        |
| Sacarosa                           |  | 30000.000              |
| <b>pH</b>                          |  | <b>5.7</b>             |

Fuente: Espinal-Rueda. Guía de laboratorio para la producción de plantas *in vitro*. Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación, Zamorano, Honduras, 2001. *In press*.

<sup>1</sup> LCTM= Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación.

**Cuadro 2.** Medio de cultivo utilizado para la multiplicación *in vitro* e iniciación de suspensiones celulares de helechos del género *Nephrolepis* en el LCTM<sup>1</sup>. Zamorano, Honduras, 2003.

| <b>Componente</b>                   | <b>Fórmula</b>                                       | <b>Cantidad (mg/l)</b> |
|-------------------------------------|--|------------------------|
| <b>Macroelementos</b>               |  |                        |
| Nitrato de Potasio                  | KNO <sub>3</sub>                                     | 1900.000               |
| Nitrato de Amonio                   | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>                      | 1650.000               |
| Cloruro de Calcio Dihidratado       | CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O                | 440.000                |
| Sulfato de Magnesio Heptahidratado  | MgSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O                | 370.000                |
| Fosfato de Potasio Monobásico       | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                      | 170.000                |
| <b>Microelementos</b>               |  |                        |
| Ácido Bórico                        | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                       | 6.200                  |
| Sulfato de Managaneso Monohidratado | MnSO <sub>4</sub> • H <sub>2</sub> O                 | 16.900                 |
| Sulfato de Zinc Monohidratado       | ZnSO <sub>4</sub> • H <sub>2</sub> O                 | 8.600                  |
| Ioduro de Potasio                   | KI   | 0.830                  |
| Molibdato de Sodio Dihidratado      | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> • 2H <sub>2</sub> O | 0.250                  |
| Sulfato de Cobre Pentahidratado     | CuSO <sub>4</sub> • 5H <sub>2</sub> O                | 0.025                  |
| Cloruro de Cobalto Hexahidratado    | CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O                | 0.025                  |
| <b>Hierro</b>                       |  |                        |
| EDTAFeNa                            |  | 50.000                 |
| <b>Minerales</b>                    |  |                        |
| Fosfato Monosódico                  | NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                     | 255.000                |
| <b>Hormonas</b>                     |  |                        |
| Kinetina                            |  | 2.000                  |
| ANA                                 |  | 0.100                  |
| <b>Vitaminas</b>                    |  |                        |
| Inositol                            |  | 100.000                |
| Tiamina                             |  | 0.400                  |
| <b>Carbohidratos</b>                |  |                        |
| Sacarosa                            |  | 30000.000              |
| <b>pH</b>                           |  | <b>5.7</b>             |

Fuente: Espinal-Rueda. Guía de laboratorio para la producción de plantas *in vitro*. Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación, Zamorano, Honduras, 2001. *In press*.

<sup>1</sup> LCTM= Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación.

**Cuadro 3.** Medio de cultivo utilizado para el enraizamiento *in vitro* de helechos del género *Nephrolepis* en el LCTM<sup>1</sup>. Zamorano, Honduras, 2003.

| <b>Componente</b>                   | <b>Fórmula</b>                                      | <b>Cantidad (mg/l)</b> |
|-------------------------------------|---|------------------------|
| <b>Macroelementos</b>               |   |                        |
| Nitrato de Potasio                  | KNO <sub>3</sub>                                    | 1900.000               |
| Nitrato de Amonio                   | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>                     | 1650.000               |
| Cloruro de Calcio Dihidratado       | CaCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O                | 440.000                |
| Sulfato de Magnesio Heptahidratado  | MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O                | 370.000                |
| Fosfato de Potasio Monobásico       | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                     | 170.000                |
| <b>Microelementos</b>               |   |                        |
| Ácido Bórico                        | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                      | 6.200                  |
| Sulfato de Managaneso Monohidratado | MnSO <sub>4</sub> •H <sub>2</sub> O                 | 16.900                 |
| Sulfato de Zinc Monohidratado       | ZnSO <sub>4</sub> •H <sub>2</sub> O                 | 8.600                  |
| Ioduro de Potasio                   | KI  | 0.830                  |
| Molibdato de Sodio Dihidratado      | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> •2H <sub>2</sub> O | 0.250                  |
| Sulfato de Cobre Pentahidratado     | CuSO <sub>4</sub> •5H <sub>2</sub> O                | 0.025                  |
| Cloruro de Cobalto Hexahidratado    | CoCl <sub>2</sub> •6H <sub>2</sub> O                | 0.025                  |
| <b>Hierro</b>                       |   |                        |
| EDTAFeNa                            |   | 50.000                 |
| <b>Hormonas</b>                     |   |                        |
| ANA                                 |   | 0.100                  |
| <b>Vitaminas</b>                    |   |                        |
| Inositol                            |   | 100.000                |
| Tiamina                             |   | 0.400                  |
| Ácido Nicotínico                    |   | 0.500                  |
| Piridoxina                          |   | 0.500                  |
| <b>Carbohidratos</b>                |   |                        |
| Sacarosa                            |   | 20000.000              |
| <b>pH</b>                           |   | <b>5.7</b>             |

Fuente: Espinal-Rueda. Guía de laboratorio para la producción de plantas *in vitro*. Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación, Zamorano, Honduras, 2001. *In press*.

<sup>1</sup> LCTM= Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación.

### **2.4.2 Recolección y desinfección de explantes de rizoma de helecho**

Los estolones se escogieron por su intensidad del color, grosor, y estado de la planta madre. Se utilizaron plantas madre vigorosas, con gran cantidad de follaje, cuyos estolones tuviesen un color verde intenso. Se seleccionaron los estolones más gruesos para asegurar una mejor respuesta.

El material vegetal fue transportado al laboratorio donde los estolones fueron seccionados en segmentos de 1.5 cm aproximadamente. Luego, los segmentos se enjuagaron bajo el chorro de agua de la llave por 15 minutos para remover las partículas de polvo. Después del enjuague, los explantes se sumergieron en una solución antioxidante durante 15 minutos en agitación constante. La solución antioxidante consistía de 100 mg/L de ácido ascórbico y 150 mg/L de ácido cítrico. Seguidamente los segmentos de estolón se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio a una concentración de 20% v/v durante 20 minutos. Finalmente, a nivel de la cámara se llevaron a cabo tres enjuagues con agua destilada estéril para eliminar todos los restos de cloro ó antioxidante. Cada enjuague tuvo una duración de 5 minutos.

### **2.4.3 Procedimiento para el establecimiento *in vitro* de segmentos de rizoma de helechos en tubos de ensayo**

La cámara de flujo laminar fue esterilizada con alcohol al 70% para reducir cualquier riesgo de contaminación. Los materiales necesarios para la siembra o el establecimiento fueron colocados dentro de la cámara; entre estos materiales se encuentran: mechero, frascos con agua destilada estéril, platos de Petri estériles, rociadores con alcohol al 70%, tubos con medio de cultivo, bisturís y 3 pinzas.

Después de los tres enjuagues con agua destilada estéril, los segmentos de estolón se colocaron en platos de Petri para remover aproximadamente 0.5 mm de cada extremo del estolón. Este corte se hace para retirar el tejido dañado por la solución desinfectante y así mejorar la absorción de nutrientes del medio por parte del explante. Luego, manteniendo siempre medidas asépticas, los segmentos fueron introducidos individualmente en tubos de ensayo conteniendo medio de establecimiento (Cuadro 1). Cada unidad se colocó sobre un puente de papel filtro cuya función era de dar soporte a los explantes y ponerlos en contacto por capilaridad con el medio de cultivo.

Una vez sembrados los explantes, los tubos fueron sellados con Parafilm, se colocaron en gradillas de 36 unidades y se llevaron al cuarto de crecimiento. En el cuarto de crecimiento los explantes se mantuvieron a una temperatura de 24°C, 16 horas luz y una intensidad lumínica de 2000 lux procedente de lámparas lumínicas fluorescentes del tipo “cool white”.

Se estableció un total de 38 tubos y se esperó durante 4 semanas hasta observar la presencia de brotes listos para ser transferidos a Etapa II.

## **2.5 PROCEDIMIENTO PARA EL ESTABLECIMIENTO DEL SISTEMA DE SUSPENSIONES CELULARES**

Para la desinfección y preparación de la cámara de flujo laminar se siguió el mismo procedimiento descrito en la sección 2.4.3.

Se elaboró el medio de cultivo Etapa II (Cuadro 2) según las especificaciones de la sección 2.4.1. Se prepararon 300 ml de medio de cultivo en 12 Erlenmeyers de 125 ml cada uno, colocando 25 ml de medio de cultivo por contenedor. Los Erlenmeyers con el medio de cultivo se sellaron con papel aluminio y se esterilizaron en un autoclave por 20 minutos a 120 °C y 15 PSI de presión.

Del cuarto de crecimiento se seleccionaron 20 tubos con cultivos de helechos previamente establecidos en el laboratorio y en etapa de subcultivo 2 (S<sub>2</sub>). Luego, a nivel de la cámara flujo laminar se extrajeron los brotes de helecho de los tubos y se colocaron en platos de Petri conteniendo papel filtro. Seguidamente, los brotes de helecho fueron triturados con bisturíes antes de ser suspendidos en el medio líquido. En cada erlenmeyer se colocó el contenido vegetal de 1 a 2 tubos dependiendo del tamaño de los brotes. Los erlenmeyers se sellaron con papel aluminio más parafilm y se mantuvieron en agitación constante a 100 rpm. Se llevó un seguimiento de las suspensiones celulares desde el S<sub>3</sub> hasta la etapa de enraizamiento (Etapa III). Para facilitar este seguimiento se realizó un registro de numeración especificando la etapa del cultivo, el número del contenedor madre y el número del nuevo contenedor subcultivado. Para este estudio se llevaron a cabo 5 subcultivos.

El procedimiento antes descrito se llevo a cabo utilizando dos niveles de Kinetina, 2 y 4 mg/L. Se realizó una comparación de estos niveles con respecto a las multiplicaciones, tomando como variables a medir las tasas de multiplicación, el número de tubos al final de la etapa III y el promedio total de pérdidas al final de la etapa III. Se tuvo 4 repeticiones de 3 erlemeyers cada una para un total de 12 unidades experimentales por tratamiento y 24 unidades experimentales para todo el experimento.

## **2.6 PROCEDIMIENTO PARA EL ESTABLECIMIENTO DEL SISTEMA DE TUBOS DE ENSAYO**

Para la desinfección y preparación de la cámara de flujo laminar se siguió el mismo procedimiento descrito en la sección 2.4.3.

Para este experimento se escogieron 20 tubos con cultivos de helechos previamente establecidos en el laboratorio y en etapa de subcultivo 2 (S<sub>2</sub>), los cuales se dividieron en 4 repeticiones de 5 tubos cada una y se llevó un seguimiento de estos desde el S<sub>3</sub> hasta la etapa de enraizamiento (Etapa III). Para facilitar el seguimiento de los tubos se realizó un registro de numeración especificando la etapa del cultivo, el número del contenedor madre y el número del nuevo contenedor subcultivado.

Los brotes procedentes de los tubos en el S<sub>2</sub> fueron cortados en platos de Petri y se dividieron en 3 o 4 secciones dependiendo del tamaño del brote inicial, luego estos brotes individuales se colocaron en tubos sobre papel filtro en la S<sub>3</sub>. Los brotes individuales tenían tamaños de alrededor de 2 cm de diámetro. Los brotes individuales se mantuvieron en el cuarto de crecimiento durante 4 semanas antes de proceder al S<sub>4</sub> y así sucesivamente durante los siguientes subcultivos. Según Alan y Espinal (1997), para la propagación *in vitro* de helecho Cola de Quetzal se llevan a cabo de 3 – 4 subcultivos. En esta investigación se realizaron 5 subcultivos.

Para la etapa de multiplicación en tubos de ensayo se llevó a cabo la misma comparación de los niveles de Kinetina descritos para las tasas de multiplicación en el sistema de suspensiones celulares en la sección 2.5.1. Se compararon las tasas de multiplicación en tubos contra las suspensiones utilizando las mismas variables.

## **2.7 PROCEDIMIENTO PARA EL ENRAIZAMIENTO IN VITRO DE HELECHOS**

Para la desinfección y preparación de la cámara de flujo laminar se siguió el mismo procedimiento descrito en la sección 2.4.3.

Para el enraizamiento *in vitro* de helechos se trató de hacer el menor daño a los tejidos de los brotes al dividirlos. Los brotes individuales se transfirieron a medio Etapa III o enraizamiento (Cuadro 3), en el cual se suprime la Kinetina pero se mantiene la concentración de ANA, además de que se incrementan el tipo y la cantidad de vitaminas (añadiendo ácido nicotínico y piridoxina) que estimulen y promuevan el desarrollo del sistema radicular. Los brotes individuales se colocaron en puentes de papel filtro colocados previamente dentro de tubos de ensayo los cuales se sellaron con parafilm y se llevaron al cuarto de crecimiento. Las vitroplantas se mantuvieron de 3 a 4 semanas en el cuarto de crecimiento hasta que desarrollaron suficientes raíces para facilitar su supervivencia bajo condiciones *ex vitro*.

## **2.8 EVALUACIÓN DE LAS TASAS DE MULTIPLICACIÓN Y PÉRDIDAS**

### **2.8.1 Tasa de Multiplicación (TM)**

Las Tasas de Multiplicación se midieron al final de cada subcultivo con la fórmula pre-establecida que se expone a continuación:

$$TMFS_n = \frac{\text{Contenedores no contaminados al final del subcultivo}}{\text{Contenedores al inicio de la etapa I}}$$

\*Fórmula obtenida de Lara, A. (2001)

Para llevar a cabo esta medición al iniciar cada cultivo, se llevó un registro del número de contenedores obtenidos a partir de cada contenedor establecido en el subcultivo anterior. Este registro se estableció a partir del S<sub>3</sub> hasta la etapa III, tanto para los tubos de ensayo como para las suspensiones celulares.

### **2.8.2 Promedio Total de Pérdidas (PTP)**

Después de realizado cada subcultivo, se evaluó el número de contenedores contaminados para obtener el Promedio total de contaminados (PTC). También se contabilizó el número total de frascos con material perdido por oxidación o porque no haya presentado una respuesta favorable luego de 8 semanas de subcultivado o transferido, para obtener el Promedio Total de Mortalidad (PTM). Los promedios se obtienen sumando el número total de todos los frascos contaminados y muertos en cada transferencia, divididos para el número de transferencias (Lara, 2001). De esta manera se calculó el Promedio Total de Pérdida para cada sistema utilizando la siguiente fórmula:

$$PTP = PTC + PTM$$

\*Fórmula obtenida de Lara, A. (2001)

## **2.9 PROCEDIMIENTO PARA LA ACLIMATACIÓN DE HELECHOS**

### **2.9.1 Preparación y pasteurización de los substratos**

Se elaboraron tres substratos para evaluar el crecimiento y desarrollo de las plantas en cada uno de ellos. Los substratos que se utilizaron se exponen a continuación:

- a) Substrato A: Se utilizó el substrato recomendado por Castro, A. (1999) que usó una combinación de arena y compost en una proporción de 2:1. Este substrato es el usado por el LCTM.
- b) Substrato B: Para elaborar este substrato se usaron los compuestos utilizados por la ZECI en la elaboración del medio para maceteros colgantes, los cuales consisten en: casulla, compost, arena, musgo y fibra de coco. Estos se mezclaron en una proporción de 5:3:1:1:1 respectivamente.
- c) Substrato C: Se utilizó el substrato recomendado por Botanic (2001) que consistió en una mezcla de compost, musgo, arena y carbón en una proporción de 3:1:1:2.

Estos substratos se pasteurizaron a una temperatura de 80 °C por 1 hora aproximadamente.

### 2.9.2 Establecimiento del experimento de aclimatación de helechos

Para cada sustrato se evaluaron 3 repeticiones de 25 plantas cada una. Cada repetición se colocó en la mitad de una bandeja múltiple de 50 plantas, por lo que cada bandeja contenía dos repeticiones. Para la evaluación de los tratamientos se utilizó una distribución de bloques completos al azar.

Una vez sembradas las vitroplantas las bandejas se colocaron dentro de microinvernaderos. Según Castro (1999), los microinvernaderos consisten en una tabla de 56 x 30 cm, con tres perforaciones a cada lado de la tabla en las cuales se colocan arcos de alambre que sostienen el plástico que cubre a las plantas. Los microinvernaderos fueron mantenidos en invernaderos de cristal de tipo A de la sección de propagación de la ZECI.

Las plantas de helecho en aclimatación se regaron dos veces al día, primero a las 7:00 am y luego a las 3:30 pm. Los riegos se llevaron a cabo con un aspersor manual el cual se introducía dentro de los microinvernaderos y se asperjaba. Estos riegos se llevaron a cabo durante las 4 semanas de duración del experimento. Este experimento se llevó a cabo desde mediados de Agosto hasta mediados de Septiembre, 2003.

Este ensayo se realizó únicamente para la primera fase de endurecimiento de la etapa de aclimatación en la cual las plantas se mantienen en bandejas múltiples de 4 – 5 semanas antes de pasar a la fase dos en la cual las plantas son transplantadas a contenedores individuales.

### 2.9.3 Medición de las variables evaluadas

Para evaluar los resultados de cada sustrato se tomaron los siguientes criterios y formas de evaluación de las variables:

**Sobrevivencia.** Para cada uno de los tratamientos se evaluó el número de plantas sobrevivientes a la etapa de aclimatación. Esta evaluación se realizó en la 4ta semana después del transplante a bandejas múltiples (4SDT<sub>bm</sub>).

**Cantidad de follaje de la planta.** Para cada tratamiento se evaluó el número de hojas por planta, para poder establecer un promedio de masa foliar por tipo de sustrato. Esta evaluación se realizó a la mitad (2SDT<sub>bm</sub>) y al final de la primera fase de aclimatación (4SDT<sub>bm</sub>). Además, para cada tratamiento se llevó a cabo una comparación en el incremento de masa foliar entre estas dos tomas.

**Altura de la planta.** A partir de 2SDT<sub>bm</sub>, se midió semanalmente (durante tres semanas) la altura de las plantas, para poder establecer el patrón de desarrollo y crecimiento a lo largo de esta fase. Estas mediciones se llevaron a cabo hasta 4SDT<sub>bm</sub>.

**Apariencia (frondosidad e intensidad del color).** A las 4SDT<sub>bm</sub>, las plantas fueron evaluadas cualitativamente con base en diferentes grados de apariencia. Estos grados se

establecieron en una escala de 1 a 5, siendo las plantas 1 las de mejor apariencia y 5 las de apariencia más deteriorada.

## **2.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis de los dos experimentos se utilizó un diseño de bloques completos al azar. Para definir cual es el mejor tratamiento se realizó un análisis de los promedios utilizando un ANDEVA y una separación de medias. Este análisis se llevó a cabo con el programa estadístico MINITAB® 13, con un nivel de significancia de 0.05.

Para el análisis de los porcentajes se utilizó la función ARSIN (SQRT) del programa estadístico SAS®.

## **2.11 ANÁLISIS DE COSTOS**

Se procedió a definir los costos en dos clasificaciones: Costos Variables y Costos fijos.

Se tomaron como costos variables: mano de obra (tomando como base el sueldo de las técnicas que laboran en el LCTM), materias primas y otros insumos. Entre los costos fijos se tomaron en cuenta los gastos por servicios, gastos administrativos y gastos por depreciación de equipo.

De acuerdo con Backer y Jacobsen (1967), el costo unitario del producto se calcula al dividir los costos totales del proceso entre el número de unidades producidas. Los costos unitarios totales se evaluaron dividiendo los costos totales de producción entre el número de plantas aclimatadas en las bandejas múltiples.

El análisis de los costos se realizó utilizando el programa Excel® de Microsoft®. Estos costos unitarios se utilizaron para calcular un precio de venta con base en 50% de ganancia sobre los costos.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 ETAPA DE ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE SEGMENTOS DE RIZOMA

En la etapa de establecimiento se tuvo muy poca respuesta por parte de los explantes, perdiéndose la mayoría por muerte y oxidación. De los 38 explantes establecidos, descritos en la sección 2.4.3, solamente formaron brote 5, esto posiblemente se debió a una mala práctica al tratar de limpiar las vellosidades de los segmentos dañando, de esta forma las yemas mientras eran preparados los segmentos para el establecimiento.

#### 3.2 ETAPA DE MULTIPLICACIÓN A PARTIR DEL SUBCULTIVO 2 (S<sub>2</sub>)

##### 3.2.1 Tasas de Multiplicación (TM)

Del análisis de los resultados estadísticos del número de tubos al final de la etapa III se concluyó que no existió una diferencia significativa en la concentración de hormona utilizada independientemente del sistema que se utilizó. De igual manera no se presentó ninguna diferencia estadística en la interacción de la kinetina con el tipo de sistema usado. Sin embargo si existió diferencia en el sistema de producción en el cual se llevaron a cabo las multiplicaciones (Anexo 1), siendo las suspensiones el sistema en el que se obtuvo un mayor número de tubos al final de la etapa III con un promedio de 632 (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Número de contenedores iniciales y finales desde el subcultivo 2 (S<sub>2</sub>) hasta la etapa de enraizamiento *in vitro* utilizando dos sistemas de producción de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.

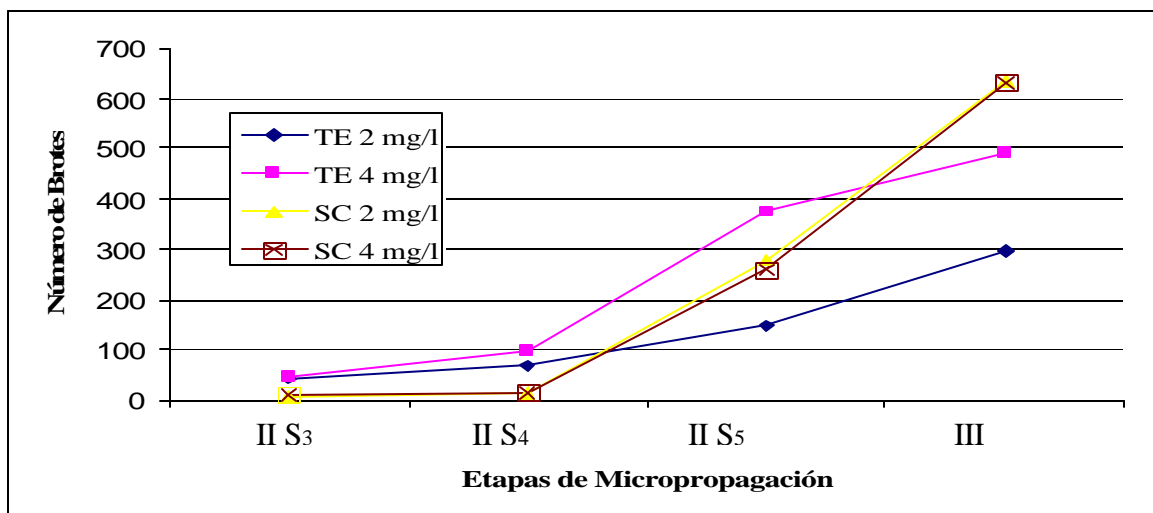
| Sistema de multiplicación | Kinetina (mg/l) | No. inicial de contenedores en el S <sub>2</sub> | No. final de contenedores en etapa III | TM <sub>F<sub>III</sub></sub> |
|---------------------------|-----------------|--|--|-------------------------------|
| Tubos de ensayo           | 2               | 20   | 297.0b                                 | 14.9                          |
| Tubos de ensayo           | 4               | 20   | 490.0b                                 | 24.5                          |
| Suspensiones Celulares    | 2               | 20   | 635.0a                                 | 31.8                          |
| Suspensiones Celulares    | 4               | 20   | 632.0a                                 | 31.6                          |

TM<sub>F<sub>III</sub></sub>= Tasas de Multiplicación al Final de la Etapa III

Según los cálculos de las tasas de multiplicación la mejor TM (31.8) a partir del S<sub>2</sub> y hasta el final de la etapa III, se encontró utilizando suspensiones celulares con un nivel de 2 mg/l de kinetina (Cuadro 4). Esta TM significa que a partir de cada tubo inicial que se tomó en S<sub>2</sub> y que fue subcultivado en el sistema de suspensiones celulares que contengan 2 mg/l de kinetina se obtienen 31.8 tubos al final de la etapa III.

Según lo reportado por Ziv (1999), durante las multiplicaciones de Helecho Bostoniense (*Nephrolepis exaltata*) en suspensiones celulares se obtuvieron incrementos de 21% a 80% en los niveles de O<sub>2</sub>, lo que incrementa los valores desde 61% a 92% en el crecimiento de los brotes. Estos niveles de O<sub>2</sub> en el medio se ven incrementados debido a la agitación constante a que son sometidas las suspensiones por lo que se obtienen mejores tasas de multiplicación que en el sistema convencional de tubos de ensayo.

En muchas especies la formación de brotes parece estar asociada con la continua inmersión, circulación y agitación de la biomasa foliar suspendida en el medio líquido, así como con un balance en las concentraciones de promotores de crecimiento (Ziv, 1999). Esto puede explicar la mayor formación de brotes en las plantas propagadas por suspensiones celulares que en aquellas propagadas en tubos de ensayo (Figura 2).



TE= Multiplicación convencional en tubos de Ensayo. SC= Multiplicación en suspensiones celulares.

**Figura 2.** Aumento en el número de brotes de acuerdo a la etapa o subcultivo en el proceso de producción *in vitro* de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.

### 3.2.2 Promedio Total de Pérdida (PTP)

De acuerdo con Ziv (1999) los sistemas líquidos con continua agitación tienen ventajas sobre aquellos sin agitación porque se aumenta el contacto de la planta con el medio de

cultivo, se aumenta el intercambio gaseoso con el medio y se reduce la contaminación al reducirse el manipuleo manual. Esto explica la reducida contaminación que presentaron las suspensiones en comparación con los tubos de ensayo como se puede apreciar en el Cuadro 5.

En cuanto al nivel de kinetina a utilizar e independientemente del sistema utilizado o en la interacción hormona\*sistema no existió una diferencia significativa de PTP. Sin embargo, si existió una diferencia en el tipo de sistema a utilizar (Anexo 2). Los menores PTP se presentaron al utilizar el sistema de producción en suspensiones celulares (Cuadro 5).

Como puede observarse en el Cuadro 5 los PTP se debieron a las pérdidas por contaminación (PTC) ya que no se encontraron brotes muertos (PTM) en estas etapas del proceso de producción.

**Cuadro 5.** Pérdida total promedio (PTP) de contenedores al final de la etapa III en dos sistemas de producción *in vitro* de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.

| Sistema de multiplicación | Kinetina (mg/l) | PTM | PTC | PTP <sub>EIII</sub> |
|---------------------------|-----------------|-----|-----|---------------------|
| Tubos de ensayo           | 2               | 0   | 9.3 | 9.3b                |
| Tubos de ensayo           | 4               | 0   | 8.5 | 8.5b                |
| Suspensiones celulares    | 2               | 0   | 4.5 | 4.5a                |
| Suspensiones celulares    | 4               | 0   | 3.3 | 3.3a                |

PTM= Promedio Total de Mortalidad

PTC= Promedio Total de Contaminación

PTP= Promedio Total de Pérdidas

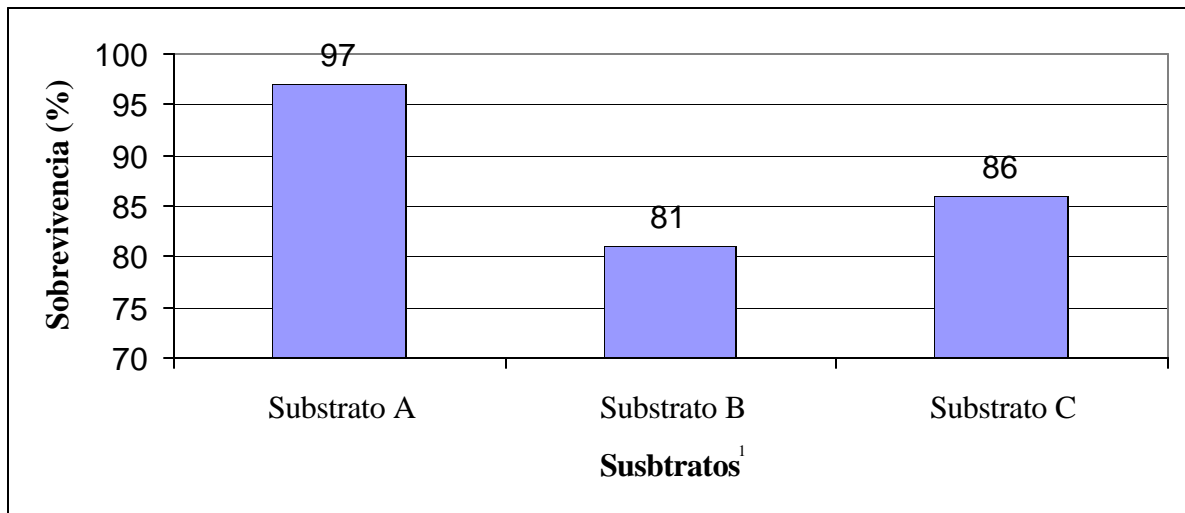
### 3.3 ACLIMATACIÓN

Del análisis que se llevó a cabo de las variables de aclimatación, descritas en la sección 2.8.3 se obtuvieron los siguientes resultados:

#### 3.3.1 Sobrevivencia

Las diferencias en los porcentajes de sobrevivencia no fueron estadísticamente significativas, esto debido a la gran variabilidad en los datos obtenidos durante el experimento (Anexo 3). Como se puede observar en la Figura 3 existe una tendencia a mayor sobrevivencia (97%) de las vitroplantas en el sustrato A.

En un estudio realizado por Roselló (2003) se pudo observar que las mezclas de casulla, arena y fibra de coco no son aconsejables ya que el desarrollo del sistema radicular en comparación con el sistema aéreo no es adecuado. En algunos casos la fibra de coco puede presentar problemas con valores de salinidad perjudiciales. Esto puede explicar la menor sobrevivencia (81%) en el sustrato B (Figura 3).



<sup>1</sup> Substrato A= arena y compost (2:1)

Substrato B= casulla, compost, arena, musgo y fibra de coco (5:3:1:1:1)

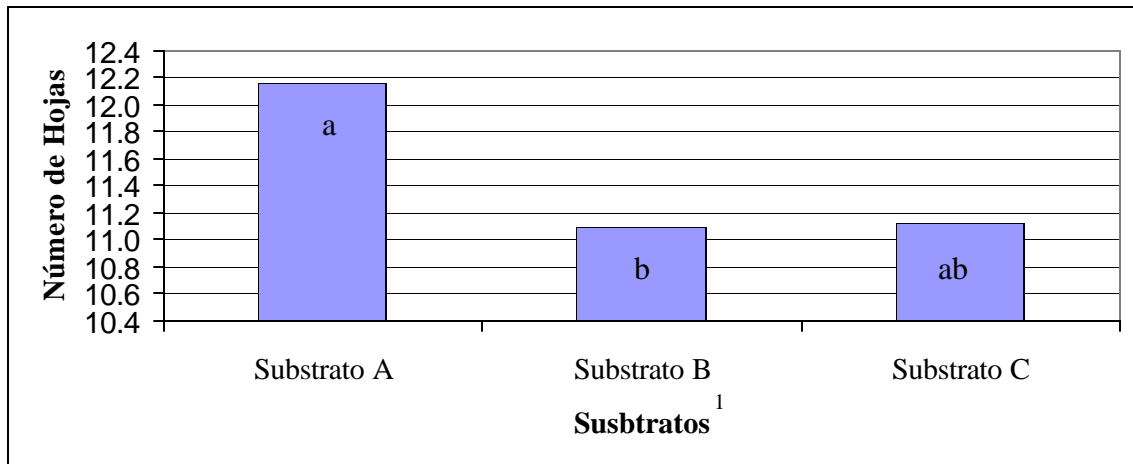
Substrato C= compost, carbón , arena y musgo (3:2:1:1)

**Figura 3.** Efecto del tipo de sustrato en la sobrevivencia durante la aclimatación de vitroplantas de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano. Honduras, 2003.

### 3.3.2 Cantidad de follaje de la planta

Como se puede apreciar en la Figura 4, la mejor respuesta en crecimiento en la cantidad de follaje de la planta se obtuvo con el sustrato A con un promedio de 12 hojas por planta, aunque este sustrato no presentó una diferencia significativa con respecto a sustrato C que presenta un promedio de 11 hojas por planta (Figura 4).

Según Brown (2001), la excesiva humedad que se retiene en algunos medios puede incrementar la incidencia de enfermedades foliares y aumentar los daños por hongos. Esto explica porque el número de hojas es mayor en el sustrato con mayor cantidad de arena, puesto que este no retiene grandes porcentajes de humedad y se reduce el número de hojas que se pierde por daños foliares.



<sup>1</sup> Substrato A= arena y compost (2:1)

Substrato B= casulla, compost, arena, musgo y fibra de coco (5:3:1:1:1)

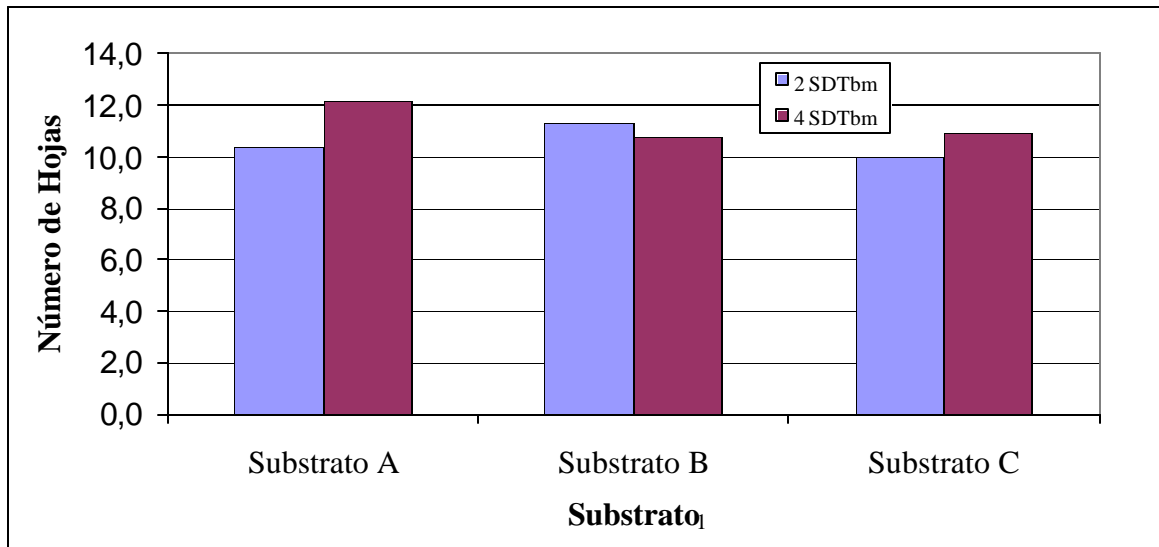
Substrato C= compost, carbón, arena y musgo (3:2:1:1)

Letras diferentes significan diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ) con la prueba Tukey.

**Figura 4.** Efecto del tipo de sustrato en el número de hojas durante la aclimatación de vitroplantas de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.

De acuerdo con la Figura 5, el mayor aumento en el número de hojas de la semana 2 a la semana 4 después del trasplante a bandejas múltiples, se presentó en el Substrato A debido a que en este sustrato las plantas encontraron mejores condiciones *ex vitro* para su desarrollo.

Según el estudio realizado por Roselló (2003), la casulla de arroz debe usarse únicamente como un acompañante y no como material principal ya que un exceso de este componente no permite que pase el agua lo que a su vez impide que el sustrato se humedezca.



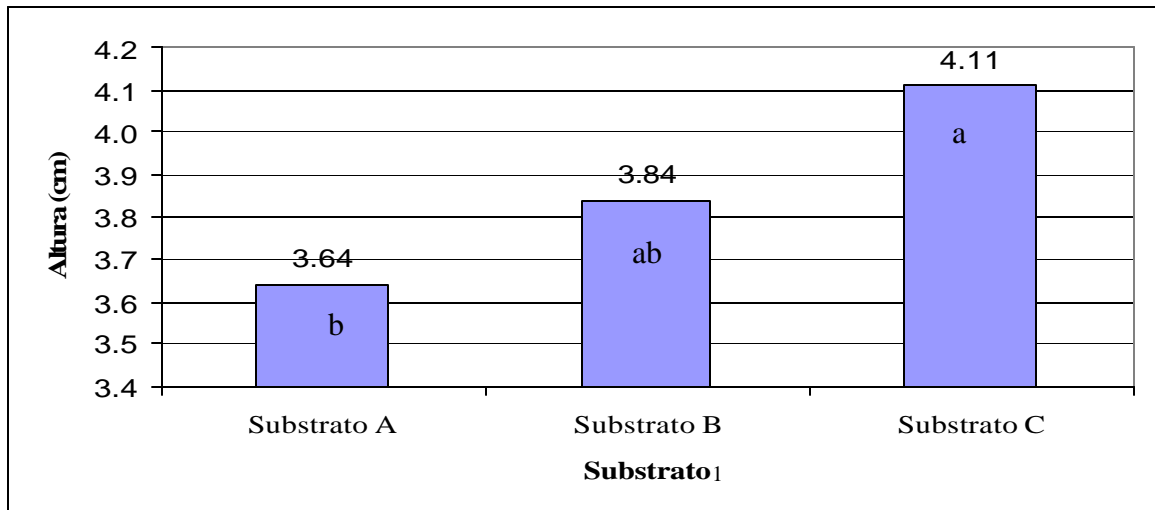
<sup>1</sup> Substrato A= arena y compost (2:1)  
 Substrato B= casulla, compost, arena, musgo y fibra de coco (5:3:1:1:1)  
 Substrato C= compost, carbón, arena y musgo (3:2:1:1)  
 SDTbm= Semanas Después de Transplante a bandejas múltiples.

**Figura 5.** Efecto del tipo de sustrato en el incremento en masa foliar durante la aclimatación de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.

### 3.3.3 Altura de la planta

Como se puede observar en la Figura 6, la mayor altura promedio de las plantas se observó en el sustrato C (4.11 cm). Este mayor desarrollo puede deberse a la presencia de mayor cantidad de compost en este sustrato, el cual permitió una mayor disponibilidad de nutrientes que apoyaban el crecimiento de las vitroplantas. Aunque este sustrato no presentó una diferencia significativa en cuanto a altura de la planta con respecto al sustrato B.

Por otro lado, el sustrato A presentó la menor altura promedio (3.64) lo cual pudo deberse a que la planta utilizó los nutrientes en desarrollar un mayor número de hojas (Figura 4) que en desarrollar altura (Figura 6) por lo que esto retrazó el crecimiento. Este hecho también se evidenció en el campo donde las plantas con mayor número de hojas presentaban las menores alturas.



<sup>1</sup> Substrato A= arena y compost (2:1)

Substrato B= casulla, compost, arena, musgo y fibra de coco (5:3:1:1:1)

Substrato C= compost, carbón, arena y musgo (3:2:1:1)

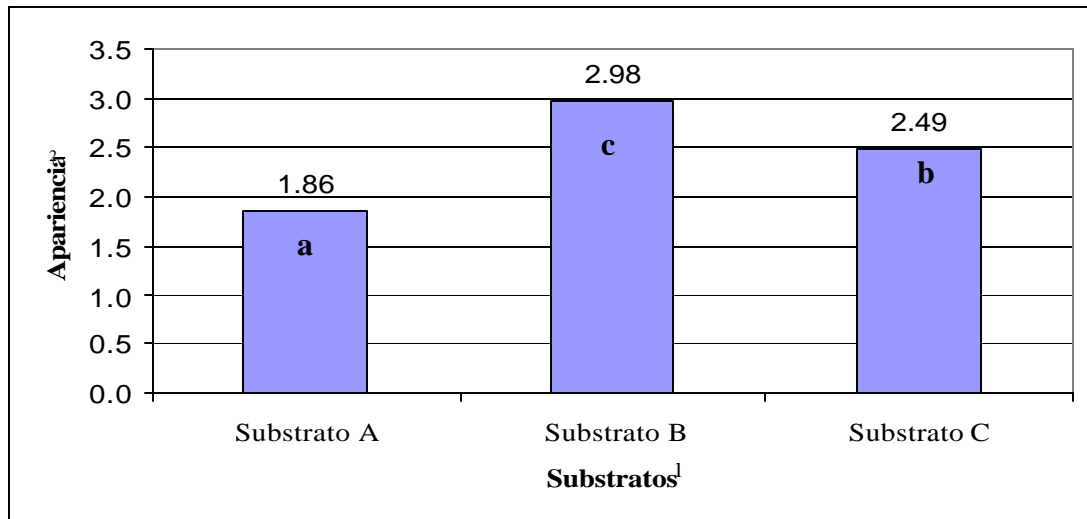
Letras diferentes significan diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $P < 0.10$ ) con la prueba Tukey.

**Figura 6.** Efecto del tipo de sustrato en la altura de vitroplantas durante la aclimatación de *Nephtrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.

### 3.3.4 Apariencia

Las plantas con mejor apariencia (1.86) se obtuvieron utilizando el sustrato B (Figura 7). Estas plantas presentaban un color más verde y lucían más vigorosas. La mejor apariencia de las plantas aclimatadas con sustrato B se puede explicar por una mejor disponibilidad de nutrientes que tuvieron al ser aclimatadas con este sustrato.

De acuerdo al estudio realizado por Roselló (2003) los sustratos con mayor cantidad de compost fueron los que presentaron un mejor desarrollo, ya que este posee una buena cantidad de nutrientes de forma natural, aunque puede ser muy variable. La arena por su parte otorga un mejor drenaje al sustrato, lo que viene a complementar el desarrollo de plantas con mejor apariencia.



<sup>1</sup> Substrato A= arena y compost (2:1)

Substrato B= casulla, compost, arena, musgo y fibra de coco (5:3:1:1:1)

Substrato C= compost, carbón, arena y musgo (3:2:1:1)

<sup>2</sup> 1: buena cantidad de follaje, verde brillante y vigorosas. 2: buena cantidad de follaje y verde un poco palido

3: algunas hojas dañadas, verde un poco palido y pequeñas 4: hojas secas, verde palido y poca cantidad de hojas

5: muchas hojas secas, verde muy palido y muy pocas hojas

Letras diferentes significan diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ).

**Figura 7.** Efecto del tipo de sustrato en la apariencia de vitroplantas durante la aclimatación de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.

### 3.4 ANÁLISIS DE COSTOS

#### 3.4.1 Costos Variables

Según Ziv (1999), una de las ventajas de los sistemas mecanizados y automatizados, como ser las suspensiones celulares, es la reducción en los costos por mano de obra y la reducción del manipuleo manual. Este ahorro en los costos se evidencia más en las etapas *in vitro*, ya que los costos *ex vitro* dependen más bien de la cantidad de plantas resultado de las multiplicaciones en el laboratorio (Cuadro 6). La reducción de los costos de mano de obra al utilizar suspensiones celulares es resultado de una menor cantidad de horas-hombre a nivel de las cámaras de flujo laminar durante los primeros subcultivos de la etapa II de multiplicación comparadas con las horas-hombre invertidas para la multiplicación en tubos de ensayo.

En general los costos más altos se dieron en la etapa de aclimatación por el costo de los sustratos utilizados y la cantidad de horas trabajadas durante el proceso de aclimatación de las plantas. Los costos variables por definición aumentan dependiendo del número de unidades producidas, es por esto que los costos variables son mayores en la producción de *Nephrolepis cordifolia* al utilizar el sistema de suspensiones celulares y aclimatar las

vitroplantas con el sustrato B (Cuadro 6). La descripción detallada de la distribución de los costos variables puede observarse en Anexos 7 a 21.

**Cuadro 6.** Costos variables incurridos en la producción *in vitro* de *Nephrolepis cordifolia* utilizando dos sistemas de multiplicación y dos concentraciones de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.

| SP | Kinetina<br>(mg/l) | Sustrato <sub>1</sub> | Costos (\$) |                    |      |         |        | Total  |
|----|--------------------|-----------------------|-------------|--------------------|------|---------|--------|--------|
|    |                    |                       | MC          | Mano<br>de<br>Obra | ES   | Insumos | Aclim  |        |
| TE | 2                  | Substrato A           | 5.16        | 43.17              | 2.26 | 60.74   | 127.05 | 238.33 |
| TE | 2                  | Substrato B           | 5.16        | 43.17              | 2.26 | 60.74   | 119.87 | 231.20 |
| TE | 2                  | Substrato C           | 5.16        | 43.17              | 2.26 | 60.74   | 123.67 | 235.00 |
| TE | 4                  | Substrato A           | 8.98        | 49.73              | 2.26 | 63.34   | 212.18 | 336.59 |
| TE | 4                  | Substrato B           | 8.98        | 49.73              | 2.26 | 63.34   | 200.25 | 324.61 |
| TE | 4                  | Substrato C           | 8.98        | 49.73              | 2.26 | 63.34   | 206.37 | 330.70 |
| SC | 2                  | Substrato A           | 6.71        | 31.49              | 1.96 | 32.29   | 271.77 | 344.52 |
| SC | 2                  | Substrato B           | 6.71        | 31.49              | 1.96 | 32.29   | 254.14 | 326.59 |
| SC | 2                  | Substrato C           | 6.71        | 31.49              | 1.96 | 32.29   | 264.13 | 336.58 |
| SC | 4                  | Substrato A           | 6.78        | 28.36              | 1.96 | 27.68   | 272.88 | 337.66 |
| SC | 4                  | Substrato B           | 6.78        | 28.36              | 1.96 | 27.68   | 257.22 | 322.00 |
| SC | 4                  | Substrato C           | 6.78        | 28.36              | 1.96 | 27.68   | 265.30 | 330.08 |

SP= Sistemas de Producción

TE= Tubos de Ensayo

SC= Suspensiones Celulares

MC= Medio de Cultivo

ES= Esterilización Superficial

Aclim= Aclimatación

<sup>1</sup> Substrato A= arena y compost (2:1)

Substrato B= casulla, compost, arena, musgo y fibra de coco (5:3:1:1:1)

Substrato C= compost, carbón, arena y musgo (3:2:1:1)

### 3.4.2 Costos fijos

Dentro de los gastos por servicios no se pudieron incluir los gastos por agua y electricidad, esto se debió a que el edificio donde se encuentra el LCTM no cuenta con medidores propios lo que imposibilitó la toma de las mediciones específicas del laboratorio.

Los costos fijos del LCTM se calculan en 15896.22 US\$ (Cuadro 7), siendo el mayor de estos costos los relativos a la administración. En estos costos administrativos no se incluyeron los sueldos de las técnicas permanentes puesto que estos se tomaron como mano de obra.

El porcentaje de participación de los hehechos dentro de los costos del laboratorio es de aproximadamente 10%<sup>1</sup> lo cual deja como costos fijos del cultivo la cantidad de 1589.62 US\$. Estos costos fijos se dividieron entre las 12 combinaciones de contenedor, concentración de kinetina y substratos utilizados en el experimento. El detalle de los costos fijos puede observarse en Anexos 22 a 24.

**Cuadro 7.** Costos Fijos del Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación (LCTM). Zamorano, Honduras, 2003.

| <b>Costo por cuestión de:</b> | <b>Valor (\$)</b> |
|-------------------------------|-------------------|
| Servicios                     | 391.06            |
| Depreciación                  | 1908.15           |
| Administración                | 13597.01          |
| <b>Total</b>                  | <b>15896.22</b>   |

### 3.4.3 Costos unitarios

De acuerdo con Backer y Jacobsen (1967), el costo unitario del producto se calcula al dividir los costos totales del proceso entre el número de unidades producidas, por lo que al producirse mayor número de unidades el costo de éstas se ve reducido por la distribución de los costos fijos. Como se puede observar en el Cuadro 8, los menores costos de producción se presentaron al utilizar 2 mg/l de kinetina en suspensiones celulares como sistema de producción *in vitro* y utilizando como substrato de aclimatación el utilizado por el LCTM, con un costo de producción unitario de \$0.77/ planta.

<sup>1</sup> Comunicación personal. Porcentaje de participación de los diferentes cultivos en el LCTM. M Sc. Dinie de Rueda. Zamorano, Honduras. 2003.

**Cuadro 8.** Costos unitarios en la producción *in vitro* de *Nephrolepis cordifolia* en dos sistemas de producción *in vitro*, dos niveles de kinetina y tres tipos de sustratos para aclimatación. Zamorano, Honduras, 2003.

| Sistema de producción | Kinetina (mg/l) | Sustrato    | Número de plantas | Costos (\$) |           | Precio de venta (\$) por planta |
|-----------------------|-----------------|-------------|-------------------|-------------|-----------|---------------------------------|
|                       |                 |             |                   | Total       | Unitarios |                                 |
| TE                    | 2               | Substrato A | 289               | 370.52      | 1.28      | 1.92                            |
| TE                    | 2               | Substrato B | 242               | 363.38      | 1.50      | 2.25                            |
| TE                    | 2               | Substrato C | 258               | 367.19      | 1.42      | 2.13                            |
| TE                    | 4               | Substrato A | 477               | 468.78      | 0.98      | 1.47                            |
| TE                    | 4               | Substrato B | 399               | 456.80      | 1.14      | 1.71                            |
| TE                    | 4               | Substrato C | 425               | 462.78      | 1.09      | 1.63                            |
| SC                    | 2               | Substrato A | 618               | 476.71      | 0.77      | 1.15                            |
| SC                    | 2               | Substrato B | 516               | 458.78      | 0.89      | 1.33                            |
| SC                    | 2               | Substrato C | 550               | 468.77      | 0.85      | 1.27                            |
| SC                    | 4               | Substrato A | 615               | 469.85      | 0.76      | 1.14                            |
| SC                    | 4               | Substrato B | 514               | 454.19      | 0.88      | 1.32                            |
| SC                    | 4               | Substrato C | 548               | 462.27      | 0.84      | 1.26                            |

TE= Tubos de Ensayo SC= Suspensiones Celulares

## 4. CONCLUSIONES

Para la etapa de multiplicación *in vitro* las tasas más altas de multiplicación (31.8) se obtuvieron utilizando un sistema de suspensiones celulares.

Dentro de cada uno de los sistemas evaluados, el aumento en la concentración de kinetina no tuvo ninguna diferencia significativa en las tasas de multiplicación.

Los Promedios de Pérdida Totales se ven reducidos al utilizar suspensiones celulares como sistema de producción *in vitro*.

Para la etapa de aclimatación, las vitroplantas presentaron una respuesta más favorables utilizando el sustrato A.

El sustrato C por ser una modificación del utilizado para plantas colgantes, no presentó las características adecuadas para la aclimatación de los helechos, lo cual no significa que sea de mala calidad, sino que simplemente no reúne las condiciones adecuadas para aclimatar y endurecer vitroplantas de helecho recién salidas del laboratorio.

La forma más económicamente factible de producción de *Nephrolepis cordifolia* es utilizando suspensiones celulares con niveles de 2 mg/l de kinetina y aclimatando las plantas con el sustrato A.

El tiempo requerido para obtener una planta desde la etapa de establecimiento hasta aclimatación es de aproximadamente 7.5 meses.

Se obtuvo un total aproximado de 31 plantas al final del proceso a partir de un tubo en el subcultivo S<sub>2</sub>.

## 5. RECOMENDACIONES

Basar las multiplicaciones y subdivisiones de esta especie utilizando suspensiones celulares con un nivel de kinetina de 2 mg/l.

Efectuar un estudio acerca de los efectos de la kinetina en interacción con la auxina ANA que en algunas investigaciones ha demostrado mejorar los efectos de la kinetina en la respuesta de las vitroplantas.

Realizar la aclimatación de *N. cordifolia* utilizando el substrato A.

Realizar este mismo estudio con otras especies de plantas producidas en el LCTM, para basar los precios de venta en los costos y márgenes de ganancia.

Para futuras evaluaciones de substratos para aclimatación, se recomienda llevar a cabo mediciones de las condiciones ambientales presentes en el sitio y análisis de fertilidad de los substratos, ya que estos pueden tener un efecto en la respuesta de las plantas a los substratos.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Backer, M; Jacobsen, L. 1967. Contabilidad de costos: un enfoque administrativo y de gerencia. McGraw'Hill, Inc. Estados Unidos. 722 p.

Botanic. 2001. *Nephrolepis* (Nephrole'pis) (En línea). Consultado el 30 de Enero de 2003. Disponible en: <http://www.botany.com/nephrolepis.htm>

Brown, D. 2001. Growing tropical ferns indoors. Yard & Garden Brief. Universidad de Minnesota. (En línea). Consultado el 29 de Septiembre de 2003. Disponible en: <http://www.extension.umn.edu/projects/yardandgarden/ygbriefs/h148ferns.html>

Castro, A. 1999. Aclimatación de dos especies de helecho propagadas *in vitro*: *Nephrolepis exaltata* cv. Bostoniensis (helecho bostoniensis) y *Nephrolepis cordigera* (helecho cola de quetzal). Tesis Ing. Agr. Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 22 p.

Espinal, D.; Alán, J. 1997. Propagación *in vitro* de Helecho Cola de Quetzal (*Nephrolepis cordigera*). Zamorano. Honduras. (Folleto)

Espinal, D. 2001. Guía de laboratorio para la producción de plantas *in vitro*. Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación. Zamorano. Honduras. (Folleto)

Hartmann, H.; Kester, D. 1990. Plant propagation. Principles and practices. 5ta ed. PRENTIELL-HALL. New Jersey. Estados Unidos. 628 p.

Lara, A. 2001. Análisis de costos de producción *in vitro* y de mercado de orquídeas en Zamorano. Tesis Ing. Agr. Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 38 p.

Pollard, J.; Walker, J. 1990. Plant cell and tissue culture. Humana Press. New Jersey. Estados Unidos. 588 p.

Roselló, J. 2003. Tipos de sustratos. Seminario sobre la producción local de semillas. Murcia, España. COAG, 2003. 37 p.

Ziv, M. 1999. Bioreactor technology for plant micropropagation. Agricultural Botany and the Warburg Center of Biotechnology in Agriculture. Horticulture Reviews. Jerusalem, Israel. ISBN 0-471-33374-3 (24) 1-27 p.

## 7. ANEXOS

**Anexo 1. Análisis de Varianza del número de plantas al final de la etapa III en las evaluaciones de sistemas de multiplicación y concentraciones de kinetina en *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras 2003.**

| Variable              | Grados de Libertad | Suma de Cuadrados | Cuadrado Medio | Prueba F | Probabilidad |
|-----------------------|--------------------|-------------------|----------------|----------|--------------|
| Repetición            | 3                  | 18459             | 6153           | 1.51     | 0.284        |
| Hormona               | 1                  | 5                 | 5              | 0.00     | 0.973        |
| Sistema               | 1                  | 26112             | 26112          | 6.42     | 0.035        |
| Hor*Sist <sup>-</sup> | 1                  | 8702              | 8702           | 2.14     | 0.182        |
| Error                 | 8                  | 32524             | 4066           |          |              |
| Total                 | 14                 |                   |                |          |              |

<sup>-</sup> Hor\*Sist = Interacción Hormona\*Sistema

**Anexo 2. Análisis de Varianza sobre en el Promedio Total de Pérdida en las evaluaciones de sistemas de multiplicación y concentraciones de kinetina en *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras 2003.**

| Variable              | Grados de Libertad | Suma de cuadrados | Cuadrado Medio | Prueba F | Probabilidad |
|-----------------------|--------------------|-------------------|----------------|----------|--------------|
| Repetición            | 3                  | 2.9275            | 0.9758         | 1.69     | 0.238        |
| Hormona               | 1                  | 0.0025            | 0.0025         | 0.00     | 0.949        |
| Sistema               | 1                  | 9.9225            | 9,9225         | 17.17    | 0.003        |
| Hor*Sist <sup>-</sup> | 1                  | 0.0625            | 0.0625         | 0.11     | 0.75         |
| Error                 | 9                  | 5.2025            | 0.5781         |          |              |
| Total                 | 15                 |                   |                |          |              |

<sup>-</sup> Hor\*Sist = Interacción Hormona\*Sistema

**Anexo 3. Probabilidades de varianza sobre la variable de Supervivencia en la evaluación de sustratos durante la aclimatación de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Variable   | Grados de Libertad | Suma de Cuadrados | Cuadrado Medio | Prueba F | Probabilidad |
|------------|--------------------|-------------------|----------------|----------|--------------|
| Repetición | 2                  | 387.56            | 193.78         | 2.72     | 0.179        |
| Sustrato   | 2                  | 398.22            | 199.11         | 2.80     | 0.174        |
| Error      | 4                  | 284.44            | 71.11          |          |              |
| Total      | 8                  |                   |                |          |              |

**Anexo 4. Probabilidades de varianza sobre la variable de Número de Hojas en la evaluación de sustratos durante la aclimatación de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.**

| <b>Variable</b> | <b>Grados de Libertad</b> | <b>Suma de Cuadrados</b> | <b>Cuadrado Medio</b> | <b>Prueba F</b> | <b>Probabilidad</b> |
|-----------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------|---------------------|
| Repetición      | 2                         | 439.43                   | 219.71                | 16.91           | 0.000               |
| Substrato       | 2                         | 62.35                    | 31.17                 | 2.40            | 0.093               |
| Error           | 192                       | 2494.00                  | 12.99                 |                 |                     |
| Total           | 196                       |                          |                       |                 |                     |

**Anexo 5. Probabilidades de varianza sobre la variable de Altura en la evaluación de sustratos durante la aclimatación de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.**

| <b>Variable</b> | <b>Grados de Libertad</b> | <b>Suma de Cuadrados</b> | <b>Cuadrado Medio</b> | <b>Prueba F</b> | <b>Probabilidad</b> |
|-----------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------|---------------------|
| Repetición      | 2                         | 3.541                    | 1.770                 | 1.51            | 0.223               |
| Substrato       | 2                         | 8.331                    | 4.165                 | 3.56            | 0.030               |
| Error           | 192                       | 224.661                  | 1.170                 |                 |                     |
| Total           | 196                       |                          |                       |                 |                     |

**Anexo 6. Probabilidades de varianza sobre la variable de Apariencia en la evaluación de sustratos durante la aclimatación de *Nephrolepis cordifolia*. Zamorano, Honduras, 2003.**

| <b>Variable</b> | <b>Grados de Libertad</b> | <b>Suma de Cuadrados</b> | <b>Cuadrado Medio</b> | <b>Prueba F</b> | <b>Probabilidad</b> |
|-----------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------|---------------------|
| Repetición      | 2                         | 1.047                    | 0.523                 | 0.42            | 0.656               |
| Substrato       | 2                         | 43.371                   | 21.685                | 17.51           | 0.000               |
| Error           | 192                       | 237.820                  | 1.239                 |                 |                     |
| Total           | 196                       |                          |                       |                 |                     |

**Anexo 7. Costos de los medios de cultivo utilizados en la producción *in vitro* de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Medio (Etapa)      | Costos (\$) |
|--------------------|-------------|
| Etapa I            | 0.08        |
| Etapa II           | 2.95        |
| Etapa III          | 2.13        |
| <b>Costo Total</b> | <b>5.16</b> |

**Anexo 8. Costos de mano de obra en el proceso de micropropagación de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Actividad                  | Personas | Horas trabajadas | Costo \$/h | Costo (\$)   |
|----------------------------|----------|------------------|------------|--------------|
| Recolección de material    | 1        | 0.5              | 0.57       | 0.28         |
| Preparación de medio       | 1        | 19.5             | 0.57       | 11.12        |
| Corte y arreglo de puentes | 1        | 4.0              | 0.57       | 2.28         |
| Preparación de Explantes   | 1        | 0.5              | 0.57       | 0.28         |
| Desinfección de material   | 1        | 1.5              | 0.57       | 0.85         |
| Siembra en cámaras         | 1        | 0.25             | 0.57       | 0.14         |
| Monitoreo                  | 1        | 3.0              | 0.57       | 1.71         |
| Manejo de contaminados     | 1        | 2.0              | 0.57       | 1.14         |
| Lavado de utensilios       | 1        | 20.0             | 0.57       | 11.40        |
| Preparación de Cámaras     | 1        | 3.0              | 0.57       | 1.71         |
| Multiplicaciones           | 1        | 21.5             | 0.57       | 12.25        |
| <b>Costos totales</b>      |          |                  |            | <b>43.17</b> |

**Anexo 9. Costos por desinfección e Insumos en el proceso de micropropagación de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Concepto        | Costo (\$) |
|-----------------|------------|
| Desinfección    | 2.26       |
| Papel Filtro    | 19.14      |
| Papel Toalla*   | 0.53       |
| Parafilm        | 11.91      |
| Guantes         | 14.28      |
| Bisturis        | 3.03       |
| Papel aluminio* | 9.10       |
| Marcadores      | 2.82       |

|                       |              |
|-----------------------|--------------|
| <b>Costos Totales</b> | <b>63.00</b> |
|-----------------------|--------------|

Fuente: Catálogo de Fisher. \*Fuente: Bodega de Materias e Insumos

**Anexo 10. Costos de los medios utilizados en la producción *in vitro* de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Medio (Etapa)      | Costos (\$) |
|--------------------|-------------|
| Etapa I            | 0.08        |
| Etapa II           | 5.34        |
| Etapa III          | 3.56        |
| <b>Costo Total</b> | <b>8.98</b> |

**Anexo 11. Costos de mano de obra en el proceso de micropropagación de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Actividad                  | Personas | Horas trabajadas | Costo \$/h | Costo (\$)   |
|----------------------------|----------|------------------|------------|--------------|
| Recolección de material    | 1        | 0.5              | 0.57       | 0.28         |
| Preparación de medio       | 1        | 22.0             | 0.57       | 12.54        |
| Corte y arreglo de puentes | 1        | 5.5              | 0.57       | 3.13         |
| Preparación de Explantes   | 1        | 0.5              | 0.57       | 0.28         |
| Desinfección de material   | 1        | 1.5              | 0.57       | 0.85         |
| Siembra en cámaras         | 1        | 0.25             | 0.57       | 0.14         |
| Monitoreo                  | 1        | 3.5              | 0.57       | 1.99         |
| Manejo de contaminados     | 1        | 2.0              | 0.57       | 1.40         |
| Lavado de utensilios       | 1        | 22.5             | 0.57       | 12.82        |
| Preparación de Cámaras     | 1        | 4.0              | 0.57       | 2.28         |
| Multiplicaciones           | 1        | 25.0             | 0.57       | 14.25        |
| <b>Costos totales</b>      |          |                  |            | <b>49.73</b> |

**Anexo 12. Costos por desinfección e Insumos en el proceso de micropropagación de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de tubos de ensayo con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Concepto              | Costo (\$)   |
|-----------------------|--------------|
| Desinfección          | 2.26         |
| Papel Filtro          | 20.88        |
| Papel Toalla*         | 0.53         |
| Parafilm              | 11.91        |
| Guantes               | 16.32        |
| Bisturis              | 4.04         |
| Papel aluminio*       | 9.10         |
| Marcadores            | 2.82         |
| <b>Costos Totales</b> | <b>65.60</b> |

Fuente: Catálogo de Fisher. \*Fuente: Bodega de Materias e Insumos de Zamorano.

**Anexo 13. Costos de los medios de cultivo en la producción *in vitro* de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Medio (Etapa)      | Costos (\$) |
|--------------------|-------------|
| Etapa I            | 0.08        |
| Etapa II           | 2.22        |
| Etapa III          | 4.41        |
| <b>Costo Total</b> | <b>6.71</b> |

**Anexo 14. Costos de mano de obra en el proceso de micropropagación de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Actividad               | Personas | Horas trabajadas | Costo \$/h | Costo (\$)   |
|-------------------------|----------|------------------|------------|--------------|
| Preparación de Material | 1        | 7.0              | 0.57       | 3.99         |
| Preparación de medio    | 1        | 15.0             | 0.57       | 8.55         |
| Traspaso etapa III      | 1        | 15.0             | 0.57       | 7.41         |
| Trituración y siembra   | 1        | 2.0              | 0.57       | 2.28         |
| Traspaso etapa II       | 1        | 7.0              | 0.57       | 3.99         |
| Siembra en cámaras      | 1        | 0.25             | 0.57       | 0.14         |
| Monitoreo               | 1        | 1.0              | 0.57       | 0.57         |
| Manejo de contaminados  | 1        | 1.0              | 0.57       | 0.57         |
| Lavado de utensilios    | 1        | 4.0              | 0.57       | 2.28         |
| Preparación de Cámaras  | 1        | 3.0              | 0.57       | 1.71         |
| <b>Costos totales</b>   |          |                  |            | <b>31.49</b> |

**Anexo 15. Costos por desinfección e Insumos en el proceso de micropropagación de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 2 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Concepto              | Costo (\$)   |
|-----------------------|--------------|
| Desinfección          | 1.96         |
| Papel Filtro          | 11.31        |
| Papel Toalla*         | 0.53         |
| Parafilm              | 5.96         |
| Guantes               | 5.10         |
| Bisturis              | 2.02         |
| Papel aluminio*       | 4.55         |
| Marcadores            | 2.82         |
| <b>Costos Totales</b> | <b>34.25</b> |

Fuente: Catálogo de Fisher. \*Fuente: Bodega de Materias e Insumos de Zamorano.

**Anexo 16. Costos de los medios de cultivo en la producción *in vitro* de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Medio (Etapa)      | Costos (\$) |
|--------------------|-------------|
| Etapa I            | 0.08        |
| Etapa II           | 2.29        |
| Etapa III          | 4.41        |
| <b>Costo Total</b> | <b>6.78</b> |

**Anexo 17. Costos de mano de obra en el proceso de micropropagación de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Actividad               | Personas | Horas trabajadas | Costo \$/h | Costo (\$)   |
|-------------------------|----------|------------------|------------|--------------|
| Preparación de Material | 1        | 7.0              | 0.57       | 3.99         |
| Preparación de medio    | 1        | 13.5             | 0.57       | 7.70         |
| Traspaso etapa III      | 1        | 7.0              | 0.57       | 3.99         |
| Trituración y siembra   | 2        | 1.0              | 0.57       | 1.14         |
| Traspaso etapa II       | 1        | 11.0             | 0.57       | 6.27         |
| Siembra en cámaras      | 1        | 0.25             | 0.57       | 0.14         |
| Monitoreo               | 1        | 1.0              | 0.57       | 0.57         |
| Manejo de contaminados  | 1        | 1.0              | 0.57       | 0.57         |
| Lavado de utensilios    | 1        | 4.0              | 0.57       | 2.28         |
| Preparación de Cámaras  | 1        | 3.0              | 0.57       | 1.71         |
| <b>Costos totales</b>   |          |                  |            | <b>28.36</b> |

**Anexo 18. Costos por desinfección e Insumos en el proceso de producción *in vitro* de *Nephrolepis cordifolia* utilizando un sistema de suspensiones celulares con una concentración de 4 mg/l de kinetina. Zamorano, Honduras, 2003.**

| Concepto              | Costo (\$)   |
|-----------------------|--------------|
| Desinfección          | 1.96         |
| Papel Filtro          | 6.36         |
| Papel Toalla*         | 0.87         |
| Parafilm              | 5.96         |
| Guantes               | 5.10         |
| Bisturis              | 2.02         |
| Papel aluminio*       | 4.55         |
| Marcadores            | 2.82         |
| <b>Costos Totales</b> | <b>29.64</b> |

Fuente: Catálogo de Fisher. \*Fuente: Bodega de Materias e Insumos de Zamorano.

**Anexo 19. Costo por planta aclimatada utilizando el substrato A durante la aclimatación de vitroplantas de *Nephrolepis cordifolia* . Zamorano, Honduras, 2003.**

| Componente         | Unidad         | Cantidad | Precio (\$) | Costo (\$)   |
|--------------------|----------------|----------|-------------|--------------|
| Arena              | m <sup>3</sup> | 0.03     | 6.25        | 0.190        |
| Compost            | quintal        | 0.004    | 4.01        | 0.020        |
| Mano de obra       | hr/hombre      | 0.42     | 0.57        | 0.230        |
| Bandeja Múltiple*  | unidad         | 0.02     | 0.37        | 0.010        |
| Invernadero?       | m <sup>2</sup> | 0.003    | 1.78        | 0.005        |
| <b>Costo Total</b> |                |          |             | <b>0.455</b> |

Fuente: Sección de contabilidad ZECI \*Fuente: Catálogo Fisher 2002/03

?Fuente: Ing. Agr. Cinthya Martínez. Comunicación personal.

Substrato A= arena y compost (2:1)

**Anexo 20. Costo por planta aclimatada utilizando el sustrato B durante la aclimatación de vitroplantas de *Nephrolepis cordifolia* . Zamorano, Honduras, 2003.**

| Componente          | Unidad         | Cantidad | Precio (\$) | Costo (\$)   |
|---------------------|----------------|----------|-------------|--------------|
| Arena               | m <sup>3</sup> | 0.013    | 6.25        | 0.080        |
| Compost             | quintal        | 0.004    | 4.01        | 0.020        |
| Casulla             | m <sup>3</sup> | 0.013    | 3.72        | 0.050        |
| Fibra de cocoε      | lb             | 0.002    | 6.22        | 0.010        |
| Musgo κ             | lb             | 0.013    | 5.80        | 0.080        |
| Mano de obra        | hr/hombre      | 0.417    | 0.57        | 0.240        |
| Bandejas múltiples* | unidad         | 0.020    | 0.37        | 0.010        |
| Invernadero?        | m <sup>2</sup> | 0.003    | 1.78        | 0.005        |
| <b>Costo total</b>  |                |          |             | <b>0.485</b> |

Fuente: Sección de contabilidad ZECI \*Fuente: Catálogo Fisher 2002/03

εFuente: [www.yerbabuena.com/complemento.asp?grupo=4](http://www.yerbabuena.com/complemento.asp?grupo=4)

κFuente: [www.monanimal.net/substratos.html](http://www.monanimal.net/substratos.html)

?Fuente: Ing. Agr. Cinthya Martínez. Comunicación personal.

Sustrato B= casulla, compost, arena, musgo y fibra de coco (5:3:1:1:1)

**Anexo 21. Costo por planta aclimatada utilizando el sustrato C durante la aclimatación de vitroplantas de *Nephrolepis cordifolia* . Zamorano, Honduras, 2003.**

| Componente            | Unidad         | Cantidad | Precio (\$) | Costo (\$)   |
|-----------------------|----------------|----------|-------------|--------------|
| Arena                 | m <sup>3</sup> | 0.013    | 6.05        | 0.080        |
| Compost               | quintal        | 0.004    | 4.01        | 0.020        |
| Musgo κ               | lb             | 0.013    | 5.80        | 0.080        |
| Carbón <sup>3</sup>   | bolsa          | 0.040    | 1.15        | 0.050        |
| Mano de obra          | hr/hombre      | 0.417    | 0.57        | 0.240        |
| Bandejas múltiples*   | unidad         | 0.020    | 0.37        | 0.010        |
| Invernadero?          | m <sup>2</sup> | 0.003    | 1.78        | 0.005        |
| <b>Costos Totales</b> |                |          |             | <b>0.475</b> |

Fuente: Sección de contabilidad ZECI \*Fuente: Catálogo Fisher 2002/03

κFuente: [www.monanimal.net/substratos.html](http://www.monanimal.net/substratos.html) <sup>3</sup>Fuente: Puesto de ventas Zamorano.

?Fuente: Ing. Agr. Cinthya Martínez. Comunicación personal.

Sustrato C= compost, carbón , arena y musgo (3:2:1:1)

**Anexo 22. Costos por depreciación del equipo del Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Micropropagación (LCTM). Zamorano, Honduras, 2003.**

| <b>Equipo</b>            | <b>Precio \$</b> | <b>Valor de Rescate</b> | <b>Vida útil (años)</b> | <b>Depreciación (\$)</b> |
|--------------------------|------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Agitador de Suspensiones | 4404.00          | 0                       | 15                      | 293.60                   |
| Destilador?              | 0.00             | 0                       | 20                      | 0.00                     |
| Cámaras de Flujo Laminar | 9080.00          | 0                       | 20                      | 454.00                   |
| Balanza de precisión     | 1995.00          | 0                       | 10                      | 199.50                   |
| Autoclave                | 8315.40          | 0                       | 15                      | 542.36                   |
| Secadoras de Cristalería | 2427.63          | 0                       | 20                      | 121.38                   |
| Potenciómetro            | 2470.00          | 0                       | 10                      | 247.00                   |
| Agitador Magnético?      | 167.7            | 0                       | 10                      | 16.77                    |

Fuente: Catálogo de Fisher 2002/03.

- No se incluyeron todos los equipos por no encontrarse los modelos en los catálogos.  
En los costos por depreciación se incluyen tres agitadores.

**Anexo 23. Costos por Servicios/año del LCTM. Zamorano, Honduras, 2003.**

| <b>Servicio</b> | <b>Costo (\$)</b> |
|-----------------|-------------------|
| Mantenimiento   | 329.35            |
| Electricidad    | 0.00              |
| Agua Potable    | 0.00              |
| Teléfono        | 61.71             |

Fuente: Oficina de Presupuestos y Contabilidad CCPA, comparación presupuestaria Septiembre 2003. Zamorano, Honduras, 2003.

**Anexo 24. Costos Administrativos/año del LCTM. Zamorano, Honduras, 2003.**

| <b>Concepto</b>                  | <b>Costo (\$)</b> |
|----------------------------------|-------------------|
| Papelería y artículos de oficina | 337.08            |
| Materiales de laboratorio        | 392.13            |
| Sueldo Encargado de laboratorio* | 6741.51           |
| Sueldo gerente de laboratorio*   | 6067.41           |
| Materiales de limpieza           | 58.82             |

Fuente: Oficina de Presupuestos y Contabilidad CCPA, comparación presupuestaria Septiembre 2003. Zamorano, Honduras, 2003.

\*Entrevista: M Sc Dinie de Rueda.