

# **Micropropagación de *Arundo donax* a partir de yemas axilares y meristemas apicales**

**César Alberto Enrique de León de León**

**Zamorano, Honduras**

Noviembre, 2012

ZAMORANO  
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

# **Micropropagación de *Arundo donax* a partir de yemas axilares y meristemas apicales**

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

Presentado por:

**César Alberto Enrique de León de León**

**Zamorano, Honduras**  
Noviembre, 2012

# **Micropropagación de *Arundo donax* a partir de yemas axilares y meristemos apicales**

Presentado por:

César Alberto Enrique de León de León

Aprobado:

---

María Alexandra Bravo, M.Sc.  
Asesora principal

---

Abel Gernat, Ph.D.  
Director  
Departamento de Ciencia y Producción  
Agropecuaria

---

Rafael Solórzano, Ing.Agr.  
Asesor

---

Raúl Zelaya, Ph.D.  
Decano Académico

---

Alfredo Rueda, Ph.D.  
Asesor

## RESUMEN

de León de León, C.A.E. 2012. Micropropagación de *Arundo donax* a partir de yemas axilares y meristemas apicales. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 27p.

La caña común (*Arundo donax*) (Familia *Poaceae*) produce unas 180 tn/ha/año de biomasa. La Azucarera Tres Valles (ATV) desea producir energía durante todo el año y en periodo interzafra utilizar *A. donax* en las calderas, ATV ha realizado experimentos de propagación convencional utilizando esquejes de *A. donax*, pero el porcentaje de brotes ha sido bajo. El objetivo fue establecer *in vitro* *A. donax* y determinar el número de brotes que se producen con yemas axilares y meristemas apicales y evaluar *in vitro* plántulas en macollas e individuales aclimatándolas utilizando microorganismos, auxinas y mezclas de arena con suelo y abonos orgánicos como sustrato. Se establecieron *in vitro* 141 yemas axilares y 25 meristemas apicales, en medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) modificado. Al finalizar la multiplicación se realizó la aclimatación en invernadero realizando dos experimentos utilizando Trichozam<sup>®</sup>, Mycoral<sup>®</sup> y Rootone<sup>®</sup> y utilizando arena, suelo y abonos orgánicos. Se obtuvo 15.64 y 4.80 *in vitro* plántulas por explante sembrado de meristemas apicales y yemas axilares respectivamente. Rootone<sup>®</sup> tuvo efecto en la sobrevivencia con 80% contra 64% de los tratamientos sin utilizarlo. El mejor peso se obtuvo en macollas utilizando Mycoral<sup>®</sup>. Trichozam<sup>®</sup> + Rootone<sup>®</sup> produjeron el mejor crecimiento de raíces de 4.69 cm y 96% sobrevivencia. El mejor sustrato fue Arena:Humus (2:1), reflejado en macollas de 4.30 g de peso promedio y 99% de sobrevivencia, y en plántulas individuales de 3.43 g de peso promedio y 93% de sobrevivencia. Se deben utilizar plantas individuales ya que por macolla se obtienen 5 plantas en promedio. Se debe realizar un estudio de campo utilizando los mejores tres sustratos incluyendo microorganismos y auxinas.

**Palabras clave:** Aclimatación, auxinas, biomasa, carrizo, pasto, sustrato.

## CONTENIDO

Portadilla .....	i
Página de firmas .....	ii
Resumen .....	iii
Contenido .....	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>15</b>
<b>4. CONCLUSIONES.....</b>	<b>23</b>
<b>5. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>24</b>
<b>6. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>25</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>27</b>

## ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) modificado para el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Arundo donax</i> . .....	8
2. Medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) modificado para multiplicación y enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>Arundo donax</i> . .....	9
3. Tratamientos aplicados a plántulas o sustrato para la aclimatación de <i>in vitro</i> plántulas de <i>Arundo donax</i> . .....	12
4. Proporciones de mezcla de sustratos para aclimatación de <i>in vitro</i> plantas de <i>Arundo donax</i> . .....	14
5. Producción de brotes en etapa de multiplicación utilizando yemas axilares y meristemos apicales de <i>Arundo donax</i> . .....	15
6. Efecto de Mycoral <sup>®</sup> y Trichozam <sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en la aclimatación de <i>Arundo donax</i> . .....	17
7. Efecto de Rootone <sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en la aclimatación de <i>Arundo donax</i> . .....	17
8. <i>Vitro</i> plántulas en macolla e individuales de <i>Arundo donax</i> comparadas en peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en la aclimatación. ....	18
9. Efecto de Mycoral <sup>®</sup> , Trichozam <sup>®</sup> y mezcla de ellos con Rootone <sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en aclimatación de <i>Arundo donax</i> . ....	18
10. Efecto de Mycoral <sup>®</sup> y Trichozam <sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en la aclimatación de <i>in vitro</i> plántulas en macolla e individuales de <i>Arundo donax</i> . .....	19
11. Efecto del Rootone <sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en la aclimatación de <i>in vitro</i> plántulas en macolla e individuales de <i>Arundo donax</i> . .....	19
12. Efecto de Mycoral <sup>®</sup> , Trichozam <sup>®</sup> y mezcla de ellos con Rootone <sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en aclimatación de <i>in vitro</i> plántulas en macolla e individuales de <i>Arundo donax</i> . .....	20
13. Efecto de sustratos en el peso fresco y la sobrevivencia en la aclimatación de <i>in vitro</i> plántulas de <i>Arundo donax</i> . .....	21
14. Efecto en el peso fresco y sobrevivencia de <i>in vitro</i> plántulas agrupadas en macollas y plantas individuales en la aclimatación de <i>Arundo donax</i> utilizando arena, suelo y abonos orgánicos. ....	21
15. Efecto de utilizar arena, suelo, abonos orgánicos y mezcla de ellos como sustrato en la aclimatación de <i>in vitro</i> plántulas en macolla e individuales de <i>Arundo donax</i> . ....	22

Figuras	Página
1. Yemas axilares de <i>Arundo donax</i> .....	3
2. Proceso de extracción de ápices caulinares de <i>Arundo donax</i> . .....	4
3. Proceso de desinfección de yemas axilares y ápices caulinares de <i>Arundo donax</i> ....	5
4. Extracción de ápices caulinares y meristemos apicales de <i>Arundo donax</i> .....	6
5. Extracción de yemas axilares de <i>Arundo donax</i> .....	6
6. Establecimiento de explantes de <i>Arundo donax</i> .....	7
7. Proceso de multiplicación de <i>Arundo donax</i> .....	10
8. Procedimiento de aclimatación de <i>Arundo donax</i> .....	11
9. Forma de aplicación de Rootone <sup>®</sup> , Trichozam <sup>®</sup> y Mycoral <sup>®</sup> y trasplante de <i>in vitro</i> plantas de <i>Arundo donax</i> . .....	12
10. Procedimiento inicial y final de aclimatación de <i>Arundo donax</i> .....	13
11. Desarrollo de raíces de <i>Arundo donax</i> en etapa de multiplicación, subcultivo cinco. ....	16
 Anexos	
	Página
1. Porcentaje de contaminación y muertos en etapas de establecimiento, multiplicación y enraizamiento en micropropagación de <i>Arundo donax</i> . .....	27

## 1. INTRODUCCIÓN

La caña común, carrizo o falso bambú como comúnmente se conoce al *Arundo donax* se cree nativa de Asia y pertenece a la familia Poaceae. Ha sido cultivada en toda Asia, el sur de Europa, el norte de África desde hace miles de años. Fue introducido a Norte América desde el Mediterráneo a principios de 1800 y ha sido utilizado ampliamente como ornamental y para el control de la erosión a lo largo de los canales de drenaje e irrigación. Por su riqueza en producción de biomasa es utilizada también en la producción de energía (Hoshovsky 1986).

La caña común (*Arundo donax*), tiene un crecimiento de aproximadamente 1 m por mes y es muy resistente a plagas y enfermedades, tolera muy bien exceso de humedad, tiene alta capacidad de rebrote y sus semillas son infértiles. El material cosechado después del secado al aire libre tiene una humedad de aproximadamente 30% que es el requerido en la cogeneración de energía (McWilliams 2004).

Este estudio se realizó debido a la necesidad de la Azucarera Tres Valles de producir energía durante todo el año haciendo un uso eficiente de la maquinaria instalada. El *Arundo donax* es una planta con mucha fibra y bajo porcentaje de humedad. A este se le realizan tres cortes al año y a los cuatro meses después del corte las plantas llegan a alcanzar una altura de 2 a 3 metros, produciendo 180 Tn/ha/año de biomasa, en comparación con la caña de azúcar que produce 140 tn/ha/año (Solórzano 2012).

La biomasa producida se utilizará como combustible en las calderas para la generación de energía en período interzafra que dura seis meses. El Ingenio Tres Valles ha realizado experimentos de propagación convencional de *Arundo donax* utilizando esquejes, pero los resultados no han sido satisfactorios debido a que los brotes fueron escasos (Solórzano 2012).

El cultivo de tejidos permite obtener plantas libres de enfermedades, a la vez permite propagar masivamente material vegetal en cualquier época del año, conservando su potencial genético y calidad sanitaria (Mujib *et al.* 2004). La calidad de las plantas y la eficiencia del proceso de micropropagación dependen de la aclimatación del material vegetal. El uso de lombricompost, compost, bocashi y otros abonos orgánicos, como ingrediente para la mezcla de sustrato es importante ya que proveen nutrientes como nitrógeno y fósforo que se transforman fácilmente en formas asimilables (Agromonte Peñalver *et al.* 1998).

Los objetivos de este estudio fueron:

- \* Establecer *in vitro* *Arundo donax* y determinar el número de *in vitro* plantas que se producen utilizando yemas axilares y meristemas apicales en la etapa de multiplicación y enraizamiento.
- \* Evaluar la sobrevivencia y desarrollo de *in vitro* plántulas de *Arundo donax* aclimatadas en macollas e individuales.
- \* Evaluar el efecto de microorganismos y auxinas en la aclimatación de *Arundo donax*.
- \* Determinar el mejor sustrato para aclimatación de *in vitro* plantas de *Arundo donax* utilizando mezclas de arena con suelo, compost, bocashi y humus.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación.** El estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Escuela Agrícola Panamericana ubicada en el Valle del Yegua a 30 km de Tegucigalpa, Honduras durante los meses de octubre de 2011 a septiembre de 2012.

**Material vegetal.** Para el establecimiento *in vitro* se utilizaron yemas axilares y meristemos apicales de plantas de *Arundo donax* provenientes de las fincas de Azucarera Tres Valles. Estas plantas tenían 4 meses de edad y una altura promedio de 2 m.

**Preparación y extracción del explante.** Las yemas axilares fueron separadas del tallo principal utilizando bisturí y pinzas. Se realizó un corte entre el tallo y yema para ayudar al desprendimiento de la misma, posteriormente se eliminaron entre dos y cuatro brácteas para luego realizar la desinfección (Figura 1). Los meristemos apicales se extrajeron del ápice caulinar utilizando bisturí y pinzas. A los ápices se les eliminó hojas hasta dejarlos de 3 a 5 cm de largo y posteriormente se realizó la desinfección (Figura 2).

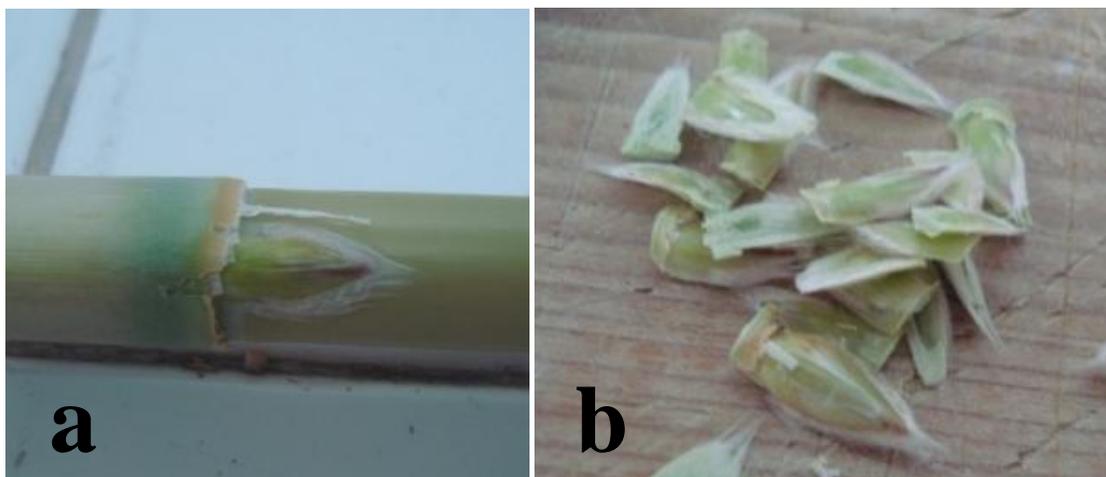


Figura 1. Yemas axilares de *Arundo donax*. a. Yema adherida al tallo. b. Yemas extraídas.

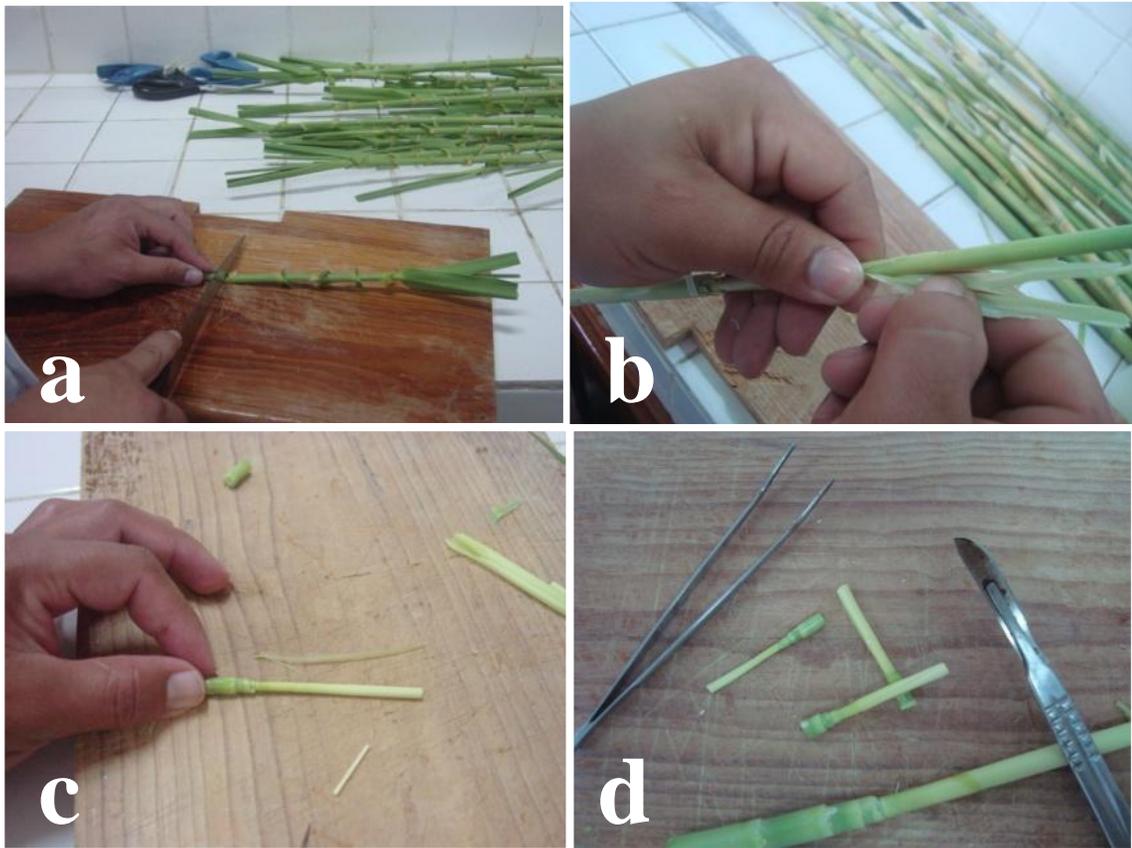


Figura 2. Proceso de extracción de ápices caulinares de *Arundo donax* a. Separación del tallo principal. b. Eliminación de hojas que cubren el verticilo caulinar. c. Corte de la parte alta del verticilo caulinar. b. Ápices caulinares listos para la desinfección.

**Desinfección superficial del explante.** La desinfección superficial del explante se inició sumergiendo las yemas axilares y los ápices caulinares en una solución de NaClO (cloro comercial al 4.72% de ingrediente activo) al 1%  $\text{v/v}$  más dos gotas de Tween 80 por cada 100 ml de solución por cinco minutos. Luego se sumergió en antioxidante estéril (150 mg/L de ácido cítrico + 100 mg/L de ácido ascórbico) por cinco minutos. Finalmente se sumergió los explantes en una solución de NaClO al 1%  $\text{v/v}$  más dos gotas de Tween 80 por cada 100 ml por 15 minutos y se llevó a la cámara de flujo laminar para decantar la solución (Figura 3).



Figura 3. Proceso de desinfección de yemas axilares y ápices caulinares de *Arundo donax*. a. Adición de solución con NaClO al 1%  $v/v$ . b. Adición de antioxidante estéril. c. Ápices caulinares sumergidos en solución de NaClO al 1%  $v/v$  en la cámara de flujo laminar.

**Establecimiento del cultivo.** Dentro de la cámara de flujo laminar y utilizando herramientas estériles se retiraron las yemas y los ápices caulinares del vaso de precipitación y se colocaron en placas petri estériles. Se eliminó las hojas que cubren el meristemo apical hasta dejarlo de aproximadamente 1.5 a 2 cm de largo (Figura 4). A las yemas axilares se eliminó las dos primeras brácteas dejando la yema aproximadamente de 1 cm (Figura 5). Se establecieron 141 yemas axilares y 25 meristemos apicales. Al finalizar la extracción de los meristemos apicales y yemas axilares se colocaron en frascos de cristal estériles con 1 ml de medio de cultivo líquido estéril, se sembró un explante por frasco (Figura 6).

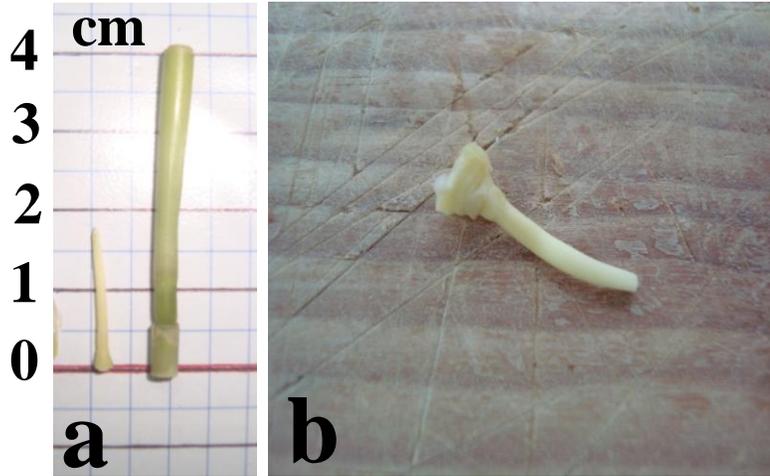


Figura 4. Extracción de ápices caulinares y meristemos apicales de *Arundo donax* a. Tamaño final e inicial de meristemo apical. b. Meristemo apical.

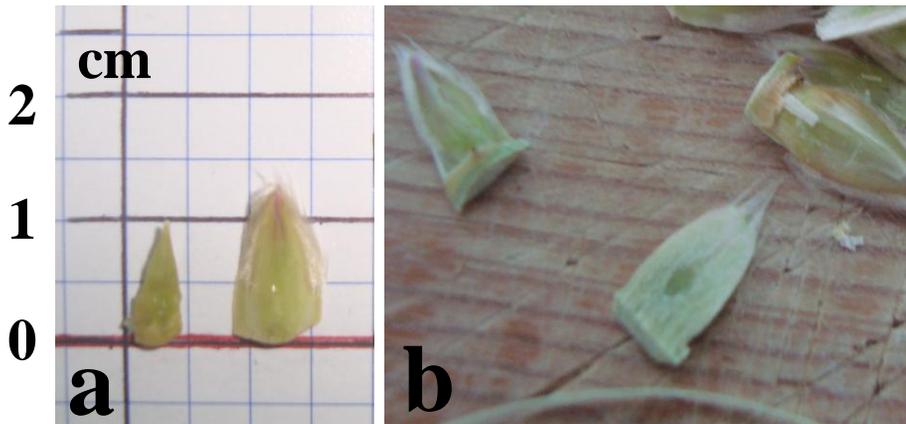


Figura 5. Extracción de yemas axilares de *Arundo donax* a. Tamaño inicial y final de yema axilar. b. Yemas

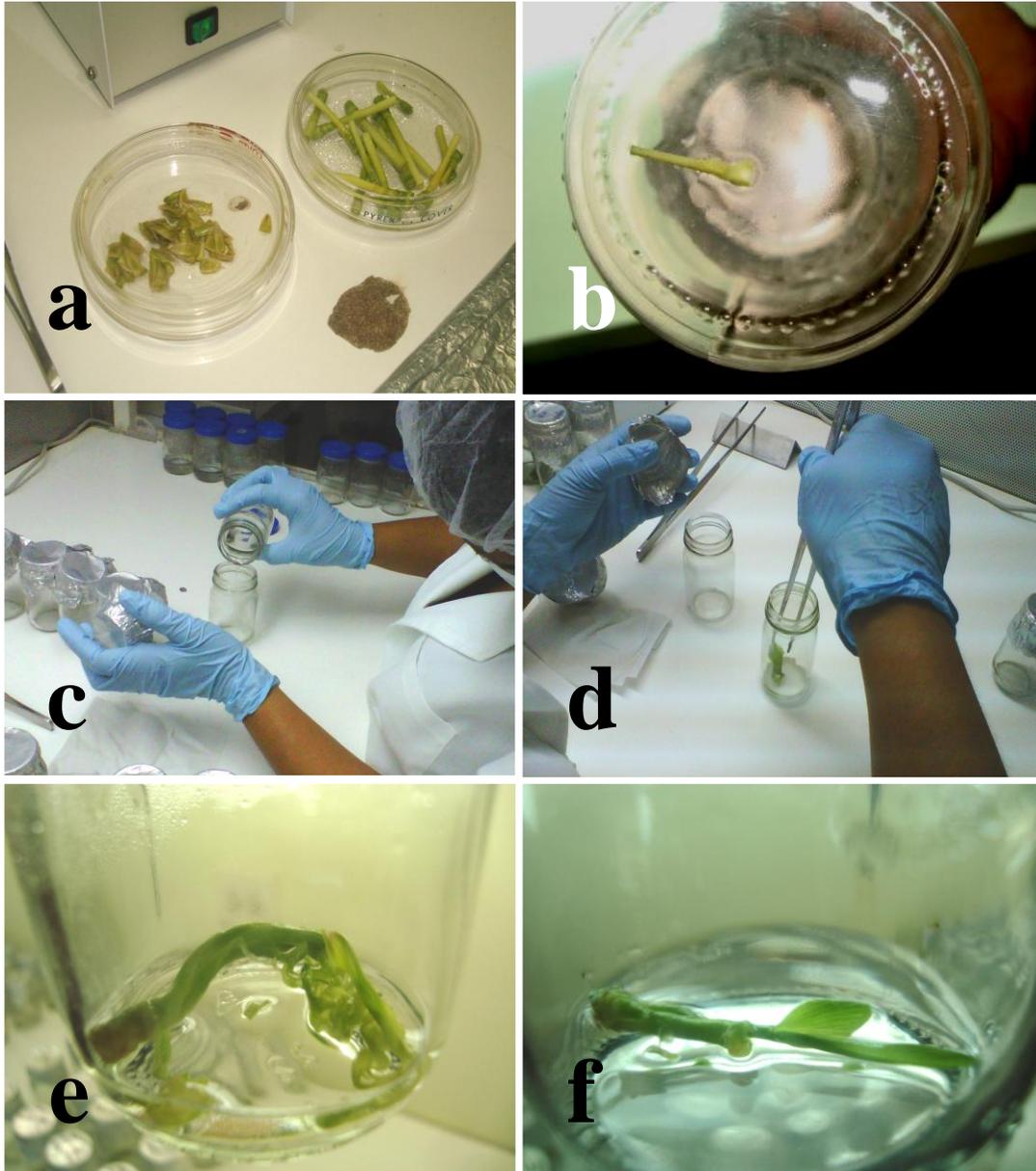


Figura 6. Establecimiento de explantes de *Arundo donax* a. Explantes listos para el proceso de establecimiento. b. Meristemo apical establecido. c. Distribución de medio de cultivo. d. Cambio de medio en etapa de establecimiento. e. Meristemo apical en etapa final de establecimiento f. Yema axilar en etapa final de establecimiento.

**Medio de cultivo.** Se utilizó las sales del medio de Murashige y Skoog (1962) (Kyte 1987) suplementado con 6-Bencil Amino Purina (BAP), myo-inositol, y tiamina en la etapa de establecimiento (Cuadro 1). Para la preparación de todas las soluciones y medio de cultivo se utilizó agua destilada, el pH se ajustó a 5.8 con HCl y/o KOH. Se utilizó 1 ml de medio de cultivo en cada frasco y se selló con papel aluminio o tapas plásticas. Los medios de cultivo se esterilizaron a 121 °C, 20 PSI por 20 minutos. Después de la siembra

de los explantes los frascos se taparon y sellaron con cinta plástica. Cada cinco días se realizó cambio de medio hasta llegar a los 30 días.

Cuadro 1. Medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) modificado para el establecimiento *in vitro* de *Arundo donax*.

Componente	Fórmula	Nombre común	mg/L
Macroelementos	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	Cloruro de calcio bihidratado	440.000
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato monobásico de potasio	170.000
	KNO <sub>3</sub>	Nitrato de potasio	1,900.000
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Sulfato de magnesio heptahidratado	370.000
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	Nitrato de amonio	1,650.000
Microelementos	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Ácido bórico	6.200
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	Cloruro de cobalto hexahidratado	0.025
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	Sulfato de cobre pentahidratado	0.025
	KI	Yoduro de potasio	0.830
	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	Sulfato de manganeso tetrahidratado	22.300
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	Molibdato de sodio bihidratado	0.250
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Sulfato de zinc heptahidratado	8.600
Hierro	FeNa EDTA	Sal férrica sódica de ácido etilendiaminotetraacético	50.000
Componentes orgánicos		Myo-inositol	100.000
		Tiamina-HCL	1.000
		BAP	0.026
		Sacarosa	20,000.000

Fuente: Kyte 1987.

**Multiplicación y enraizamiento.** La etapa de multiplicación se inició 30 días después del establecimiento. El cambio de medio en esta etapa se realizó cada 30 días. Se usó el medio de Murashige y Skoog (1962) (Kyte 1987) modificado (Cuadro 2), el pH del medio se ajustó a 5.8 con HCl y/o KOH. El medio fue solidificado con Phytigel (1.8 g/L) y esterilizado a 121 °C, 20 PSI por 20 minutos. Durante las etapas de establecimiento y

multiplicación se mantuvo los cultivos en el cuarto de crecimiento a 22 °C, con una humedad relativa de 70 – 80 % con una intensidad de luz de 1800 Lux y un ciclo lumínico de 16 horas de luz y ocho horas de oscuridad.

Cuadro 2. Medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) modificado para multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Arundo donax*.

Componente	Fórmula	Nombre común	mg/L
Macroelementos	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	Cloruro de calcio bihidratado	440.000
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato monobásico de potasio	170.000
	KNO <sub>3</sub>	Nitrato de potasio	1,900.000
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Sulfato de magnesio heptahidratado	370.000
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	Nitrato de amonio	1,650.000
Microelementos	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Ácido bórico	6.200
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	Cloruro de cobalto hexahidratado	0.025
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	Sulfato de cobre pentahidratado	0.025
	KI	Yoduro de potasio	0.830
	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	Sulfato de manganeso tetrahidratado	22.300
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	Molibdato de sodio bihidratado	0.250
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Sulfato de zinc heptahidratado	8.600
Hierro	FeNa EDTA	Sal férrica sódica de ácido etilendiaminotetraacético	50.000
Componentes orgánicos		Myo-inositol	100.000
		Glicina	2.000
		Ácido nicotínico	0.500
		Piridoxina	0.500
		Tiamina-HCL	1.000
		BAP	3.000
		Sacarosa	20,000.000
		Phytigel	1,800.000

Fuente: Kyte 1987.

**Datos evaluados en establecimiento y multiplicación.** En la etapa de establecimiento se evaluó la adaptación de *Arundo donax* al medio de cultivo. En la etapa de multiplicación se evaluó la producción de brotes provenientes de yemas axilares y meristemos apicales (Figura 7). Cada siete días se evaluó el número de explantes o brotes contaminados y muertos.

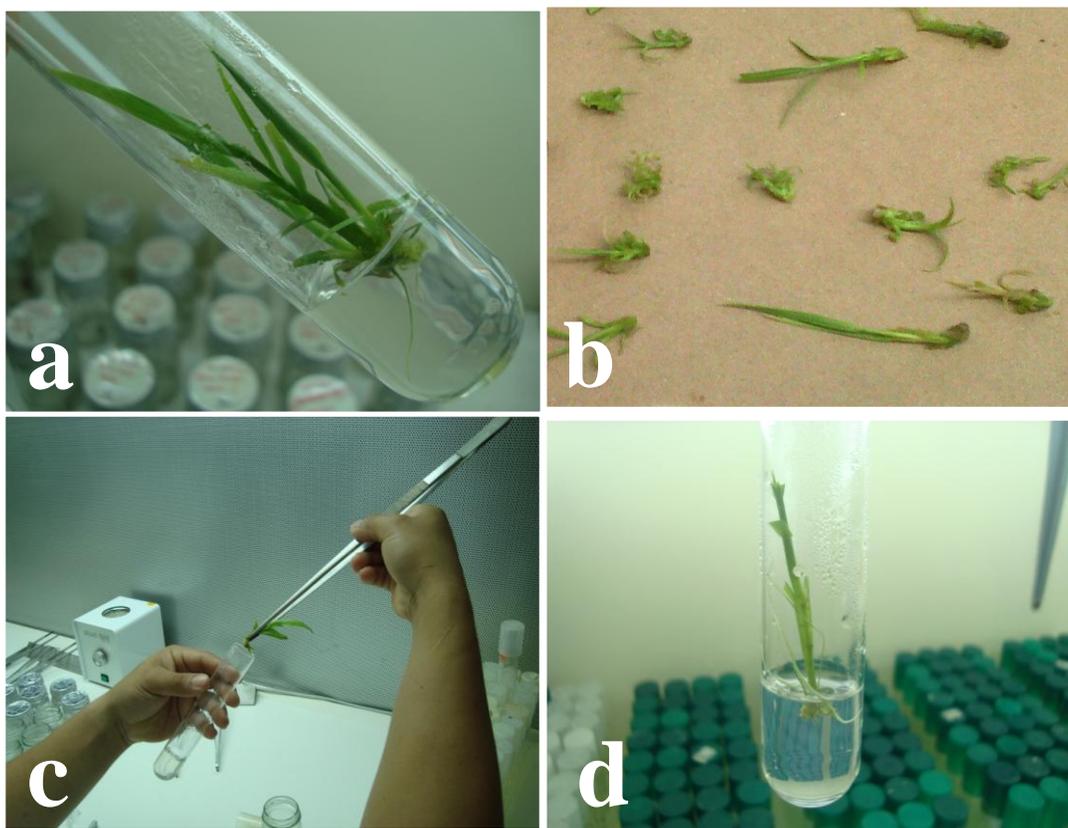


Figura 7. Proceso de multiplicación de *Arundo donax* a. Planta con brotes. b. Brotes separados. c. Siembra de brotes individuales. d. Microesqueje.

**Aclimatación.** Al finalizar la fase de multiplicación y cuando las plantas desarrollaron raíces se llevaron al invernadero donde se realizó el trasplante a bandejas múltiples de 50 celdas. Se extrajo las *in vitro* plantas del tubo de ensayo y se sumergió en agua potable para eliminar restos de medio de cultivo, luego se procedió a medir las raíces y trasplantarlas agrupadas en macolla o individuales, según el tratamiento (Figura 8).

Los sustratos se esterilizaron a 90° C por cinco horas. La temperatura promedio en el invernadero por la mañana fue de 22 °C, al medio día 33 °C y por la noche 30 °C, con temperatura mínima de 18 °C y máxima de 38 °C la humedad relativa promedio fue por la mañana 68%, al medio día 53% y por la noche 61%. El invernadero está cubierto con malla de 40% de sombra. Este experimento se realizó durante los meses de junio a agosto de 2012.

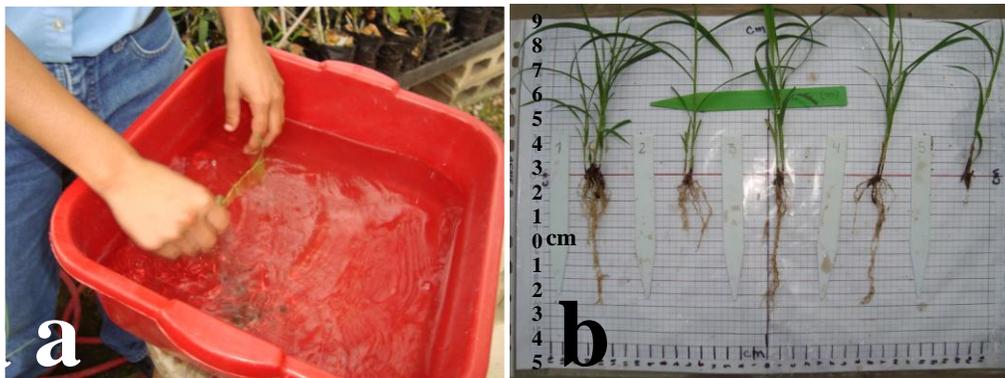


Figura 8. Procedimiento de aclimatación de *Arundo donax* a. Lavado de raíces y eliminación de medio de cultivo. b. Medición de raíces antes de trasplante.

### Experimento 1. Aclimatación de *in vitro* plántulas de *Arundo donax* en invernaderos utilizando Trichozam<sup>®</sup>, Mycoral<sup>®</sup> y Rootone<sup>®</sup>.

Se utilizó bandejas múltiples de 50 celdas. El sustrato para trasplante estaba compuesto de mezcla de suelo:arena (se desconoce el tipo de suelo y su contenido nutricional) en proporciones de 3:2 suplementado con aproximadamente 10 g de Osmocote<sup>®</sup> (14-14-14) por 1 kg de sustrato.

Se probaron 12 tratamientos con cinco repeticiones de cinco plantas cada uno. Los tratamientos se realizaron utilizando plantas en macolla con la aplicación de Trichozam<sup>®</sup>, Mycoral<sup>®</sup>, Rootone<sup>®</sup>, Trichozam<sup>®</sup> + Rootone<sup>®</sup>, Mycoral<sup>®</sup> + Rootone<sup>®</sup> y un testigo al que no se le añadió ninguno de estos (Cuadro 3).

Se repitió la misma aplicación con plantas individuales obtenidas de la separación de las macollas de cada tubo. La aplicación de Trichozam<sup>®</sup> y Rootone<sup>®</sup> se realizó en solución sumergiendo las raíces de cada una de las plantas. Mycoral<sup>®</sup> se inoculó de forma seca a las raíces y en el sustrato (Figura 9).

Se realizó una aplicación foliar de fertilizante 20-20-20 con una dosis de 2 g/L a los 30 días después del trasplante. Se realizó tres podas iniciando el día del trasplante y haciendo las dos siguientes con intervalos de 20 días.

Cuadro 3. Tratamientos aplicados a plántulas o sustrato para la aclimatación de *vitro* plántulas de *Arundo donax*.

Tratamiento	Forma de aplicación	Dosis
Trichozam <sup>®</sup>	Inmersión de raíces	2 g/L
Mycoral <sup>®</sup>	En raíces y sustrato	8 g
Rootone <sup>®</sup>	Inmersión de raíces	2 g/L
Trichozam <sup>®</sup> + Rootone <sup>®</sup>	Inmersión de raíces	2 g/L + 2 g/L
Mycoral <sup>®</sup> + Rootone <sup>®</sup>	Inmersión de raíces y en el sustrato	8 g + 2 g/L
Testigo	-----	-----



Figura 9. Forma de aplicación de Rootone<sup>®</sup>, Trichozam<sup>®</sup> y Mycoral<sup>®</sup> y trasplante de *vitro* plantas de *Arundo donax*. a. Aplicación de Rootone<sup>®</sup> y Trichozam<sup>®</sup>. b. Aplicación de Mycoral<sup>®</sup>. c. Trasplante.

**Diseño experimental.** Se utilizó un arreglo Factorial en un Diseño Completamente al Azar (DCA). El análisis se realizó a 12 tratamientos con cinco repeticiones cada uno y cinco unidades experimentales. Se utilizó para el análisis Statistical Analysis System (SAS<sup>®</sup> versión 9.1).

**Datos evaluados.** Se midió el largo inicial de la raíz al momento trasplante y al final del ciclo de prueba. También se evaluó el peso fresco final de cada planta y la sobrevivencia (Figura 10).

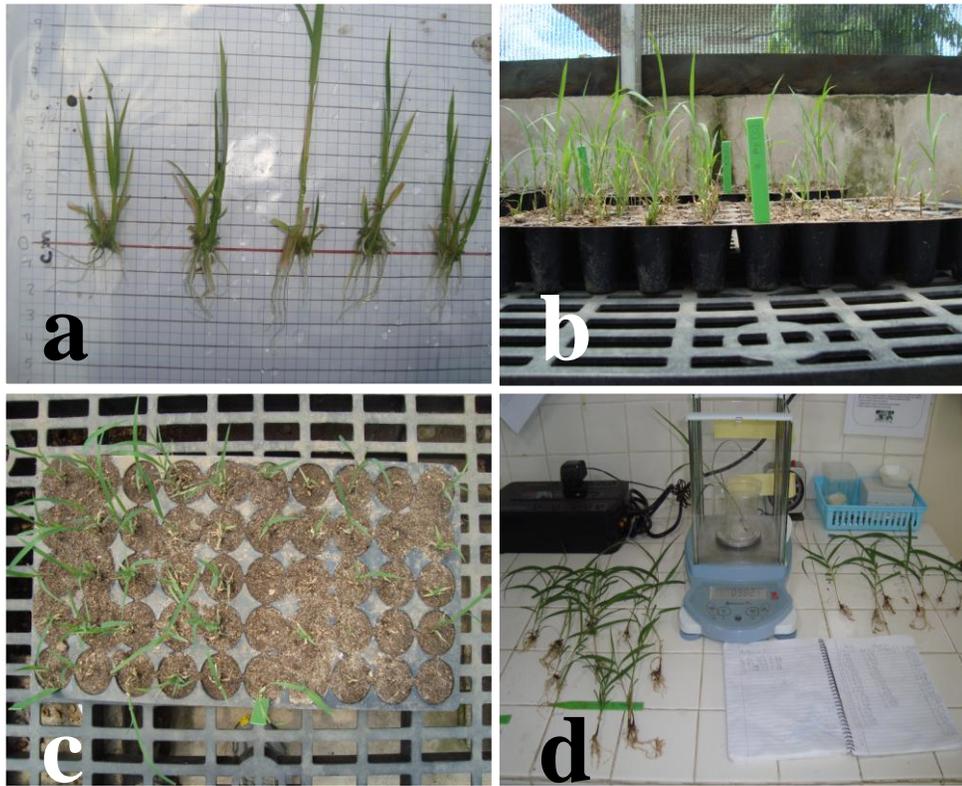


Figura 10. Procedimiento inicial y final de aclimatación de *Arundo donax*. a. Medición final de raíces. b. Vista lateral de dos tratamientos al final de la aclimatación. c. Vista superior de dos tratamientos al final de la aclimatación. d. Pesado individual de plántulas.

**Experimento 2. Aclimatación de *in vitro* plántulas de *Arundo donax* utilizando arena, suelo y abonos orgánicos.** Se probaron siete tratamientos con cuatro repeticiones de 25 plantas cada uno con plantas en macolla y plantas individuales. Se utilizó bandejas múltiples de 50 celdas. Se utilizó una mezcla de arena, suelo (se desconoce el tipo de suelo y su contenido nutricional) y abonos orgánicos (Cuadro 4). Las bandejas se llenaron con los sustratos y se aplicó 10 g de Osmocote<sup>®</sup> (14-14-14) por 1 kg de sustrato.

Cuadro 4. Proporciones de mezcla de sustratos para aclimatación de *vitro* plantas de *Arundo donax*.

Medio	Proporciones				
	Arena	Bocashi	Compost	Humus	Suelo
Arena+Bocashi	2.0	1.0	-	-	-
Arena+Compost	2.0	-	1.0	-	-
Arena+Humus	2.0	-	-	1.0	-
Arena+Suelo	1.0	-	-	-	2.0
Arena+Suelo+Bocashi	1.0	0.5	-	-	1.0
Arena+Suelo+Compost	1.0	-	1.0	-	1.0
Arena+Suelo+Humus	1.0	-	-	1.0	1.0

**Diseño experimental.** Se utilizó un arreglo Factorial en un Diseño Completamente al Azar (DCA). El análisis se realizó a 14 tratamientos con cuatro repeticiones cada uno y 25 unidades experimentales en cada repetición. Se utilizó para el análisis el programa Statistical Analysis System (SAS<sup>®</sup> versión 9.1).

**Datos evaluados.** A los 50 días después del trasplante se pesaron las plántulas y se evaluó la sobrevivencia.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la etapa de iniciación se logró establecer 20 meristemos apicales de 25 explantes sembrados. Los meristemos apicales en subcultivo uno no presentaron formación de brotes, esta se pudo observar a partir del subcultivo dos. En el subcultivo cuatro el número de brotes fue aproximadamente 10 veces el número de brotes del subcultivo anterior. En subcultivo cinco se redujo la tasa de multiplicación, duplicando el número de brotes.

Se logró establecer 133 yemas axilares de las 141 sembradas. Las yemas axilares en subcultivo uno presentaron una tasa de multiplicación baja, ésta se duplicó en el subcultivo tres. En el subcultivo cuatro el número de brotes fue cuatro veces el número de brotes del subcultivo tres y luego en subcultivo cinco se triplicó el número de brotes.

Al final de la etapa de multiplicación se obtuvo 391 macollas provenientes de meristemos apicales con una media de 97.75 macollas producidas por meristemo y 681 macollas de yemas axilares con una media de 84.07 macollas producidas por yema (Cuadro 5). A pesar de provenir de material de plantas madres de la misma edad con las mismas condiciones, la producción de brotes de cada explante en cada subcultivo fue variable.

Utilizando yemas axilares como explante se obtuvo en promedio 4.80 plantas por explante sembrado y los meristemos apicales produjeron en promedio 15.64 plantas por explante sembrado.

Cuadro 5. Producción de brotes en etapa de multiplicación utilizando yemas axilares y meristemos apicales de *Arundo donax*.

Explante		Establecimiento		Multiplicación			
		E.I	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5
Meristemos Apicales	No. de Brotes	25.00	20.00	14.00	31.00	207.00	391.00
	Promedio		1.00	1.56	3.87	41.40	97.75
	Tasa de Multiplicación*			1.56	2.48	10.70	2.36
Yemas Axilares	No. de Brotes	141.00	133.00	39.00	49.00	241.00	681.00
	Promedio		1.07	1.70	3.63	17.21	61.91
	Tasa de Multiplicación			1.59	2.14	4.74	3.60

\* = Tasa de multiplicación al final de cada subcultivo

De acuerdo con Herrera-Alamillo y Robert (2012) el proceso de micropropagación de *Arundo donax* utilizando yemas axilares es exitoso, en este experimento también se comprobó que los meristemos apicales son explantes aprovechables. Estos autores mencionan que el explante óptimo proviene de yemas axilares, pero nosotros observamos que los meristemos apicales producen aproximadamente 15% más brotes que las yemas.

Al realizar eliminación por contaminación se debe tomar en cuenta que al momento de la división los brotes liberan un exudado de color blanco similar a la contaminación por bacterias, reacción que es común en *Arundo donax* y se debe observar cuidadosamente para evitar eliminar plantas sanas.

En la etapa de multiplicación se realizaron cinco subcultivos y se observó durante el subcultivo cinco el desarrollo de raíces por lo que no fue necesario realizar la etapa de enraizamiento requerida en la mayoría de cultivos *in vitro* (Figura 11). Utilizar medio sólido en multiplicación mejora la producción de raíces y ayuda la formación de plantas erectas en este cultivo. En el estudio de Herrera-Alamillo y Robert (2012) los brotes producidos en medio líquido tuvieron variaciones en forma, ya que la planta no tenía una posición fija en el medio líquido.

Durante toda la fase de laboratorio se obtuvo una sobrevivencia de 83% en los propágulos provenientes de meristemos apicales y de 75.58% en los provenientes de yemas axilares. Se dieron pérdidas por muerte y contaminación.



Figura 11. Desarrollo de raíces de *Arundo donax* en etapa de multiplicación, subcultivo cinco.

**Experimento 1. Aclimatación de *vitro* plántulas de *Arundo donax* en invernaderos utilizando Trichozam<sup>®</sup>, Mycoral<sup>®</sup> y Rootone<sup>®</sup>.** Las plantas con aplicación de Mycoral<sup>®</sup> y Trichozam<sup>®</sup> tuvieron peso fresco igual pero mejor que el testigo. Las plantas con aplicación de Trichozam<sup>®</sup> tuvieron mejor largo de raíces y los tratamientos con Mycoral<sup>®</sup> tuvieron la menor sobrevivencia.

Cuadro 6. Efecto de Mycoral<sup>®</sup> y Trichozam<sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en la aclimatación de *Arundo donax*.

Tratamiento	Peso (g)	Largo (cm)	Sobrevivencia (%)
Mycoral <sup>®</sup>	1.17 <sup>a</sup>	3.29 <sup>b</sup>	68.00 <sup>b</sup> $\Omega$
Trichozam <sup>®</sup>	0.97 <sup>a</sup>	4.02 <sup>a</sup>	76.00 <sup>a</sup>
Testigo	0.74 <sup>b</sup>	2.33 <sup>c</sup>	72.00 <sup>a</sup>

$\Omega$  = Las medias con letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey  $P \leq 0.001$

Rootone<sup>®</sup> no tuvo influencia en el peso y crecimiento de las raíces pero si se observó que tuvo efecto en la sobrevivencia con 80% contra 64% de los tratamientos sin utilizarlo (Cuadro 7). Rootone<sup>®</sup> es un producto utilizado para el enraizamiento de plántulas y esquejes, mejora el desarrollo radicular y contiene fungicidas que evitan el crecimiento de hongos que puedan afectar durante el desarrollo de raíces. El peso y el largo de raíces es igual para tratamientos con Rootone<sup>®</sup> y sin Rootone<sup>®</sup>.

Cuadro 7. Efecto de Rootone<sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en la aclimatación de *Arundo donax*.

Tratamiento	Peso (g)	Largo (cm)	Sobrevivencia (%)
Sin Rootone <sup>®</sup>	0.99 <sup>a</sup>	3.27 <sup>a</sup>	64.00 <sup>b</sup> $\Omega$
Con Rootone <sup>®</sup>	0.93 <sup>a</sup>	3.15 <sup>a</sup>	80.00 <sup>a</sup>

$\Omega$  = Las medias con letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey  $P \leq 0.001$

No se observó diferencia en sobrevivencia entre usar macollas y plantas individuales. Sin embargo las macollas tuvieron 1.01 g peso promedio que fue superior a las plantas individuales y las plantas individuales tuvieron 3.51 cm largo promedio de raíces superando a las macollas (Cuadro 8). La superioridad en peso se le atribuye que la macolla es un conjunto de plantas pero la diferencia es de apenas 0.10 g. El largo de raíces en las macollas fue menor porque todas las plantas de la macolla desarrollan raíces en masas pero de corta longitud a diferencia de las individuales que producen raíces elongadas.

Cuadro 8. *Vitro* plántulas en macolla e individuales de *Arundo donax* comparadas en peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en la aclimatación.

<i>Vitro</i> plátula	Peso (g)	Largo (cm)	Sobrevivencia (%)
Macolla	1.01 <sup>a</sup>	2.92 <sup>b</sup>	70.67 <sup>a</sup> $\Omega$
Individual	0.91 <sup>b</sup>	3.51 <sup>a</sup>	73.33 <sup>a</sup>

$\Omega$  = Las medias con letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey  $P \leq 0.001$

Al combinar Mycoral<sup>®</sup> y Trichozam<sup>®</sup> con Rootone<sup>®</sup> se observó que el mejor peso fresco y crecimiento de raíces se observó utilizando Mycoral<sup>®</sup> (1.50 g /plántula) y Trichozam<sup>®</sup> + Rootone<sup>®</sup> (Cuadro 9). Esto se debe a que las micorrizas hacen simbiosis con la planta y mejoran el aprovechamiento de los nutrientes en el medio, aumentando el desarrollo vegetativo y mejorando el crecimiento y número de raíces comparado con Solís (2003) que obtuvo resultados significativos en el establecimiento de *vitro* plantas, obteniendo el mayor número de raíces y el mejor peso seco.

El mejor porcentaje de sobrevivencia se observó en los tratamientos con Trichozam<sup>®</sup> + Rootone<sup>®</sup> esto debido a que con el uso de Rootone<sup>®</sup> se le suministra a la planta auxinas que son promotores de enraizamiento y según Trabanino (2008) que dice que con el uso de *Trioderma harzianum* que es un hongo antagonico las raíces se protegen de la colonización de otros hongos, especialmente de mal del talluelo, garantizando la sobrevivencia de la planta. Con esto se demuestra que es mejor implementar el uso de cualquiera de estos productos que no utilizar ninguno (Cuadro 9).

Cuadro 9. Efecto de Mycoral<sup>®</sup>, Trichozam<sup>®</sup> y mezcla de ellos con Rootone<sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en aclimatación de *Arundo donax*.

Tratamiento	Peso (g)	Largo (cm)	Sobrevivencia (%)
Mycoral <sup>®</sup>	1.50 <sup>a</sup>	4.17 <sup>ab</sup>	66.00 <sup>ab</sup> $\Omega$
Mycoral <sup>®</sup> + Rootone <sup>®</sup>	0.85 <sup>bc</sup>	2.40 <sup>b</sup>	70.00 <sup>ab</sup>
Trichozam <sup>®</sup>	0.85 <sup>bc</sup>	3.64 <sup>ab</sup>	62.00 <sup>b</sup>
Trichozam <sup>®</sup> + Rootone <sup>®</sup>	1.09 <sup>ab</sup>	4.41 <sup>a</sup>	90.00 <sup>a</sup>
Testigo + Rootone <sup>®</sup>	0.85 <sup>bc</sup>	2.66 <sup>b</sup>	80.00 <sup>ab</sup>
Testigo	0.62 <sup>c</sup>	2.01 <sup>b</sup>	64.00 <sup>b</sup>

$\Omega$  = Las medias con letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey  $P \leq 0.001$

El mejor peso fresco se consiguió en macollas y plantas individuales con la aplicación de Mycoral<sup>®</sup> y en macollas con la aplicación de Trichozam<sup>®</sup>, esto debido a las micorrizas mejoran absorción de nutrientes y desarrollo vegetativo de la planta y que definitivamente una macolla pesa más que una planta individual.

El mayor crecimiento de raíces se obtuvo en macollas y plantas individuales con la aplicación de Trichozam<sup>®</sup>, esto se debe a que este producto brinda protección a las raíces

evitando pérdidas por daños por hongos (Trabanino 2008). No se observó diferencia significativa en la sobrevivencia y esto se le puede atribuir a que en este análisis se toma en cuenta como testigo también al tratamiento que solo tiene Rootone<sup>®</sup>, producto que ha tenido muy buenos resultados en sobrevivencia (Cuadro 10).

Cuadro 10. Efecto de Mycoral<sup>®</sup> y Trichozam<sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en la aclimatación de *vitro* plántulas en macolla e individuales de *Arundo donax*.

Tratamiento	<i>Vitro</i> plántula	Peso (g)	Largo (cm)	Sobrevivencia (%)
Mycoral <sup>®</sup>	Individual	1.14 <sup>ab</sup>	3.74 <sup>ab</sup>	60.00 <sup>aΩ</sup>
	Macolla	1.21 <sup>a</sup>	2.83 <sup>ab</sup>	76.00 <sup>a</sup>
Trichozam <sup>®</sup>	Individual	0.86 <sup>ab</sup>	3.75 <sup>a</sup>	76.00 <sup>a</sup>
	Macolla	1.08 <sup>a</sup>	4.30 <sup>a</sup>	76.00 <sup>a</sup>
Testigo	Individual	0.72 <sup>b</sup>	3.05 <sup>ab</sup>	84.00 <sup>a</sup>
	Macolla	0.75 <sup>b</sup>	1.62 <sup>c</sup>	60.00 <sup>a</sup>

Ω = Las medias con letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey P≤0.001

El mejor peso fresco de las plántulas en tratamientos sin Rootone<sup>®</sup> fue utilizando macolla y se le atribuyó a que las macollas se forman de varias plantas. El crecimiento de raíces fue mejor en tratamientos con Rootone<sup>®</sup> utilizando plantas individuales. La sobrevivencia fue mejor en plantas individuales utilizando Rootone<sup>®</sup> (Cuadro 11).

De acuerdo con Martínez *et al.* (2010), que enraizó *Xanthosoma sagittifolium* produciendo raíces de hasta 9.1 cm los buenos resultados en el desarrollo de raíces se le atribuye a las auxinas las cuales promueven el desarrollo de raíces demostrado en el experimento con plantas individuales y aplicación de Rootone<sup>®</sup> que tuvieron la mayor longitud de raíces.

Cuadro 11. Efecto del Rootone<sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en la aclimatación de *vitro* plántulas en macolla e individuales de *Arundo donax*.

Tratamiento	<i>Vitro</i> plántula	Peso (g)	Largo (cm)	Sobrevivencia (%)
Sin Rootone <sup>®</sup>	Individual	0.86 <sup>b</sup>	3.24 <sup>b</sup>	62.67 <sup>c Ω</sup>
	Macolla	1.11 <sup>a</sup>	3.31 <sup>ab</sup>	65.33 <sup>c</sup>
Con Rootone	Individual	0.95 <sup>ab</sup>	3.78 <sup>a</sup>	84.00 <sup>a</sup>
	Macolla	0.91 <sup>ab</sup>	2.53 <sup>c</sup>	76.00 <sup>b</sup>

Ω = Las medias con letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey P≤0.001

El mejor peso fresco obtenido fue en macollas y plantas individuales utilizando Mycoral<sup>®</sup>. Se produjo el mejor crecimiento de raíces utilizando la combinación de Trichozam<sup>®</sup> + Rootone<sup>®</sup> con macollas y plántulas individuales y en macollas utilizando únicamente Trichozam<sup>®</sup>. Todos los tratamientos tuvieron similar porcentaje de sobrevivencia a excepción del testigo (Cuadro 12).

De acuerdo con Lardizábal (2002) Trichozam<sup>®</sup> promueve el crecimiento de raíces y especialmente la sobrevivencia ya que coloniza las raíces formando una capa protectora y hace simbiosis con la planta. *Trichoderma sp.* vive del exudado de las raíces y favorece a la planta en desaparecer este exudado que es usado por patógenos para encontrar las raíces e infectar. Esto se corrobora con los resultados en donde se señala al tratamiendo Trichozam<sup>®</sup> + Rootone<sup>®</sup> que refleja el mejor crecimiento de raíces y porcentaje de sobrevivencia.

Cuadro 12. Efecto de Mycoral<sup>®</sup>, Trichozam<sup>®</sup> y mezcla de ellos con Rootone<sup>®</sup> en el peso fresco, crecimiento de raíces y sobrevivencia en aclimatación de *vitro* plántulas en macolla e individuales de *Arundo donax*.

Tratamiento	<i>Vitro</i> plántula	Peso (g)	Largo (cm)	Sobrevivencia (%)
	Individual	1.34 <sup>ab</sup>	4.03 <sup>abc</sup>	52.00 <sup>ab</sup> $\Omega$
Mycoral <sup>®</sup>	Macolla	1.66 <sup>a</sup>	4.28 <sup>ab</sup>	80.00 <sup>ab</sup>
Mycoral <sup>®</sup> + Rootone <sup>®</sup>	Individual	0.94 <sup>bcd</sup>	3.41 <sup>abc</sup>	68.00 <sup>ab</sup>
	Macolla	0.76 <sup>bcd</sup>	1.39 <sup>bc</sup>	72.00 <sup>ab</sup>
Trichozam <sup>®</sup>	Individual	0.68 <sup>cd</sup>	2.80 <sup>bc</sup>	56.00 <sup>ab</sup>
	Macolla	1.02 <sup>bcd</sup>	4.47 <sup>ab</sup>	68.00 <sup>ab</sup>
Trichozam <sup>®</sup> + Rootone <sup>®</sup>	Individual	1.04 <sup>bcd</sup>	4.69 <sup>a</sup>	96.00 <sup>a</sup>
	Macolla	1.13 <sup>abc</sup>	4.13 <sup>abc</sup>	84.00 <sup>ab</sup>
Rootone <sup>®</sup>	Individual	0.87 <sup>bcd</sup>	3.25 <sup>abc</sup>	88.00 <sup>ab</sup>
	Macolla	0.84 <sup>bcd</sup>	2.06 <sup>bc</sup>	72.00 <sup>ab</sup>
Testigo	Individual	0.56 <sup>d</sup>	2.84 <sup>bc</sup>	80.00 <sup>ab</sup>
	Macolla	0.67 <sup>d</sup>	1.18 <sup>c</sup>	48.00 <sup>b</sup>

$\Omega$  = Las medias con letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey  $P \leq 0.001$

**Experimento 2. Aclimatación de *vitro* plántulas de *Arundo donax* utilizando arena, suelo y abonos orgánicos.** Los mejores pesos se obtuvieron utilizando las combinaciones de arena:humus y arena:suelo:compost con un resultado de 3.87 g y 3.80 g de peso fresco

respectivamente utilizando macolla y planta individual. El porcentaje más alto de sobrevivencia se observó en la mezcla de arena:humus y arena:suelo (Cuadro 13). A diferencia de Díaz *et al.* (2004) que logró mejores resultados en aclimatación de caña de azúcar utilizando 100% de humus de lombriz como sustrato, en este estudio se obtuvieron los mejores resultados con humus al 33% del total del sustrato en la aclimatación de *Arundo donax*.

Cuadro 13. Efecto de sustratos en el peso fresco y la sobrevivencia en la aclimatación de *vitro* plántulas de *Arundo donax*.

Tratamiento	Peso (g)	Sobrevivencia (%)	
Arena +	Bocashi	2.78 <sup>c</sup>	36.50 <sup>d<math>\Omega</math></sup>
	Compost	1.98 <sup>f</sup>	84.00 <sup>bc</sup>
	Humus	3.87 <sup>a</sup>	96.00 <sup>a</sup>
	Suelo	3.15 <sup>cd</sup>	88.50 <sup>ab</sup>
	Suelo + Bocashi	3.41 <sup>bc</sup>	73.00 <sup>c</sup>
	Suelo + Compost	3.80 <sup>b</sup>	84.00 <sup>bc</sup>
	Suelo + Humus	2.89 <sup>de</sup>	75.00 <sup>c</sup>

$\Omega$  = Las medias con letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey  $P \leq 0.001$

Los mejores pesos se obtuvieron utilizando plantas en macollas con 3.44 g de peso fresco. El porcentaje de sobrevivencia promedio de todos los tratamientos en donde se utilizó macollas es de 85%. Se le atribuye este resultado a que una macolla tiene más probabilidad de sobrevivir comparada con una planta individual y por ser un grupo de plantas tiende a ser más pesada (Cuadro 14).

Cuadro 14. Efecto en el peso fresco y sobrevivencia de *vitro* plántulas agrupadas en macollas y plantas individuales en la aclimatación de *Arundo donax* utilizando arena, suelo y abonos orgánicos.

<i>Vitro</i> platula	Peso (g)	Sobrevivencia (%)
Macolla	3.44 <sup>a</sup>	85.00 <sup>a<math>\Omega</math></sup>
Individual	2.81 <sup>b</sup>	68.43 <sup>b</sup>

$\Omega$  = Las medias con letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey  $P \leq 0.001$

Los mejores sustratos en etapa de aclimatación fueron los que contenían arena:humus y arena:suelo:compost en base al mejor peso, en estos tratamiento se obtuvieron plantas en macollas con un peso promedio de 4.30 g y 3.90 g respectivamente y el peor sustrato fue arena:bocashi (Cuadro 15). Igual que Nuyens (1998) se obtuvo los peores resultados utilizando bocashi en la evaluación de sustratos para plántulas y esto probablemente se

debe a que la dosis usada fue muy alta. Bocashi tiene alto contenido de ales lo que puede ser nocivo para los cultivos.

De acuerdo con Díaz *et al.* (2004) que dice que los abonos orgánicos son fuente confiable de nitrógeno, fósforo y potasio y coincide con este estudio en mencionar que los mejores resultados se obtienen con el uso de humus de lombriz californiana avalando así los mejores resultados de sobrevivencia que se obtuvieron con la mezcla de arena:humus.

Cuadro 15. Efecto de utilizar arena, suelo, abonos orgánicos y mezcla de ellos como sustrato en la aclimatación de *vitro* plántulas en macolla e individuales de *Arundo donax*.

Tratamiento	<i>Vitro</i> plántula	Peso (g)	Sobrevivencia (%)
	Individual	2.66 <sup>efg</sup>	34.00 <sup>fΩ</sup>
Bocashi	Macolla	2.89 <sup>ef</sup>	39.00 <sup>f</sup>
	Individual	1.33 <sup>g</sup>	70.00 <sup>cde</sup>
Compost	Macolla	2.63 <sup>ef</sup>	98.00 <sup>ab</sup>
	Individual	3.43 <sup>cd</sup>	93.00 <sup>abc</sup>
Arena + Humus	Macolla	4.30 <sup>a</sup>	99.00 <sup>a</sup>
	Individual	2.97 <sup>e</sup>	87.00 <sup>abcd</sup>
Suelo	Macolla	3.33 <sup>cd</sup>	90.00 <sup>abcd</sup>
	Individual	3.12 <sup>d</sup>	57.00 <sup>ef</sup>
Suelo + Bocashi	Macolla	3.71 <sup>bcd</sup>	89.00 <sup>abcd</sup>
	Individual	3.71 <sup>bcd</sup>	72.00 <sup>bcde</sup>
Suelo + Compost	Macolla	3.90 <sup>ab</sup>	96.00 <sup>abc</sup>
	Individual	2.44 <sup>fg</sup>	66.00 <sup>de</sup>
Suelo + Humus	Macolla	3.33 <sup>cd</sup>	84.00 <sup>abcd</sup>

Ω = Las medias con letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey  $P \leq 0.001$

#### 4. CONCLUSIONES

- El *Arundo donax* se estableció exitosamente en el medio basal de Murashige y Skoog (1982) suplementado con 100 mg/L de myo-inositol, 1 mg/L de tiamina y 0.026 mg/L de BAP y en etapa de multiplicación y enraizamiento el número de *in vitro* plantas que se produjo utilizando meristemos apicales en promedio fue de 15.64 y utilizando yemas axilares fue en promedio 4.8 por explante sembrado.
- En el proceso de aclimatación utilizando microorganismos y Rootone<sup>®</sup> no existió diferencia en la sobrevivencia obtenida con macollas y plantas individuales y en la aclimatación utilizando arena, suelo y abonos orgánicos se obtuvo mejor sobrevivencia utilizando macollas.
- En la utilización de microorganismos y auxinas en la aclimatación de *Arundo donax* los mejores resultados se obtuvieron utilizando Trichozam<sup>®</sup> más Rootone<sup>®</sup> y Mycoral<sup>®</sup>.
- El mejor sustrato en etapa de aclimatación utilizando macollas y plantas individuales fue el que contenía Arena:Humus en proporciones 2:1.

## **5. RECOMENDACIONES**

- Utilizar tapas transparentes en la etapa de multiplicación y enraizamiento ya que a diferencia de las tapas de color, estas permiten el ingreso de la luz y se da un mejor desarrollo de raíces.
- Realizar un estudio de campo utilizando plantas en macollas e individuales y evaluar la sobrevivencia al trasplante a campo de los mejores tres sustratos evaluados utilizando en los sustratos mezcla de los microorganismos y auxinas.
- Utilizar plantas individuales ya que de cada macolla se pueden obtener cinco plantas individuales promedio.
- Realizar análisis financiero al estudio para conocer ventajas económicas en la elección del sustrato tomando en cuenta no solo factores como peso, largo de raíces y sobrevivencia si no que el factor económico que es también importante.

## 6. LITERATURA CITADA

Agromonte Peñalver, C., F. Jiménez Terry y M.A. Dita Rodríguez. 1998. Aclimatación. En Pérez Ponce, J.N. (Ed.) Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Instituto de biotecnología de las plantas. Santa Clara, Villa Clara, Cuba, pp 193-206.

Díaz, L.P., L.F. Medina, J. Latife, P.A. Digonzelli y S.B. Sosa. 2004. Aclimatación de plantas micropropagadas de caña de azúcar utilizando el humus de lombriz. Revista de Investigaciones Agropecuarias 33 (002): 115-128.

Herrera-Alamillo, M.A. y M.L. Robert. 2012. Liquid *in vitro* culture for the propagation of *Arundo donax*. Methods In Molecular Biology 877:153-160.

Hoshovsky, M. 1986. The Nature Conservancy wildland invasive species program: *Arundo donax*--giant reed (en línea). Davis, California, USA. Consultado el 30 de junio de 2012. Disponible en:  
<http://www.fs.fed.us/database/feis/plants/graminoid/arudon/all.html#28>

Kyte, L. 1987. Plants from test tubes: an introduction to micropropagation. Portland, Oregon, Timber Press. p. 160

Lardizábal, R. 2002. Uso del *Tricoderma sp.* Boletín técnico de producción Fintrac (30): 1-4.

Martínez, L., M. Molina, J. Vilchez, y B. Bracho. 2010. Efecto de auxinas en la fase de enraizamiento-aclimatación *ex vitro* de ocumo blanco (*Xanthosoma sagittifolium*). Facultad de agronomía, Universidad de Zulia. Maracaibo, Venezuela. 10 p.

McWilliams, J. 2004. *Arundo donax*. En: Sistema de información efectos del fuego (en línea). Consultado 11 de octubre de 2012. Disponible en  
<http://www.fs.fed.us/database/feis/plants/graminoid/arudon/all.html>

Mujib, A., S. Cho Myeong-je, Predieri, S. y S. Banerjee. 2004. *In Vitro* Application in crop improvement. Enfield, New Hampshire, United States of America. Science Publishers INC. 320 p.

Nuyens Stebler, O.C. 1998. Evaluación de siete medios de crecimiento para la producción de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa L.*) y maíz (*Zea mays L.*). Tesis Ing. Agrónomo. El Zamorano, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana. 49 p.

SAS. 2009. SAS User Guide. Statistical Analysis Institute Inc, Cary N.C.

Solís Jara, J.C. 2003. Efecto de la micorriza vesículo-arbuscular, Mycoral<sup>®</sup>, en *vitro* plantas de banano y plátano en vivero. Tesis Ing. Agrónomo. El Zamorano, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana. 36 p.

Trabanino, R. 2008. Hoja de seguridad de Trichozam<sup>®</sup>. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras. 6 p.

## 7. ANEXOS

Anexo 1. Porcentaje de contaminación y muertos en etapas de establecimiento, multiplicación y enraizamiento en micropropagación de *Arundo donax*.

Descripción	Meristemos apicales		Yemas axilares	
	No. de brotes	%	No. de brotes	%
Vivos	391.00	83.19	681.00	75.58
Muertos	11.00	2.34	36.00	4.00
Contaminados por hongos	40.00	8.51	131.00	14.54
Contaminados por bacterias	28.00	5.96	53.00	5.88