

**Efecto de 6-bencil aminopurina y ácido
naftalenacético en la producción *in vitro* de
segmentos nodales de yuca (*Manihot esculenta*
Crantz)**

Asdrúbal Josué Ulloa Cáceres

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Efecto de 6-bencil aminopurina y ácido
naftalenacético en la producción *in vitro* de
segmentos nodales de yuca (*Manihot esculenta*
Crantz)**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Asdrúbal Josué Ulloa Cáceres

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2017

Efecto de 6-bencil aminopurina y ácido naftalenacético en la producción *in vitro* de segmentos nodales de yuca (*Manihot esculenta* Crantz)

Asdrúbal Josué Ulloa Cáceres

Resumen. La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es importante para la población de países en desarrollo debido a sus raíces que poseen la capacidad de almacenar almidón y se emplean para la alimentación humana y animal. Debido a la demanda de plántulas de yuca producidas a partir de técnicas asépticas, es necesario optimizar el protocolo de la etapa de multiplicación y conocer las dosis de fitohormonas que darán una propagación óptima sin perder características de vigor ni estabilidad genética. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de 6-bencil aminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) en la multiplicación de yuca -variedad Valencia-. Se transfirieron microesquejes de yuca en etapa de multiplicación subcultivo uno, a medios de cultivo de Murashige y Skoog modificados y suplementados con fitohormonas. Se evaluaron cuatro tratamientos: el testigo sin fitohormonas y tres tratamientos suplementados con BAP a 0.5 mg/L y de ANA a 0.01 mg/L en diferentes combinaciones. El número de yemas fue mayor con BAP 0.5 mg/L y el BAP 0.5 mg/L + ANA 0.01 mg/L ya que produjeron mayor cantidad de yemas por microesqueje (9.64 y 9.12, respectivamente). Los vitro-esquejes obtenidos en estos tratamientos tuvieron crecimiento en forma de roseta (enanas y succulentas). El número de raíces y altura de la planta fue mayor en el medio testigo (sin suplementación de fitohormonas). Se recomienda evaluar el efecto del ácido giberélico en combinación con los tratamientos suplementados con BAP, los que presentaron mejor respuesta para la variable cantidad de yemas.

Palabras clave: Auxina, citocinina, cultivo de tejidos, estabilidad genética, fitohormonas.

Abstract. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is important for the population of developing countries because of the capacity of its roots to store starch, and it is used for human and animal feeding. Due to the demand of cassava seedlings produced from aseptic techniques, it is necessary to optimize the multiplication stage protocol and to identify the doses of phytohormones that will result in an optimum propagation without losing characteristics of vigor or genetic stability. The objective of this study was to evaluate the effect of 6-benzylaminopurine (BAP) and naphthaleneacetic acid (NAA) on cassava multiplication -Valencia variety-. Cassava micro cuttings were transferred in multiplication stage subculture one to Murashige and Skoog culture media modified and supplemented with phytohormones. Four treatments were evaluated: the control without phytohormones, and three treatments supplemented with BAP at 0.5 mg/L and of NAA at 0.01 mg/L in different combinations of them. The number of buds was greater with BAP 0.5 mg/L, and BAP 0.5 mg/L + NAA 0.01 mg/L produced a higher amount of buds per micro cutting (9.64 and 9.12, respectively). The vitro-plants obtained in these treatments had growth in the form of rosette (short and succulent). The number if root and height of the plant, were greater in the control medium (without phytohormone supplementation). It is recommended to evaluate the effect of giberelic acid in combination with the treatments supplemented with BAP, that presented better response for the variable number of buds.

Key words: Auxins, cytokinin, genetic stability, phytohormones, tissue culture.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros y Figuras	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES	13
5. RECOMENDACIONES	14
6. LITERATURA CITADA	15

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros	Página
1. Medio de cultivo Murashige y Skoog modificado para multiplicación <i>in vitro</i> de yuca (<i>Manihot esculenta</i> Crantz) -variedad Valencia-.....	4
2. Dosis de 6-bencil aminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) en los tratamientos utilizados para la etapa de multiplicación de yuca -variedad Valencia-.....	5
3. Producción promedio de yemas en la etapa de multiplicación, subcultivo dos de yuca -variedad Valencia- a los 21 y 28 días después de transferido al medio de multiplicación.....	8
4. Efecto de las dosis de 6-bencil aminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) sobre las variables número de raíces y altura en vitro-plántulas de yuca -variedad Valencia- al día 28 después de transferido al medio de multiplicación subcultivo dos.....	9

Figuras	Página
1. Microesquejes de yuca -variedad Valencia-.....	3
2. Preparación y siembra de segmentos nodales de yuca -variedad Valencia-.....	6
3. Vitro-plántulas de yuca enanas y suculentas en forma de roseta. Producidas en los tratamientos 0.5 BAP – 0 ANA y 0.5 BAP - 0.01 ANA en la etapa de multiplicación subcultivo dos.....	9
4. Efecto de las dosis de 6-bencil aminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) en la producción de yemas, altura y número de raíces en plántulas de yuca -variedad Valencia- al día 28 después de transferido al medio de multiplicación subcultivo dos.....	11
5. Efecto de las dosis de 6-bencil aminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) en plántulas de yuca -variedad Valencia- a los 7, 14 y 28 días de transferido al medio.....	12

1. INTRODUCCIÓN

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) pertenece a la familia de las Euphorbiaceae y es una de las fuentes de carbohidratos más consumidas por la población de los países en desarrollo. La importancia de esta planta se basa en sus raíces que se emplean en la alimentación humana y animal debido a la capacidad que poseen de almacenar almidón (Casaca 2005).

La yuca se produce muy bien en diferentes tipos de suelo, los suelos francos son los más ideales. Es tolerable a rangos de pH entre 5.8 a 6.5. La temperatura óptima varía entre 25 °C a 30 °C y puede adaptarse a alturas de 300 a 700 msnm. La precipitación deseada es de 1,400 mm y deberán estar distribuidos durante su ciclo de producción. La densidad recomendada para la siembra es de 16,666 plantas por hectárea (1.2 m entre cama y 0.5 m entre planta) y el costo de la semilla es de aproximadamente US\$ 175.30 por hectárea (Lardizabal 2009).

La producción de yuca -variedad Valencia- en Honduras es reconocida por su calidad para exportación y procesamiento. Para la siembra en Honduras se utiliza comúnmente material vegetal llamado estacas y tienen que ser libre de patógenos. En Honduras se registran hasta la fecha cuatro enfermedades que afectan a la yuca, estas son: Cuero de Sapo (Mycoplasma), Mancha Parda (*Cercospora* sp. y *Cercosporium* sp.), Mancha Blanca (*Phaeoramularia* sp.) y Superlargo (*Sphaceloma* sp.) (Lardizabal 2009).

La técnica de cultivo de tejidos puede aplicarse a la propagación de plantas. Esta consiste en aislar una porción de la planta y brindarle artificialmente las condiciones apropiadas para que las células expresen su potencial intrínseco o inducido. Esta técnica brinda la oportunidad de obtener material vegetal libre de patógenos y disponible en cualquier época del año (Roca y Mroginski 1991). Esta técnica puede ser una alternativa para la reproducción masiva de yuca libre de patógenos.

Las hormonas vegetales también llamadas fitohormonas, son sustancias químicas producidas en pequeñas cantidades en los tejidos vegetales. Estas hormonas son capaces de regular los procesos fisiológicos de las plantas, actuando en el sitio donde se generan o en una amplia gama de tejidos. Existen cinco grupos de hormonas: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno y ácido abscísico (Davies 2010).

El ácido naftalenacético (ANA) es una fitohormona sintética perteneciente al grupo de las auxinas. Este grupo de hormonas se encuentra en mayor cantidad en las partes donde se realizan procesos activos de división celular. Las auxinas, cumplen diversas funciones como la elongación de tallos, formación de raíces, inducción a la floración, diferenciación vascular, entre otras (McSteen y Zhao 2008; Davies 2010). El mecanismo de transporte más

rápido usado por las auxinas es no polar en el floema, este se asocia con los procesos de división del cambium y ramificación de raíces. Estas hormonas son transportadas en sentido del eje longitudinal de la planta, del punto apical hacia la base en el tallo y en sentido contrario desde la raíz (Srivastava 2002).

El 6-bencil aminopurina (BAP) es producido sintéticamente y pertenece al grupo de las citocininas. Este grupo de hormonas es responsable de procesos de división celular, tales como la formación y crecimiento de brotes axilares, maduración de cloroplastos y diferenciación celular. Las citocininas se sintetizan en tejidos jóvenes o meristemáticos como yemas del tallo, semillas de germinación y ápices radiculares, para luego ser transportadas vía xilema hacia las hojas y luego se transporta vía floema hacia otros órganos como los frutos (Srivastava 2002; Davies 2010).

Para generar una producción precoz promedio de 2.30 brotes por explante y a su vez 2.59 nudos por microesqueje de yuca -variedad Valencia-, se recomienda utilizar el medio de cultivo de Murashige y Skoog modificando y suplementando con 0.5 mg/L de 6-bencil aminopurina (BAP) y 40 g/L de Sacarosa (Buechsel Reyes 2012). Para la multiplicación de yuca CM 619-3 se recomienda usar dosis de 0.04 mg/L de BAP ya que en concentraciones superiores a 0.5 mg/L resulta en formación de callos y bajo desarrollo de segmentos nodales (Orellana Urrutia 2013).

Debido a la demanda de plántulas de yuca producidas a partir de técnicas asépticas, se requiere optimizar el protocolo de la etapa de multiplicación para conocer las dosis de fitohormonas que nos darán una propagación óptima sin perder características de vigor ni estabilidad genética. El objetivo de este estudio fue:

- Evaluar el efecto de 6-bencil aminopurina y ácido naftalenacético en la multiplicación de yuca -variedad Valencia-.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio. El estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, ubicada en el Valle de Yeguaré a 30 km de Tegucigalpa, Honduras.

Material vegetal y fuente del explante para el establecimiento. Se utilizaron yemas axilares, obtenidas de una plantación de yuca -variedad Valencia-, ubicada en el área de Horticultura de la Escuela Agrícola Panamericana. Las yemas fueron sembradas en el medio de Murashige y Skoog para su establecimiento, después de 21 días pasaron a la etapa de multiplicación subcultivo uno.

Multiplicación. Para este experimento se utilizaron microesquejes de la etapa de multiplicación subcultivo uno (Figura 1).



Figura 1. Microesquejes de yuca -variedad Valencia-. A) Contenedor con microesquejes. B) Microesqueje listo para la etapa de multiplicación.

Preparación del medio de cultivo. Se usó el medio Murashige y Skoog modificado (Cuadro 1). Para la preparación de los medios de cultivo se utilizó agua destilada, se ajustó el pH a 5.8 con HCl o KOH y se agregó Phytigel® como agente gelatinizante. Los medios fueron vertidos en frascos de vidrio donde se colocaron 20 mL por contenedor. Finalmente,

el medio se esterilizó en autoclave “Market Forge Sterilmatic STM – E” a 1.05 kg/cm² durante 20 minutos a una temperatura de 121 °C.

Cuadro 1. Medio de cultivo Murashige y Skoog modificado para multiplicación *in vitro* de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) -variedad Valencia-.

Componentes	Fórmula	Nombre Común	mg/L
Macroelementos	CaCl ₂ .2H ₂ O	Cloruro de calcio bihidratado	440.000
	KH ₂ PO ₄	Fosfato monobásico de potasio	170.000
	KNO ₃	Nitrato de potasio	1,900.000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	370.000
	NH ₄ NO ₃	Nitrato de amonio	1,650.000
Microelementos	H ₃ BO ₃	Ácido bórico	6.200
	CoCl ₂ .6H ₂ O	Cloruro de cobalto hexahidratado	0.025
	CuSO ₄ .5H ₂ O	Sulfato de cobre pentahidratado	0.025
	KI	Yoduro de potasio	0.830
	MnSO ₄ .4H ₂ O	Sulfato de manganeso tetrahidratado	22.300
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Molibdato de sodio bihidratado	0.250
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de zinc heptahidratado	8.600
	FeNa EDTA	Sal férrica sódica de ácido Etilendiaminotetraacético	50.000
Componentes Orgánicos		Myo-inositol	100.000
		Tiamina-HCL	0.400
		Piridoxina	0.500
		Ácido Nicotínico	0.500
Carbohidrato		Sacarosa	20,000.000

Fuente: Roca et al (1991).

Tratamientos. Se evaluaron cuatro tratamientos, tres con suplementación de citocininas y/o auxinas y un testigo sin hormonas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Dosis de 6-bencil aminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) en los tratamientos utilizados para la etapa de multiplicación de yuca -variedad Valencia-

Tratamientos	Dosis de Fitohormonas mg/L		Autor
	BAP	ANA	
0 BAP - 0 ANA [¥]	0.00	0.00	
0.5 BAP - 0 ANA [£]	0.50	0.00	Buechsel Reyes 2012
0 BAP - 0.01 ANA [£]	0.00	0.01	Roca y Mroginski 1991
0.5 BAP - 0.01 ANA [£]	0.50	0.01	Roca y Mroginski 1991

[¥] Tratamiento testigo sin fitohormonas.

[£] Tratamiento con fitohormonas: dosis de BAP (mg/L) - dosis de ANA (mg/L).

Preparación, siembra y manejo del material vegetal. La cámara de flujo laminar se encendió 30 minutos antes de realizar la siembra, luego se realizó desinfección con alcohol al 70%, bisturí y pinzas fueron esterilizadas a 250 °C en el esterilizador de calor seco Z3378550 – Steri 250, AC input 120V. Se extrajeron microesquejes del contenedor y se colocaron en papel estéril, se eliminaron las hojas y se cortaron en segmentos con una o dos yemas, dependiendo del distanciamiento entre ellas. Los segmentos fueron colocados en los frascos que contenían los medios a evaluar, colocando dos segmentos nodales por cada frasco (Figura 2). La siembra se hizo de manera aleatoria entre tratamientos. Los frascos fueron sellados con papel aluminio y cinta plástica.

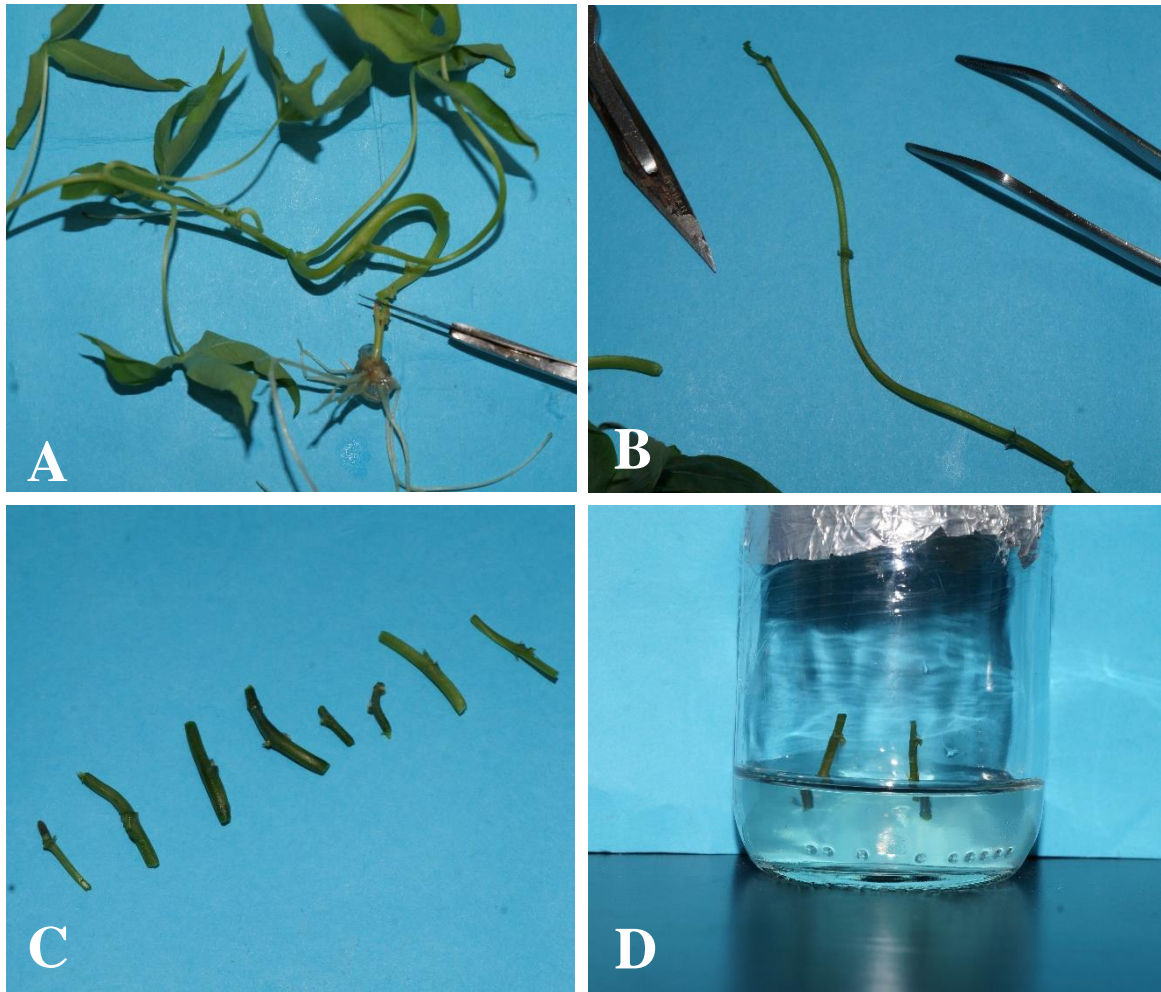


Figura 2. Preparación y siembra de segmentos nodales de yuca -variedad Valencia-. A) Material extraído de la multiplicación subcultivo uno y colocadas en papel estéril. B) Material sin hojas ni raíces. C) Segmentos cortados de los explantes colocadas en papel estéril para evitar contaminación. D) Siembra de material en los medios de cultivo a evaluar.

Incubación. Los cultivos fueron incubados a 24 ± 2 °C, con humedad relativa de 70%. La intensidad lumínica fue de 2 klx, utilizando lámparas fluorescentes del tipo Silvanía Daylight Incandescent 75 W, con 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.

Variables medidas. Las variables evaluadas fueron, número de yemas a los 7, 14, 21 y 28 días después de siembra, número de raíces y altura en centímetros a los 28 días.

Diseño experimental. Se utilizó un diseño completo al azar con un arreglo factorial de 2×2 (dos fitohormonas \times dos niveles de concentración) en total cuatro tratamientos, 60 repeticiones por tratamiento, siendo cada unidad experimental una repetición.

Análisis estadístico. Se realizó el análisis de varianza y una separación de medias con el método LS-Means con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$. Los datos fueron analizados con el programa “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.4[®]).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Número de yemas. Al día 21, los tratamientos 0.5 BAP - 0 ANA y 0.5 BAP - 0.01 ANA produjeron mayor cantidad de yemas (Cuadro 3). Estos resultados son similares a los de Buechsel Reyes (2012), en los cuales se produjo mayor cantidad de yemas en los tratamientos con presencia de BAP a concentración de 0.5 mg/L. Al día 28, los tratamientos suplementados con BAP presentaron los mejores resultados, sin embargo, el tratamiento 0.5 BAP - 0 ANA no presentó diferencia con los otros tratamientos. En un medio suplementado con auxinas y citocininas, la fitohormona que esté en menor concentración puede estimular e incrementar el efecto de la que está en mayor concentración (Hartmann et al 2011). En el caso del tratamiento 0.5 BAP - 0.01 ANA, la fitohormona ANA en dosis menor, estimuló el efecto del BAP dando como resultado mayor producción de yemas en las vitro-plántulas.

Cuadro 3. Producción promedio de yemas en la etapa de multiplicación, subcultivo dos de yuca -variedad Valencia- a los 21 y 28 días después de transferido al medio de multiplicación.

Tratamientos	Días	
	21	28
0 BAP - 0 ANA [¥]	4.5 b	6.5 b
0.5 BAP - 0 ANA [£]	5.7 a	6.7 ab
0 BAP - 0.01 ANA [£]	4.2 b	6.1 b
0.5 BAP - 0.01 ANA [£]	5.5 a	8.8 a

[¥] Tratamiento testigo sin fitohormonas.

[£] Tratamiento con fitohormonas: dosis de BAP (mg/L) - dosis de ANA (mg/L).

ab. Medias con letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$)

Los tratamientos suplementados con BAP produjeron vitro-plántulas enanas y suculentas. Se dice que el uso de dosis alta de BAP rompe la dominancia apical y da origen a un cultivo en roseta (Figura 3). La transferencia de cultivos en roseta a un medio sin BAP, pero enriquecido con ácido giberélico, podría inducir el crecimiento de las yemas axilares y la formación de 10 a 20 brotes por cultivo según Roca et al (1991).



Figura 3. Vitro-plántulas de yuca enanas y succulentas en forma de roseta. Producidas en los tratamientos 0.5 BAP – 0 ANA y 0.5 BAP - 0.01 ANA en la etapa de multiplicación subcultivo dos.

Número de raíces. La presencia de raíces fue cuantificada al final del experimento (28 días), siendo el tratamiento 0 BAP - 0 ANA el que presentó mayor número de raíces (Cuadro 4) con promedio de 6.3 raíces por plántula. En los tratamientos 0.5 BAP - 0 ANA y 0.5 BAP - 0.01 ANA no hubo presencia de raíces. Se puede observar que los tratamientos que no presentan raíces son los que en su composición llevan la fitohormona BAP.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Marín et al (2009), y dicen que el desarrollo de raíces se ve limitado por altas concentraciones de BAP. También concuerdan en cierta forma con los de Buechsel Reyes (2012) y Orellana Urrutia (2013) quienes, en sus experimentos obtuvieron mayor cantidad de microesquejes con desarrollo de raíces en concentraciones de BAP de 0.04 mg/L.

Cuadro 4. Efecto de las dosis de 6-bencil aminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) sobre las variables número de raíces y altura en vitro-plántulas de yuca -variedad Valencia- al día 28 después de transferido al medio de multiplicación subcultivo dos.

Tratamiento	Número de raíces	Altura de plántula (cm)
0 BAP - 0 ANA [¥]	6.3 a	8.1 a
0.5 BAP - 0 ANA [£]	0.0 c	2.7 b
0 BAP - 0.01 ANA [£]	4.7 b	2.8 b
0.5 BAP - 0.01 ANA [£]	0.0 c	2.2 b

[¥] Tratamiento testigo sin fitohormonas.

[£] Tratamiento con fitohormonas: dosis de BAP (mg/L) - dosis de ANA (mg/L).

abc. Medias con letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$)

Además, en los tratamientos 0.5 BAP - 0 ANA y 0.5 BAP - 0.01 ANA se observó formación de tejido callogénico en la base del explante a partir del día siete. Estos resultados son similares a los de Marín et al (2009) quienes obtuvieron formación de callo en tratamientos con presencia de BAP a concentraciones \geq a 0.5 mg/L. Este resultado se puede referir a la

acción de BAP que es una citocinina, la cual es utilizada para la diferenciación celular y producción de brotes, rompe la dominancia apical reduciendo el crecimiento vertical de la planta y formando segmentos cortos y con presencia de tejido callogénico (Jordán y Casaretto 2006).

La presencia de raíces en el tratamiento 0 BAP - 0.01 ANA se debe a la acción de ANA que tiene la función de estimular la iniciación en el crecimiento de las raíces y en el proceso de diferenciación (Davies 2010). Según Oliveira et al (2000) el desarrollo de raíces beneficia la multiplicación, ya que aumenta la absorción de nutrientes y con esto mejora el desarrollo de la parte aérea de la planta la cual servirá como material para los subcultivos siguientes.

Altura de la vitro-plántula. El tratamiento Testigo fue el que presentó mayor altura en comparación a los demás tratamientos (Cuadro 4). Los demás tratamientos no presentaron diferencia entre ellos. Sin embargo, los tratamientos suplementados con BAP dieron como resultados plántulas enanas en forma de roseta, esto puede deberse a la presencia de BAP, la cual tiene la función de inducir el crecimiento lateral y retrasar el apical (Davies 2010).

A pesar que el tratamiento 0.5 BAP - 0.01 ANA es la combinación de ambas fitohormonas, se podría decir que se esperaban mejores resultados en cantidad de yemas y la variable altura, sin embargo, no se expresó de esa manera. La diferenciación celular se ve afectada por la relación auxina:citocinina, las citocininas rompen la dominancia apical y estimulan la formación de brotes y división celular (Figura 4). Un inadecuado balance en la relación auxina:citocinina hará que las fitohormonas no expresen sus funciones (Astudillo Robles 2013). La respuesta de los explantes fue diferente en cada tratamiento. Los tratamientos sin presencia de BAP produjeron mayor número de raíces y altura. Los tratamientos con presencia de BAP produjeron mayor cantidad de brotes y tejido callogénico (Figura 5).

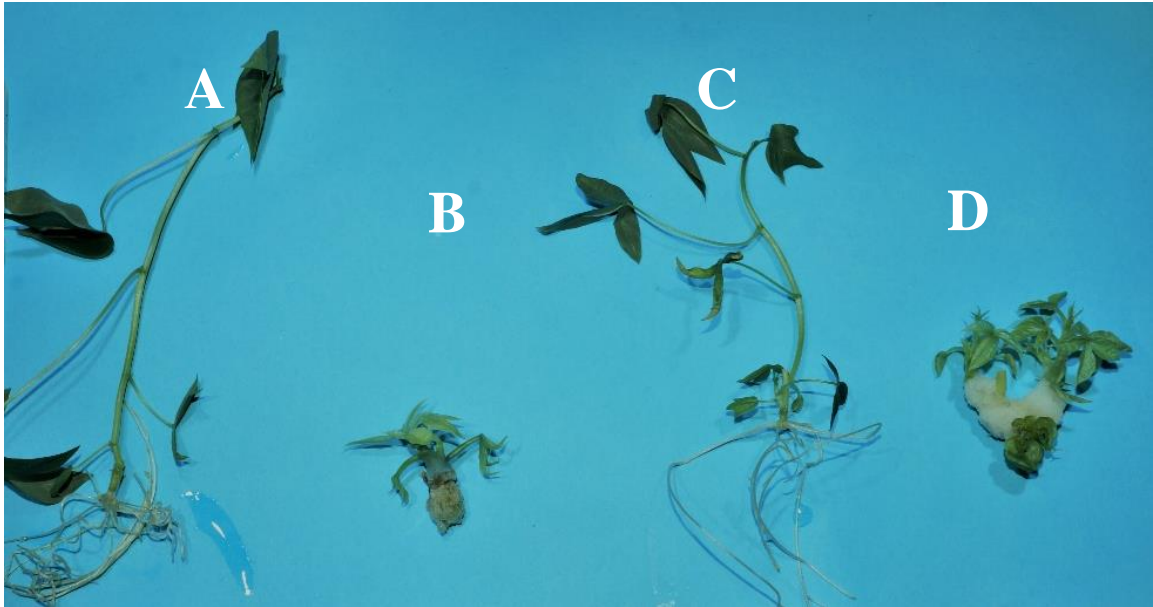


Figura 4. Efecto de las dosis de 6-bencil aminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) en la producción de yemas, altura y número de raíces en plántulas de yuca -variedad Valencia- al día 28 después de transferido al medio de multiplicación subcultivo dos. A) Tratamiento Testigo. B) Tratamiento 0.5 BAP - 0 ANA (0.5 mg/L de 6-bencil aminopurina). C) Tratamiento 0 BAP - 0.01 ANA (0.01 mg/L de ácido naftalenacético). D) Tratamiento 0.5 BAP - 0.01 ANA (0.05 mg/L de 6-bencil aminopurina y 0.01 mg/L de ácido naftalenacético).

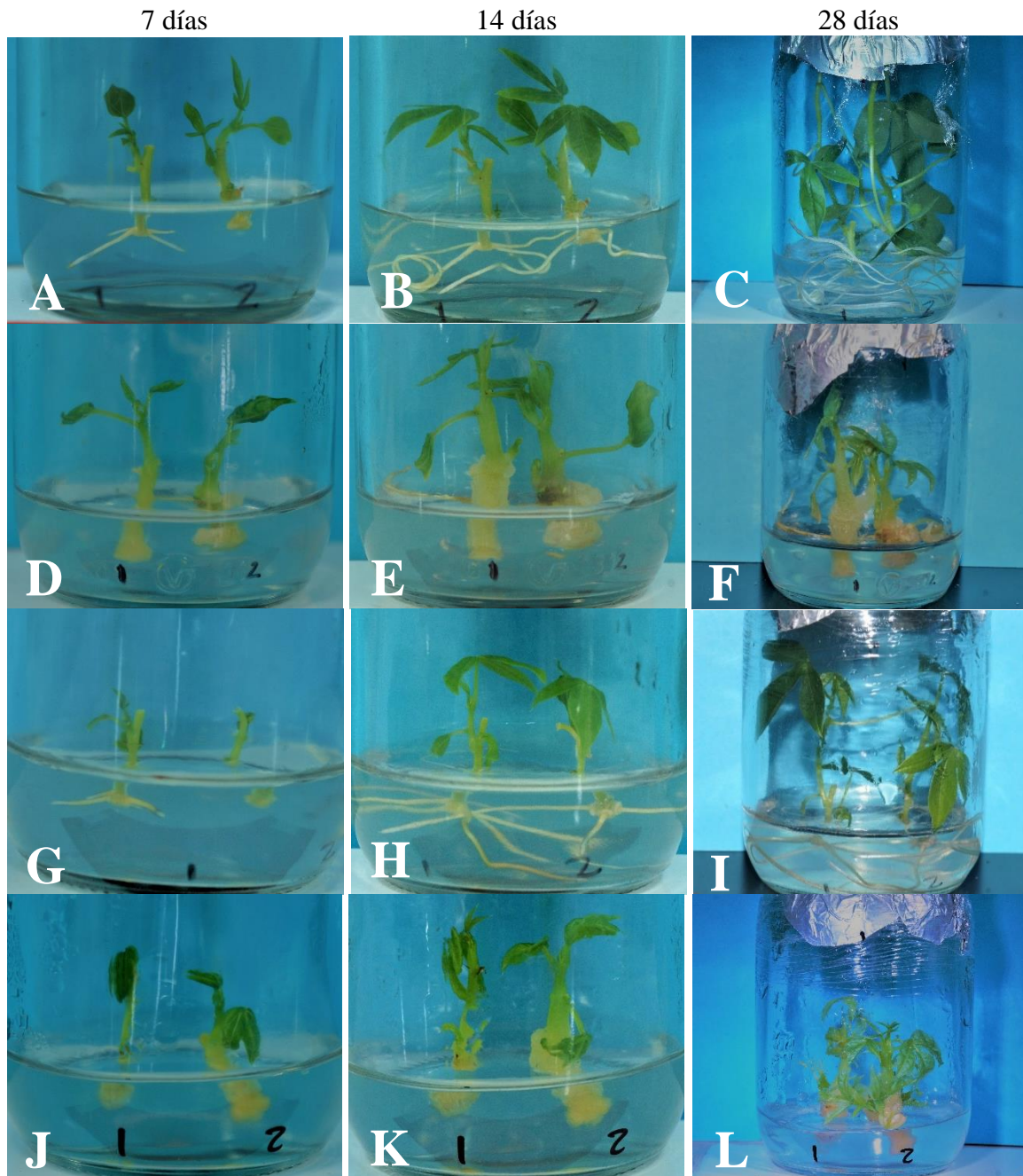


Figura 5. Efecto de las dosis de 6-bencil aminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) en plántulas de yuca -variedad Valencia- a los 7, 14 y 28 días de transferido al medio. A, B y C. Efecto del tratamiento Testigo. D, E y F Efecto del tratamiento 0.5 BAP - 0 ANA (0.5 mg/L BAP). G, H e I. Efecto del tratamiento 0 BAP - 0.01 ANA (0.01 mg/L ANA). J, K y L. Efecto del tratamiento 0.5 BAP - 0.01 ANA (0.05 mg/L BAP + 0.01 mg/L ANA).

4. CONCLUSIONES

- Los tratamientos que contienen BAP dan como resultado microesquejes enanos, pero resultan en la mayor cantidad de yemas.
- El efecto de ANA y el medio sin hormonas da como resultado la mayor producción de raíces.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto de ácido giberélico en los medios suplementados con BAP y ANA+BAP.
- Probar otras dosis y combinaciones de las fitohormas en el medio de cultivo Murashige y Skoog.

6. LITERATURA CITADA

- Astudillo Robles J. 2013. Establecimiento y multiplicación *in vitro* de malanga coco (*Colocasia esculenta* L. Schott). [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 23 p.
- Buechsel Reyes C. 2012. Establecimiento *in vitro* de yuca -variedad Valencia- mediante domos meristemáticos y evaluación de tres medios de cultivo para la producción de brotes [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 26 p.
- Casaca AD. 2005. Guías tecnológicas de frutas y vegetales: El cultivo de la yuca. Costa Rica: [publisher unknown]. 12 p.
- Davies PJ. 2010. Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action. 3rd ed. Ithaca, New York. Cornell University. 830 p.
- Hartmann H, Kester D, Davies F, Geneve R. 2011. Principles of propagation by cuttings. Plant Propagation. Florida (USA): Pearson Education, Inc. p. 280-343.
- Jordán M, Casaretto J. 2006. Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. In: F.A. Squeo y L. Cardemil, editors. Fisiología Vegetal. La Serena, Chile: Ediciones Universidad de La Serena. p. 806-834.
- Lardizabal R. 2009. Manual de producción de yuca Valencia. Honduras. 27 p. http://bvvirtual.infoagro.hn/xmlui/bitstream/handle/123456789/77/EDA_Manual_Produccion_Yuca_06_09.pdf?sequence=1.
- McSteen P, Zhao Y. 2008. Plant Hormones and Signaling: Common Themes and New Developments. Development cell. San Diego, California: Cell Press. p. 467-473.
- Marín A, Albarrán J, Fuenmayor F, Perdomo D. 2009. Evaluación del efecto de los reguladores de crecimiento en la regeneración *in vitro* de cinco cultivares élites de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). UDO Agrícola 9 (3):556-562.
- Oliveira R, Da Silva T y Vilarinhos A. 2000. Avaliacao de um sistema de micropropagacao massal de variedades de mandioca. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 35 (12): 2329-2334.

- Orellana Urrutia L. 2013. Efecto de tres concentraciones de bencil aminopurina en multiplicación *in vitro* de yuca – genotipo CM 6119-3 – [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 19 p.
- Roca WM, Mroginski LA. 1991. Establecimiento de un laboratorio para el cultivo de tejidos vegetales. In: Roca WM, Mroginski, editors. Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Cali, Colombia: CIAT, Centro Internacional de Agricultura Tropical. p. 1-17.
- Roca WM, Nolt Mafla G, Roa J, Reyes R. 1991. Eliminación de virus y propagación de clones de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz). In: Tabares E, Pachón J ed. CIAT (Centro internacional de Agricultura Tropical). Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Cali (Colombia). p. 403-420.
- Srivastava LM. 2002. Plant Growth and Development: Hormones and Environment. London. Academic Press Elsevier science. p. 72.