

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA



TESIS DE GRADO

**“EFECTO DE REGULADORES DE CRECIMIENTO EN LA MULTIPLICACIÓN,
ENRAÍZAMIENTO *IN VITRO* Y DE LOS SUSTRATOS EN LA ACLIMATACIÓN DE
VITROPLANTAS DE DOS ESPECIES DE ANTURIOS: *Anthurium acebeyae* Croat,
ARACEA ENDÉMICA DE BOLIVIA y *Anthurium grande* N. E. Br. Ex Engl.”**

MARINA PERCEVERANDA TORREZ RAMOS

LA PAZ - BOLIVIA
2014

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**“EFECTO DE REGULADORES DE CRECIMIENTO EN LA MULTIPLICACIÓN,
ENRAÍZAMIENTO *IN VITRO* Y DE LOS SUSTRATOS EN LA ACLIMATACIÓN DE
VITROPLANTAS DE DOS ESPECIES DE ANTURIOS: *Anthurium acebeyae* Croat,
ARACEA ENDÉMICA DE BOLIVIA y *Anthurium grande* N. E. Br. Ex Engl.”**

**Tesis de Grado presentado como requisito
para optar el Título de:
Ingeniero Agrónomo**

Marina Perceveranda Tórrez Ramos

Asesores:

Ing. Jorge Ángel Nicolas Quezada Portugal

Ph. D. Víctor Hugo Mendoza Condori

Tribunal Examinador:

Ing. Ms. C. Laoreano Coronel Quispe

Ph. D. Felix Mamani Reynoso

Ing. Víctor Paye Huaranca

Aprobada

Presidente Tribunal Examinador

Dedicado a:
mis padres Luis y Gregoria.
Luz, Blanca, Alan y
Fabián por el
compañerismo, solidaridad
e incentivo de buscar
siempre nuevos horizontes.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores: Ing. Jorge Quezada y Ph. D. Víctor Hugo Mendoza por la instrucción y experiencia académica transmitida con paciencia y esmero.

A la Facultad de Agronomía de la U.M.S.A. y su plantel Docente por su dedicación en la enseñanza que permitió mi formación profesional.

Al tribunal revisor, Ing. MsC Laoreano Coronel, Ing. Ph. D. Felix Mamani e Ing. Víctor Paye, por su orientación y el tiempo dedicado en la corrección del presente documento.

Agradezco a los integrantes del laboratorio de Biotecnología Vegetal por la voluntad, paciencia y colaboración desinteresada que me brindaron durante la ejecución de las actividades de campo y laboratorio como parte de mi formación profesional.

A mis amigos: Ing. Jorge Quezada Ing. Beatriz Mamani, Lic. Gabriela Villegas, Lic. Ionit Eberkley Lic. María Cristina López, Lic. Juan Carlos Bermejo, Naira Villegas, Lic. Iván Jiménez e Ing. Juan Manuel Mendieta quiero hacerles presente mis agradecimientos por el apoyo moral, por brindarme sus conocimientos coadyuvando a mi formación profesional e integrarme en sus vidas.

Para no omitir en nombrar a cada una de las personas, amigos, compañeros de la carrera y otras carreras que colaboraron a dar lo mejor de mí en la elaboración del presente estudio, les hago llegar mi agradecimiento.

Con la humildad debida, mi mayor gratitud es a Dios, el Creador de la vida y el amor, a mi familia por brindarme alegrías, consejos, libertad de crecer y aprender de manera fraternal que gracias a ello juntos subimos un peldaño más.

Agradecimientos a mis abuelos que siempre estuvieron junto a mí y me tuvieron presente en cada una de sus oraciones.

Marina Tórrez Ramos

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE TABLAS	V
ÍNDICE DE GRÁFICAS	VIII
ÍNDICE DE ANEXOS	VIII
RESUMEN	XII
ABSTRACT	XIII
RÉSUMÉ	XIV
1. Introducción	1
1.1. Antecedentes	2
1.2. Justificación	3
2. Objetivos	5
2.1. Objetivo General	5
2.2. Objetivos Específicos	5
2.3. Hipótesis Nula	5
3. Revisión Bibliográfica	6
3.1. Hábitat	6
3.2. Botánica	7
3.3. Especie en estudio	9
3.4. Taxonomía	9
3.5. Condiciones de cultivo	10
3.5.1. Características ecológicas	11
3.6. Micropropagación	12
3.6.1. Etapas de la micropropagación	13
3.6.2. Reguladores de crecimiento y hormonas vegetales	13
3.6.2.1. Auxinas	14
3.6.2.2. Citocininas	15
3.6.2.3. Otros reguladores de crecimiento vegetal	17
3.6.2.3.1. Ácido giberelico (GA3)	17
3.6.2.3.2. Ácido abscísico y sus derivados	17

3.6.2.3.3. El etileno _____	17
3.6.3. Experiencias previas en especies emparentadas _____	18
3.6.3.1. Aclimatación en la vitroplantas _____	19
3.6.3.1.1. Características de los sustratos _____	20
a) Cascarilla de arroz _____	21
b) Fibra de coco _____	21
c) Arena _____	21
d) Chachin _____	22
4. Localización _____	23
4.1. Ubicación geográfica _____	23
5. Materiales _____	24
5.1. Material biológico _____	24
5.2. Material de laboratorio, gabinete y campo _____	24
5.3. Reactivos de laboratorio _____	24
6. Método _____	25
6.1. Colecta de material vegetal _____	25
6.2. Establecimiento de vitroplantas _____	27
6.3. Multiplicación y mantenimiento de vitroplantas _____	28
6.4. Enraízamiento y mantenimiento de vitroplantas _____	28
6.5. Aclimatación de vitroplantas _____	29
6.6. Mantenimiento de registros, análisis de costos parciales _____	31
6.7. Análisis estadístico _____	31
6.7.1. Factores de estudio _____	32
6.7.1.1. Fase de multiplicación para <i>Anthurium acebeyae</i> y <i>A. grande</i> : _____	32
6.7.1.2. Fase de enraízamiento para las dos especies: _____	32
6.7.1.3. Fase de aclimatación para <i>Anthurium acebeyae</i> y <i>A. grande</i> : _____	32
6.7.2. Modelo lineal aditivo _____	33
6.7.2.1. Fase: multiplicación para <i>Anthurium acebeyae</i> y <i>A. grande</i> : _____	33
6.7.2.2. Fase de enraízamiento para ambas especies: _____	33
6.7.2.3. Fase de aclimatación para <i>Anthurium acebeyae</i> y <i>A. grande</i> : _____	33
6.8. Parámetros de evaluación _____	33
6.8.1. Establecimiento _____	33
6.8.2. Multiplicación _____	34

6.8.3. Enraízamiento	35
6.8.4. Aclimatación	36
7.Resultados y discusiones	37
7.1. Multiplicación	37
7.1.1. <i>Anthurium acebeyae</i>	37
7.1.2. <i>Anthurium grande</i>	56
7.2. Enraízamiento	70
7.3. Aclimatación	97
7.3.1. <i>Anthurium acebeyae</i>	98
7.3.2. <i>Anthurium grande</i>	101
7.4. Otros Resultados	109
7.5. Costos de producción	112
7.5.1. <i>Anthurium acebeyae</i>	112
7.5.1.1. Fase de multiplicación	112
7.5.1.2. Fase de enraizamiento	116
7.5.1.3. Fase de Aclimatación	117
7.5.2. <i>Anthurium grande</i>	120
7.5.2.1. Fase de Multiplicación	120
7.5.2.2. Fase de Enraizamiento	123
7.5.2.3. Fase de Aclimatación	125
8.Conclusiones	131
9.Recomendaciones	136
10.Bibliografía	138
11.Anexos	152

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Habitat</i>	8
<i>Figura 2. Sustratos</i>	20
<i>Figura 3. Localización de Anthurium acebeyae y A. grande</i>	23
<i>Figura 4. Senderos Precolombinos</i>	25
<i>Figura 5. Espadices de las especies en estudio</i>	27
<i>Figura 6. Cyathea caracasana</i>	30
<i>Figura 7. Tratamientos de multiplicación de Anthurium acebeyae</i>	55
<i>Figura 8. Tratamientos de multiplicación en Anthurium grande</i>	69
<i>Figura 9. Contaminación y oxidación en la fase de enraízamiento</i>	92
<i>Figura 10. Fase de enraizamiento</i>	97
<i>Figura 11. Sustratos de aclimatación, Anthurium acebeyae</i>	108
<i>Figura 12. Obtención de los explantes en la fase de multiplicación</i>	110
<i>Figura 13. Proceso de micropropagación</i>	111

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Análisis de Duncan del inicio de formación del callo (A. acerbeyae).</i>	37
<i>Tabla 2. Análisis de efectos simples del mayor diámetro del callo (A. acerbeyae).</i>	38
<i>Tabla 3. Análisis de efectos simples del mayor largo de peciolo del explante (A. acerbeyae).</i>	40
<i>Tabla 4. Análisis de efectos simples del inicio de formación del brote (A. acerbeyae).</i>	41
<i>Tabla 5. Análisis de efectos simples del número de brotes (A. acerbeyae, semana 22).</i>	43
<i>Tabla 6. Análisis de efectos simples del máximo número de brotes (A. acerbeyae).</i>	44
<i>Tabla 7. Análisis de efectos simples del mayor largo de brote (A. acerbeyae).</i>	46
<i>Tabla 8. Análisis de efectos simples del máximo número de hojas del brote (A. acerbeyae).</i>	48
<i>Tabla 9. Análisis de Duncan de la altura del explante (A. acerbeyae en la semana 4).</i>	49
<i>Tabla 10. Análisis Duncan de la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante (A. acerbeyae).</i>	49
<i>Tabla 11. Análisis de efectos simples del número de hojas (A. acerbeyae, semana 22).</i>	50
<i>Tabla 12. Análisis Duncan de la formación de raíz (A. acerbeyae).</i>	51
<i>Tabla 13. Análisis Duncan del inicio de formación de raíz (A. acerbeyae).</i>	51
<i>Tabla 14. ANOVA de la correlación múltiple del número de brotes (A. acerbeyae).</i>	52
<i>Tabla 15. Análisis de efectos simples del inicio de la formación de callo (A. grande).</i>	56
<i>Tabla 16. Análisis de efectos simples del mayor diámetro del callo (A. grande).</i>	57
<i>Tabla 17. Análisis de efectos simples del largo de peciolo (A. grande en la semana 5).</i>	58
<i>Tabla 18. Análisis Duncan del número máximo de brotes (A. grande).</i>	60
<i>Tabla 19. Análisis de Duncan de la formación de las hojas del brote (A. grande).</i>	61
<i>Tabla 20. Análisis de Duncan del máximo número de hojas del brote (A. grande).</i>	61
<i>Tabla 21. Análisis Duncan de la altura del explante (A. grande en la semana 22).</i>	62
<i>Tabla 22. Análisis de Duncan de la altura del explante (A. grande en la semana 22).</i>	62
<i>Tabla 23. Análisis de efectos simples de la tasa de crecimiento máximo del explante (A. grande).</i>	63

Tabla 24. Análisis de Duncan de la formación de raíz (A. grande).	64
Tabla 25. Análisis Duncan del inicio de la formación de raíz (A. grande).	64
Tabla 26. Análisis de Duncan del número de raíz (A. grande).	65
Tabla 27. ANOVA Correlación múltiple del número de brotes (A. grande).	65
Tabla 28. Análisis de efectos simples de la formación de raíz.	70
Tabla 29. Análisis de efectos simples del inicio de formación de la raíz.	72
Tabla 30. Análisis de efectos simples del mayor largo de la raíz.	73
Tabla 31. Análisis de efectos simples del máximo número de raíz.	75
Tabla 32. Análisis de efectos simples del diámetro de la raíz (285 días).	76
Tabla 33. Análisis de efectos simples de la tasa de crecimiento máximo del callo.	78
Tabla 34. Análisis de efectos simples de la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante.	79
Tabla 35. Análisis de efectos simples del número de hojas (285 días).	81
Tabla 36. Análisis de efectos simples del largo de peciolo (285 días).	82
Tabla 37. Análisis de Duncan de la formación de brote.	83
Tabla 38. Análisis Duncan del número de brotes (285 Días).	83
Tabla 39. Análisis de efectos simples del máximo número de hojas del brote.	84
Tabla 40. ANOVA Correlación múltiple del mayor largo de raíz (A. acebeyae).	85
Tabla 41. ANOVA de la correlación múltiple del mayor largo de raíz (A. grande).	86
Tabla 42. Análisis de efectos simples de la contaminación con bacteria.	88
Tabla 43. Análisis de efectos simples de la oxidación.	90
Tabla 44. Análisis de efectos simples del % de mortalidad en los explantes.	93
Tabla 45. ANOVA de la correlación múltiple del mayor largo de raíz (A. grande).	94
Tabla 46. Análisis de duncan de la sobrevivencia (A. acebeyae a los 15 días).	98
Tabla 47. Análisis Duncan de la altura del explante (A. acebeyae a los 15 días de la aclimatación)	99
Tabla 48. Análisis Duncan del diámetro de cuello (A. acebeyae a los dos meses).	100
Tabla 49. Análisis Duncan de la altura del plantín (A. grande a los 2 meses).	103
Tabla 50. Análisis Duncan del número de hojas (A. grande a los 2 meses).	104

Tabla 51. Análisis de efectos simples del diámetro de cuello (A. grande a los 15 días).	105
Tabla 52. Análisis Duncan de la formación de brote (A. grande).	106
Tabla 53. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 0 mg.l⁻¹ SA (A. acebeyae).	113
Tabla 54. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 80 mg.l⁻¹ SA (A. acebeyae).	114
Tabla 55. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 160 mg.l⁻¹ SA (A. acebeyae).	115
Tabla 56. Análisis de la distribución de costos de producción (A. acebeyae).	116
Tabla 57. Análisis de la distribución de costos de producción (A. acebeyae).	117
Tabla 58. Análisis de la distribución de costos de producción (A. acebeyae).	118
Tabla 59. Análisis de la distribución de costos de producción (A. acebeyae).	119
Tabla 60. Análisis de la distribución de costos de producción (A. acebeyae).	119
Tabla 61. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 0 mg.l⁻¹ SA (A. grande).	121
Tabla 62. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 80 mg.l⁻¹ SA (A. grande).	122
Tabla 63. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 160 mg.l⁻¹ SA (A. grande).	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 64. Análisis de la distribución de costos de producción (A. grande).	124
Tabla 65. Análisis de la distribución de costos de producción (A. grande).	125
Tabla 66. Análisis de la distribución de costos de producción (A. grande).	125
Tabla 67. Análisis de la distribución de costos de producción (A. grande).	126
Tabla 68. Análisis de la distribución de costos de producción (A. grande).	127

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfico 1. Mayor diámetro del callo (<i>A. acebeyae</i>).	39
Gráfico 2. Mayor largo del peciolo de explante (<i>A. acebeyae</i>).	40
Gráfico 3. Inicio de formación del brote (<i>A. acebeyae</i>).	42
Gráfica 4. Número de brotes (<i>A. acebeyae</i> en la semana 22).	43
Gráfica 5. Máximo número de brotes (<i>A. acebeyae</i>).	45
Gráfica 6. Mayor largo del brote (<i>A. acebeyae</i>).	47
Gráfica 7. Máximo número de hojas del brote (<i>A. acebeyae</i>).	48
Gráfica 8. Número de hojas (<i>A. acebeyae</i> en la semana 22).	50
Gráfica 9. Inicio de formación del callo (<i>A. grande</i>).	56
Gráfica 10. Mayor diámetro del callo (<i>A. grande</i>).	58
Gráfica 11. Largo del peciolo (<i>A. grande</i> en la semana 5).	59
Gráfica 12. Tasa de crecimiento máximo del explante (<i>A. grande</i>).	63
Gráfica 13. Formación de la raíz.	71
Gráfica 14. Análisis de varianza del inicio de formación de la raíz.	72
Gráfica 15. Mayor largo de la raíz.	74
Gráfica 16. Máximo número de raíz.	75
Gráfica 17. Diámetro de la raíz (285 días).	77
Gráfica 18. Tasa de crecimiento máximo del callo.	78
Gráfica 19. Tasa de crecimiento máximo de la altura del explante.	80
Gráfica 20. Número de hojas (285 días).	81
Gráfica 21. Largo de peciolo (285 días).	82
Gráfica 22. Máximo número de hojas del brote.	84
Gráfica 23. Contaminación con bacteria.	89
Gráfica 24. Oxidación.	90
Gráfica 25. % de mortalidad en los explantes.	93
Gráfica 26. Sobrevivencia de <i>Anthurium grande</i>.	102
Gráfica 27. Diámetro del cuello (<i>A. grande</i> a los 15 días de la aclimatación).	105

ÍNDICE DE ANEXOS

<i>Anexo I. Materiales, equipos y reactivos utilizados</i>	152
<i>Anexo II. Composición del medio de cultivo</i>	153
<i>Anexo III. Protocolo de aclimatación</i>	154
<i>Anexo IV. Análisis estadístico del inicio de formación del callo</i>	155
<i>Anexo V. Análisis estadístico del diámetro y del mayor diámetro del callo</i>	155
<i>Anexo VI. Análisis estadístico del largo y del mayor largo de peciolo del explante</i>	156
<i>Anexo VII. Análisis estadístico del inicio de formación del brote</i>	157
<i>Anexo VIII. Análisis estadístico del número y del máximo número de brotes</i>	157
<i>Anexo IX. Análisis estadístico del mayor largo de brote</i>	158
<i>Anexo X. Análisis estadístico del máximo número de hojas del brote</i>	159
<i>Anexo XI. Análisis estadístico de la altura y la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante</i>	159
<i>Anexo XII. Análisis estadístico del número de hojas</i>	160
<i>Anexo XIII. Análisis estadístico de la formación y del inicio de formación de la raíz</i>	161
<i>Anexo XIV. Análisis estadístico de la regresión y correlación múltiple</i>	161
<i>Anexo XV. Análisis estadístico del inicio de formación de callo</i>	161
<i>Anexo XVI. Análisis estadístico del diámetro y del mayor diámetro del callo</i>	162
<i>Anexo XVII. Análisis estadístico del largo de peciolo</i>	164
<i>Anexo XVIII. Análisis estadístico del número y del máximo número de brotes</i>	164
<i>Anexo XIX. Análisis estadístico de la formación de hojas del brote</i>	165
<i>Anexo XX. Análisis estadístico del número de hojas y máximo número de hojas del brote</i>	165
<i>Anexo XXI. Análisis estadístico de la altura y de la tasa de crecimiento del explante</i>	166
<i>Anexo XXII. Análisis estadístico de la formación y del inicio de formación de la raíz</i>	167
<i>Anexo XXIII. Análisis estadístico del número de raíz</i>	168
<i>Anexo XXIV. Análisis estadístico de la regresión y correlación múltiple</i>	168
<i>Anexo XXV. Análisis estadístico de la formación y del inicio de formación de la raíz</i>	168

Anexo XXVI. Análisis estadístico del mayor largo de la raíz	169
Anexo XXVII. Análisis estadístico del número máximo de raíz	170
Anexo XXVIII. Análisis estadístico del diámetro de la raíz	170
Anexo XXIX. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento máximo del callo	171
Anexo XXX. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante	171
Anexo XXXI. Análisis estadístico del número de hojas	172
Anexo XXXII. Análisis estadístico del largo de peciolo	172
Anexo XXXIII. Análisis estadístico de la formación de brote	173
Anexo XXXIV. Análisis estadístico del número de brote	173
Anexo XXXV. Análisis estadístico del máximo número de hojas del brote	173
Anexo XXXVI. Análisis estadístico de la regresión y correlación múltiple	174
Anexo XXXVII. Análisis estadístico de la regresión y correlación múltiple	174
Anexo XXXVIII. Análisis estadístico de la contaminación con bacteria	174
Anexo XXXIX. Análisis estadístico de la oxidación	175
Anexo XL. Análisis estadístico del % de mortalidad de los explantes	175
Anexo XLI. Análisis estadístico de la regresión y correlación múltiple	176
Anexo XLII. Análisis estadístico de la supervivencia	176
Anexo XLIII. Análisis estadístico de la altura del explante	176
Anexo XLIV. Análisis estadístico del número de raíces	177
Anexo XLV. Análisis estadístico del diámetro del cuello	177
Anexo XLVI. Análisis estadístico de la altura del explante	177
Anexo XLVII. Análisis estadístico del número de hojas	178
Anexo XLVIII. Análisis estadístico del largo de raíz	178
Anexo XLIX. Análisis estadístico del número de raíz	178
Anexo L. Análisis estadístico del diámetro de la raíz	179
Anexo LI. Análisis estadístico del diámetro del cuello	179
Anexo LII. Análisis estadístico de la formación de brote	179
Anexo LIII. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación	180

Anexo LIV. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación	180
Anexo LV. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación	181
Anexo LVI. Tasa de multiplicación en la fase de enraizamiento	181
Anexo LVII. Tasa de multiplicación en la fase de enraizamiento	182
Anexo LVIII. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación	182
Anexo LIX. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación	183
Anexo LX. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación	183
Anexo LXI. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación	184
Anexo LXII. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación	184
Anexo LXIII. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación	185
Anexo LXIV. Tasa de multiplicación en la fase de enraizamiento	185
Anexo LXV. Tasa de multiplicación en la fase de enraizamiento	186
Anexo LXVI. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación	186
Anexo LXVII. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación	187
Anexo LXVIII. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación	187

RESUMEN

Los recientes estudios en el “Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Cotapata”, descubrieron varias especies con potencial ornamental como *Anthurium acebeyae*, especie endémica de Bolivia y de igual cualidad a *A. grande*, ambas con distribución aislada en los bosques húmedos montanos. Estas especies presentan dificultades en su reproducción natural, así mismo solo cuentan con estudios de hábitat e identificación *in situ*. El empleo de herramientas biotecnológicas para su propagación, es una alternativa adecuada que contribuirá de manera indirecta a la conservación, coadyuvando a la disminución de la presión de extracción de las poblaciones naturales de las especies en estudio. Por otro lado, los helechos arborescentes (*Cyathea* ssp.) son principal proveedor del sustrato (chachin) utilizado en el cultivo de anturios y otras plantas pero se encuentra en peligro. Frente a este problema, se planteó para las fases de multiplicación y enraizamiento el uso del medio Murashige y Skoog (1962) adicionado con reguladores de crecimiento en diferentes concentraciones, y para la fase de aclimatación se consideró alternativas al sustrato chachin. Las tres fases se evaluaron estadísticamente con un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial, considerando su análisis de costos por fase, generando los siguientes resultados: En la fase de multiplicación *A. acebeyae* generó mejores brotes con la combinación $1,5 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP y 80 mg.l^{-1} SA que logró un Beneficio.Costo⁻¹ de 1,56 mientras que, en *A. grande* el mejor fue $0,3 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP y 80 mg.l^{-1} SA donde el Beneficio.Costo⁻¹ fue de 1,09, se observó que ambas especies necesitaron la adición de citoquininas para generar brotes. En la fase de enraizamiento, *A. acebeyae* generó raíces en menor tiempo en ausencia de ANA, además de un buen desarrollo del explante logrando así un Beneficio.Costo⁻¹ de 0,47, junto con moderada oxidación y alta contaminación bacteriana; contrariamente, *A. grande* generó raíces en menor tiempo promoviendo el desarrollo del explante con $0,75 \text{ mg.l}^{-1}$ ANA que alcanzó un Beneficio.Costo⁻¹ de 0,53 manifestando menor oxidación y sin contaminación bacteriana. Finalmente, en la fase de aclimatación *A. acebeyae* logró alta sobrevivencia en *cascarilla de arroz con carbón*, logrando así un Beneficio.Costo⁻¹ de 1,01, mientras que en *A. grande* se destacó el *chachin sin carbón*, que generó un Beneficio.Costo⁻¹ de 1,74.

ABSTRACT

The recent studies in the “Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Cotapata” (Cotapata National Park and Natural Area of Integrated Management) discovered several species with ornamental potential like the Bolivian endemic specie *Anthurium acebeyae* with similar quality than *A. grande*, both hold isolated populations in rain forests mountains. These species show difficulties in their natural reproduction, besides only habitat and identification studies *in situ* have been done. Using biotechnological tools for their propagation is a suitable alternative that will indirectly contribute to the conservation of these species, reducing the extraction pressure from their natural populations. On the other hand, the tree ferns (*Cyathea* spp.) are the main substrate provides (“chachin”) used in the culture of anthurium and other endangered plants. Facing this problem, we proposed for the multiplication and rooting phases the use Murashige and Skoog (1962) medium supplemented with different concentrations of growth regulators, and for the acclimatization phase using substrate alternatives for chachin. The three phases were statistically evaluated in two factor completely randomized design, taking in consideration the cost analysis per phase, generating so the following results: In the multiplication phase *A. acebeyae* had best multiplication on $1,5 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP and 80 mg.l^{-1} SA, achieving a Benefit.Cost⁻¹ of 1,56, whereas *A. grande* results were best when combining $0,3 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP and 80 mg.l^{-1} SA where the Benefit.Cost⁻¹ was 1,09, it was observed that both species required cytokinins addition to achieve multiplication. In the rooting phase, *A. acebeyae* generated roots in least time in absence of ANA, along with a good explant development achieving a Benefit.Cost⁻¹ of 0,47, together with moderated oxidation and high bacterial contamination; oppositely, *A. grande* generated roots in least time and promoting the explant development in $0,75 \text{ mg.l}^{-1}$ ANA reaching a Benefit.Cost⁻¹ of 0,53 showing less oxidation and no bacterial contamination. Finally, in the acclimatization phase *A. acebeyae* achieved higher survival in *rice husk and charcoal*, reaching a Benefit.Cost⁻¹ of 1,01 whereas for *A. grande* excelled *chachin without charcoal*, which generated a Benefit.Cost⁻¹ of 1,74.

RÉSUMÉ

Les récentes études au "Parque Nacional y Territorio Natural de Gestión Integrada Cotapata", plusieurs espèces avec un potentiel ornemental ont été découvertes, comme *Anthurium acebeyae*, espèce bolivienne endémique, d'équivalente qualité à *A. grande*, les deux avec une distribution isolée dans les forêts humides montagneuses. Ces espèces présentent des difficultés dans leur reproduction naturelle, de même qu'elles comptent seulement avec des études d'habitat et d'identification in situ. L'utilisation d'outils biotechnologiques pour leurs propagations, est une alternative adéquate qui contribue indirectement à leur conservation, tout en diminuant la pression du prélèvement sur les populations naturelles des espèces en étude. D'autre côté, la fougère arborescente (*Cyathea* ssp.) étant la principale source naturelle pour le substrat (chachin) utilisé pour la culture de l'*Anthurium* et d'autres plantes est aussi en danger. Confrontant ce problème, on propose pour l'étape de multiplication l'utilisation du milieu "Murashige et Skoog (1962)" complété avec les régulateurs de croissance à différentes concentrations, et pour la phase d'acclimatation des alternatives au substrat "Chachin" ont été considérées. Les trois étapes ont été évaluées statistiquement avec un plan expérimental complètement aléatoire avec deux facteurs considérant les coûts par étape, ce qui a généré les suivants résultats: Pour l'étape de multiplication, *A. acebeyae* a développé le meilleur bourgeon en $1,5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ BAP}$ et $80 \text{ mg.l}^{-1} \text{ SA}$ avec un Bénéfice.Côût⁻¹ de 1,56, tandis que pour *A. grande* le meilleur traitement était $0,3 \text{ mg.l}^{-1} \text{ BAP}$ et $80 \text{ mg.l}^{-1} \text{ SA}$ pour un Bénéfice.Côût⁻¹ de 1,09, on a observé que les deux espèces ont besoin de cytokinine pour générer des bourgeons. Pour la phase d'enracinement, *A. acebeyae* a généré des racines plus rapidement en *absence d'ANA*, de plus un bon développement de la plante pour un coût.bénéfice⁻¹ de 0,47, en montrant d'une oxydation modérée et forte contamination bactérienne; contrairement, *A. grande* a développé des racines en moins de temps avec $0,75 \text{ mg.l}^{-1} \text{ d'ANA}$ avec un coût.bénéfice⁻¹ de 0,53 avec une moindre oxydation et aucune contamination bactériennes. Finalement, dans la phase d'acclimatation *A. acebeyae* a présenté une majeure survie en *écorce de riz et charbon* avec un coût.bénéfice⁻¹ de 1,01; alors *A. grande* a généré un taux de mortalité quasi nul avec *le chachin sans charbon* avec un coût.bénéfice⁻¹ de 1,74.

1. Introducción

Las especies epifitas presentan una característica especial de vida dentro del bosque, donde asociadas a la materia orgánica muerta forman un sistema, constituyéndose una parte considerable de la biomasa y nutrientes que se encuentran en los forofitos (Nodkarni 1984; citado en Mardegan *et al.* 2009), el hábito epifítico implica una estrategia biológica para satisfacer su demanda de agua y nutrientes, el mismo que lo consigue modificando su morfología y fisiología. Así como la familia aráceas, que es abundante en el mundo, altamente cotizada por su belleza y rareza en las flores al igual que el follaje, por ese valor ornamental muchas especies silvestres han sido domesticadas.

Estudios recientes registraron para Bolivia 23 géneros y 135 especies de aráceas, que están distribuidas en la amazonia y los bosques húmedos submontanos de los Andes donde encontraron la mayor riqueza (Croat y Acebey 2005; citado en Acebey *et al.* 2006), es así que en el PN-ANMI Cotapata¹ hasta el momento han registrado 31 especies de aráceas útiles o con potencial ornamental y 6 endémicas (Acebey, Kessler y Maass 2007).

La especie *Anthurium acebeyae* es endémica de Bolivia mientras que, *Anthurium grande* presenta mayor distribución; ambas especies muestran elevado potencial ornamental, encontrándose en los bosques húmedos montanos de los Yungas de La Paz y Cochabamba (Croat y Acebey 2005). De igual forma, estudios recientes realizados por el proyecto “Estudio del potencial de aprovechamiento sostenible de epifitas del PN-ANMI Cotapata” indican que *A. acebeyae* en el PN-ANMI Cotapata manifiesta distribución restringida con poblaciones aisladas (Villegas y López 2007)² a diferencia de *A. grande* que muestra una distribución más amplia e igual poblaciones aisladas.

Las potencialidades referidas y los problemas propios de la reproducción comercial que tienen los Anturios como: problemas de sanidad vegetal, reducido número de plantas obtenidas de forma asexual³, propagación convencional sexual (método largo que toma de 2 a 3 años) para que las plantas florezcan y formen semillas (Kuehnle y Sugii 1991) (Geir 1990; citado en Hamidah, Abdul y Debergh 1997) son laboriosas, porque pierden su poder

¹PN-ANMI Cotapata: Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Cotapata. 1993 Bolivia. Decreto Supremo n° 23547 (Sevilla M. 2006).

²Villegas y López 2007: trabajo realizado en el Proyecto “Estudio del potencial de Aprovechamiento Sostenible de Epifitas del PN-ANMI Cotapata”. Unidad de Biotecnología Vegetal. Instituto de Biología Molecular Com. Pers.

³Reproducción Asexual: denominada a la división por rizomas y empleo de gajos que permiten uniformidad en la reproducción de las plantas.

germinativo rápidamente, teniendo que realizarse la siembra inmediatamente después de la cosecha aún así, frecuentemente la progenie resulta pobre en uniformidad (Usnayo, Ascarrunz y Silva 1998).

Otro inconveniente es el tiempo requerido desde la polinización hasta la maduración de las semillas, que muchas veces suspende la producción viable de semillas debido a la incompatibilidad (Sheffer and Kamemoto 1976; citado en Matsumoto, Kuehnle y Webb 1998), consecuentemente, esta dificultad de predecir cuando detendrá el desarrollo embrionario y cuando podría ocurrir una intervención (Matsumoto, Kuehnle y Webb 1998), sumándole el desarrollo de la planta que es bastante lento, reduce su posterior selección dentro de un programa de producción (Geir 1990; citado en Hamidah, Abdul y Debergh 1997).

Debido a las razones antes mencionadas se propone utilizar herramientas biotecnológicas para la propagación de anturios, además como una contribución de manera indirecta a la conservación, a través de la disminución de la presión de extracción de las poblaciones naturales de helechos arbóreos, se plantea la utilización de sustratos alternativos al chachin⁴ que base en la producción de muchas especies ornamentales epifitas.

1.1. Antecedentes

Las especies epifitas son parte importante del ecosistema bosque, donde cumplen roles importantes en asociación con su medio ambiente, así mismo ellas presentan diferentes utilidades para el hombre, que carente de un programa de uso adecuado, se convierte en una principal amenaza para la conservación de la vida silvestre llevando a la destrucción de los hábitats naturales.

Sin embargo, la conservación de los hábitats silvestres depende de la capacidad de los mismos de generar recursos que permitan su conservación. Es necesario el desarrollo de estrategias de manejo de la biodiversidad mediante alternativas diferentes, que permitan generar ingresos económicos al tiempo que se minimiza la presión de extracción sobre el hábitat silvestre (Guerra y Ledezma 2006), para que sea posible compatibilizar con el desarrollo social de las comunidades locales, en especial dentro de las áreas protegidas, coadyuvando de esta manera a la conservación en estas áreas.

⁴*Chachin*: son raíces adventicias que se encuentran en la base del peciolo de las hojas de helechos arborescentes.

Muchas especies de la familia Araceae, como *Anthurium andraeanum* y *A. scherzerianum* son altamente cotizadas en el mercado a nivel mundial como plantas ornamentales, debido a la forma, textura, colorido y tamaño de sus hojas, así mismo presentan inflorescencias carnosas de formas variadas, fragancias agradables y colores muy llamativos, estas especies han sido propagadas másivamente a través de técnicas de cultivo *in vitro*.

Estudios preliminares realizados por el proyecto “Estudio del potencial de aprovechamiento sostenible de epifitas del PN-ANMI Cotapata” registraron 5 especies de la familia araceae con potencial ornamental, donde por sus características botánicas *Anthurium acebeyae* y *A. grande* se manifiestan como especies promisorias del lugar. Por otro lado, se cuenta con muy poca información acerca de las especies en estudio, especialmente en el caso de *A. acebeyae* que es una especie nueva para la ciencia, descrita hace pocos años.

Por otro lado, uno de los sustratos más utilizados por sus características que, permiten alta sobrevivencia en la aclimatación de varias especies es el chachin, el que también se utiliza en estructuras (esculturas, macetas y souvenirs⁵) y artesanías de gran tamaño, estos provienen de helechos de más de 100 años, los cuales han sido talados para ser trabajados (Palacios M. 2006).

En función a los vacíos de información en *Anthurium acebeyae* y *A. grande* además que hasta la fecha no se han realizado investigaciones de cultivo *in vitro* en estas especies ni de su aclimatación, se recurrió a especies emparentadas para plantear el presente estudio.

1.2. Justificación

Las características y potencialidades determinadas en los anturios comerciales, promueve nuevas alternativas de mercado y conservación a las especies promisorias encontradas en el parque Cotapata como son: *Anthurium acebeyae*, Croat., que tiene un atractivo en toda la planta para ser utilizada como planta de interior y *A. grande* N. E. Br. Ex Engl. que manifiesta el uso comercial en flores de corte, en ambas especies las hojas son atractivas por la forma y tamaño exuberante que presentan.

Por las características propias referentes a cada una de las especies ya descritas anteriormente, el cultivo de tejidos vegetales es una alternativa para micropropagarlas,

⁵ *Souvenirs*, recuerdo, Proceso de reestimulación de unas imágenes o experiencias mnémicas, que implica una sucesión sistemática de tales imágenes o experiencias. Cosa que se regala en testimonio de buen afecto.

donde las plantas son capaces de sufrir procesos de multiplicación másiva, está técnica al igual que en los cultivos comerciales permitirá la propagación homogénea y facilitará de material vegetal libre de organismos patógenos y proveerá de material vegetal que será parte de la colección de las especies epifitas que se encuentran en la Unidad de Biotecnología vegetal.

El proceso de micropropagación comprende el proceso donde los tejidos, también denominados explantes, son expuestos a condiciones ideales para su crecimiento y multiplicación: Ambientes controlados y asépticos, además de la provisión de nutrientes y reguladores de crecimiento, que hacen posible que los explantes se expresen y diferencien, este proceso del cultivo *in vitro* culmina con la aclimatación en sustratos adecuados.

El chachin de amplio uso como sustrato para el cultivo de especies ornamentales, proviene de muchas regiones, donde las especies de helechos arbóreos (del género *Cyathea*) sufren una sobreexplotación, que incluso en nuestro país a llevado a determinar que estas especies se encuentran con algún grado de amenaza como En Peligro y Vulnerable (Meneses y Beck 2005), este problema latente y la falta de programas de conservación de las mismas, está afectando el ecosistema natural lo que implica la búsqueda de sustratos alternativos al chachin que permitan coadyuvar a la conservación y al mismo tiempo logre exitosa sobrevivencia de las especies que requieren este tipo de sustrato.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de reguladores de crecimiento en la multiplicación, enraizamiento *in vitro* y de los sustratos en la aclimatación de vitroplantas de dos especies de anturios, *Anthurium acebeyae* Croat, y *Anthurium grande* N. E. Br. Ex Engl.

2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Determinar el efecto de las concentraciones adecuadas de BAP (N-6 bencil aminopurina) y Sulfato de adenina para inducir a la formación de brotes *in vitro* de *A. acebeyae* y *A. grande*.
- ✓ Identificar la concentración más apropiada de ANA (Ácido α -Naftalenácetico) para estimular el enraizamiento *in vitro* de *A. acebeyae* y *A. grande*.
- ✓ Identificar la mezcla de sustrato apropiado a base de: carbón vegetal, fibra de coco, grava, chachin y cascarilla de arroz preparados en tratamientos, para la aclimatación de vitroplantas de *A. acebeyae* y *A. grande*.
- ✓ Realizar un análisis de costos que permita definir el tratamiento apropiado para cada etapa y especie en estudio.

2.3. Hipótesis Nula

- ✓ No existe diferencias entre las concentraciones de BAP y Sulfato de adenina en la inducción a la formación de brotes *in vitro* de *A. acebeyae* y *A. grande*.
- ✓ Entre las cinco concentraciones de ANA no hay diferencias al inducir el enraizamiento *in vitro* de *A. acebeyae* y *A. grande*.
- ✓ En la fase de aclimatación la sobrevivencia no presenta diferencias entre los tratamientos de sustrato preparados para vitroplantas de *A. acebeyae* y *A. grande*.
- ✓ El análisis de costos realizado no muestra diferencias entre los tratamientos realizados en cada fase *in vitro* para cada especie.

3. Revisión Bibliográfica

3.1. Hábitat

Las plantas epifitas son parte de los ecosistemas terrestres más diversos y complejos, que forman un hábitat⁶ importante para una diversa comunidad de organismos. Donde el epifitismo involucra al 10% de los vegetales vasculares, incluyendo un número importante de helechos, orquídeas, bromelias, aráceas y otros (Damon 2006; citado en Alanís *et al.* 2007), razón por la cual a las epifitas se las considera estratégicas para la conservación de selvas y bosques. La distribución de estas plantas vasculares a varios niveles dentro del bosque, parece ser el resultado de un balance entre los requerimientos de luz y suministro de agua, debido al gradiente vertical de estos elementos dentro del bosque (Stanford 1968; citado en Hernández J. 2000).

El patrón de distribución espacial de las epifitas sobre los forofitos (ramas de los árboles) depende: de la especie del forofito, su posición, edad, condición y presencia de otras epifitas (Hernández J. 2000), también se observa que las epifitas son más abundantes en aquellos portadores muy ramificados hacia todos los ángulos, con ramas horizontales y grandes copas (Sugden y Robins 1979; citados en Hernández J. 2000). De acuerdo a los datos comparados de inventarios entre países andinos, se mostró que Cotapata se encuentra entre las áreas más ricas en epifitas vasculares del mundo, con 175 especies en 0,32 ha (Krömer, Gradstein y Acebey 2007).

En Bolivia las aráceas se encuentran mayormente en áreas húmedas, de importancia local y no son comercializadas, sin embargo, no pueden ser aprovechadas de sus poblaciones naturales porque son escasas, poco frecuentes y requieren condiciones especiales para su crecimiento (Acebey *et al.* 2007).

Por otro lado, *Anthurium acebeyae* Croat, es endémica de Bolivia y se la encuentra en La Paz dentro del PN-ANMI Cotapata (Acebey *et al.* 2007), como también en Nor Yungas, Sud Yungas, Caranavi, Franz Tamayo (Herbario Nacional de Bolivia 2007) y en el bosque húmedo montañoso en Cochabamba (Ayopaya, Carrasco) desde 1000 a 2800 m de acuerdo a los estudios de Holdridge *et al.* 1971; citado en Croat y Acebey 2005; (Missouri Botanical Garden Herbarium 2011).

⁶ *Hábitat*, es el lugar donde la planta epífita crece adherida a otra planta mayor sin tomar alimento de su hospedero.

Según los datos obtenidos del (Herbario Nacional de Bolivia 2007)⁷, *Anthurium grande* N. E. Br. Ex Engl. se encuentra en La Paz dentro del PN-ANMI Cotapata (Acebey *et al.* 2007), en la Prov. Franz Tamayo, Nor Yungas, Sud Yungas, Área Protegida-Parque Nacional Madidi dentro del bosque montano, Cochabamba (Chapare) desde 850 a 3000 m de altitud (Jorgensen *et al.* 2005; Kessler y Croat 1999; citado en Acebey *et al.* 2006) y se la encuentra en el Perú (Cajamarca-Cordillera del Cóndor, Santo Tomás) a 2200 m (Missouri Botanical Garden Herbarium 2011)⁸.

3.2. Botánica

El género *Anthurium* fue descubierto en 1876 en Colombia, por Edouard André y lo clasificó Jean Linden. El nombre del género proviene de los vocablos griegos: “*Anthos*” que significa flor, “*Oura*” que expresa cola e “*ion*” que enuncia diminutivo, en clara alusión a su inflorescencia (Moyo, Bogner y Boyce 1997; Pato, Condés y Vicente 2005).

Las Araceae son rizomatosas, crecen cerca de la superficie, las hojas son alternadas, pecioladas, simples, con láminas muy ensanchadas a veces muy grandes, frecuentemente contienen rafidios⁹ de oxalato de calcio, lo que las hace muy picantes, La inflorescencia es una púa carnosa con los espádices parcialmente envueltos por una bráctea o espata que a veces son de color y brillantes, Las flores diminutas son actinomorfas¹⁰, bisexual o unisexual. sésiles¹¹ o a veces empotrados en el eje floral con el perigonio¹² reducido o ausente, La fruta es una baya (Bisby *et al.* 2007).

La mayor parte son especies tropicales de zonas húmedas; condiciones en que el ensanchamiento de la lámina foliar es un carácter adaptativo, muchas veces toleran bien la sombra por lo que se las usa mucho como ornamentales de interior, estas características son propias de *Anthurium acebeyae* y *A. grande* (Figura 1) cuando se las observa en su hábitat natural.

⁷ Herbario Nacional de Bolivia 2007: (LPB). ubicado en el Campus Universitario de la UMSA. Calle 27 s/N Zona Cota Cota, P.O. Box 10077 La Paz, Bolivia.

⁸ Missouri Botanical Garden Herbarium 2011:MO. Shaw Boulevard- Saint Louis, Missouri.

⁹ Rafidio: cristales en forma de aguja compuestos de carbonato de calcio (Gonzales A. 2000).

¹⁰ Actinomorfas: son aquellas flores que se dividen en partes iguales, mediante varios planos de simetría que pasan por sus distintos diámetros (Santos J. 1966).

¹¹ Sésil: ó flor sentada denominada así cuando le falta el pedúnculo (Santos J. 1966).

¹² Perigonio: El cáliz y la corola son del mismo color y forma (Santos J. 1966).



Figura 1. Habitat, (A) *Anthurium acebeyae*; (B) *A. grande* en el Parque PN-ANMI Cotapata, UBV, 2009. Elaboración propia.

Anthurium acebeyae, presenta entrenudos de 1-2 cm de largo, 1,7 cm de diámetro, catafilo¹³ 11-15 cm de largo, café oscuro persistiendo semi intacto con el ápice permaneciendo sano y mostrando hacia la base fibras pálidas, a veces formando y casi completamente una red fibrosa, peciolo de 30-54 cm de largo, la mitad del largo que las hojas, subterete, estrecho, obtuso y superficialmente surcado, semibrillante, medio verde, secado café oscuro hasta oscuro. Lámina de la hoja triangular sagitada, 41-54,5 x 23-28 cm, 1,7-2,2 veces más largo que ancho, profundamente lóbulado en la base, acuminado en el ápice, subcoriáceo, encima medio verde a verde oscuro y semibrillante, envés ligeramente más pálido y brillante, secado verde oscuro a café oscuro arriba, amarillo verdoso a café amarillento abajo; lóbulos posteriores 11-16,5 x 8-10 cm, usualmente dirigidos hacia abajo, algunas veces un poco hacia afuera; lóbulos anteriores rectos a ampliamente cóncavos; venas basales 6 a 8, el primer par libres hasta la base, el segundo par algunas veces libres hasta la base, cuarto par y superiores se juntan 5-6 cm; la vena posterior pelada o desnuda por 2,5-5,5 cm; vena central estrecha, ligeramente más pálido y agudo romo arriba, más pálido estrechamente redondeado abajo, secado concoloro o ligeramente más oscuro que la superficie, algunas veces agudo arriba, oscuro o más claro que la superficie de abajo; venas

¹³*Catáfilos*: del Gr. *Cata*, abajo; *phylon*, hoja. Son las hojas modificadas que se encuentran situadas en niveles bajos en la planta o brote. Se presentan como escamas en las yemas y en los tallos subterráneos, también se relacionan con las funciones de protección, almacenamiento o ambas a la vez (Santos J. 1966).

laterales primarias 8 a 10 pares, elevándose en un ángulo de 30-50° a la vena media, débilmente hundido y concoloros arriba, estrechamente elevados y ligeramente más pálido abajo, venas terciarias mayormente no elevadas, secando más oscuro que la superficie, Inflorescencia erecta; pedúnculo 23-39 cm de largo; espata¹⁴ verde, 8,5-15 x 1,1-1,5 cm, reflexa-expandida; espádice¹⁵ 7,5-22,5 cm x 4-9 mm, estipitado 3-20 mm, medio verde a verde oscuro, semibrilloso. Flores 1,8-2,2 mm de largo, 7 a 9 visible por espiral: tépalos laterales 0,9-1,0 mm de ancho, margen interior redondeado, margen exterior de 2 lados; antera 0,4 x 0,6 mm; polen blanco (Croat y Acebey 2005; Missouri Botanical Garden Herbarium 2011).

Anthurium grande, hoja peciolada, lámina subcoriácea, a ambos lados verde oscuro, oblongo-ovadas, 50 cm de largo, 40 cm de ancho, lóbulos posteriores más cortos, de frente separado, senos agudos separados, obtusos hacia el interior donde se solapan, los lóbulos siguen una línea arqueada y poco a poco se angostan hacia el ápice, el ápice es obtuso, nervaduras principales de los 2 lóbulos unidos ligeramente en la base en ambos lados, 7 nervios secundarios arqueados notoriamente abiertos, que desembocan en un nervio colector 2 mm del margen. Pedúnculo de 7-8 mm de espesor, espata ovada basalmente cordada de 10,6 cm de largo y 10,2 cm de ancho, casi blanca a purpureo, pedúnculo de la espádice 1 cm de largo, espádice 10,4 cm, de largo, base 2 cm de espesor, un poco más atenuado, color púrpura, ovario ovado cónico, 4 mm de largo (Engler A. 1905).

3.3. Especie en estudio

Las dos especies utilizadas son: *Anthurium acebeyae* Croat. que se encontró entre 1400-2400 msnm que es hemiepífita y su uso potencial es ornamental; *A grande* N. E. Br. Ex Engl. que se encontró entre 1200-3000 msnm como terrestre y su uso potencial también es ornamental (Acebey, Kessler, Maass y Krömer 2006).

3.4. Taxonomía

Según Bisby *et al.* 2007 la clasificación taxonómica para *Anthurium acebeyae* fue determinado por: Croat T. 2003 citado en Missouri Botanical Garden Herbarium 2011. Así mismo, Brown, N. E. (1905); citado en Missouri Botanical Garden Herbarium 2011 clasificó

¹⁴ *Espata*: Se denomina a la bráctea que acompaña a la inflorescencia y puede estar muy desarrollada (Santos J. 1966).

¹⁵ *Espádice*: espiga con el raquis grueso (Santos J. 1966).

taxonómicamente a *Anthurium grande*. La clasificación de ambas especies se encuentra a continuación:

Reino: Plantae
Sub reino: Viridaeplantae
División: Magnoliophyta
Clase: Liliopsida
Subclase: Aridae
Superorden: Aranae
Orden: Arales
Familia: Araceae
Tribu: Anthurieae
Genero: *Anthurium*

Especie: *Anthurium acebeyae* Croat.

Nombre botánico: *Anthurium acebeyae* Croat.

Especie: *Anthurium grande*

Nombre botánico: *Anthurium grande* N. E. Br. Ex Engl.

3.5. Condiciones de cultivo

De las especies en estudio no se tiene referencias bibliográficas en cuanto a su cultivo (requerimientos nutricionales, hídricos y de luminosidad), debido a que son especies no cultivadas y porque se tratan de especies recién identificadas; *Anthurium acebeyae* es endémica y *A. grande* es nativas de Bolivia y Perú, ambas catalogadas como potencialmente ornamentales sin embargo, estas especies se desarrollan naturalmente en condiciones climáticas de bosque húmedo montano subtropical de los Yungas.

Como no se tienen estudios de su cultivo *in vitro*, se consideró información de especies emparentadas cultivadas como *Anthurium andraeanum* y *A. scherzerianum* donde sus requerimientos son: 150 pies.candela⁻¹ (ft.c⁻¹), 16 horas de fotoperiodo y temperaturas entre 19 a 21 °C (Pataky 2001; citado en Salgado J. 2007).

Es así que, se hizo una compilación de las condiciones de cultivo de las especies comerciales de anturio (*Anthurium andraeanum* y *A. scherzerianum*) que se adaptan a una amplia gama de suelos, bien aireados y drenados, con pH entre 5-6,5; temperatura óptima

de desarrollo va desde 20 a 30 °C íntimamente relacionada con 60–80 % de humedad relativa. La intensidad luminosa se sitúa entre 18000-25000 lux (250-300 vatios.m⁻²), la radiación o exceso de luz le puede provocar decoloración y quemaduras, el riego debe mantener el sustrato húmedo y uniforme, pero no muy mojado para evitar daño en las raíces y amarillamiento (Pato *et al.* 2005).

3.5.1. Características ecológicas

El PN-ANMI Cotapata, se ubica en la vertiente oriental de la cordillera de Los Andes, en las provincias Nor Yungas y Murillo del departamento de La Paz; aproximadamente a 80 km al noreste de la ciudad de La Paz, de topografía abrupta con pendientes de 21 a 55 %, con un clima perteneciente al tipo meso térmico húmedo, con lluvias de verano e inviernos secos y cálidos. Entre 2300-3400 m de altitud se observa la constante afluencia de neblinas todo el año, donde predomina el clima frío y per húmedo de bosque nublado, con frecuentes lluvias (Bach y Grandstein 2007; Ribera 1995; Paniagua, Maldonado y Chumacero 2003).

En Cotapata las comunidades de plantas epifitas se distribuyen entre 2500 y 3000 msnm éstas se localizan cada 300-500 m (Jácome y Kessler 2005), donde la precipitación anual es más de 3000 mm (Ribera 1992; citado en Krömer *et al.* 2007) y las temperaturas oscilan entre 12–17 °C (medidas a una altura de 2 m sobre el nivel del suelo) según Paniagua *et al.* (2003) y humedad relativa (HR) de 97,5% (Bach *et al.* 2003).

Los individuos de aráceas crecen sobre los troncos y ramás de árboles, pero frecuentemente se las encontró desarrolladas sobre ramás caídas, aunque al parecer no existe una preferencia en cuanto a la zona del forófito, también se observó que estas especies se sitúan mayormente entre 1 y 1,5 m sobre el suelo, donde la corteza de los forófitos tienen característica ácida, pH 4,57 (Villegas y Sánchez 2010)¹⁶.

Los viajes de colecta para obtener el material vegetal e información ecológica del lugar, fue realizado con el proyecto “Estudio del potencial de aprovechamiento sostenible de epifitas del PN-ANMI Cotapata”, por el sendero de Chojllapata que atraviesa la cresta de la montaña (3400-1300 msnm) que llega hasta la localidad del Chairo y la senda de Sillutinkara (3400-2000 msnm) que comienza en el río Coscapa, encuentra el sendero de El Choro cerca a

¹⁶Villegas y Sanchez 2010: Información adicional desarrollada por el Proyecto “Caracterización y cultivo de hongos micorrizicos asociados a orquídeas epifitas del genero *Másdevallia* del Parque Nacional y Area Natural de Manejo Integrado Cotapata (PN-ANMI Cotapata), destinados a la optimización de su producción ornamental para su manejo sostenible, mediante el uso de herramientas biotecnológicas” Com. Pers.

Sandillani, que finalmente llega a la localidad del Chairo (Sevilla, Mata y Gil 2003; Jiménez y Miranda 2007).

Los datos obtenidos de las investigaciones previas, sobre la ecología del lugar, condiciones climáticas, formación de vida que conforman el parque PN-ANMI Cotapata y las realizadas de las condiciones ecológicas del hábitat natural de las especies del presente estudio, fueron referencias que sirvieron de base para realizar el estudio del cultivo en condiciones *in vitro*, que llegaron a formar protocolos para futuras investigaciones.

3.6. Micropropagación

La micropropagación¹⁷ es una técnica de reproducción en condiciones totalmente asépticas, que a partir de un pequeño segmento inicial de tejido es posible regenerar en poco tiempo miles de plantas genéticamente iguales a la planta madre, que exige un control específico del ambiente donde es estimulada en un medio de cultivo con variables físicas y/o químicas en espacios reducidos (Castillo A. 2004).

El fundamento del cultivo *in vitro* se basa en el concepto de totipotencia¹⁸ celular, principio biológico acreditado a la fisiología vegetal por Haberlandt en 1902, quien enunció que cada célula vegetal poseía un potencial genético para producir un organismo entero (Guerra y Nodari 2007), esa capacidad de la célula de subsistir por sí sola bajo condiciones externas favorables, requiere de un estricto control a nivel de las señales intra e inter-celulares para que continúe con su regeneración.

La técnica de cultivo de tejidos vegetales en la propagación de anturios comerciales, en muchos países ha sido adoptada y altamente desarrollada por su practicidad, es así que las estadísticas de Alemania muestran que la producción *in vitro* de *Anthurium* a nivel comercial ha sido de 303 millones de plantas en 1985 y que se ha incrementado para el 2004 donde se produjeron 900 millones de plantas a nivel comercial, comparada con otros países muestra un incremento de producción como también del número de laboratorios. Las estadísticas muestran que en otros países la producción obtenida termina en el mercado de Europa, muchos de estos laboratorios se encuentran en asociación con centros de investigación de

¹⁷La *micropropagación*: o propagación clonal. es una aplicación del cultivo *in vitro* que a partir de un fragmento (explante) de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas denominadas clones (Castillo A. 2004).

¹⁸*Totipotencia*: es la capacidad de una célula de formar un individuo completo (Vasil 2008; citado en Sotomayor S. 2009).

países que no hacen comercialización directa de manera que ellos aportan con una parte de la producción, (Winkelmann, Geir y Preil 2006).

La comercialización y el incremento de especies producidas *in vitro* esta siendo altamente incentivado en otros países, así como en la India donde la producción de *Anthurium* va en incremento por lo que el gobierno ha tomado medidas adecuadas que permitan su desarrollo y optimización (Govil y Gupta 1997).

El cultivo de aráceas es importante, principalmente en regiones tropicales del mundo, así en la actualidad los mayores productores son: Holanda que mantiene 25 millones y Hawaii produce 11 millones en producción anual (Buldewo, 2002 citado en Salgado J. 2007). Por otro lado, se tiene el mercado externo concentrado en España, Inglaterra, Japón, Canadá, Puerto Rico, Isla del Caribe y Estados Unidos según (Celis 2010 citado en Oscullo M. 2011).

3.6.1. Etapas de la micropropagación

La micropropagación consta de 5 Fases según Navarro S. (1994); George y Debergh 2008; citado en George, Hall y Klerk 2008; Jiménez E. 1999; Debergh y Read 1991.

Fase 0: Preparativa. En esta etapa se incluye la selección de la planta donadora y una serie de pre tratamientos en condiciones higiénicas controladas.

Fase I: Establecimiento o iniciación de los cultivos. Es establecer cultivos axénicos y viables.

Fase II: Multiplicación. Es la etapa del proceso donde se debe garantizar la propagación de los brotes y la estabilidad genética de las plantas producidas.

Fase III: Enraizamiento. Es la fase donde los brotes obtenidos durante la etapa de multiplicación crecen hasta formar plantas completas y desarrollan un sistema radical.

Fase IV: Aclimatación. Es la fase final del proceso y por tanto su meta es lograr plantas listas desarrolladas para que puedan sobrevivir en condiciones naturales, son sensibles a los cambios ambientales de manera que el éxito dependerá de la aclimatación.

3.6.2. Reguladores de crecimiento y hormonas vegetales

Los reguladores de crecimiento son aquellas sustancias de origen sintético que, tienen un rol en el desarrollo de la planta a nivel regulador más que nutricional. Las sustancias análogas biactivas que ocurren de forma natural en la planta son denominadas *fitohormonas u hormonas vegetales* (Machakova, Zazimalova y George 2008 citado en George *et al.* 2008).

Las plantas poseen un sistema hormonal de comunicación a larga distancia mediante el cual las células diana¹⁹ traducen la señal hormonal en una respuesta específica, aunque se desconoce los mecanismos que regulan esta transmisión, estos receptores son proteínas que se unen de forma específica y reversible a la señal química; tras realizarse la unión experimentan un cambio conformacional, pasando de una forma inactiva a una forma activa, poniendo en marcha un programa molecular de transducción de la señal (cascada de amplificación) que conduce a la respuesta característica (Castilla, Prieto y Rodríguez 2003).

Las hormonas vegetales se clasifican en: auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico y sus derivados y etileno.

3.6.2.1. Auxinas

La auxina es una hormona vegetal de transporte polar, se transporta estrictamente de manera unidireccional que depende de una maquinaria compleja de portadores de proteínas, mediante un conducto celular que aseguran el establecimiento y mantenimiento del gradiente hormonal y el desarrollo de la planta (Ross, Symons, Abas, Reid y Luschnig 2006), las auxinas se localizan en las regiones meristemáticas en crecimiento activo por tanto, controlan la división celular y se transporta en forma basípeta, también se conjugan con compuestos orgánicos (aminoácidos, carbohidratos, vitaminas) con la finalidad de extender su tiempo de vida, debido a que ellas en estado libre son sensibles a sufrir foto-oxidación (Castilla, Prieto y Rodríguez 2003).

Una auxina en cultivo de tejidos vegetales, puede cambiar el tipo de desarrollo estimulando la formación de raíz, podría cambiar la inducción de callos, dependiendo de la concentración y su efecto con otras hormonas (Machakova, Zazimalova y George 2008; citado en George *et al.* 2008). Las plantas presentan auxinas naturales como: AIB (ácido 3-indol butírico); AIA (ácido-indol acético); ácido feniácetico; ácido índol-3-pyruvico y ácido indol-3-acetamida.

AIB (ácido 3-indol butírico), es una auxina natural (Taiz y Zeiger 2006). Por su estabilidad y poca movilidad, induce a la iniciación de raíces (Pierik R. 1989). La presencia de AIB en los medios de cultivo tiene efecto en la formación de raíces y en la reactivación de las yemas (Litz y Jarret 1993), generalmente producen elongación celular y expansión de los tejidos,

¹⁹*Celula diana*: son células impulsadas a realizar una acción específica. Las hormonas contienen receptores específicos con los que pueden unirse a una célula diana apropiada 'como una llave en su cerradura' donde ejercen su efecto (Wikipedia 2010).

división celular (formación de callos), formación de raíces adventicias, proliferación axilar y adventicia (Ruiz 2000; citado en Oscullo M. 2011).

También se demostró que medios nutritivos adicionados con AIB y BAP favorecen a la proliferación de las yemas axilares y el vigor de los tallos, esta combinación además apresura a la ruptura de la latencia de las yemas, así mismo, genera la mejor tasa de proliferación de los explantes (Roca y Mroginski 1991; Moshkov, Navikova, Hall y George 2008). En conjunción IBA y BAP mejoran la formación de los brotes vegetativos de segmentos de inflorescencia de remolacha azucarera (Coumans-Gilles *et al.* 1981; citado en Moshkov, Novikova, Hall y George 2008).

Según Krikorian A. (1969) las auxinas sintéticas son: El ácido ANA (α -Naftalénacético); 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético); NOA (ácido naftoxiacético); 2,4-DB (ácido 2,4 diclorofenoxibutilico); 2,4,5 T (ácido 2,4,5 triclorofenoxiacético).

ANA (ácido α -naftalénacético) es una auxina fuerte sintética más efectiva y la más utilizada para inducir a la rizogénesis (Litz y Jarret 1993), también incentiva la producción de vastagos, generando mejor calidad de raíces ó la elección primaria cuando se tiene dificultad en la producción de raíces (Pierik *et al.* 1984; citado en Pierik R. 1989) interviene en la dominancia apical de las yemas, estimula la formación de brotes adventicios a bajas concentraciones.

3.6.2.2. Citocininas

Las citocininas son hormonas vegetales que juegan un rol importante en la fisiología y procesos de desarrollo en la planta, tanto como en la regulación de brotes y desarrollo de raíces, senescencia de las hojas, desarrollo de los cloroplastos, reacción al estrés y resistencia a los patógenos (Mok y Mok 2001; citado en Heyl, Werner y Schmölling 2006).

Las citocininas derivan de adeninas sustituidas, ellas particularmente estimulan la síntesis de proteínas y participa en el control del ciclo de la célula, su efecto es notorio en cultivo de tejidos vegetales porque estimula la división celular y controla la morfogénesis, si se lo adiciona en un medio de cultivo de brotes este compuesto supera a la dominancia apical, promoviendo los brotes dormidos laterales según Staden, Zazimalova y George 2008 citado en George *et al.* 2008, que también dividen a las citocininas en dos grupos químicos:

Con base de adeninas, donde se encuentran: Zeatina, BAP (N-6 bencil aminopurina), 2ip (N6-(2-isopentenil adenina), ribofuranosilzeatina, glucopiranosida de zeatina.

Con base de fenilureas, que son citocininas sintéticas, aquí están la Difenilurea, Forclorfenurón (CPPU), Tiadiazurón (TDZ).

BAP, (N-6 bencil aminopurina), es una citocinina sintética efectiva en la inducción de yemás axilares, en los medios de cultivo empleados para la propagación (Hu y Wag 1983; citado en Jimenez E. 1999), tiene la habilidad de iniciar la división celular, hace posible la proliferación de células y la formación de callos en gran número de especies vegetales, además induce a la formación de estructuras organizadas de algunas especies (Skoog 1955; citado en Navarro y Vera 1994), así mismo, en cultivo de tejidos vegetales induce a la morfogénesis.

Evans *et al.* 1981; citado en Litz y Jarret (1993) demostraron que BAP en la mayoría de los casos genera brotes a partir de los callos e inhibe el crecimiento de las yemás que proliferan, de igual manera BAP es la más efectiva citocinina y extensamente utilizada en la regeneración de varias especies vegetales *in vitro* en combinación o sola, por otro lado, adicionado BAP en MS produce en los ápices de los brotes sin la formación de callo la elongación individual que gradualmente desarrolla y forma raíces, que al final genera una planta completa al 100% (Goel, Singh y Saini 2009).

En los últimos estudios, encontraron otras citocininas que se producen naturalmente y son derivados de la N⁶-benzyladenine (7a)²⁰, como son: las topolinas (7b,c) aromáticas, {(7b) que es *ortho*-topolin[N⁶-(2-hydroxybenzyl) adenine] y (7c) que es *meta*-topolin[N⁶-(3-hydroxybenzyl) adenine]} (Standen *et al.* 2008 citado en George *et al.* 2008).

Sulfato de adenina, es utilizado para inducir brotes y crecimiento *in vitro* (Guerra y Nodari 2007), su actividad es semejante a las citocininas porque genera un aumento en el efecto (Thorpe, *et al.* 2008; citado en George *et al.* 2008), sin embargo es utilizado junto a otro tipo de citocinina como la kinetina o BAP (George 1993; citado en Blanco y Valverde 2004).

Promueve el desarrollo de yemás dependiendo de la concentración de Sulfato de adenina (SA) da posibilidad de obtener un cierto control en la formación de órganos *in vitro* (Skoog *et al.* 1951; citado en Litz y Jarret 2003), de la misma forma, favorece frecuentemente a la formación de tallo *in vitro* si su concentración varía de 40 a 160 mg.l⁻¹ (Merino 1994; citado en Hurtado y Merino 1994), igual se lo utiliza en la formación de callos y propagación vegetativa

²⁰N⁶-benzyladenine (7a)= N-6 bencilaminopurina

adicionando en el medio nutritivo de 2-120 mg.l⁻¹ (Nitsch *et al.* 1967; citado en Pierik R. 1989).

3.6.2.3. Otros reguladores de crecimiento vegetal

3.6.2.3.1. Ácido giberelico (GA3)

El ácido giberelico es una fitohormona, que adicionado al medio es ventajoso porque promueve la elongación de los brotes y de ese modo facilita la separación particular de los nódulos (George y Deberg 2008; citado en George *et al.* 2008). Fue extraída de un cultivo de hongos y es disponible para usarse como regulador exógeno (Machakova *et al.* 2008 citado; en George *et al.* 2008).

Los tipos de giberelinas son: GA₁, GA₃, GA₄, GA₇, GA₉ y así sucesivamente llega más allá de GA₄₀, esta diferencia se debe principalmente a la presencia y localización de dobles ligaduras, al número y colocación de los grupos hidroxilos y al número de grupos carboxilos (Barba A. 1994; citado en Hurtado y Merino 1994).

3.6.2.3.2. Ácido abscísico y sus derivados

El ácido abscísico (ABA) ó ácido ((S)-5-(1-hidroxi-2,6,6-trimetil-4-oxo-1-ciclohexil)-3-metil-cis, trans-penta-2,4-dienoico) es una hormona vegetal, cuyo precursor es el isopentil difosfato, se sintetiza en los plastidios fundamentalmente en los cloroplastos. Se secreta en respuesta al estrés ambiental (térmico, hídrico y salino) por ello promueve la latencia en yemas y semillas; inhibe la división celular, el crecimiento y la fotosíntesis de la planta; a un aumento en la concentración de esta hormona en la hoja como respuesta a un estrés hídrico causa el cierre de estomas y disminuye la transpiración y produce la abscisión de hojas y frutos (Moshkov *et al.* 2008; citado en George *et al.* 2008).

3.6.2.3.3. El etileno

Es una hormona natural de estructura más simple, es gaseosa por ser un hidrocarburo, parece ser producida por todas las partes de la plantas superiores y se encarga de promover la maduración de los frutos, la senescencia, el geotropismo e inhibe callos *in vitro* (George y Davies 2008; citado en George *et al.* 2008).

3.6.3. Experiencias previas en especies emparentadas

Para la presente investigación se hizo una revisión de bibliografía de estudios realizados en aráceas y sobre todo en anturios comerciales, porque no se contaba con información de *Anthurium acebeyae* (especie endémica) y *A. grande* (especie nativa) del cual se tiene poco conocimiento de su hábitat.

Con respecto al cultivo *in vitro* de aráceas, se reportan experiencias exitosas de micropropagación en *Typhonium flagelliforme* donde utilizaron el medio MS (Murashige y Skoog 1962) + 0,3 mg.l⁻¹ BA (Bencil aminopurina) y 0,5 mg.l⁻¹ IBA (Ácido Indol Butírico) con el cual indujeron a la formación de brotes (Tiing, Lai, Pargini y Teo 2000), por otra parte se encontró una elevada tasa de multiplicación en *Philodendron* sp. cuando utilizaron el medio MS adicionado con 160 mg.l⁻¹ sulfato de adenina, 170 mg.l⁻¹ NaH₂PO₄H₂O, 7 mg.l⁻¹ de BA y 3,0 mg.l⁻¹ de Kinetina (Blanco y Valverde 2004). También a partir de callos provenientes de hojas de *A. andraeanum*, se logró 96% en brotes tratados con 1,0 mg.l⁻¹ de BAP que a la vez formaron raíces en promedio de 8 cm (Jahan *et al.* 2009).

En los tratamientos de enraizamiento para *Spathiphyllum* sp., se encontró que el número de raíces se incrementa si los brotes son cultivados en IBA 0,5 mg.l⁻¹ en el medio, así mismo, cuando experimentaron con 0,1 mg.l⁻¹ de ANA lograron la formación de 2 raíces en promedio por brote (Vargas y Garcia 1995). Posteriormente *A. andraeanum* lograron enraizar con MS + 3,0 mg.l⁻¹ ANA (Lima, *et al.* 2003; Lee, Cruz y Garcia 2003), paralelamente en la misma especie, mejores resultados de largo y número de raíces obtuvieron con 0,1 mg.l⁻¹ de ANA (Vásquez y Yanitza 2003).

La aclimatación de *Philodendron* sp. presentó buenos resultados obteniéndose hasta 91% de sobrevivencia cuando la sembraron en un sustrato compuesto por suelo y fibra de coco en proporción 1:1 (Blanco y Valverde 2004). Por su parte, muestran una sobrevivencia del 92% las vitroplantas de *T. flageliforme* trasplantadas en arena y fibra de coco 1:1 según Tiing *et al.* (2000), de la misma manera, la adaptación de *A. andraeanum* Lind. Var. "Sonate" en sustrato que contenía paja de arroz y cachaza²¹ en proporción 1:1 generó un 90% de sobrevivencia (Trujillo, Concepción, Daquinta, Nápoles y Balmaseda 2000). Para el caso de *Bletia patula*, se recomienda: humus corriente, fragmentos de raíces de helechos

²¹ Cachaza, Residuos de la Industria de caña.

arborescentes o fibra de coco, corteza de pino, arena sílice o de río y carbón vegetal en la proporción 1:1:1:1:¼ (Ponce *et al.* 1997; citado en Pérez, Vargas y Rodríguez 2006).

3.6.3.1. Aclimatación en la vitroplantas

La etapa de mayor importancia en la micropropagación es la aclimatación, donde las vitroplantas exhiben su capacidad de adaptarse de condiciones heterotróficas a autotróficas.

Es importante considerar, que las vitroplantas provienen de condiciones controladas y óptimas, que los órganos presentan una capa delgada de cera, por la humedad relativa que a menudo es entre 90 y 100 % *in vitro*, lo que ocasiona una pérdida extra de agua a través de la cutícula, durante el proceso de aclimatación la hoja delgada, fina fotosintéticamente no es muy activa, ya que en realidad comienza a fijar CO₂ a los siete días y los estomas no operan propiamente y los hidatodos en las hojas están abiertos.

La transferencia de la vitroplanta al suelo le causa un estrés de agua durante las primeras horas donde la humedad del aire es menor, porque el plantín presenta una pobre conducción vascular entre los brotes y la raíz que podría reducir la conducción de agua, a la vez, el azúcar podría ser reemplazado por la fotosíntesis, por tanto requiere de sombra parcial para el desarrollo del mecanismo de cierre estomatal (Pierik, R. 1989).

Por tanto, los estomas²² van aumentando de manera progresiva la densidad estomatal, reducen el tamaño de las células oclusivas y disminuyen el potencial hídrico hasta alcanzar un equilibrio (Martínez, Arizaleta, Sanabria y Brito 2004), los hidatodos se cierran o presentan pequeñas aperturas que presentan gutación contribuyendo a la pérdida de agua en el adaxial (Capellades *et al.* 1991; citado en Preece y Sutter 1991) de esta manera es evidente que durante el periodo de adaptación a condiciones naturales la vitroplanta sufre cambios importantes como el de establecer nuevamente sus condiciones autótrofas, (Bazaldúa, Ventura, Salcedo, Maldonado y López 2008).

Se tiene que tener cuidado con problemas de enfermedad que pueden afectar al plantín, hasta que el medio estimule, un sistema de defensa contra microorganismos, la fragilidad de la vitroplanta al estar sometida a alta humedad relativa puede favorecer al crecimiento de hongos y bacterias, por tanto es necesario prevenir este suceso en el trasplante y post aclimatación (Guerra y Nodari 2007).

²²Los estomas, son orificios localizados en la superficie de las hojas, presentan un ostiolo que regula el poro, tienen la capacidad de intercambio de gases (fotosíntesis y respiración) y de pérdida de agua de la planta.

3.6.3.1.1. Características de los sustratos

El momento del trasplante esta caracterizado por la influencia de las condiciones ambientales como, humedad relativa, temperatura, intensidad de radiación solar y precipitaciones diferentes, determinándose como la mejor época Octubre y Diciembre (Morales, De la Fe, Corbera y Calaña 2009).

Un aditivo en la preparación de sustrato es el carbón vegetal que es, un material sólido, frágil y poroso con un alto contenido de carbono que se produce por calentamiento de madera y otros residuos. Para el cultivo de especies epifitas es usual utilizar piezas de ladrillo y carbón (Figura 2) como elementos de aireación (Portilla, Díaz y Salazar 2006), el carbón vuelve más poroso el sustrato, se descompone más lento que la corteza y desinfecta ya que hace de filtro en el agua de riego, también generan mejor sistema radicular y las plantas se encuentran en mejor estado (Infojardin 2005).

Al respecto, trabajos en *Spathoglottis plicata* lograron mejores resultados en la obtención de mayor largo de raíz y máximo número de raíces cuando adicionaron al sustrato carbón (Nguyen, Jo y Hernández 2012), también se debe considerar en los sustratos, la resistencia a cambios externos físicos, químicos y ambientales y que manifiesten buena estabilidad estructural.



Figura 2. Sustratos: (A) Ladrillo; (B) Carbón; (C) Cascarilla de arroz; (D) Fibra de coco; (E) Grava; (F) Chachín. Elaboración propia.

a) Cascarilla de arroz

El cascarilla es incorporada con facilidad en un medio sólido para mejorar el drenaje, es de peso ligero, uniforme en grado y calidad con resistencia a la descomposición (Alvarado y Solano 2002). Es un subproducto de la industria molinera, abundante en las zonas arroceras (Figura 2), como sustrato orgánico la cascarilla de arroz cruda presenta buenas propiedades físico-químicas con baja tasa de descomposición, liviano, que genera buen drenaje y buena aireación de 9,0% v/v y no así la cascarilla de arroz quemada que tiene 10-13% v/v que retiene mayor cantidad de humedad (Calderón, F. 2002).

b) Fibra de coco

Se la obtiene de las fibras del mesocarpio de los frutos del cocotero (*Cocos nucifera*) (Bruna M. 2009), sus ventajas como sustrato en polvo o fibra son: Liviano, poroso, ahorra agua porque soporta bien la humedad, retiene ocho veces su peso en agua lo que posibilita su espaciado entre riegos (Alvarado y Solano 2002), como fertilizante compensa la pérdida de elementos mayores, particularmente potasio, materia orgánica (Quintanilla M. 2010).

La fibra de coco proporciona aireación al 20%, elevada estabilidad y capacidad de retención de agua, evita el encharcamiento (Sánchez M. 2009), se debe limpiar los excesos de sal y otros posibles elementos dañinos (Fenoles y Taninos). Luego de separar las fibras largas de las finas partículas de polvo, se aplica un nuevo lavado posterior con vapor a presión para eliminar o reducir al máximo posible la salinidad y la presencia de gérmenes y bacterias, luego se debe secar al sol.

La fibra de coco es un producto natural 100% orgánico, contiene hormonas enraízantes naturales y cierta capacidad de protección contra hongos y bacterias, además es susceptible de almacenar una mayor cantidad de vida bacteriana y microorganismos que otros sustratos, facilita el desarrollo de raíces sanas y fuertes, su pH esta entre 5,5 y 6,8 (Bruna M. 2009), por otra parte, la fibra de coco (figura 2) ha sido reportada como un sustrato de excelentes condiciones para la adaptación de vitroplantas de un gran número de cultivo entre ellas las plantas ornamentales epifitas (Portilla, Díaz y Salazar 2006; Muñoz Z. 2007).

c) Arena

Es un material formado en su mayor parte de sílice de diámetro entre 5 y 15 mm que puede proceder de canteras o ríos (figura 2), poseen una buena estabilidad estructural, capacidad

de retención del agua baja y porosidad elevada (Jiménez E. 1999). Su uso como sustrato puede durar varios años. De preferencia debe ser fumigada o tratada con calor antes de su uso, ya que puede contener semillas de malezas y organismos patógenos, la arena prácticamente no contiene nutrientes minerales ni capacidad de amortiguamiento químico (Alvarado y Solano 2002).

La arena es un sustrato que puede influenciar de manera porcentual en el enraizamiento como en la calidad del sistema radicular (Nachtigal y Fachinello 1995). Así, experiencias en la utilización de sustratos adicionados con grava en cultivo de *S. plicata* mostraron mejores resultados en la obtención de mayor largo de raíz, máximo número de raíces y a la vez generó mejor respuesta morfológica (Nguyen, Jo y Hernández 2012).

d) Chachin

El chachin es llamado también xaxim, maquique y esta formado por las raíces adventicias de algunas especies de helechos arborescentes (figura 2), de coloración café en proceso de descomposición (Villegas y López 2007). Por el tipo de uso, es comercializado como sustrato para cultivar epifitas y material de construcción, por esa razón su extracción indiscriminado está deteriorando el hábitat de muchas de las especies de México donde se encuentran amenazadas (Palacios M. 2006), Así mismo, reportes de chachin extraído del tronco de un árbol de helecho (*Dicksonia sellowiana*) se esta extinguiendo en el sud de Brasil, por tanto es ilegal su comercio (Viégas *et al.* 2007).

Por el tipo de crecimiento que presentan las hojas de helechos al desarrollarse va formando una estructura denominado cayado²³ y esta estructura se la utiliza para elaborar artesanías y macetas, las mismás se usan como sustrato (conserva por mucho tiempo humedad, tiene buen drenaje y se descompone lentamente) para orquídeas, bromelias, helechos y otras epifitas (Palacios M. 2006).

²³Cayado: Palo o bastón corvo por la parte superior

4. Localización

4.1. Ubicación geográfica

El trabajo de tesis se realizó en la Unidad de Biotecnología Vegetal del Instituto de Biología Molecular y Biotecnología, dependiente de la carrera de Biología de la Facultad de Ciencias Puras de la Universidad Mayor de San Andrés, que se encuentra ubicada en la zona de Cota Cota en la ciudad de La Paz y las etapas complementarias necesarias para la realización del presente estudio, se las realizaron en el PN-ANMI Cotapata (Figura 3), que se ubica sobre la Cordillera Oriental, aproximadamente a 80 km al noreste de la ciudad de La Paz, que conecta a la comunidad de “El Chairo” (1300 msnm) que se encuentra a unos 30 km (Cortez C. 2006), localizados en la provincia Murillo y nor Yungas del departamento de La Paz, (S 16°12'24,5", O 67°50'05,9"), que va desde 1400 a 5600 msnm de altitud (Ribera M. 1995).

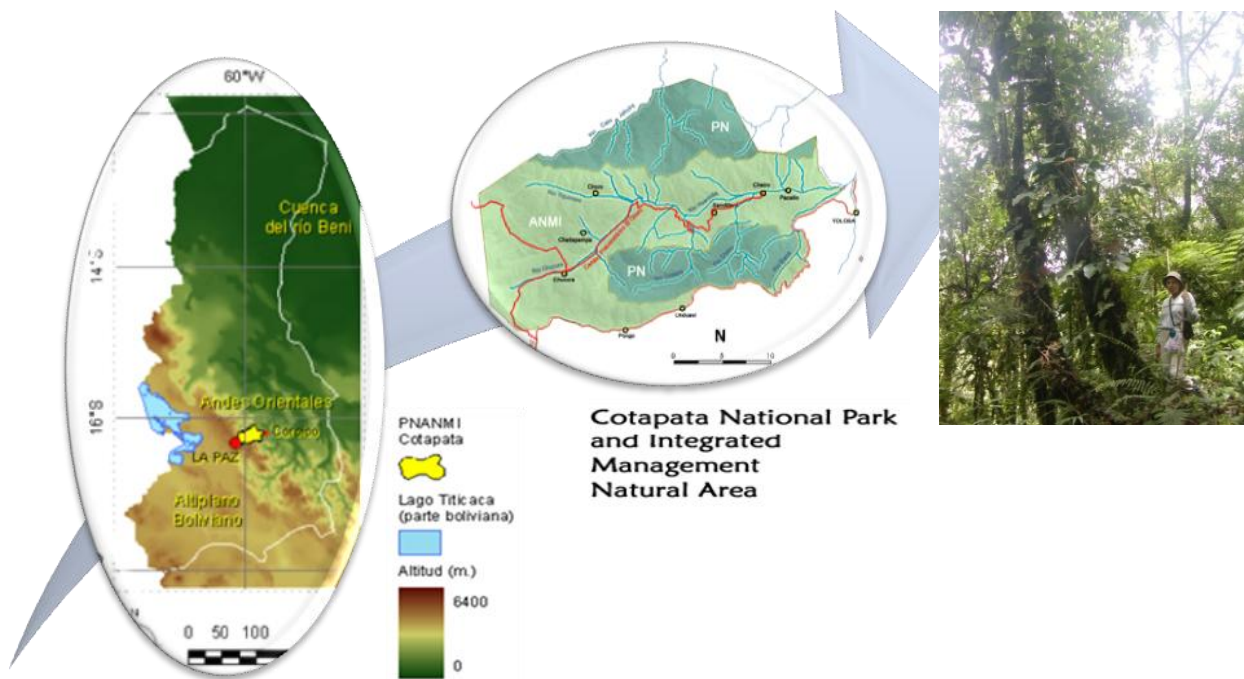


Figura 3. Localización de *Anthurium acebeyae* y *A. grande*, dentro PN-ANMI Cotapata, ubicado en el departamento de La Paz, UBV 2008; Sevilla, Mata y Gil 2001; Boissieu, Lilienfeld y Pauquet 2005. Elaboración propia.

5. Materiales

5.1. Material biológico

Para la presente investigación se utilizaron dos especies de anturios (*Anthurium acebeyae*, Croat y *A. grande* N. E. Br. Ex Engl.) con potencial ornamental, por la forma de las hojas alternas, grandes, de forma acorazonada, con pecíolo envainador e inflorescencia con espádice color púrpura y verde claro respectivamente.

5.2. Material de laboratorio, gabinete y campo

Se utilizaron material de laboratorio, de gabinete y de campo (Anexo I), donde los instrumentos de laboratorio y cristalería fueron lavados, desinfectados y esterilizados en un autoclave a 15 psi durante 15 minutos para mantenerlos en condiciones de asepsia y reducir los problemas de contaminación (Merino M. 1994; citado en Hurtado y Merino 1994).

5.3. Reactivos de laboratorio

Para la presente investigación se utilizó el medio de cultivo de la formulación MS (Murashige y Skoog 1962) para cultivos *in vitro* (ver Anexo II), en el cual se hicieron las modificaciones de los tratamientos para las diferentes fases de la micropropagación.

6. Método

6.1. Colecta de material vegetal

Para la realización del presente estudio, los frutos de *Anthurium acebeyae* y *A. grande* fueron colectadas en el “Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado” a través del proyecto, “Estudio del potencial de aprovechamiento sostenible de epifitas en el PN-ANMI Cotapata” y los puntos de colecta en algunos son coincidentes con los datos de Jiménez I. (2011)²⁴. Es así que, dentro del PN-ANMI Cotapata se encuentra el bosque húmedo montano de los Yungas donde se tiene senderos de ingreso (Figura 4) que llegan a la comunidad del Chairo y es en estos senderos y parches donde se realizaron las colectas de los espádices en la última etapa de maduración.

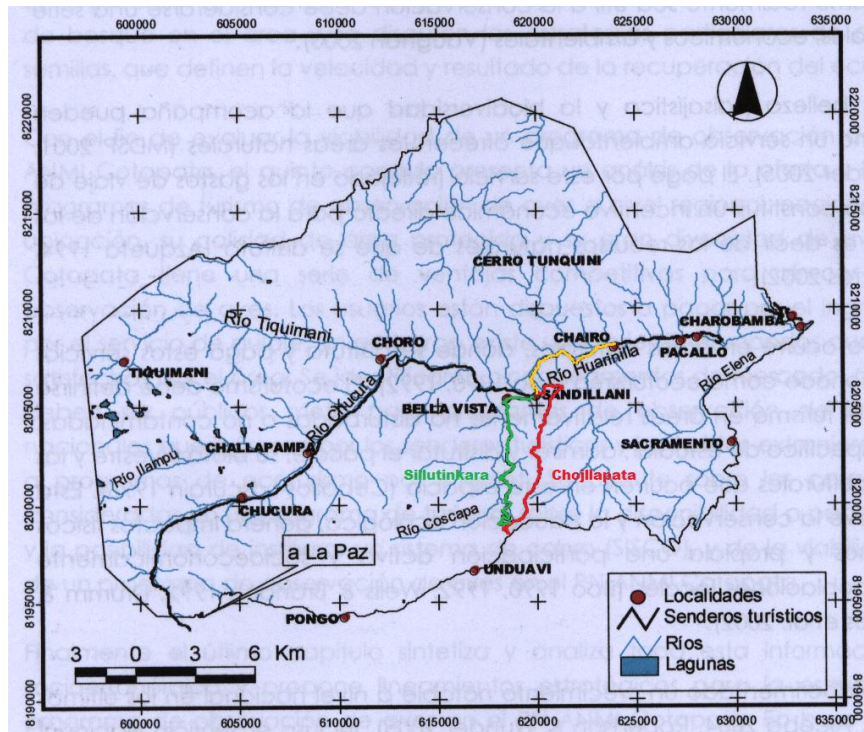


Figura 4. Senderos Precolombinos: Sillutinkara, Chojllapata y Senda Sandillani-Chairo, (Montaño F. 2007). Elaboración propia.

Anthurium acebeyae: Esta especie fue colectada como hierba epífita fértil, con espata y espádice verde y estambres amarillos en una planicie de la senda de El Choro, trayecto Sandillani-Chairo, por la ruta que va a la loma de Sandillani, a una altitud de 2000 msnm

²⁴ Jiménez, I. 2012: trabajo realizado en el proyecto “Estudio del potencial de aprovechamiento sostenible de epifitas del PN-ANMI Cotapata”. Unidad de Biotecnología Vegetal. Instituto de Biología Molecular. Com. Pers.

(long. 67°52'21,9" y lat. 16°12'56,6") que es bosque siempre verde poco disturbado. El siguiente punto de colecta se hizo en Sandillani, caminando por una hora por el camino del Choro en dirección de San Antonio a 1817 msnm (long. 67°53'2,0" y lat. 16°13'31,3") que presenta el bosque siempre verde, en ladera media inclinada, con algunos puntos del sotobosque con abundante bambú, finalmente se la colectó en Chojllapata a 2650 msnm en el parche de *Cyatheas*.

Anthurium grande: Esta especie fue colectada como hierba de hábito hemiepífita, con espata blanca, espádice inmaduro verde y blanco cuando maduro, peciolo redondo y liso sin aroma, en el sendero de Chojllapata, entre el campamento minero y el 2° campamento a 30 minutos a una altitud de 2530 msnm (long. 67°52'19" y lat. 16°15'59,8") en el bosque siempre verde abierto, de 18 m de alto, en ladera ligeramente inclinada.

La segunda colecta fue como hierba epífita, con espata verdusca, espádice verde, catafilo fibroso, peciolo redondo en el sendero de Chojllapata, entre el campamento minero poco antes de llegar al "codo" del sendero a una altitud de 2680 msnm (long. 67°52'30,9" y lat. 16°14'35,8") en el bosque siempre verde poco disturbado a 18 m de alto, en ladera ligeramente inclinada, a un costado del sendero.

Otra muestra fue encontrada de hábito hierba hemiepífita, con espata verde, espádice morado oscuro, brácteas fibrosas en el sendero Chojllapata, entre el campamento minero y el 2° campamento mucho antes de llegar al "codo" del sendero a 2980 msnm (long. 67°52'34,3" y lat. 16°15'7") en el bosque siempre verde a 15 m de alto, en ladera poco inclinada con abundante bambú en alguno de los claros existentes, luego se encontró uno entre el codo y el 2° campamento 2550 msnm (long. 67°52'19,0" y lat. 16°13'59,8") de hábito hemiepífito.

La última colecta de hábito hemiepífito, se encontró en la senda EL Choro, trayecto Sandillani-Chairo, por la senda que va a la loma de Sandillani 2000 msnm (long. 67°52'21,9" y lat. 16°12'56,6") bosque siempre verde poco disturbado en planicie.

Las vitroplantas de *Anthurium acebeyae* y *A. grande* fueron obtenidas a partir de la germinación de semillas procedentes de las colectas mencionadas.

6.2. Establecimiento de vitroplantas

Luego de realizar la colecta del material vegetal, de las dos especies de anturios, se inicio con el trabajo de laboratorio bajo condiciones asépticas y adecuadas para la investigación y producción *in vitro*, donde se llevó a cabo la preparación de los explantes para las diferentes etapas de micropropagación, en una cámara de flujo laminar, que permite el flujo de aire estéril en la mesa de trabajo, generando un área aséptica de inoculación, la cual previamente se esterilizó con hipoclorito de sodio 2%, alcohol al 70% y finalmente se irradió con luz UV durante 15 minutos para su respectivo establecimiento.

Los procesos del cultivo *in vitro*, se trataron en una sala de crecimiento con intensidad lumínica de $4,68 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ suministrada por tubos fluorescentes de 40 Watts, fotoperiodo de 16:8 horas luz: oscuridad y temperatura de 21 a 28 °C controlados por un timer.

Las semillas de *Anthurium acebeyae* y *A. grande* fueron colectadas en la ultima etapa de maduración, las mismás que fueron pretratadas por tratarse de fruto tipo baya, desde su colecta para tener éxito en su germinación (Figura 5). La obtención de las semillas pasa por un cuidadoso pre-tratamiento de extracción de semillas que estan cubiertas de mucílago, el mismo que es separado con lavados, una vez limpia la semilla sufre un proceso de reducción de humedad para ser utilizada en cultivo *in vitro*.

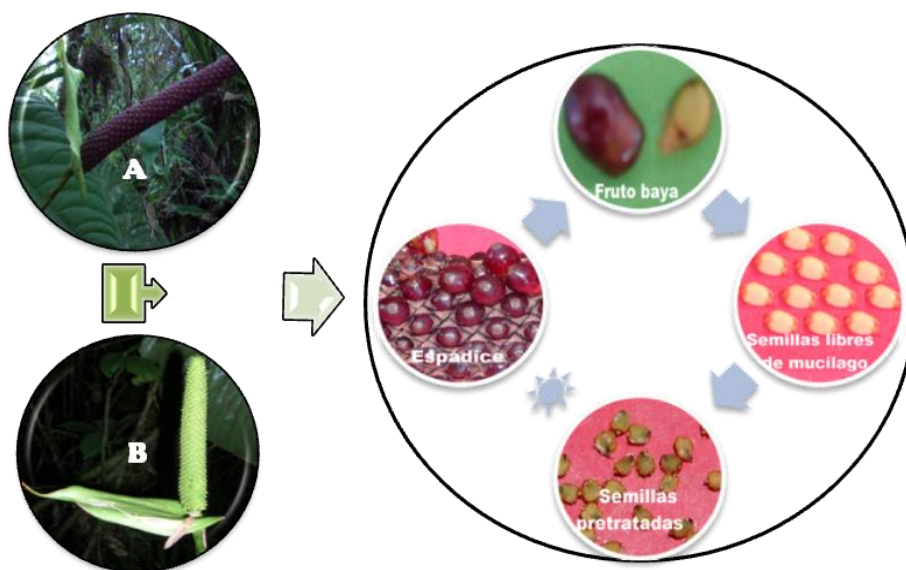


Figura 5. Espadices de las especies en estudio, que fueron colectadas en el Parque Nacional Cotapata (A) *A. acebeyae* Croat.; (B) *A. grande* N. E. Br. Ex Engl. Ciclo que muestra el tratamiento de obtención de las semillas. Elaboración propia.

Por parte del proyecto “Estudio del potencial de aprovechamiento sostenible de epifitas del PN-ANMI Cotapata”, se realizaron diferentes tratamientos de desinfección, lograndose el mejor resultado con: 70% de etanol por 1 min, luego 1.5% de hipoclorito de sodio mas 1 gota de detergente por 20 min enjuagándose 3 veces con agua esteril.

Las semillas lograron germinar y establecerse antes de pasar a la siguiente fase, en un medio de mantenimiento MS (Murashige y Skoog 1962) que se preparó previamente suplementado con 20 g.l⁻¹ de sacarosa, 1,5 g.l⁻¹ de phytigel y pH 5,65 en tubos de ensayo de 1,5*15 cm donde se vertió 10 ml de medio para luego autoclavarlo a 121 °C 15 psi durante 15 minutos.

6.3. Multiplicación y mantenimiento de vitroplantas

Para la fase de multiplicación se preparó el medio de cultivo MS (Murashige y Skoog 1962) suplementado con 0,5 g.l⁻¹ AIB, 20 g.l⁻¹ de sacarosa, 1,5 g.l⁻¹ de phytigel y pH 5,7 sobre el mismo se aplicó los diferentes tratamientos de Sulfato de adenina y BAP, para está fase se utilizó frascos de 12,5*7,2 cm en cada frasco se vertió 30 ml de medio y luego se autoclavó a 121 °C 15 psi durante 15 minutos.

En la investigación se utilizó vitroplantas de *Anthurium acebeyae* y *A. grande*, de las cuales se eligieron aquellas con buenas características fenotípicas²⁵, provenientes de la fase de establecimiento, que luego fueron colocados en los respectivos tratamientos de multiplicación con 10 replicas por cada tratamiento (un mínimo de 90 explantes por cada especie).

Los explantes listos para pasar a la siguiente etapa, se preparó el mismo medio para la fase de multiplicación con sus respectivos tratamientos, bajo las mismas condiciones. Para cada subcultivo los callos que generaron vitroplantas listas y aquellos callos compactos de los cuales fueron desprendidos los brotes se colocaron en los tratamientos respectivos (dos callos por cada frasco) respetando su procedencia, para que continúe con su proceso.

6.4. Enraizamiento y mantenimiento de vitroplantas

En la fase de enraizamiento, se preparó medio de cultivo MS con 30 g.l⁻¹ de sacarosa, phytigel 1,5 g.l⁻¹ y pH 5,7 seguidamente se adicionó las diferentes concentraciones de ANA

²⁵ *Vitroplantas con buenas características fenotípicas para la fase de multiplicación:* Vitroplantas que presentan una altura aproximada de 20 mm, hojas de color verde concoloro, sin signos de clorosis, achaparramiento o deformaciones en todo el plantin.

que correspondían a cada tratamiento, los mismos se prepararon en tubos 2,5*15 cm, en cada tubo se vertió 10 ml de medio y luego se autoclavó a 121 °C 15 psi durante 15 minutos.

Los explantes utilizados fueron de *Anthurium acebeyae* y *A. grande*, de las cuales se eligieron vitroplantas que tenían 32 y 24 mm de altura en promedio respectivamente, con 3 hojas en promedio, toda la vitroplanta concoloro, libre de clorosis, sin deformaciones en los órganos, libres de síntomas de algún patógeno aparente requeridos en el cultivo de tejidos vegetales, seleccionadas de la etapa de multiplicación para cada tratamiento de enraizamiento, que contaron con 20 replicas (un mínimo de 100 explantes por cada especie).

Cuando las vitroplantas estaban listas para pasar a la fase de aclimatación, se preparó medio descarga MS (Murashige y Skoog 1962) suplementado con 20 g.l⁻¹ de sacarosa, 1,5 g.l⁻¹ de phytigel y pH 5,7 se vertió 30 ml de medio en cada frasco de 12,5*7,2 cm luego fue autoclavado a 121 °C 15 psi durante 15 minutos, para los explantes que no tuvieron éxito en la fase de enraizamiento.

6.5. Aclimatación de vitroplantas

Para esta fase, el sustrato (Chachin) fue obtenido por rescate y de troncos caídos, que fueron traídos del PN-ANMI Cotapata, de especies de helechos proveedoras directas del chachín que habitan en el lugar como: *Cyathea austropallescens*, *Cyathea delgadii*, *Alsophila erinacea*, *Cyathea ruiziana* (Jiménez I. 2011), la más conocida *Cyathea caracasana* (Figura 6) que se encuentra en el rango de 500-3500 msnm (Jácome, Kessler y Smith 2005).

La fibra de coco fue reducida a piezas de 1*1 cm² y fue pretratada antes de su utilización como sustrato (Anexo III).

Los diferentes sustratos: Primero fueron pesados para establecer su relación 1:1 (1 porción de sustrato tratado y 1 porción de tierra proveniente de lecho de río), los tratamientos con carbón fueron adicionados con 10% de carbón vegetal y todos los tratamientos llevaron 5% de ladrillo en su preparación.



Figura 6. *Cyathea caracasana*, del cual se extrae el chachin, habitat del helecho arbóreo dentro del PN-ANMI Cotapata, UBV, 2008. Elaboración propia.

Los sustratos utilizados fueron pesados y preparados por separado para su esterilización en un autoclave a 121 °C y 15 psi de presión, durante 1 hora por dos días consecutivos, el mismo método de esterilizado fue usado en sustratos para *A. andraeanum* (Lima *et al.* 2006).

Para esta fase se utilizaron vasos de 180 ml de capacidad donde se colocaron los sustratos para cada tratamiento.

En la aclimatación se utilizó los explantes *Anthurium acebeyae* y *A. grande*, de las cuales se eligieron vitroplantas que presentaban buenas características fenotípicas²⁶ para la aclimatación, que posteriormente fueron colocados en los respectivos tratamientos, cada tratamiento contó con 10 replicas (un mínimo de 80 explantes por cada especie).

Los tubos de ensayo que contenían a las vitroplantas fueron destapadas completamente, luego las vitroplantas fueron lavadas cuidadosamente con agua destilada para retirar todo el phytigel adherido a las raíces y se las sumergió en una solución fungicida (Benomil 1 g.l⁻¹) por 5 minutos antes de sembrarlas.

Los sustratos fueron humedecidos a nivel de saturación, 24 hrs previas, para contener a las vitroplantas, luego de trasplantarlas se las volvió a regar, inmediatamente se las tapó con otro vaso de manera individual para que las vitroplantas contengan la humedad que requieran mientras activan sus estómagos y vuelven a sus condiciones autótrofas, para la

²⁶ *Vitroplantas con buenas características fenotípicas para la aclimatación de A. acebeyae y A. grande:* Vitroplantas que lograron una altura de 36-22 mm, hojas de 4-3 ud, largo de raíz 56-25 mm y raíces de 4-3 ud respectivamente, que lograron desarrollar de manera adecuada, sin presentar deformaciones, todas presentaban un verde concoloro, sin signos de clorosis y achaparramiento.

siguiente semana las tapas fueron elevadas 2 mm, a los 15 días 1 cm aproximadamente y al mes las tapas se retiraron completamente.

Los plantines fueron regados con una pizeta de manera sistemática con riegos definidos que están explicados en el anexo III, porque se obtuvo como parte del resultado de la investigación. Así mismo, las medidas de las condiciones de sombra y temperatura se encuentran en el inicio de los resultados de aclimatación.

Se realizó un seguimiento de los plantines en proceso de aclimatación, para determinar su comportamiento en condiciones controladas (sobrevivencia, adaptación al clima, capacidad de autoregeneración), de tal manera que se logre su sobrevivencia a los 15 días, se hizo mediciones y controles fitosanitarios.

Pasados los 6 meses las plantas fueron mantenidas y trasplantadas a macetas más grandes (500 ml) conservando sus sustratos originales, para reducir el stress y mejorar las condiciones de crecimiento de las plantas en desarrollo.

6.6. Mantenimiento de registros, análisis de costos parciales

El registro de datos y evaluaciones para el presente estudio, fueron tomados de manera secuencial desde el inicio del trabajo en campo y los análisis se relacionaron con los costos de producción *in vitro*.

6.7. Análisis estadístico

Para la fase de multiplicación *in vitro* se trabajó con un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial de 3*3 siendo el primer factor, tres concentraciones de Sulfato de adenina y el segundo factor tres concentraciones de BAP, con 10 repeticiones en cada tratamiento, pudiéndose observar a más detalle en el acápite 6.7.1.1. Este diseño se aplicó por separado para cada especie en estudio (*A. acebeyae* y *A. grande*).

En el caso del enraizamiento se analizó a las dos especies de manera conjunta, utilizando un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial, con 20 repeticiones por tratamiento.

En la fase de aclimatación las dos especies fueron analizadas por separado utilizándose un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial, con 10 repeticiones por tratamiento.

En el análisis de datos, se determinó que estos presenten principios de distribución normal y homogeneidad, considerando la transformación de los mismos con \sqrt{x} , $\sqrt{x+1}$ en los casos

donde no cumplían estos requisitos, antes de realizar el análisis de varianza para que los coeficientes de varianza no sean elevados, para ello, se utilizó las referencias de Steel y Torrie 1988 y Calzada J. 1970.

Por otro lado, se realizó un análisis de correlación múltiple para determinar el nivel de relación entre los parámetros evaluados para luego agruparlos según su comportamiento. También se realizó un análisis de los componentes principales, para realizar el Análisis de varianza respectivo. Así mismo, en los tratamientos que presentaron significancia se realizó la prueba Duncan y para las interacciones que presentaron significancia, se efectuó el análisis de efectos simples, en cada uno de los análisis se consideró el 5 y 1 % de probabilidad, en este caso se utilizó la referencia de Steel y Torrie 1988 y Calzada J. 1970.

6.7.1. Factores de estudio

6.7.1.1. Fase de multiplicación para *Anthurium acebeyae* y *A. grande*:

Factor Sulfato de adenina

a1: 0 mg/l Sulfato de adenina
a2: 80 mg/l Sulfato de adenina
a3: 160 mg/l Sulfato de adenina

Factor N-6 bencil aminopurina

b1: 0,3 mg/l N-6 bencil aminopurina
b2: 1,5 mg/l N-6 bencil aminopurina
b3: 7,5 mg/l N-6 bencil aminopurina

Croquis del diseño		
a1b1	a1b2	a1b3
a2b1	a2b2	a2b3
a3b1	a3b2	a3b3

6.7.1.2. Fase de enraizamiento para las dos especies:

Factor especie:

a1: *Anthurium acebeyae*
a2: *Anthurium grande*

Factor Ácido α -naftalenacético:

b1: 0 mg/l Ácido α -naftalenacético
b2: 0,75 mg/l Ácido α -naftalenacético
b3: 1,5 mg/l Ácido α -naftalenacético
b4: 3 mg/l Ácido α -naftalenacético
b5: 6 mg/l Ácido α -naftalenacético

Croquis del diseño				
a1b1	a1b2	a1b3	a1b4	a1b5
a2b1	a2b2	a1b3	a2b4	a2b5

6.7.1.3. Fase de aclimatación para *Anthurium acebeyae* y *A. grande*:

Factor presencia de carbón vegetal:

a1: Sin carbón
a2: Con carbón

Factor sustrato:

b1: Tierra: cascarilla de arroz (1:1)
b2: Tierra: chachin (1:1)
b3: Tierra: grava (1:1)
b4: Tierra: fibra de coco (1:1)

Croquis del diseño			
a1b1	a1b2	a1b3	a1b4
a2b1	a2b2	a2b3	a2b4

6.7.2. Modelo lineal aditivo

6.7.2.1. Fase: multiplicación para *Anthurium acebeyae* y *A. grande*:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = Respuesta de las observaciones

μ = Media general de la observación

α_i = Efecto del i-esimo factor Sulfato de adenina (SA)

β_j = Efecto del j-esimo factor N-6 bencil aminopurina (BAP)

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción del i-esimo factor (SA) y del j-esimo factor (BAP)

ϵ_{ijk} = Error experimental

6.7.2.2. Fase de enraizamiento para ambas especies:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = Respuesta de las observaciones

μ = Media general de la observación

α_i = Efecto del i-esimo factor (Especie: *A. acebeyae* y *A. grande*)

β_j = Efecto del j-esimo factor Ácido α -naftalenacético (ANA)

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción del i-esimo factor (Especie) y del j-esimo factor (ANA)

ϵ_{ijk} = Error experimental

6.7.2.3. Fase de aclimatación para *Anthurium acebeyae* y *A. grande*:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = Respuesta de las observaciones

μ = Media general de la observación

α_i = Efecto del i-esimo factor (Presencia de carbón)

β_j = Efecto del j-esimo factor (Sustrato)

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción del i-esimo factor (Presencia de carbón) y del j-esimo factor (Sustrato)

ϵ_{ijk} = Error experimental

6.8. Parámetros de evaluación

6.8.1. Establecimiento

La obtención del material vegetal y su establecimiento *in vitro* se realizó con el proyecto “Estudio del potencial de Aprovechamiento Sostenible de Epifitas del PN-ANMI Cotapata” donde se realizó tratamientos de desinfección con diferentes concentraciones de hipoclorito

de sodio y alcohol para lograr el establecimiento de semillas de *Anthurium acebeyae* y *A. grande* evaluándose la sobrevivencia y grado de contaminación de las semillas introducidas.

6.8.2. Multiplicación

En la etapa de multiplicación se realizaron evaluaciones semanales durante 5 meses, a través de la toma de datos de los siguientes parámetros:

- **Inicio de formación de callo;** se evaluó el tiempo (días) en el cual comenzó la formación del callo.
- **Diámetro del callo;** se evaluó la formación de callo y se midió su diámetro en mm con la ayuda de un vernier, con estos datos se evaluó el mayor diámetro del callo.
- **Largo del peciolo²⁷;** se evaluó el largo de las protuberancias formadas en el callo en mm (fase torpedo) que dieron origen al brote, con estos datos se calculó el mayor largo de peciolo en los diferentes tratamientos.
- **Inicio de formación de brote;** se evaluó el tiempo en el cual se inició la formación del brote en días.
- **Número de brotes;** se contó el número de brotes que se generó por explante, dato que permitió analizar el máximo número de brotes formado por explante.
- **Largo del brote;** se evaluó el largo del brote en mm generado en el explante y al finalizar la fase se calculó el mayor largo de brote.
- **Formación de hojas del brote;** se evaluó la formación de hojas en los brotes luego de que se inicio la formación de brotes.
- **Número de hojas del brote;** se evaluó la cantidad de hojas formadas por brote y con este dato se calculó el máximo número de hojas del brote.
- **Altura del explante;** se midió la altura total del explante en mm, con la ayuda del vernier en toda la fase de multiplicación.
- **Tasa de crecimiento máximo del explante;** permitió evaluar el número de veces que el explante duplicó, su tamaño inicial para el momento en que el explante presentaba su máximo desarrollo.

$$\text{Tasa de crecimiento máximo} = (\text{Tamaño máximo} - \text{Tamaño inicial}) / \text{Tamaño inicial}$$

- **Número de hojas;** se contó del número de hojas totales generadas en los explantes al finalizar esta etapa.

²⁷ *Peciolo*. Es la parte cilíndrica o aplanada que une el limbo con el tallo, mediante una vaina.

- **Formación de raíz;** se observó y evaluó si algún tratamiento formó raíces.
- **Inicio de formación de raíz;** se evaluó el tiempo en días en el cual comenzaron a formarse las raíces.
- **Número de raíces;** se evaluó la cantidad de raíces que se generó en esta fase.
- **Necrosis;** se observó si el explante presentó tejido muerto.
- **Contaminación;** los frascos contaminados fueron evaluados por el tipo de contaminación (hongo, bacteria y/o levadura).

6.8.3. Enraízamiento

La etapa de enraízamiento fue evaluada durante 10 meses, tiempo en el cual se consideró los siguientes parámetros:

- **Formación de raíz;** se evaluó la presencia de raíces durante esta fase.
- **Inicio de formación de raíz;** se evaluó el tiempo (días) en el cual se inició la formación de raíces en los explantes.
- **Largo de la raíz;** se evaluó el largo de la raíz en mm, que al finalizar la fase permitió calcular el mayor largo de raíz.
- **Número de raíces;** se contabilizó las raíces generadas en cada evaluación y al finalizar se evaluó el máximo número de raíces formadas en el explante.
- **Diámetro de la raíz;** se midió en mm con la ayuda de un vernier, en la raíz principal a un cm del cuello de la misma.
- **Tasa de crecimiento máximo del callo;** permitió evaluar el número de veces que el callo ha duplicado su tamaño inicial para el momento en que el callo presentó su máximo desarrollo en la fase de enraízamiento.

$$\text{Tasa de crecimiento máximo} = (\text{Tamaño máximo} - \text{Tamaño inicial}) / \text{Tamaño inicial}$$

- **Tasa de crecimiento máximo del explante;** permitió evaluar el número de veces que el explante duplicó su tamaño inicial para el momento en que el explante presentó su máximo desarrollo.

$$\text{Tasa de crecimiento máximo} = (\text{Tamaño máximo} - \text{Tamaño inicial}) / \text{Tamaño inicial}$$

- **Número de hojas;** se contó el número de hojas generadas durante el enraízamiento.
- **Largo de peciolo;** se evaluó el largo de peciolo en mm y al finalizar la fase se calculó el mayor largo de peciolo.

- **Formación de brote;** se evaluó la formación de brote durante la fase de enraízamiento.
- **Número de brote;** se evaluó el número de brotes al terminar la fase de enraízamiento.
- **Número de hojas del brote;** se contó el número de hojas formados en cada brote, dato que permitió calcular el máximo número de hojas del brote.
- **Contaminación;** se evaluó la presencia de contaminación (hongo, bacteria, levadura), el tiempo en el que se presentó. Por otro lado, se consideró la presencia de oxidación²⁸.

6.8.4. Aclimatación

La fase de aclimatación se evaluó durante dos meses donde se tomó los siguientes datos:

- **Sobrevivencia;** se contabilizó los plantines vivos durante la fase de aclimatación.
- **Altura de la planta;** se midió con la ayuda de un vernier desde la base del cuello de la planta en mm hasta la parte apical del plantin.
- **Número de hojas;** se realizó el conteo del número de hojas por vitroplanta y luego se calculo el máximo número de hojas.
- **Largo de la raíz;** se evaluó al inicio y final de la fase de aclimatación en mm con la ayuda de un vernier.
- **Número de raíces;** se evaluó la cantidad de raíces generadas en la fase de aclimatación.
- **Diámetro de la raíz;** se evaluó el diámetro de la raíz en mm con la ayuda de un vernier, se midió a un cm luego del nacimiento de la base del cuello de la primera raíz generada, durante la fase de aclimatación.
- **Diámetro del cuello;** se evaluó el diámetro del cuello en mm con la ayuda de un vernier durante la fase de aclimatación.
- **Formación de brote;** se evaluó la formación de brote durante la fase de aclimatación.

²⁸*Oxidación:* Los explantes producen y liberan sustancias fenólicas que oxidan, oscurecen el medio, y si no se toman medidas puede intoxicar el explante (Van Sambeek *et al.*, 1997; citado en Preece J., 2008).

7. Resultados y discusiones

7.1. Multiplicación

Con el proyecto “Estudio del potencial de aprovechamiento sostenible de epifitas del PN-ANMI Cotapata” se logró el establecimiento a condiciones *in vitro* de semillas de *Anthurium acebeyae* y *A. grande*.

Una vez que comenzó la formación de callos, fue notable la influencia de los tratamientos dentro de cada especie, lográndose determinar un mejor tratamiento y el tiempo óptimo en el cual se obtuvo la mayor cantidad de explantes con buenas características, para pasar a la fase de enraizamiento.

Luego de hacer un análisis en conjunto de las dos especies en estudio, los resultados mostrarán en el ANVA, diferencias altamente significativas entre especies por tanto, fue analizado estadísticamente por separado.

La fase de multiplicación se evaluó durante 5 meses de manera paralela para las especies de *Anthurium acebeyae* y *A. grande*, donde se obtuvo los siguientes resultados:

7.1.1. *Anthurium acebeyae*

En la evaluación de la multiplicación se comenzó con el análisis del inicio de formación de callos, que mostró en el ANVA (Anexo IV) diferencias significativas para el factor Sulfato de adenina, así mismo, el factor BAP no mostró diferencias estadísticas. Por tanto se puede afirmar que con cualquiera de las concentraciones utilizadas en la presente investigación, el inicio de formación de callo en *A. acebeyae* es igual.

Tabla 1. Análisis de Duncan del inicio de formación del callo (*A. acebeyae*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	52	a
SA 80 mg.l ⁻¹	53	a
SA 160 mg.l ⁻¹	46	b

Para la concentración de sulfato de adenina se realizó la prueba de Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 1) donde se observó que, 160 mg.l⁻¹ de SA inició la formación de callo a los 46 días, mucho más rápido que los otros niveles, comenzando a generar callo a los 52 y 53 días respectivamente.

En la medición del diámetro del callo, el análisis mostró diferencias estadísticas entre tratamientos desde la semana 9, donde el ANVA (Anexo V) presentó diferencias significativas en el factor BAP y la prueba de Duncan para este factor con un $\alpha=,05$ (Anexo V) indicó que BAP 1,5 mg.l⁻¹ es el tratamiento más favorable que generó 5,40 mm en promedio en diámetro sin embargo, el tratamiento 0,3 mg.l⁻¹ de BAP generó 3,97 mm de diámetro en promedio.

El efecto en el diámetro del callo, tuvo similar influencia en la semana 21, como se observa en el ANVA (Anexo V), en el que mostró diferencias altamente significativas para el factor SA y BAP, por lo que se realizó las pruebas de Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo V), donde se ve que 160 y 80 mg.l⁻¹ de SA generaron los callos de mayor diámetro (15,6 y 15,0 mm en promedio respectivamente), mientras que 0 mg.l⁻¹ de SA presentó 11,4 mm de diámetro en promedio de callo, mientras que en BAP mostró que las concentraciones 1,5 y 0,3 mg.l⁻¹ generaron callos de 15,73 y 14,83 mm en promedio respectivamente, por otro lado, 7,5 mg.l⁻¹ de BAP produjo callos de 11,5 mm de diámetro en promedio.

Con los datos obtenidos se determinó el mayor diámetro del callo, donde el ANVA (Anexo V) mostró la presencia de diferencias altamente significativas en los factores SA y BAP, también presentó diferencias significativas para la interacción (SA*BAP), al realizar las pruebas de Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo V) para los factores SA y BAP se confirmó la influencia de los mismos niveles del diámetro del callo, como se observa en el párrafo anterior.

Tabla 2. Análisis de efectos simples del mayor diámetro del callo (*A. acerbeyae*).

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	158,87	2	79,43	1,26	NS	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	1486,87	2	743,43	11,79	**		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	508,20	2	254,10	4,03	*		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	521,27	2	260,63	4,13	*		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	2330,60	2	1165,30	18,48	**		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	56,27	2	28,13	0,45	NS		
ERROR	5108,50	81	63,07				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

Para la interpretación de las diferencias estadísticas en la interacción (SA*BAP) se realizó el análisis de efectos simples (Tabla 2), que presentó los siguientes resultados: Diferencias altamente significativas en el efecto de las concentraciones de SA en BAP 1,5 mg.l⁻¹ y en el

efecto de las concentraciones de BAP en SA 80 mg.l⁻¹, Por otro lado, mostró diferencias significativas en el efecto de las concentraciones de SA en BAP 7,5 mg.l⁻¹ y en el efecto de las diferentes concentraciones de BAP en 0 mg.l⁻¹ de SA.

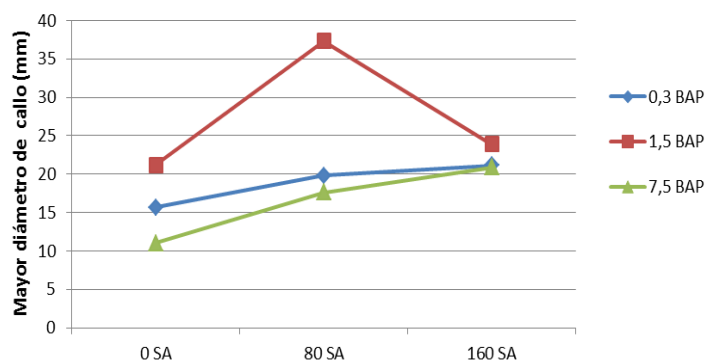


Gráfico 1. Mayor diámetro del callo (*A. acerbeyae*).

De acuerdo al gráfico 1 y el análisis de efectos simples (Tabla 2) se observa, como la mejor combinación a BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹ que generó el mayor diámetro de callo con 37,3 mm y la combinación BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹ formó el menor diámetro de callo con 11,0 mm, similar dato obtuvieron Yam, Young, Fan y Arditti (1990) cuando trataron a *Colocasia esculenta* con 5 mg.l⁻¹ de BAP logrando 12 mm de diámetro.

También, se observó el comportamiento del callo con BAP 0,3 mg.l⁻¹ que fue estable a pesar de las variaciones de las concentraciones de SA. Simultáneamente, 1,5 y 7,5 mg.l⁻¹ de BAP presentaron respuesta diferencial a las concentraciones de SA, así mismo, presentó incremento en el diámetro con BAP 7,5 mg.l⁻¹ en función al aumentó de la concentración de SA. Por otro lado, 1,5 mg.l⁻¹ de BAP generó una curva en el cual la mejor interacción se formó con SA 80 mg.l⁻¹ presentando el mayor diámetro de callo. Bajo estas concentraciones es importante destacar que, todos los tratamientos de SA con 1,5 mg.l⁻¹ de BAP presentaron los mayores diámetros con excepción de SA 160 mg.l⁻¹ en el que todos son iguales.

La evaluación del largo de peciolo se inició en la semana 5, donde generó diferencias estadísticas en el ANVA (Anexo VI), que generó diferencias significativas en el factor concentraciones de BAP, para lo cual se realizó la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo VI) que mostró a BAP 1,5 mg.l⁻¹ como el nivel que logró el mejor largo de peciolo en promedio dando 0,5 mm y contrariamente 7,5 mg.l⁻¹ de BAP generó 0,03 mm de largo en promedio.

En la última evaluación del largo de peciolo, el ANVA no mostró diferencias significativas en los factores de estudio, por eso se evaluó el mayor largo de peciolo donde el ANVA (Anexo VI) mostró diferencias altamente significativas para la interacción.

Tabla 3. Análisis de efectos simples del mayor largo de peciolo del explante (*A. accebeyae*).

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F.cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	3,73	2	1,87	0,69	NS	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	6,22	2	3,11	1,15	NS		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	18,66	2	9,33	3,45	*		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	18,40	2	9,20	3,40	*		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	14,87	2	7,44	2,75	NS		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	3,51	2	1,75	0,65	NS		
ERROR	218,92	81	2,70				

* Significativo
NS No significativo

La diferencia estadística en la interacción se evaluó mediante el análisis de efectos simples (Tabla 3) que presentó diferencias significativas de las concentraciones de Sulfato de adenina en BAP 7,5 mg.l⁻¹ y en las concentraciones de BAP en 0 mg.l⁻¹ de SA.

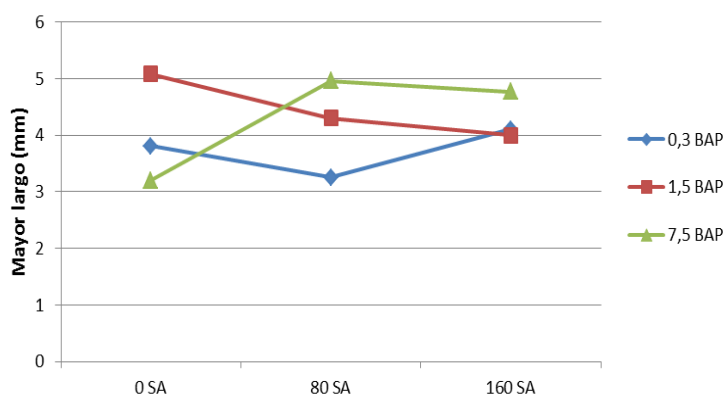


Gráfico 2. Mayor largo del peciolo de explante (*A. accebeyae*).

En el análisis de efectos simples (Tabla 3 y gráfica 2) las combinaciones 1,5 mg.l⁻¹ de BAP con 0 mg.l⁻¹ de SA y 7,5 mg.l⁻¹ de BAP con 80 mg.l⁻¹ de SA generaron 5,0 mm en promedio, los mismos que formaron los mayores largos del peciolo, seguidos de la combinación BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹ que garantizaron un largo de peciolo estable que permitió el desarrollo de los brotes, puesto que los peciolos de menor tamaño logrados por 7,5 mg.l⁻¹ de BAP con 0 mg.l⁻¹ de SA y 0,3 mg.l⁻¹ de BAP con 80 mg.l⁻¹ de SA generaron 3,2 mm de largo

en promedio, que habitualmente en su mayoría fueron reabsorbidos por el callo y no garantizaron el desarrollo del nuevo brote.

Por otro lado, se observó que 160 mg.l⁻¹ de SA con las diferentes concentraciones de BAP no mostraron diferencias significativas entre tratamientos, así mismo se tuvo que 0,3 mg.l⁻¹ de BAP con las diferentes concentraciones de SA produjeron similar largo de peciolo, de igual manera BAP 1,5 mg.l⁻¹ generó peciolo estables sin la presencia de SA, pero cuando se adicionó SA redujó su capacidad de generar peciolo viables, finalmente la concentración de BAP 7,5 mg.l⁻¹ en ausencia de SA no generó peciolo estables, pero al adicionarle SA generó un largo de peciolo favorable.

Durante la fase de multiplicación, todos los tratamientos generaron brote, por esa razón se evaluó el inicio de formación del brote, que estadísticamente coincide con el inicio de formación de peciolo, donde el ANVA (Anexo VII), mostró diferencias significativas en el factor concentraciones de BAP y altamente significativas en la interacción (SA*BAP). Para el factor BAP se realizó la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo VII) que mostró como la mejor concentración a 1,5 y 7.5 mg.l⁻¹ de BAP que inició la formación de brotes a los 57 y 61 días respectivamente en relación a BAP 0,3 mg.l⁻¹ que produjo brotes recién a los 84,6 días.

Tabla 4. Análisis de efectos simples del inicio de formación del brote (*A. acebeyae*).

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F.cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	13406,47	2	6703,23	3,16	*	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	5155,80	2	2577,90	1,21	NS		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	16363,27	2	8181,63	3,85	*		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	11886,87	2	5943,43	2,80	NS		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	30083,47	2	15041,73	7,08	**		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	6708,27	2	3354,13	1,58	NS		
ERROR	172024,50	81	2123,76				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

En el ANVA se muestra diferencias estadísticas para la interacción, por esa razón, se realizó el análisis de efectos simples (Tabla 4) que muestra diferencias significativas en el efecto de las concentraciones de SA en BAP (0,3 y 7,5) mg.l⁻¹ y diferencias altamente significativas para las concentraciones de BAP en 80 mg.l⁻¹ de SA.

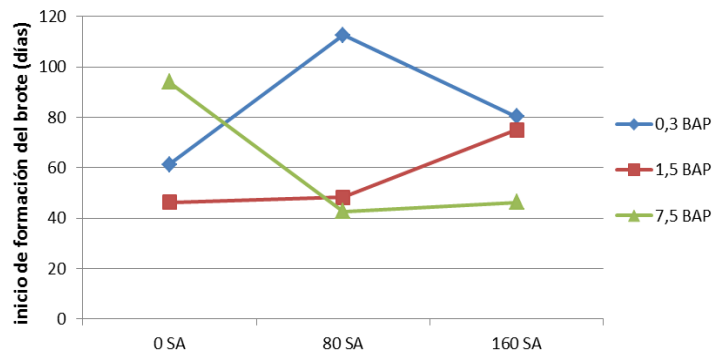


Gráfico 3. Inicio de formación del brote (*A. accebeyae*).

Análizando los efectos simples (Tabla 4 y gráfica 3), se tuvo que las mejores combinaciones fueron 7,5 mg.l⁻¹ de BAP con 80 y 160 mg.l⁻¹ de SA y 1,5 mg.l⁻¹ de BAP con 0 y 80 mg.l⁻¹ de SA que iniciaron la formación del brote tempranamente entre los 42,7 y 48,3 días, respecto a esta variable Montes, Morales y Bell (2004) en *A. andraeanum* var. Sonate con 2 mg.l⁻¹ de BAP iniciaron la formación de brotes recién a los 114,0 días. Por otro lado, 0,3 mg.l⁻¹ de BAP con 80 mg.l⁻¹ de SA generó brotes en 112,5 días contrariamente, Vásquez y Yanitza (2003) en su investigación con *A. andraeanum* obtuvieron la formación de brotes a los 60 días cuando utilizaron 0,25 mg.l⁻¹ de BA. La elevada diferencia entre los resultados obtenidos y las referencias se debió al uso de especies emparentadas del mismo generó.

Simultáneamente se observó que 0,3 mg.l⁻¹ de BAP cuando entró en combinación con SA retrasó la formación de brote, mientras que la concentración 1,5 mg.l⁻¹ de BAP en presencia o ausencia de SA generó brotes en menos tiempo, finalmente 7,5 mg.l⁻¹ de BAP en ausencia de SA demoró mucho tiempo en generar brotes pero este nivel de BAP, fue óptimo cuando se lo combina con 80 mg.l⁻¹ de SA ya que generó brotes en menos tiempo, que por lo observado no es necesario el aumento de Sulfato de adenina.

El número de brotes en la última evaluación mostró en el ANVA (Anexo VIII) diferencias altamente significativas en la interacción (Sulfato de adenina * Concentraciones de BAP).

Tabla 5. Análisis de efectos simples del número de brotes (*A. acebeyae*, semana 22).

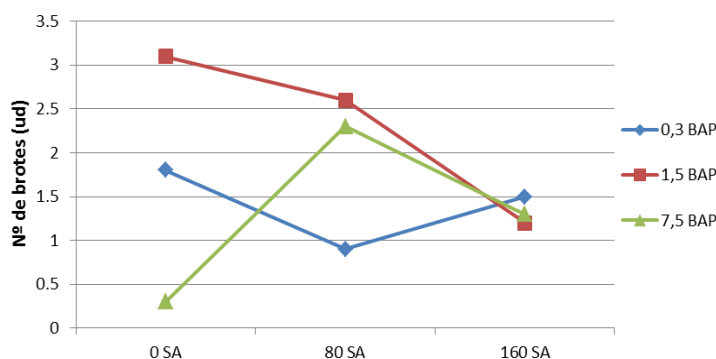
Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	4,20	2	2,10	0,66	NS	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	19,40	2	9,70	3,07	NS		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	20,00	2	10,00	3,16	*		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	39,27	2	19,63	6,21	**		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	16,47	2	8,23	2,60	NS		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	0,47	2	0,23	0,07	NS		
ERROR	256,20	81	3,16				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

Debido a las diferencias estadísticas en la interacción, se realizó el análisis de efectos simples (Tabla 5), que mostró diferencias significativas en el efecto de las concentraciones de SA en BAP 7,5 mg.l⁻¹ y diferencias altamente significativas de las concentraciones de BAP en 0 mg.l⁻¹ de Sulfato de adenina.



Gráfica 4. Número de brotes (*A. acebeyae* en la semana 22).

En el análisis de efectos simples (Tabla 5 y gráfica 4) se tiene que: La menor cantidad de brotes se generó con 0 mg.l⁻¹ de SA con 7,5 mg.l⁻¹ de BAP que formó 0,3 brotes por el contrario, en *Spathiphyllum cannifolium* lograron 3,5 brotes tratandolo con 10 mg.l⁻¹ de BAP según Dewir, Chakrabarty, Hahn y Paek (2006). Por otro lado, la mayor cantidad de brotes se generó con la combinación 0 mg.l⁻¹ de SA con 1,5 mg.l⁻¹ de BAP que logró 3,1 ud al respecto, estudios con 1,0 mg.l⁻¹ de BAP lograron 4,85 brotes en *A. andraeanum*, así mismo, otras experiencias con 1,5 mg.l⁻¹ de BAP generaron 12 brotes (Viégas *et al.* 2007; Jahan *et al.* 2009) observándose que, a bajas concentraciones de BAP se tiene mayor número de brotes mientras sucede un proceso inverso cuando se utiliza elevadas concentraciones.

La combinación BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹ puede ser apreciada como una buena combinación que generó 2,3 brotes pero, Lucena y Gil (1992) cuando experimentaron en *Mussaenda erythrophylla* tratandola con 80 mg.l⁻¹ de Sulfato de adenina lograron 9 brotes, que probablemente se debió a la menor carga de citocinicas, además que se trata de otra especie de la misma familia.

Las menores concentraciones de BAP en ausencia de SA generaron mejores resultados en la formación de brotes, así mismo, 0,3 mg.l⁻¹ de BAP es indiferente a las concentraciones de SA mientras que 7,5 mg.l⁻¹ de BAP forma una curva donde en ausencia y a mayor concentración de SA no es beneficioso para la formación de brotes pero sí, muestra una buena combinación con 80 mg.l⁻¹ de SA como se explicó en el párrafo anterior.

Con los datos obtenidos, se evaluó el número máximo de brotes, donde el ANVA (Anexo VIII) identificó diferencias significativas en el factor BAP y diferencias altamente significativas en la interacción, entonces BAP se analizó con la prueba Duncan ($\alpha=,05$) que, efectivamente mostró a BAP 1,5 mg.l⁻¹ como el que generó el máximo número de brotes (4,47) y por el contrario, 0,3 y 7,5 mg.l⁻¹ de BAP generaron menor número de brotes que fueron 2,77 y 2,73 en promedio respectivamente.

Tabla 6. Análisis de efectos simples del máximo número de brotes (*A. accebeyae*).

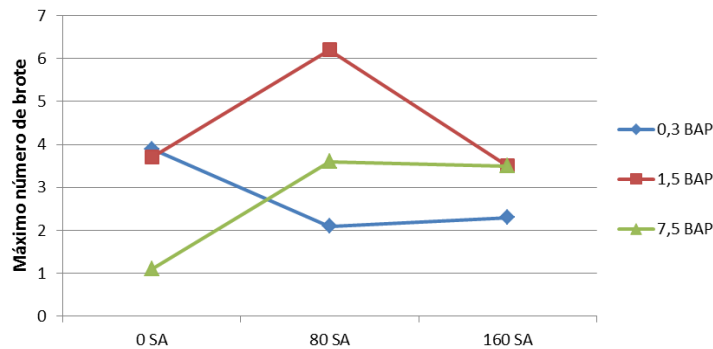
Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	19,47	2	9,73	1,49	NS	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	45,27	2	22,63	3,47	*		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	40,07	2	20,03	3,07	NS		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	48,80	2	24,40	3,74	*		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	86,07	2	43,03	6,60	**		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	9,60	2	4,80	0,74	NS		
ERROR	527,90	81	6,52				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

Por lo expuesto anteriormente, el análisis de efectos simples (Tabla 6) mostró los siguientes resultados: Diferencias significativas para el efecto de las concentraciones de SA en la concentración de BAP 1,5 mg.l⁻¹, al igual que en el efecto de las concentraciones de BAP en SA 0 mg.l⁻¹ y diferencias altamente significativas en el efecto de las concentraciones de BAP en 80 mg.l⁻¹ de Sulfato de adenina.



Gráfica 5. Máximo número de brotes (*A. acebeyae*).

Observando el análisis de efectos simples (Tabla 6 y gráfica 5), se tiene que la combinación BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹ generó el máximo número de brotes (6,2 en promedio), al respecto estudios realizados por Vargas y Garcia (1995), luego de trabajar con *Spathiphyllum sp.* en una concentración de BAP 2 mg.l⁻¹ obtuvieron 10,5 brotes por planta, también Montes *et al.* 2004, al utilizar la misma concentración de BAP en *A. andraeanum* var, Sonate lograron formar 8,95 brotes, considerando que utilizaron mayor concentración de BAP, obtuvieron número de brotes próximos a los encontrados en el presente estudio.

También estas combinaciones: 0,3 y 1,5 mg.l⁻¹ de BAP con 0 mg.l⁻¹ de SA, 1,5 mg.l⁻¹ de BAP con 160 mg.l⁻¹ de SA y 7,5 mg.l⁻¹ de BAP con 160 y 80 mg.l⁻¹ de SA generaron 3,9 brotes en promedio, sin embargo, estudios en *A. andraeanum* cv. Agnihothi con 0,3 mg.l⁻¹ de BAP lograron 6,7 brotes (Bejoy, Sumitha y Anish 2008), así mismo en especies emparentadas, como en *Philodendron sp.* tratado con la combinación 0,1 mg.l⁻¹ de BAP, 160 mg.l⁻¹ de SA, Na₂H₂PO₄H₂O 170 mg.l⁻¹, KIN 0,5 mg.l⁻¹ y Zip 1,6 mg.l⁻¹ generó 72 brotes (Blanco y Valverde 2004) y trabajos en *T. flageliforme* con la combinación 0,5 mg.l⁻¹ de IBA con 0,5 mg.l⁻¹ de BAP produjeron 35,3 brotes reportado por Tiing *et al.* (2000), estos resultados son muy alejados a los obtenidos con los diferentes tratamientos utilizados por tratarse de otras especies.

El análisis indicó que 80 mg.l⁻¹ de SA generó brotes pero, el aumento en su concentración no afecta en el incremento del número de brotes, sin embargo SA en ausencia con bajas concentraciones de BAP formó brotes y un aumento a altas concentraciones disminuyó la formación de brotes, al respecto en *A. andraeanum*, observaron que el aumento de BAP incrementó el número de brotes, luego de experimentar con 0,2 mg.l⁻¹ de BAP los resultados dieron 6 y 1,6 brotes respectivamente según Jahan *et al.* 2009; Lee *et al.* 2003, así mismo se

recalca que la concentración de 80 mg.l⁻¹ de SA formó una curva donde con bajas y altas concentraciones de BAP forma brotes, pero la mejor combinación es con 1,5 mg.l⁻¹ de BAP.

Por último, la combinación BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹ generó la menor cantidad de brotes dando 1,1 en promedio, por otro lado, en *M. erythrophylla* lograron obtener 5 brotes cuando lo trataron con SA 0 mg.l⁻¹ según Lucena y Gil (1992).

Luego de que los brotes comenzaron a diferenciarse, se evaluó el largo total del brote que en toda la fase de multiplicación no mostró diferencias estadísticas en sus ANVA, mientras que, el mayor largo del brote en el ANVA (Anexo IX) generó diferencias significativas en el factor BAP y la interacción. Entonces para el factor BAP se realizó la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo IX) donde el mayor largo de brote fue generado por 0,3 y 1,5 mg.l⁻¹ de BAP que mostró en promedio 18,69 y 18,04 mm respectivamente, mientras que 7,5 mg.l⁻¹ de BAP sólo alcanzó 10,6 mm en promedio.

Tabla 7. Análisis de efectos simples del mayor largo de brote (*A. accebeyae*).

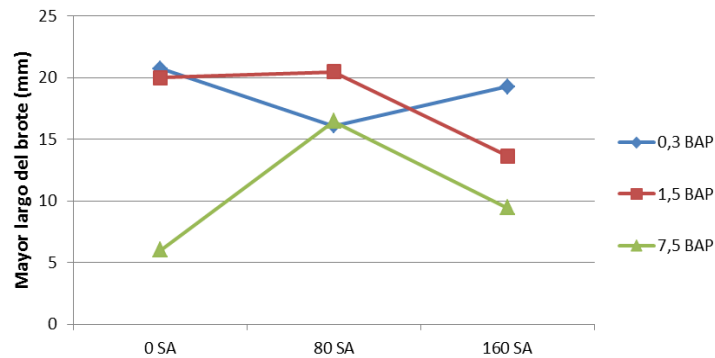
Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	111,43	2	55,71	0,63	NS	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	291,06	2	145,53	1,64	NS		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	567,02	2	283,51	3,19	*		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	1377,32	2	688,66	7,75	**		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	117,93	2	58,97	0,66	NS		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	483,56	2	241,78	2,72	NS		
ERROR	7197,44	81	88,86				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

La diferencia estadística de la interacción mostrada en el ANVA del párrafo anterior, se la analizó con la prueba de efectos simples (Tabla 7) donde se presentó diferencias significativas en el efecto de las concentraciones de SA en 7,5 mg.l⁻¹ de BAP y diferencias altamente significativas en el efecto de las concentraciones de BAP en 0 mg.l⁻¹ de SA.



Gráfica 6. Mayor largo del brote (*A. accebeyae*).

Como se observa en la gráfica 6 y Tabla 7 del análisis de efectos simples, las mayores diferencias estadísticas se dieron en SA donde 0 y 80 mg.l⁻¹ de SA con 1,5 mg.l⁻¹ de BAP generaron 20 y 20,47 mm en promedio al igual que, 0 y 160 mg.l⁻¹ de SA con 0,3 mg.l⁻¹ de BAP lograron 20,72 y 19,75 mm respectivamente, al respecto resultados próximos de altura (26 mm) se obtuvieron en *T. flagelliforme* con BAP 0,2 mg.l⁻¹ reportados por Tiing *et al.* 2000, por otro lado, en *A. andraeanum* con la misma concentración obtuvieron 61 mm de altura según Jahan *et al.* (2009), ellos obtuvieron 64 mm de altura cuando trataron con 1,5 mg.l⁻¹ de BAP, Otros estudios en *Colocasia esculenta* y *Xanthosoma sagittifolium* con 1,0 mg.l⁻¹ de BAP generaron 20 mm, reportados por Matehus, Romay y Santana (2006).

Por otro lado, 0,3 y 1,5 mg.l⁻¹ de BAP con las diferentes concentraciones de SA generaron largo de brote al igual que 7,5 mg.l⁻¹ de BAP combinado con altas concentraciones de SA, pero se aclarará que el menor desarrollo del largo del brote se obtuvo con la combinación BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹ que generó 6,0 mm en promedio al respecto, estudios en *S. cannifolium* con concentraciones de BAP 10 mg.l⁻¹ obtuvieron en promedio 53 mm de altura (Dewir, Chakrabarty, Hahn y Paek 2006), también se puede afirmar que 7,5 mg.l⁻¹ de BAP generó una curva donde reaccionó mejor cuando fue tratado con 80 mg.l⁻¹ de SA.

En relación al máximo número de hojas del brote, el análisis estadístico (Anexo X) afirma un comportamiento muy similar a la variable mayor largo de brote que en el ANVA (Anexo X), generó diferencias significativas en el factor BAP y altamente significativas para la interacción. Por tanto, la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (ver Anexo X) mostró que el máximo número de hojas del brote lo generaron los niveles 1,5 y 0,3 mg.l⁻¹ de BAP los mismos que desarrollaron 2,8 y 2,5 hojas respectivamente y el que formó el menor máximo número de hojas es BAP 7,5 mg.l⁻¹ que presentó 1,9 hojas.

Tabla 8. Análisis de efectos simples del máximo número de hojas del brote (*A. acebeyae*).

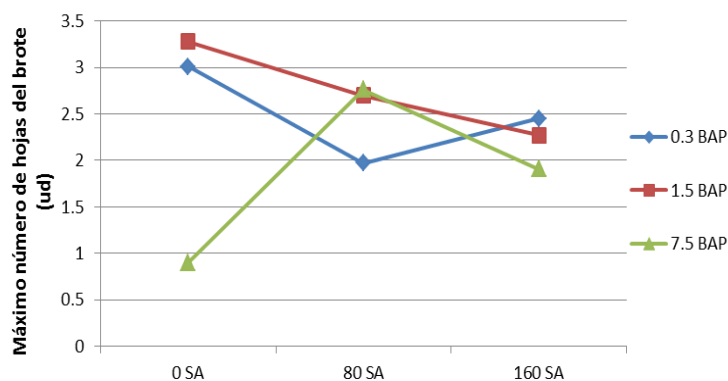
Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	5,42	2	2,71	1,28	NS	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	5,14	2	2,57	1,21	NS		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	17,34	2	8,67	4,10	*		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	33,96	2	16,98	8,03	**		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	3,87	2	1,93	0,91	NS		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	1,51	2	0,76	0,36	NS		
ERROR	171,37	81	2,12				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

Como el ANVA generó diferencias estadísticas en el párrafo anterior para la interacción, el análisis de efectos simples (Tabla 8) muestra el siguiente resultado: Diferencias significativas en el efecto de las concentraciones de SA en BAP 7,5 mg.l⁻¹ y diferencias altamente significativas en el efecto de las concentraciones de BAP en 0 mg.l⁻¹ de SA.



Gráfica 7. Máximo número de hojas del brote (*A. acebeyae*).

Observando la Tabla 8 y el análisis de efectos simples (gráfica 7), se tiene que los máximos número de hojas del brote son formados por 0 mg.l⁻¹ de SA con 1,5 y 0,3 mg.l⁻¹ de BAP generando 3,28 y 3,01 hojas por brote respectivamente, al respecto, estudios en *A. andraeanum* encontraron que 1,25 y 0,5 mg.l⁻¹ de BAP generaron 5,3 y 5,2 hojas respectivamente (Oscullo M. 2011), por otro lado, la combinación 7,5 mg.l⁻¹ de BAP en ausencia de SA generó 0,9 ud en promedio como el menor máximo número de hojas en los brotes, así mismo 0,3 y 1,5 mg.l⁻¹ de BAP con las diferentes concentraciones de SA generaron similar número de hojas de brote. De igual manera, es importante destacar que, la

generación del número de hojas en el brote al parecer esta ligada al largo del brote, como se pudo observar al comparar los datos obtenidos con los del anterior acápite.

La altura del explante en la semana 4 con el ANVA (Anexo XI) mostró diferencias significativas en el efecto del factor Sulfato de adenina, el cual con la prueba Duncan bajo un $\alpha=,05$ (Anexo XI) mostró que SA 160 mg.l⁻¹ intervino mejor en el desarrollo de las vitroplantas generando 31,97 mm y 0 mg.l⁻¹ de SA promovió el menor desarrollo que generó 28,53 mm.

Tabla 9. Análisis de Duncan de la altura del explante (*A. acerbeyae* en la semana 4).

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	28,53	b
SA 80 mg.l ⁻¹	29,50	ab
SA 160 mg.l ⁻¹	31,97	a

El análisis de la altura del explante, para la semana 22 el ANVA (Anexo XI) manifestó diferencias altamente significativas en el factor BAP, donde la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XI) mostró que 0,3 mg.l⁻¹ de BAP generó mayor altura del explante (55,8 mm). Sin embargo, Oscullo M. (2011) obtuvo una altura de 23,6 mm cuando utilizó BAP 0,5 mg.l⁻¹ en *A. andraeanum*, paralelamente se observó que, los tratamientos 1,5 y 7,5 mg.l⁻¹ de BAP generaron 46,13 y 41,57 mm respectivamente. Por tanto, en el presente estudio se logró mayor desarrollo del explante con la menor concentración de BAP.

En el análisis de la tasa de crecimiento máximo de la altura se observó, diferencias estadísticas en el ANVA (Anexo XI) para el factor BAP donde la prueba Duncan ($\alpha=,05$) en la Tabla 10 mostró que, BAP 0,3 mg.l⁻¹ indujo el mayor desarrollo en 1,26 veces, contrariamente 1,5 y 7,5 mg.l⁻¹ de BAP generaron 0,93 y 0,8 veces el tamaño inicial, estos fueron resultados equivalentes a los obtenidos en la evaluación de la altura del explante.

Tabla 10. Análisis Duncan de la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante (*A. acerbeyae*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	1,26	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	0,93	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,80	b

En la semana 22 se evaluó el número de hojas del explante donde el ANVA (Anexo XII), mostró diferencias significativas en el factor SA y diferencias altamente significativas en BAP y la interacción. Para los factores los análisis Duncan con $\alpha=,05$ (Anexo XII) presentaron: Las concentraciones 0 y 80 mg.l⁻¹ SA generaron más hojas (15,27 y 14,5), mientras 160 mg.l⁻¹ de

SA solo formó 10,87 hojas. El análisis para BAP mostró que 1,5 mg.l⁻¹ logró mayor cantidad de hojas (16,33), mientras que 7,5 mg.l⁻¹ de BAP generó 11,57 hojas en el explante.

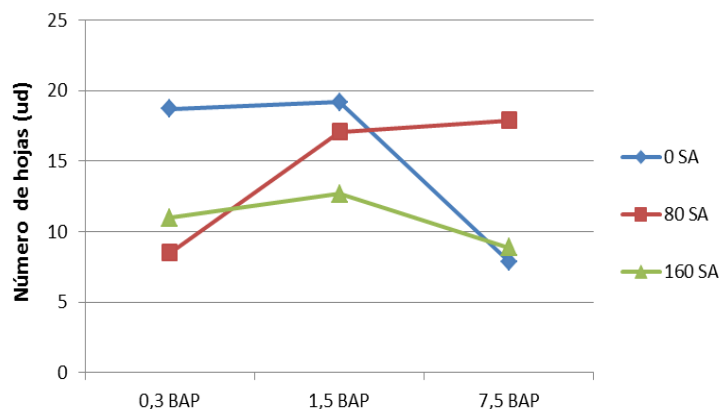
Tabla 11. Análisis de efectos simples del número de hojas (*A. acebeyae*, semana 22).

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	565,27	2	282,63	5,79	**	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	220,07	2	110,03	2,25	NS		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	606,67	2	303,33	6,21	**		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	815,27	2	407,63	8,35	**		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	543,20	2	271,60	5,56	**		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	72,47	2	36,23	0,74	NS		
ERROR	3953,90	81	48,81				

** Altamente significativo

NS No significativo

En la evaluación del número de hojas para la semana 22, el análisis de efectos simples (Tabla 11) generó los siguientes resultados: Diferencias altamente significativas para el efecto de las concentraciones de SA en BAP 0,3 y 7,5 mg.l⁻¹ y en el efecto de las concentraciones de BAP en 0 y 80 mg.l⁻¹ de SA.



Gráfica 8. Número de hojas (*A. acebeyae* en la semana 22).

Observando la Tabla 11 de efectos simples y gráfica 8 se tiene a las mejores combinaciones: BAP 0,3 y 1,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹ y BAP 1,5 y 7,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹ que formaron 18,7, 19,2, 17,1 y 17,9 hojas respectivamente, al respecto estudios en *Spathiphyllum* sp. cuando utilizaron la concentración 2 mg.l⁻¹ de BAP generaron 6,4 hojas por planta reportado por Vargas y Garcia (1995), estos resultados son contrarios a los mejores resultados obtenidos, pero muy cercanos a los resultados menos favorables del presente estudio.

Por otra parte, las combinaciones 0,3 mg.l⁻¹ de BAP con 80 mg.l⁻¹ de SA y 7,5 mg.l⁻¹ de BAP con 0 y 160 mg.l⁻¹ de SA produjeron hojas (8,5, 7,9 y 8,9). Cabe recalcar que el tratamiento 160 mg.l⁻¹ de SA generó menor cantidad de hojas al combinarse con las diferentes concentraciones de BAP. Por otro lado, se observó un comportamiento opuesto entre SA 0 y 80 mg.l⁻¹, obteniéndose los mejores resultados con SA 80 mg.l⁻¹ en combinación con las concentraciones mas altas de BAP, mientras que SA 0 mg.l⁻¹ generó sus mejores resultados en la concentraciones mas bajas de BAP.

Se analizó la formación de raíces en la fase de multiplicación, donde el ANVA (Anexo XIII) indicó la presencia de diferencias significativas en el factor BAP, que analizado con $\alpha=,05$ la prueba de Duncan (Tabla 12) mostró que BAP 0,3 mg.l⁻¹ indujo en un 80% a la formación de raíces. Se observó a la vez que los niveles de BAP 1,5 y 7,5 mg.l⁻¹ inducen en minima proporción la formación de raíces 30 y 17 % respectivamente, en referencia, experiencias en *A. andraeanum* var. Sonate con 2 mg.l⁻¹ de BAP lograron formar raíces (Montes *et al.* 2004), es así que para el presente estudio es mas favorable la ausencia o poca presencia de raíces.

Tabla 12. Análisis Duncan de la formación de raíz (*A. acebeyae*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	0,80	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	0,30	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,17	b

Como se observó que algunos tratamientos generaron raíz, se evaluó el inicio de formación de raíz, que con el ANVA (Anexo XIII) presentó diferencias altamente significativas en el factor BAP, donde la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 13) indicó que 0,3 mg.l⁻¹ de BAP generó raíces tempranamente a los 102,1 días, lo cual no es beneficioso, como se explicó ésta es una etapa de multiplicación. Por otro lado, son más aceptables 7,5 y 1,5 mg.l⁻¹ de BAP que formaron raíces a los 183,5 y 178,0 días respectivamente. Es necesario resaltar que las raíces se originaron en la base del callo, desarrollaron de manera independiente, no afectaron el crecimiento del callo, ni la formación de brotes además que aparecieron casi al finalizar la fase de multiplicación.

Tabla 13. Análisis Duncan del inicio de formación de raíz (*A. acebeyae*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	102,10	b
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	178,03	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	183,47	a

Finalmente, se analizó la asociación de las diferentes variables de respuesta, que podrían afectar la generación del número de brotes en *A. acerbeyae*, donde el ANOVA (Tabla 14) en el coeficiente de correlación múltiple (R) generó 0,96 que significa, asociación altamente significativa entre la variable dependiente y las variables independientes. Por esa razón, el coeficiente de determinación (R^2) presentó que, el 91% se debió al efecto del inicio de formación del brote, número de hojas del explante y la formación de hojas del brote que permitieron la generación del número de brotes en *A. acerbeyae* y por el contrario, el 9% es el efecto de otros factores que influyeron en la generación del número de brotes.

Tabla 14. ANOVA de la correlación múltiple del número de brotes (*A. acerbeyae*).

Modelo		Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	5,67	3	1,89	18,60	,004(a)
	Residual	,51	5	,10		
	Total	6,18	8			

Modelo	R	R cuadrado	Tablas en R		Significancia de R
			($\alpha=,05$)	($\alpha=,01$)	
1	,96(a)	,92	0,79	0,89	**

a Variables predictoras: (Constante), inicio de formación del brote, número de hojas del explante y formación de hojas del brote

** Altamente significativo

Con el análisis anterior, se tiene (Anexo XIV) que, el coeficiente de regresión parcial (β) mostró 3,0 pero el β standard presentó que en 0,61 ud aumentó el número de brotes de *A. acerbeyae* por cada hoja de brote que se formó. También se observó que el β presentó 0,1 que con el β standard reveló como en 0,71 ud aumentó el número de brotes por cada hoja que se generó en el explante. Por último, β expusó 0,01 que en el β standard demostró que 0,24 ud aumentó el número de brotes por cada día que inició la formación del brote.

De igual manera, se obtuvo el coeficiente de correlación (r) que generó 0,88 que con el coeficiente de correlación parcial mostró 0,87 que significa una alta relación entre el número de hojas del explante y la generación del número de brotes. Así mismo se tiene que r mostró 0,80 pero con r parcial se determinó 0,74 que significa la existencia de una relación entre la formación de las hojas del brote y la generación del número de brotes. Posteriormente r presentó -0,77 que con r parcial reveló 0,35 lo cual indicó una baja relación entre el inicio de la formación del brote y el número de brotes, es decir, cuanto más tardó en iniciar la formación de brotes, menor fue el número de brotes que generó.

Finalmente, el coeficiente de determinación (r^2) mostró que la generación del número de brotes se debió al efecto del 75% de la formación del número de hojas del explante, además el r^2 manifestó que la generación del número de brotes fue afectado en 54% por la formación de las hojas del brote y al mismo tiempo, el r^2 presentó que el 12% es el efecto del inicio de formación del brote que permitió la generación del número de brotes.

El resultado al final de la fase de multiplicación de *Anthurium acebeyae*, puede ser observado en la Figura 7, donde se resalta que todos los tratamientos llegaron a formar brotes y cada tratamiento generó lo siguiente:

BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹, es el mejor tratamiento con buenas características fenotípicas *in vitro*, porque generó mayor diámetro de callo, donde el brote inició temprano su formación presentando mayor largo de peciolo que origen mejor brote (máximo número, mayor largo y número promedio de hojas), a la vez generó el mejor explante (buena altura, el máximo número de hojas que formó raíces en mayor tiempo).

BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹, este tratamiento generó buen desarrollo del diámetro de callo con buen tiempo de inicio en su formación, que logró largo de peciolo estable que inició la formación del brote tempranamente (buen número, mayor largo y máximo número de hojas), también formó buen explante (buena altura, máximo número de hojas y formó raíces en mayor tiempo).

BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹, este tratamiento generó buen diámetro del callo que inició su formación en buen tiempo, que permitió el desarrollo del mayor largo de peciolo estable el mismo que, inició la formación del brote tempranamente (buen número, buen largo y número promedio de hojas), a la vez formó buen explante (buena altura, máximo número de hojas, así mismo inició tardamente la formación de raíces).

BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹, este tratamiento formó buen diámetro del callo que inició su formación tempranamente, a la vez generó mayor largo de peciolo estable que inicio tempranamente la formación de brote (buen número, buen largo y número promedio de hojas) finalmente, formó buen explante (buena altura, menor número de hojas que inició la formación de raíz tardamente).

BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹, este tratamiento desarrollo buen diámetro del callo que inició antes su formación, el que generó mayor largo de peciolo pero que demoró en el inicio

de formación del brote (buen número, buen largo y número promedio de hojas) y formó buen explante (buena altura, menor número de hojas que inició la formación de raíz tardíamente).

BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹, este tratamiento generó buen diámetro del callo que inició su formación tempranamente, logrando el mayor largo de peciolo que demoró el inicio de la formación de brotes (buen número, mayor largo y número promedio de hojas), también generó buen explante (con máxima altura, menor número de hojas, por último la formación de la raíz inicio tempranamente).

BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹, este tratamiento logró buen diámetro del callo que tuvo buen inicio en su formación, que tardó en formar el largo de peciolo por tanto, demoró en el inicio de formación del brote (buen número, mayor largo y máximo número de hojas), así mismo, generó buen explante (máxima altura, máximo número de hojas que inicio temprano la formación de raíz).

BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹, este tratamiento generó buen diámetro del callo que mostró buen inicio en su formación, pero tardó en generar el largo de peciolo adecuado, por tanto le tomó mucho tiempo iniciar la formación de brote (buen número, buen largo y número promedio de hojas) de la misma forma, logró buen explante (máxima altura, menor número de hojas que inició temprano la formación de raíz).

BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹, este tratamiento generó el menor diámetro de callo que presentó buen inicio en su formación, pero tardo en formar el largo de peciolo adecuado por tanto, se demoró en el inicio de formación de los brotes (menor número, menor largo y el menor número de hojas) así mismo, generó buen explante (buena altura, menor número de hojas finalmente, inició la formación de raíz tardíamente).



Figura 7. Tratamientos de multiplicación de *Anthurium acebeyae*: (A) BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹; (B) BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹; (C) BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹; (D) BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹; (E) BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹; (F) BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹; (G) BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹; (H) BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹; (I) BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹. Elaboración propia.

7.1.2. *Anthurium grande*

La fase de multiplicación se analizó desde el inicio de la formación de callo, donde el ANVA (Anexo XV) mostró diferencias significativas para el factor SA (Sulfato de adenina) y la interacción (A*B). Es así que, para SA se realizó la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XV) que mostró el mejor efecto en 160 mg.l⁻¹ de SA que formó callo en 51 días.

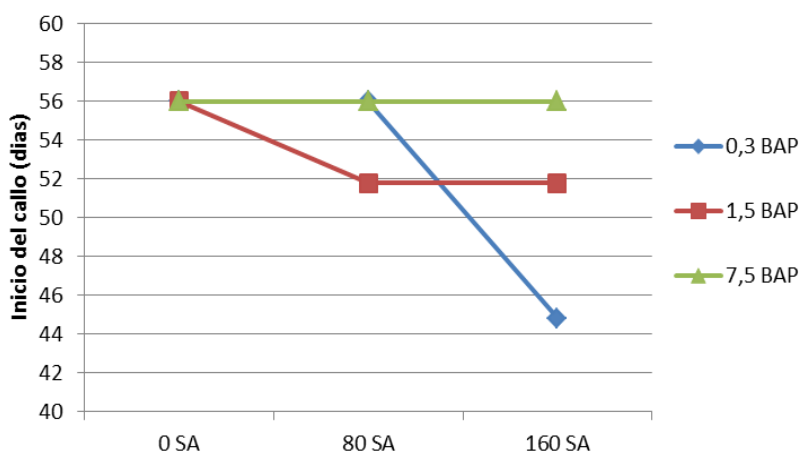
Tabla 15. Análisis de efectos simples del inicio de la formación de callo (*A. grande*).

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft(,05)	Ft(,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	836,27	2	418,13	9,71	**	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	117,60	2	58,80	1,37	NS		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	0,00	2	0,00	0,00	NS		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	0,00	2	0,00	0,00	NS		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	117,60	2	58,80	1,37	NS		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	640,27	2	320,13	7,43	**		
ERROR	3488,80	81	43,07				

** Altamente significativo

NS No significativo

Como el ANVA mostró diferencias significativas para la interacción se hizo el análisis de efectos simples (Tabla 15) que indica diferencias altamente significativas en el efecto de las diferentes concentraciones de SA en BAP 0,3 mg.l⁻¹ y en el efecto de las diferentes concentraciones de BAP en SA 160 mg.l⁻¹.



Gráfica 9. Inicio de formación del callo (*A. grande*).

Las diferencias estadísticas en la Tabla 15 y gráfica 9, mostraron que rápidamente formaron callos en 45 días utilizando 160 mg.l⁻¹ de SA con 0,3 mg.l⁻¹ de BAP. Sin embargo, Vásquez y

Yanitza (2003) observaron en *A. andraeanum* brotes a los 60 días cuando lo trataron con 0,25 mg.l⁻¹ de BA. Probablemente en esta investigación se encontró un mejor resultado por tratarse de otra especie y a la vez podría ser una consecuencia de la combinación.

Así se tuvo que, 160 mg.l⁻¹ de SA cuando fue combinado con altas concentraciones de BAP aumentó el tiempo de inicio de la formación de callo. Al respecto, estudios en *A. andraeanum* con BAP 0,5 mg.l⁻¹ no formó callo, pero con BAP 1,5 mg.l⁻¹ generó callo a los 40 días (Jahan *et al.* 2009), otra experiencia en *A. andraeanum* var. Sonate tratandolo con 2 mg.l⁻¹ de BAP iniciaron la formación de callos a los 114 días (Montes *et al.* 2004).

El diámetro del callo mostró diferencias significativas en la semana 9, donde el ANVA y el análisis Duncan con $\alpha=,05$ (Anexo XVI) indicó que 80 y 160 mg.l⁻¹ de SA presentaron desarrollo del callo. Para la semana 21 el ANVA mostró (Anexo XVI), diferencias altamente significativas en los factores A y B y diferencia significativa en la interacción (A*B), que realizando el análisis de Duncan ($\alpha=,05$) mostró nuevamente que 80 y 160 mg.l⁻¹ de SA indujeron al desarrollo del callo y que BAP 0,3 mg.l⁻¹ coadyuvó (Anexo XVI).

Las pruebas Duncan con $\alpha=,05$ (Anexo XVI) mostraron que 80 mg.l⁻¹ de SA generó 20,27 mm en promedio, mientras que el menor diámetro de 11,33 mm fue obtenido con 0 mg.l⁻¹ de SA. De igual manera, 0,3 mg.l⁻¹ de BAP formó mayor diámetro del callo (23,87 mm), por otro lado, el menor diámetro indujo 7,5 mg.l⁻¹ de BAP con el que se obtuvo 11,7 mm en promedio. Por tanto son resultados similares al diámetro del callo.

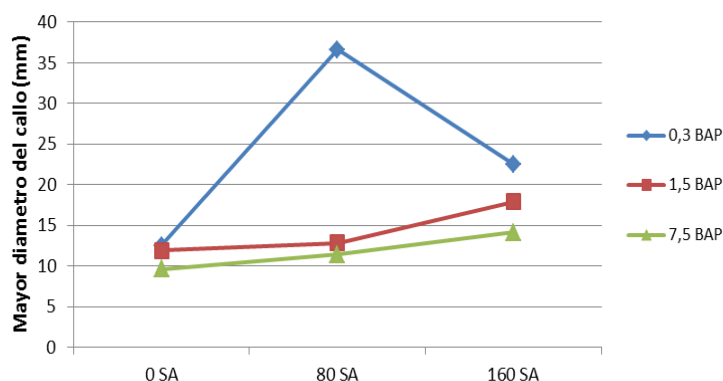
Tabla 16. Análisis de efectos simples del mayor diámetro del callo (*A. grande*).

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (0,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	2932,07	2	1466,03	19,61	**	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	209,40	2	104,70	1,40	NS		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	102,60	2	51,30	0,69	NS		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	46,87	2	23,43	0,31	NS		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	4011,47	2	2005,73	26,82	**		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	353,87	2	176,93	2,37	NS		
ERROR	6056,50	81	74,77				

NS No significativo

** Altamente significativo

Luego de realizar el análisis de efectos simples (Tabla 16), se tiene diferencias altamente significativas en el efecto de las diferentes concentraciones de SA en BAP 0,3 mg.l⁻¹ y en el efecto de las diferentes concentraciones de BAP en 80 mg.l⁻¹ de Sulfato de adenina.



Gráfica 10. Mayor diámetro del callo (*A. grande*).

En el análisis de efectos simples (Tabla 16) y gráfica 10, la combinación BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹ alcanzó 36,6 mm destacando como el mayor desarrollo del diámetro del callo. Por otro lado, las demás combinaciones generaron menores diámetros, así se registró que 7,5 mg.l⁻¹ de BAP con 0 mg.l⁻¹ de SA formó el menor diámetro con 4,7 mm, al respecto Yam, Young, Fan y Arditti (1990) lograron 10 mm en promedio cuando trataron a *Colocasia esculenta* con 5 mg.l⁻¹ de BAP, resultado mucho menor al encontrado, que probablemente fue consecuencia de la combinación de los reguladores que reforzaron el efecto de uno en el otro, a la vez fue analizado el presente estudio con especies emparentadas.

La evaluación del largo de peciolo, en la semana 5 mostró diferencias significativas en los factores SA y BAP así mismo, generó altamente significativo en la interacción con el ANVA (Anexo XVII). La prueba Duncan con un $\alpha=0,05$ mostró que 80 mg.l⁻¹ de SA generó peciolo de 0,1 mm, mientras los otros niveles no formaron peciolo. En el efecto de BAP, 7,5 mg.l⁻¹ generó largo de peciolo de 0,1 mm y los otros niveles no generaron largo de peciolo.

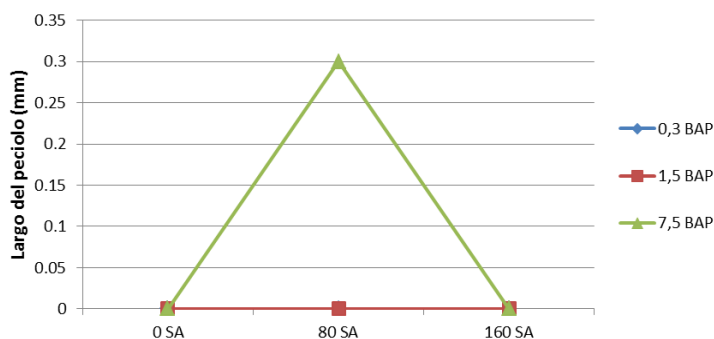
Tabla 17. Análisis de efectos simples del largo de peciolo (*A. grande* en la semana 5).

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	0,00	2	0,00	0,00	NS	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	0,00	2	0,00	0,00	NS		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	0,60	2	0,30	11,57	**		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	0,00	2	0,00	0,00	NS		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	0,60	2	0,30	11,57	**		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	0,00	2	0,00	0,00	NS		
ERROR	2,10	81	0,03				

** Altamente significativo

NS No significativo

La Interacción se analizó con efectos simples (Tabla 17) que mostró diferencias altamente significativas en el efecto de las diferentes concentraciones de SA en 7,5 mg.l⁻¹ de BAP y en el efecto de las diferentes concentraciones de BAP en 80 mg.l⁻¹ de Sulfato de adenina.



Gráfica 11. Largo del peciolo (*A. grande* en la semana 5).

Como se observa en el análisis de efectos simples (Tabla 17 y gráfica 11) la mejor combinación que, permitió la formación de peciolo en la semana 5 fue 7,5 mg.l⁻¹ de BAP con SA 80 mg.l⁻¹ que generó 0,3 mm de desarrollo, pero no hubo buenos resultados en ausencia ó aumento a concentraciones altas de SA. De la misma manera, 0,3 y 1,5 mg.l⁻¹ de BAP con presencia o ausencia de SA no formaron peciolo viables.

Dentro de las evaluaciones, se analizó el inicio de formación de brote y largo del brote, donde el ANVA no mostró diferencias estadísticas entre tratamientos, lo que indica que los factores en estudio influyeron de igual manera para la formación de los órganos mencionados.

En la semana 22 el número de brotes, en el ANVA (Anexo XVIII) mostró diferencias significativas en los factores Sulfato de adenina y concentraciones de BAP, donde se observó a través de las pruebas de Duncan ($\alpha=,05$) que SA 80 mg.l⁻¹ generó 1,0 brote en promedio, pero estudios realizados por Lucena y Gil, (1992) en *M. erythrophylla* con 80 mg.l⁻¹ de SA lograron 9 brotes, resultado mejor en relación al obtenido, probablemente fue efecto de la especie y su comparación con una especie emparentada.

Así mismo, 160 y 0 mg.l⁻¹ de SA estimularon la menor cantidad de brotes generando 0,67 y 0,4 ud en promedio respectivamente, al respecto investigaciones en *M. erythrophylla* tratado con 0 mg.l⁻¹ de SA generó 5 brotes según Lucena y Gil (1992), así mismo otra experiencia en *Philodendron sp.*, con la combinación 0,1 mg.l⁻¹ de BAP, 160 mg.l⁻¹ de SA, 170 mg.l⁻¹ de

Na₂H₂PO₄H₂O, 0,5 mg.l⁻¹ de KIN y 1,6 mg.l⁻¹ de Zip generaron 72 brotes (Blanco y Valverde, 2004), estos resultados fueron muy diferentes a los encontrados en el presente estudio que probablemente fue debido al efecto de la especie. Por otro lado, los efectos de BAP se explicarán en el párrafo siguiente porque son los mismos que el número máximo de brotes.

Tabla 18. Análisis Duncan del número máximo de brotes (*A. grande*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	1,67	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	1,13	ab
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,67	b

Evaluando el número máximo de brotes con el ANVA (Anexo XVIII), se observó la diferencia altamente significativa en el factor concentración de BAP, por tanto se realizó la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 18) que mostró el máximo número de brotes (1,67) generado por BAP 0,3 mg.l⁻¹ al respecto, los resultados obtenidos en otras investigaciones desarrolladas en especies similares como *A. andraeanum* varia mucho, cuando se lo trató con 0,2 mg.l⁻¹ de BAP generó entre 1,6 a 6 brotes luego, experimentando con 0,5 mg.l⁻¹ de BAP se registró 8,65 brotes, mientras que con 1,5 mg.l⁻¹ de BAP formó 12 brotes (Lee *et al.* 2003; Jahan *et al.* 2009; Viéguas *et al.* 2007 y Montes *et al.* 2004) sin embargo todas ellas mostraron mayores índices de brotación que en la presente investigación.

La menor cantidad de brotes fue generada por 7,5 mg.l⁻¹ de BAP que formó 0,67 brotes, al respecto en *S. cannifolium* utilizando la concentración de BAP 10 mg.l⁻¹ obtuvieron 3,5 brotes por explante (Dewir, Chakrabarty, Hahn y Paek 2006), pero en *Spathiphyllum* sp. cuando la trataron con 2 mg.l⁻¹ de BAP generaron 10,5 brotes por planta reportados por Vargas y Garcia (1995) por tanto, podemos inferir que, a menores concentraciones de BAP la probabilidad de obtener brotes es mayor para esta especie y bajo las condiciones de investigación presentes.

La formación de hojas del brote con el ANVA (Anexo XIX) presentó diferencias significativas en el factor BAP, donde el análisis de Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 19) mostró que 0,3 mg.l⁻¹ de BAP estimuló en 63% la mayor formación de hojas. Paralelamente 7,5 mg.l⁻¹ de BAP promovió poco la formación de hojas en el brote logrando el 30% al respecto, estudios de Montes *et al.* (2004) en *A. andraeanum* var. Sonate experimentando con BAP 2 mg.l⁻¹ lograron 79,9% de formación de hojas, en relación a lo obtenido se puede inferir que a menores concentraciones de BAP se obtuvo mayor porcentaje de hojas en el brote.

Tabla 19. Análisis de Duncan de la formación de las hojas del brote (*A. grande*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	0,63	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	0,50	ab
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,30	b

El número de hojas del brote en la semana 22 donde el ANVA (Anexo XX), reveló diferencias significativas en los factores sulfato de adenina y concentraciones de BAP. Los análisis de Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XX) mostró que 80 mg.l⁻¹ de SA generó más hojas en el brote logrando 0,78 en promedio y el nivel 0 mg.l⁻¹ de SA formó 0,33 hojas en promedio, por tanto 80 mg.l⁻¹ de SA es la mejor concentración puesto que en aumento o ausencia de SA logró el mayor número de hojas. Así mismo, los resultados de BAP son similares al máximo número de hojas del brote como se explica en el siguiente párrafo.

Tabla 20. Análisis de Duncan del máximo número de hojas del brote (*A. grande*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	0,95	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	0,74	ab
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,35	b

En la evaluación del máximo número de hojas del brote, el ANVA (Anexo XX) presentó diferencia significativa en el factor BAP. La prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 20) reveló que, el máximo número lo generó 0,3 mg.l⁻¹ de BAP logrando 0,95 hojas en promedio por brote, contrariamente, estudios en *A. andraeanum* mostraron como 1,25 y 0,5 mg.l⁻¹ de BAP generaron 5,3 y 5,2 hojas respectivamente (Oscullo M. 2011), paralelamente 7,5 mg.l⁻¹ de BAP generó 0,35 hojas en promedio reportándose como el menor número de hojas por brote, entonces a menor concentración de BAP se obtiene mayor cantidad de hojas por brote, dato que no corresponde a la bibliografía reportada.

En la fase de multiplicación se observó diferencias estadísticas en la altura del explante desde la semana 4, donde el ANVA (Anexo XXI) generó diferencias altamente significativas en los factores concentraciones de Sulfato de adenina y BAP, por consiguiente la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XXI) mostró que, 160 y 80 mg.l⁻¹ de SA promovieron mejor el desarrollo del explante generando alturas de 27,8 y 26,6 mm respectivamente y por el contrario 0 mg.l⁻¹ de SA logró 22,0 mm en altura. En el efecto de las concentraciones de BAP se mostró que 7,5 y 0,3 mg.l⁻¹ de BAP coadyuvan mejor en el desarrollo del explante generando 27,3 y 26,1 mm respectivamente.

Para la semana 22 se obtuvo un resultado muy similar a la semana 4 en el ANVA (Anexo XXI), donde se generó diferencias altamente significativas en los factores concentraciones de sulfato de adenina y BAP. Realizando la prueba de Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 21) confirmó que 160 mg.l⁻¹ de SA fue la mejor concentración, que promovió el desarrollo del explante logrando 39,87 mm de altura, paralelamente 0 mg.l⁻¹ de SA generó 32,77 mm en promedio denotando como la altura menor del explante, por tanto la reducción de la concentración de SA es equivalente al menor desarrollo de la altura.

Tabla 21. Análisis Duncan de la altura del explante (*A. grande* en la semana 22).

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	32,77	b
SA 80 mg.l ⁻¹	36,27	ab
SA 160 mg.l ⁻¹	39,87	a

En el análisis del factor BAP la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 22) mostró que 0,3 mg.l⁻¹ de BAP como la mejor concentración que permitió 40,67 mm de altura en los explantes, de manera paralela 1,5 y 7,5 mg.l⁻¹ de BAP generaron menor desarrollo de la altura logrando 33,9 y 34,3 mm respectivamente, sin embargo Oscullo M. (2011) en *A. andraeanum* cuando utilizó 0,5 y 1,25 mg.l⁻¹ de BAP logró 23,6 y 25 mm de altura respectivamente, otro estudio en *S. cannifolium* cuando la trataron con 10 mg.l⁻¹ de BAP obtuvieron 51 mm de altura (Dewir, Chakrabarty, Hahn y Paek 2006) estos resultados son alejados a los del presente estudio y es probable porque se trata de especies emparentadas a *A. grande*.

Tabla 22. Análisis de Duncan de la altura del explante (*A. grande* en la semana 22).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	40,67	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	33,90	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	34,33	b

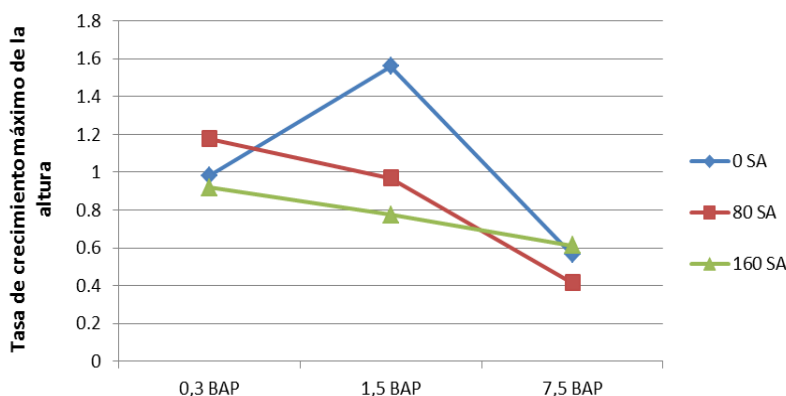
Así mismo, con los datos obtenidos se evaluó la tasa de crecimiento máximo, que en el ANVA (Anexo XXI) mostró diferencias altamente significativas en el factor concentraciones de BAP y diferencias significativas para la interacción. La prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XXI) mostró similares resultados a la altura del explante, explicado en el párrafo anterior.

Tabla 23. Análisis de efectos simples de la tasa de crecimiento máximo del explante (A. grande).

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA en 0,3 mg.l ⁻¹ BAP	0,37	2	0,18	0,83	NS	3,11	4,86
Entre SA en 1,5 mg.l ⁻¹ BAP	3,34	2	1,67	7,53	**		
Entre SA en 7,5 mg.l ⁻¹ BAP	0,21	2	0,11	0,48	NS		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP en SA 0 mg.l ⁻¹	5,01	2	2,51	11,28	**		
Entre BAP en SA 80 mg.l ⁻¹	3,12	2	1,56	7,01	**		
Entre BAP en SA 160 mg.l ⁻¹	0,46	2	0,23	1,05	NS		
ERROR	17,99	81	0,22				

** Altamente significativo
NS No significativo

Tomando en cuenta que se generó diferencias estadísticas en la interacción se realizó el análisis de efectos simples (Tabla 23), donde se observó el siguiente resultado: Diferencias altamente significativas en el efecto de las concentraciones de SA en BAP 1,5 mg.l⁻¹ y en el efecto de las concentraciones de BAP en 0 y 80 mg.l⁻¹ de SA.



Gráfica 12. Tasa de crecimiento máximo del explante (A. grande).

La gráfica 12 y la Tabla 23 se tiene que 0 mg.l⁻¹ de SA generó la máxima tasa de crecimiento del explante en 1,56 veces con BAP 1,5 mg.l⁻¹ de igual manera, el incremento en la concentración de BAP disminuyó la tasa de crecimiento a 0,61 veces, paralelamente SA en 80 mg.l⁻¹ con 0,3 mg.l⁻¹ de BAP logró 1,18 veces como muy buena tasa de crecimiento pero, en concentraciones altas de BAP limitó su capacidad de desarrollo. Luego 160 mg.l⁻¹ de SA logró similar tasa de crecimiento con las diferentes concentraciones de BAP, sin embargo BAP 7,5 mg.l⁻¹ con 80 mg.l⁻¹ de SA generó 0,41 veces que, se registró como la menor tasa de crecimiento al igual que su combinación con las diferentes concentraciones SA.

A consecuencia de la generación de raíces, se evaluó la formación de raíces donde el ANVA (Anexo XXII) mostró, diferencias altamente significativas para el factor concentraciones de BAP. Para el mismo, la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 24) presentó que 7,5 mg.l⁻¹ de BAP no generó raíces mientras que, 0,3 mg.l⁻¹ de BAP fue el nivel con mayor formación de raíces, al respecto los estudios de Montes *et al.* (2004) en *A. andraeanum* var. Sonate con BAP 2 mg.l⁻¹ lograron formación de raíces.

Tabla 24. Análisis de Duncan de la formación de raíz (*A. grande*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	0,93	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	0,23	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,03	c

Como se observó la presencia de raíces, se evaluó el inicio de formación de raíces donde el ANVA (Anexo XXII), mostró diferencias altamente significativas en el factor concentraciones de BAP, que con la prueba Duncan ($\alpha=,05$) se observa en la Tabla 25 como 7,5 mg.l⁻¹ de BAP generó raíces en mayor tiempo (196,13 días), mientras que 0,3 mg.l⁻¹ de BAP inició la formación de raíces en 82,43 días el mismo que no fue muy favorable.

Tabla 25. Análisis Duncan del inicio de la formación de raíz (*A. grande*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	82,43	c
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	164,07	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	196,13	a

La presencia de raíces en la fase de multiplicación de *A. grande* fue un factor negativo, porque de acuerdo al lugar de nacimiento en el explante, produjo cambios que en algunos casos fueron letales, así se observó que: si la raíz desarrolló en la base del explante no produjo un efecto notorio en la producción de brotes o el desarrollo del callo, si la raíz desarrolló en la base de un brote provocó un lento desarrollo del callo, también una baja en la producción de brotes, finalmente, si la raíz se generó en la parte aérea del explante ó cerca del nacimiento de una nueva hoja, todo el explante sobre está raíz comenzó a sufrir un detrimento que posteriormente secó y murio.

Por lo expuesto anteriormente, se evaluó el largo de raíz donde el ANVA no presentó diferencias estadísticas entre tratamientos. Sin embargo, la evaluación del número de raíces con el ANVA (Anexo XXIII) mostró diferencias altamente significativas para el factor BAP, que analizado con Duncan ($\alpha=,05$) en la Tabla 26 mostró como los tratamientos más

favorables a 7,5 y 1,5 mg.l⁻¹ de BAP que generaron 0,03 y 0,37 raíces respectivamente, contrariamente BAP 0,3 mg.l⁻¹ formó 2,37 raíces en promedio, por otro lado, estudios realizados en *A. andraeanum* demostraron que 0,5 y 1,25 mg.l⁻¹ de BAP lograron 2,6 y 2,1 raíces respectivamente (Oscullo M. 2011), los resultados obtenidos fueron próximos y probablemente las altas concentraciones de citocininas inhibieron la producción de raíces, como se observa en el presente estudio.

Tabla 26. Análisis de Duncan del número de raíz (*A. grande*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	2,37	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	0,37	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,03	b

Finalmente, se analizó la contaminación (bacterias, hongos) y necrosis en la fase de multiplicación donde el ANVA no mostró diferencias estadísticas entre tratamientos, debido a que los explantes provenían de la etapa de establecimiento y mantenían las características de asepsia del cultivo *in vitro*, además los factores en estudio no tendrían que influenciar en la contaminación, como en este caso la única fuente probable sería los procesos de manipulación en la cabina de flujo laminar ó las características muy propias del explante.

Luego de finalizar la etapa de multiplicación de *A. grande* se evaluó la correlación de las variables de respuesta (Tabla 27) donde se obtuvo el siguiente resultado: El coeficiente de correlación múltiple (R) presentó 0,89 que significa una asociación altamente significativa entre la variable dependiente y las variables independientes. Por otro lado, el coeficiente de determinación (R²) reveló que el 80% se debió al efecto del mayor diámetro del callo, número máximo de hojas del brote y formación de raíz los que coadyuvaron a la generación del número de brotes de *A. grande* sin embargo, el 20% es el efecto de otros factores que influyeron en la formación del número de brotes como la tasa de crecimiento del explante, el número de raíces.

Tabla 27. ANOVA Correlación múltiple del número de brotes (*A. grande*).

Modelo		Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	1,33	3	,44	6,60	,03(a)
	Residual	,33	5	,07		
	Total	1,66	8			

Modelo	R	R cuadrado	Tablas en R		Significancia de R
			($\alpha=,05$)	($\alpha=,01$)	
1	,89(a)	,79	0,795	0,886	**

a Variables predictoras: (Constante), formación de raíz, número máximo de hojas del brote, mayor diámetro del callo

** Altamente significativo

La evaluación del párrafo anterior se completó con el análisis de coeficientes (Anexo XXIV), el mismo que, con el coeficiente de regresión parcial (β) presentó 0,003 que analizado con el β standard mostró que, en 0,007 ud aumentó el número de brotes por cada mm de desarrolló el diámetro de callo. De igual manera, β logró 0,982 el cual con β standard demostró que, en 0,83 ud aumentó el número de brotes por cada hoja que generó en el brote. También se tuvo que β generó 0,105 dato que con el β standard explicó que, en 0,10 ud aumentó el número de brotes por cada vez que se formó una raíz.

Continuando con el análisis, el coeficiente de correlación (r) mostró 0,595 que analizado con el r parcial presentó 0,01 que significa que no existe relación entre el número de brotes y el mayor diámetro del callo, es decir que para la formación de brotes no es relevante el tamaño del callo. Por otro lado, r mostró 0,890 que con el r parcial presentó 0,81 el cual demostró una relación alta entre el número máximo de hojas del brote y el número de brotes, sin embargo el r de velo 0,584 que analizado con el r parcial presentó 0,155 que significa una relación muy baja entre la formación de raíces y el número de brotes que formó *A. grande*.

Analizando el coeficiente de determinación (r^2) se observó que el 1% se debió al efecto de desarrollo del mayor diámetro del callo que permitió la generación del número de brotes, también r^2 presentó que el número de brotes es afectado en 65% por la formación del número de hojas del brote, por último r^2 demostró que el 2% se debió al efecto de la formación de raíz que permitió la generación del número de brotes.

En resumen, la Figura 8 muestra los resultados de la fase de multiplicación, así mismo, todos los tratamientos en *Anthurium grande* llegaron a formar brotes como se explica:

BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹, este tratamiento inició la formación de callo tardíamente, pero generó mayor diámetro del callo, que tardó en generar el largo de peciolo adecuado sin embargo, formó máximo número de brotes con máximo número de hojas del brote, a la vez, formó buena altura del explante aunque inició temprano la formación de raíces con máximo número de raíces.

BAP 0,3 mg.l¹ con SA 160 mg.l¹, logró el inicio de la formación de callo más rápidamente, que generó buen diámetro del callo, pero tardó en generar el largo de peciolo adecuado, sin embargo, formó máximo número de brotes con máximo número de hojas del brote, al mismo tiempo logró altura regular del explante que a la vez, inició temprano la formación de raíces con máximo número de raíces.

BAP 0,3 mg.l¹ con SA 0 mg.l¹, esta combinación inició la formación del callo tardíamente, generando diámetro del callo aceptable, que tardó en formar el largo de peciolo adecuado, pero logró máximo número de brotes con máximo número de hojas del brote, también generó buena altura del explante, que inició temprano la formación de raíces con máximo número de raíces.

BAP 1,5 mg.l¹ con SA 0 mg.l¹, este tratamiento inició la formación de callo tardíamente, que generó diámetro del callo aceptable, que tardó en formar el largo de peciolo adecuado, pero logró buen número de brotes con buen número de hojas del brote, así mismo, indujo a la mayor altura del explante, por último, inició en tiempo moderado la formación de raíces con menor número de raíces.

BAP 1,5 mg.l¹ con SA 80 mg.l¹, esta combinación inició la formación del callo tardíamente, generando diámetro del callo aceptable, que tardó en insentivar el largo de peciolo adecuado, pero formó máximo número de brotes con buen número de hojas del brote, a la vez, logró buena altura del explante, por último, inició en tiempo moderado la formación de raíces con menor número de raíces.

BAP 1,5 mg.l¹ con SA 160 mg.l¹, este tratamiento inició la formación de callo tardíamente, que generó diámetro del callo aceptable, pero tardó en inducir el largo de peciolo adecuado, así mismo produjo buen número de brotes con buen número de hojas del brote, también logró altura regular del explante, que inició la formación de raíces en tiempo moderado con menor número de raíces.

BAP 7,5 mg.l¹ con SA 80 mg.l¹, esta combinación inició la formación de callo tardíamente, generando diámetro de callo aceptable que promovió rápidamente el largo de peciolo adecuado, también formó máximo número de brotes con menor número de hojas del brote, así mismo, indujo la menor altura del explante finalmente, formó raíces tardíamente con menor número de raíces.

BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹, está combinación inició la formación de callo tardíamente, que generó diámetro de callo aceptable, a la vez tardó en inducir el largo de peciolo adecuado, pero formó menor número de brotes con menor número de hojas del brote, también promovió regular altura del explante, finalmente, inició la formación de raíz tardíamente, con menor número de raíces.

BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹, este tratamiento inició la formación de callo tardíamente, generando el menor diámetro de callo que, tardó en incentivar el largo de peciolo adecuado, el mismo que formó menor número de brotes, con menor número de hojas del brote, también indujo desarrollo regular de la altura del explante, por último inició la formación tardíamente de raíz con menor número de raíces.



Figura 8. Tratamientos de multiplicación en *Anthurium grande*, Resultado al final: (A) BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹; (B) BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹; (C) BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹; (D) BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹; (E) BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹; (F) BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹; (G) BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹; (H) BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹; (I) BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹. Elaboración propia.

7.2. Enraízamiento

La fase de enraízamiento se realizó con las vitroplantas provenientes de la fase de multiplicación, las mismas que fueron evaluadas por 10 meses, donde se obtuvieron los siguientes resultados.

La primera variable evaluada fue la formación de raíz, que de acuerdo al ANVA (Anexo XXV), mostró diferencias altamente significativas para los factores: Especie, concentraciones de ANA y la interacción A*B. Observando el factor especie *A. grande* formó más raíces (87%) que *A. acebeyae* el mismo que generó 64%. En el análisis del factor ANA se obtuvo que 0 y 1,5 mg.l⁻¹ de ANA aseguraron la formación de raíz lograron 100 y 98 % respectivamente, sin embargo 6 mg.l⁻¹ de ANA presentó 32% en formación de raíces así mismo, los otros tratamientos se mantuvieron intermedios generando 73 y 75 % respectivamente.

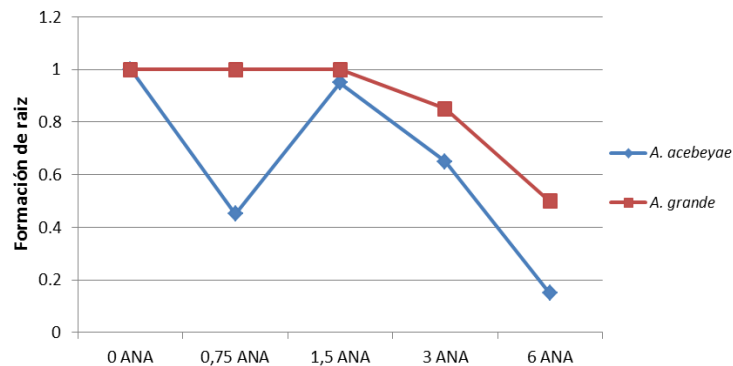
Tabla 28. Análisis de efectos simples de la formación de raíz.

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	0,00	1	0,00	0,00	NS	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	3,03	1	3,03	27,97	**		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	0,02	1	0,02	0,23	NS		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	0,40	1	0,40	3,70	NS		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	1,23	1	1,23	11,33	**		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acebeyae</i>	10,04	4	2,51	23,21	**	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	3,76	4	0,94	8,69	**		
ERROR	20,55	190	0,11				

** Altamente significativo

NS No significativo

En el caso de la interacción, se realizó el análisis de efectos simples (Tabla 28) que mostró altamente significativas en el efecto de las especies en 0,75 y 6 mg.l⁻¹ de ANA y en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. acebeyae* y *A. grande*.



Gráfica 13. Formación de la raíz.

El análisis de efectos simples (Tabla 28 y gráfica 13) mostró que *A. acebeyae* formó raíces con 0 y 1,5 mg.l⁻¹ de ANA generando 100 y 95 % respectivamente, mientras 3 y 0,75 mg.l⁻¹ de ANA formaron 65 y 45 %. Sin embargo, 6 mg.l⁻¹ de ANA logró 15% de raíces. Por otro lado, *A. grande* reaccionó con 0, 0,75, 1,5 y 3 mg.l⁻¹ de ANA donde los tres primeros formaron 100% y el último 85%. Así mismo, 6 mg.l⁻¹ de ANA generó el menor porcentaje (50%) de raíces. Al respecto, con 0,5 mg.l⁻¹ de ANA lograron 98% de brotes enraizados en *A. andraeanum* cv. Agnihothri, de similar manera, formaron raíces con 3,0 mg.l⁻¹ de ANA (Bejoy *et al.* 2008; Lima *et al.* 2006; Lee *et al.* 2003), contrariamente en *M. erythrophylla* con ANA 1, 2, 4 y 8 mg.l⁻¹ lograron 21, 25, 21 y 17 % de raíces respectivamente (Lucena y Gil 1992).

También se explica que, *A. grande* reaccionó mejor e igual en ausencia y con menores concentraciones de ANA, pero en concentraciones mayores a 1,5 mg.l⁻¹ de ANA redujo su capacidad de formar raíces. Sin embargo, *A. acebeyae* formó raíces de manera favorable en ausencia y con 1,5 mg.l⁻¹ de ANA, pero presentó que 0,75 mg.l⁻¹ y concentraciones mayores de ANA redujeron su capacidad de formar raíces, este efecto probablemente se debió a la alta concentración del enraizador que provocó inhibición en el explante.

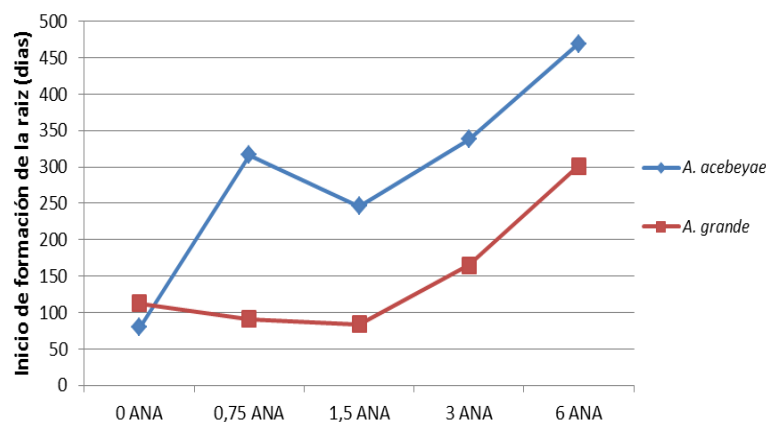
El inicio de la formación de raíz con el ANVA (Anexo XXV), mostró diferencias altamente significativas para los factores especie, concentraciones de ANA y la interacción. En el factor especie, *A. grande* inició la formación de raíces a los 151 días, antes que *A. acebeyae* el que comenzó a los 290 días. Para el factor ANA el análisis Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XXV) indicó como mejor tratamiento a 0 mg.l⁻¹ de ANA que inició la formación de raíz a los 96 días seguido de ANA 1,5 y 0,75 mg.l⁻¹ que iniciaron la formación de raíces a los 165 y 204 días respectivamente y el tratamiento que tardó 385 días en generar raíces a 6 mg.l⁻¹ de ANA.

Tabla 29. Análisis de efectos simples del inicio de formación de la raíz.

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	10530,03	1	10530,03	0,68	NS	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	509404,90	1	509404,90	32,79	**		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	264062,50	1	264062,50	17,00	**		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	300328,90	1	300328,90	19,33	**		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	280395,03	1	280395,03	18,05	**		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acerbeyae</i>	1621054,06	4	405263,52	26,09	**	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	648724,46	4	162181,12	10,44	**		
ERROR	2951573,30	190	15534,60				

** Altamente significativo
NS No significativo

Se realizó el análisis de efectos simples (Tabla 29) que presentó diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en ANA 0,75, 1,5, 3 y 6 mg.l⁻¹, como también en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. acerbeyae* y *A. grande*.



Gráfica 14. Análisis de varianza del inicio de formación de la raíz.

En el análisis los efectos simples (Tabla 29 y gráfica 14) se observó que, *A. grande* inició la formación de raíces antes con los diferentes tratamientos en relación a *A. acerbeyae*. Sin embargo, ambas especies en ausencia de ANA iniciaron la formación de raíces al mismo tiempo. Por tanto, los mejores tratamientos para *A. grande* fueron 1,5, 0,75 y 0 mg.l⁻¹ de ANA que generaron raíces a los 84, 91 y 112 días respectivamente, por el contrario el tratamiento 6 mg.l⁻¹ de ANA tardó en generar raíces.

Por otro lado, *A. acerbeyae* inició la formación de raíces con 0 mg.l⁻¹ de ANA a los 80 días, seguido por 1,5 mg.l⁻¹ de ANA que en 246 días formó raíces. Así mismo, 0,75, 3 y 6 mg.l⁻¹ de ANA generaron raíces después de los 10 meses. Al respecto, en especies emparentadas

como *M. erythrophylla* tratados con 1 mg.l⁻¹ de ANA lograron raíces en 12 días, paralelamente con 2 y 4 mg.l⁻¹ de ANA generaron raíces a los 10 días también, con 8 mg.l⁻¹ de ANA formaron raíces en 8 días según Lucena y Gil (1992). Por tanto, *A. acerbeyae* reaccionó mejor en ausencia de ANA, pero *A. grande* reaccionó más rápido en ausencia de ANA y de igual forma con concentraciones bajas de ANA (0,75 y 1,5 mg.l⁻¹) en la formación raíces.

En el análisis del largo de raíz se observó que todos los tratamientos influyeron de igual manera, por eso se analizó el mayor largo de raíz donde el ANVA (Anexo XXVI), presentó diferencias altamente significativas para los factores especie, concentraciones de ANA y la interacción. La diferencia estadística de la especie expuso que, *A. grande* logró el mayor largo de raíces (25,8 mm) que *A. acerbeyae* que generó 21,4 mm.

Al analizar el factor ANA con la prueba Duncan ($\alpha=,05$) como se observa en el Anexo XXVI, 0 mg.l⁻¹ de ANA generó el mayor largo de raíz con 42,8 mm, contrariamente con el mismo nivel en *A. andraeanum* cv. Nicoya obtuvieron 21,8 mm estudios realizados por Liendo y Mogollon (2009) mientras que, con 0,50 mg.l⁻¹ de ANA lograron 23,5 mm en la misma especie. Paralelamente los tratamientos 0,75 y 1,5 mg.l⁻¹ de ANA generaron 26,7 y 25,5 mm respectivamente mostrándose como tratamientos intermedios, también se diferenció como el peor mayor largo al tratamiento ANA 6 mg.l⁻¹ que formó 3,7 mm de raíz.

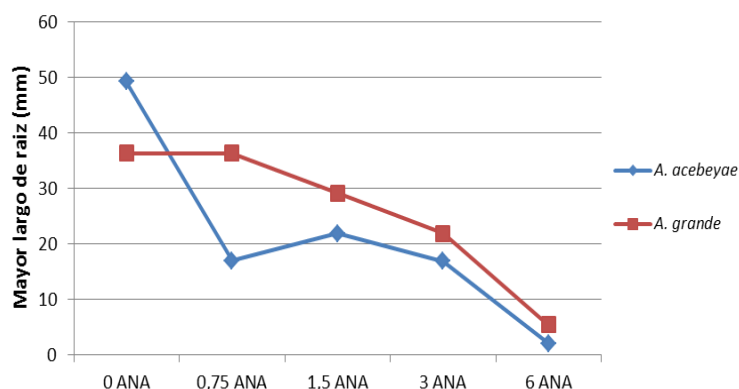
Tabla 30. Análisis de efectos simples del mayor largo de la raíz.

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	1670,56	1	1670,56	7,91	**	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	3753,91	1	3753,91	17,78	**		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	522,01	1	522,01	2,47	NS		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	252,51	1	252,51	1,20	NS		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	112,23	1	112,23	0,53	NS		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acerbeyae</i>	23806,54	4	5951,63	28,18	**	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	13286,74	4	3321,69	15,73	**		
ERROR	40121,40	190	211,17				

** Altamente significativo

NS No significativo

Para la interacción, se realizó el análisis de efectos simples (Tabla 30) donde se observó diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en ANA 0 y 0,75 mg.l⁻¹ y en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. acerbeyae* y *A. grande*.



Gráfica 15. Mayor largo de la raíz.

Analizando los efectos simples de la Tabla 30 y gráfica 15 se demostró que *A. grande* presentó mayor largo de raíz en todos los tratamientos que contenían ANA, con excepción del tratamiento sin ANA, en el cual *A. acerbeyae* generó mayor largo de raíz. Por otro lado, es importante mencionar que la interacción 0,75 mg.l⁻¹ de ANA con *A. acerbeyae* logró 17 mm, dato que mostró una diferencia marcada con respecto a *A. grande* que promovió 36,3 mm por tanto, presentó menor largo de raíz *A. acerbeyae* en relación a *A. grande*.

El análisis general demostró que sin la presencia de ANA se generó mayor largo de raíz (49,2 y 36,3 mm) en *A. acerbeyae* y *A. grande*, repitiéndose el último dato en 0,75 mg.l⁻¹ de ANA en *A. grande*. Así mismo, el tratamiento que generó el peor mayor largo de raíz en ambas especies fue 6 mg.l⁻¹ de ANA que formó 2 mm en *A. acerbeyae* y 5 mm en *A. grande*. Al respecto, experiencias en *A. andreanum* con 3 mg.l⁻¹ de ANA generaron 2,7 mm en largo de raíz según Lee *et al.* (2003), esta proximidad en datos probablemente fue debido al efecto nocivo de altas concentraciones de ANA en las especies en estudio.

La cantidad de raíces, analizadas con el ANVA no mostraron diferencias estadísticas entre factores, por ello se evaluó el máximo número de raíces, que con el ANVA (Anexo XXVII), mostró diferencias altamente significativas para el factor especie, concentraciones de ANA y la interacción. En el factor especie, *A. grande* generó más raíces (11 ud) que *A. acerbeyae* que formó 5 raíces. Para el factor ANA la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XXVII) mostró que con 0,75 y 0 mg.l⁻¹ de ANA generaron 11,3 y 10,8 raíces respectivamente que fueron los máximos número de raíces, contrariamente ANA 6 mg.l⁻¹ generó 1,2 raíces.

Tabla 31. Análisis de efectos simples del máximo número de raíz.

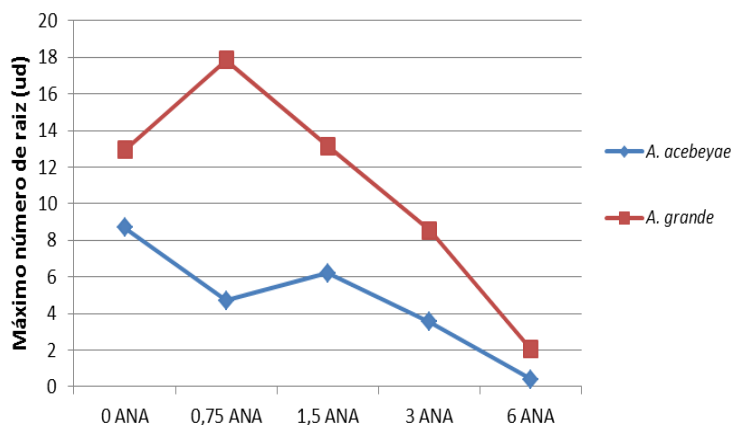
Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	180,63	1	180,63	4,39	*	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	1729,23	1	1729,23	42,00	**		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	483,03	1	483,03	11,73	**		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	250,00	1	250,00	6,07	*		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	27,23	1	27,23	0,66	NS		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acerbeyae</i>	761,24	4	190,31	4,62	**	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	2828,24	4	707,06	17,17	**		
ERROR	7823,30	190	41,18				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

Observando el análisis de efectos simples (Tabla 31) se tiene, diferencias significativas en el efecto de las especies en 0 y 3 mg.l⁻¹ de ANA, diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en 0,75 y 1,5 mg.l⁻¹ de ANA, como también en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. acerbeyae* y *A. grande*.



Gráfica 16. Máximo número de raíz.

Con los análisis de efectos simples (Tabla 31 y gráfica 16) se obtuvo que, *A. grande* en combinación con los diferentes tratamientos generó mayor número de raíces en relación a *A. acerbeyae*, exceptuando en ANA 6 mg.l⁻¹ que logró similar resultado para ambas especies, formando el menor número de raíces para esta concentración.

Por otro lado, *A. grande* generó el mejor máximo número de raíces con 0,75 mg.l⁻¹ de ANA el cual logró 17,8 raíces, paralelamente se observaron resultados proximos con 1,5 y 0 mg.l⁻¹ de ANA que formaron 13,1 y 12,9 raíces respectivamente, a la vez, 3 mg.l⁻¹ de ANA generó

8,5 raíces. Sin embargo, en *A. acebeyae* el máximo número de raíces fue de 8,7 ud generado por 0 mg.l⁻¹ de ANA. Al respecto, estudios en *Spathiphyllum* sp. tratado con el nivel 0 mg.l⁻¹ de ANA generaron 6,1 raíces por planta (Vargas y Garcia 1995), por tanto, las especies en estudio requirieron bajas concentraciones de enraizador como suplemento al medio MS.

Extendiendo el análisis en *A. acebeyae* los tratamientos ANA 1,5, 0,75 y 3 mg.l⁻¹ generaron 6,2, 4,7 y 3,5 raíces respectivamente, sin embargo en *A. andraeanum* cv. Nicoya con el nivel 0,50 mg.l⁻¹ lograron 3,8 raíces (Liendo y Mogollon 2009). Finalmente 6 mg.l⁻¹ de ANA formó el menor número de raíces 2 y 0,4 para *A. grande* y *A. acebeyae* respectivamente, lo cual indicó que altas concentraciones de auxinas inhibió en el explante la formación de raíces.

Observando el proceso de enraizamiento se evaluó el diámetro de la raíz, que en la semana 40 el ANVA (Anexo XXVIII) mostró diferencias significativas para el factor especie y la interacción y diferencias altamente significativas para el factor ANA. En la diferencia estadística para la especie, *A. grande* generó mayor diámetro de raíz (1,3) que *A. acebeyae* que logró 1 mm. Realizándose la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XXVIII) el mayor diámetro (1,76 mm) fue generado por 0 mg.l⁻¹ de ANA, mientras que 0,75, 1,5 y 3 mg.l⁻¹ de ANA lograron un diámetro promedio de 1,3 mm. Finalmente 6 mg.l⁻¹ de ANA formó 0,2 mm de raíz reportado como el menor diámetro.

Tabla 32. Análisis de efectos simples del diámetro de la raíz (285 días).

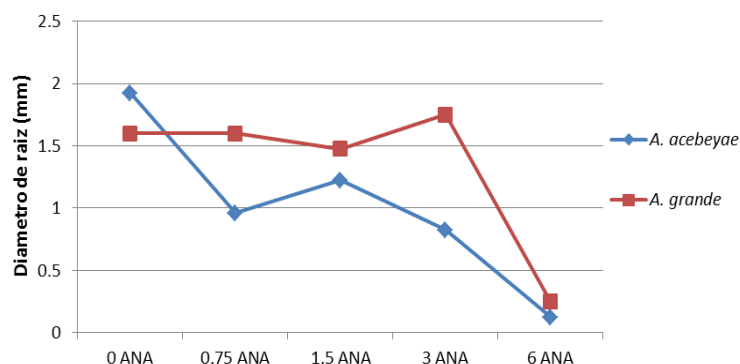
Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	1,06	1	1,06	1,12	NS	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	4,10	1	4,10	4,33	*		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	0,63	1	0,63	0,66	NS		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	8,56	1	8,56	9,05	**		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	0,16	1	0,16	0,17	NS		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acebeyae</i>	34,07	4	8,52	9,01	**	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	30,19	4	7,55	7,98	**		
ERROR	179,60	190	0,95				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

El análisis de efectos simples (Tabla 32) mostró, diferencias significativas en el efecto de las especies en 0,75 mg.l⁻¹ de ANA, por otro lado, se tiene diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en 3 mg.l⁻¹ de ANA y en el efecto de ANA en las especies.



Gráfica 17. Diámetro de la raíz (285 días).

Observando el análisis de efectos simples (Tabla 32 y gráfica 17), *A. grande* generó raíces de mayor diámetro en relación a *A. acerbayae*. También se observó que *A. grande* mostró con 0, 0,75 y 3 mg.l⁻¹ de ANA diámetros iguales a 1,6 mm en promedio, sin embargo 3 mg.l⁻¹ de ANA generó 1,7 mm que fue el mayor diámetro. Por otro lado, en *A. acerbayae* 0 mg.l⁻¹ de ANA logró el mayor diámetro dando 1,9 mm que estadísticamente es igual a *A. grande*, a la vez en *A. acerbayae*, se obtuvo diámetros proximos de 1,2, 1,0 y 0,8 mm con los niveles 1,5, 0,75 y 3 mg.l⁻¹ de ANA respectivamente.

Respecto al párrafo anterior, estudios en *M. erythrophylla* tratados con 1,0 mg.l⁻¹ de ANA formaron raíces largas y gruesas, que en aumentó de su concentración generaron raíces gruesas, cortas y proliferó el callo (Lucena y Gil 1992), finalmente el peor diámetro lo generó 6 mg.l⁻¹ de ANA que generó 0,1 y 0,2 mm en *A. acerbayae* y *A. grande* respectivamente, lo que indicó que altas concentraciones de ANA inhibieron la formación de raíces.

En está fase se observó la presencia y desarrollo de callo, por esa razón, se determinó la tasa de crecimiento máximo del diámetro del callo alcanzado al finalizar la fase de enraizamiento, donde el ANVA (Anexo XXIX), mostró diferencias altamente significativas para el factor concentraciones de ANA y la interacción. Las concentraciones de ANA se analizaron con Duncan bajo un $\alpha=,05$ (Anexo XXIX) donde 0,75 mg.l⁻¹ de ANA generó el mayor desarrollo, dando 1,5 veces y 0 mg.l⁻¹ de ANA generó 0,5 veces el desarrollo del callo.

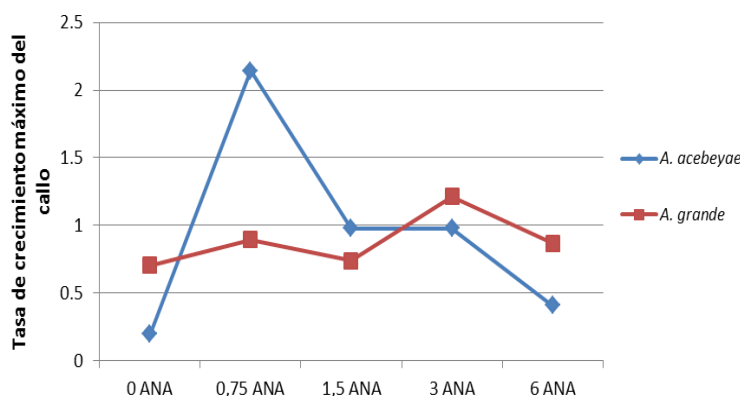
Tabla 33. Análisis de efectos simples de la tasa de crecimiento máximo del callo.

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	2,62	1	2,62	2,48	NS	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	15,54	1	15,54	14,72	**		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	0,57	1	0,57	0,54	NS		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	0,55	1	0,55	0,52	NS		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	2,12	1	2,12	2,01	NS		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acebeyae</i>	45,72	4	11,43	10,83	**	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	3,21	4	0,80	0,76	NS		
ERROR	200,56	190	1,06				

** Altamente significativo

NS No significativo

En el análisis de efectos simples (Tabla 33) se tiene el siguiente resultado, diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en 0,75 mg.l⁻¹ de ANA y en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. acebeyae*.



Gráfica 18. Tasa de crecimiento máximo del callo.

Como se observa en el análisis de efectos simples (Tabla 33 y gráfica 18), *A. grande* y *A. acebeyae* generaron diferentes tasas de crecimiento del callo. Pero en *A. grande* ANA con las diferentes concentraciones, estadísticamente generaron tasas de crecimiento iguales. Sin embargo *A. acebeyae* presentó dos picos: primero indujo el máximo desarrollo del callo con el nivel 0,75 mg.l⁻¹ de ANA que logró 2,14 veces, mientras los otros tratamientos generaron el desarrollo del callo, por otro lado, 0 y 6 mg.l⁻¹ de ANA promovieron la menor tasa de crecimiento del callo logrando 0,2 y 0,4 veces respectivamente.

De igual manera podemos deducir que: *A. grande* con 3 mg.l⁻¹ de ANA redujo su capacidad de formar raíces iniciándolo en mayor tiempo, pero estas raíces presentaron mayor diámetro

que las normales. En cambio *A. acebeyae* con 0,75 mg.l⁻¹ de ANA redujo su capacidad de formar raíces a 50% en relación a los otros tratamientos, retrazó en tiempo la formación de raíz, provocando un desarrollo lento del largo de raíz y el menor número de raíces, así mismo presentó menor diámetro de raíz, debió a que esta concentración de ANA generó explantes listos para ser aclimatados y proporcionó la capacidad de seguir multiplicándose.

El crecimiento de la parte aérea de la vitroplanta, se evaluó con la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante donde el ANVA (Anexo XXX) mostró, diferencias altamente significativas en los factores especie y concentraciones de ANA, también mostró diferencias significativas en la interacción. La diferencia entre las especies presentó como *A. grande* creció 0,37 más veces que *A. acebeyae* que desarrollo 0,11 veces. Al realizar la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XXX), se observó que 0 mg.l⁻¹ de ANA indujo mejor al desarrollo de la altura en 0,55 veces y por el contrario 6 y 3 mg.l⁻¹ de ANA promovieron en 0,03 y 0,05 veces al crecimiento del explante.

Tabla 34. Análisis de efectos simples de la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante.

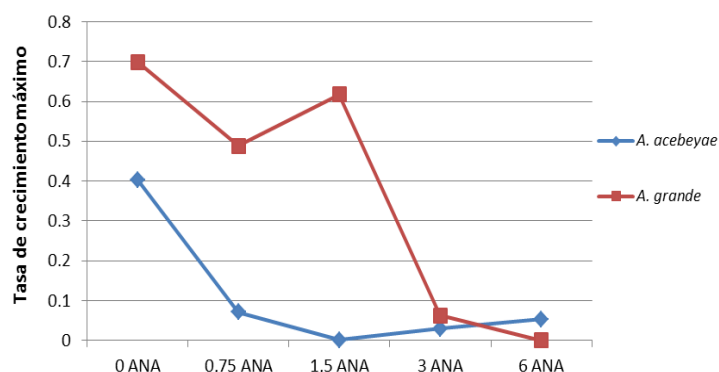
Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	0,88	1	0,88	2,41	NS	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	1,75	1	1,75	4,81	*		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	3,79	1	3,79	10,45	**		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	0,01	1	0,01	0,03	NS		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	0,03	1	0,03	0,08	NS		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acebeyae</i>	2,17	4	0,54	1,50	NS	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	8,29	4	2,07	5,71	**		
ERROR	68,97	190	0,36				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

El análisis de efectos simples, (Tabla 34) mostró diferencias significativas del efecto de las especies en ANA 0,75 mg.l⁻¹, también formó diferencias altamente significativas del efecto de las especies en 1,5 mg.l⁻¹ de ANA y del efecto de las concentraciones de ANA en *A. grande*.



Gráfica 19. Tasa de crecimiento máximo de la altura del explante.

Se puede apreciar en la gráfica 18 y Tabla 34 el análisis de efectos simples, donde *A. grande* desarrolló más que *A. acerbeyae*, así mismo, 3 y 6 mg.l⁻¹ de ANA generaron similares resultados para ambas especies y no estimularon el desarrollo del explante. La especie *A. acerbeyae* con 0 mg.l⁻¹ de ANA desarrolló 0,4 veces más el explante mientras que, con las diferentes concentraciones de ANA estimuló al mínimo el desarrollo de la altura. Sin embargo, *A. grande* con los niveles ANA 0 y 1,5 mg.l⁻¹ promovieron mejor el desarrollo del explante en 0,7 y 0,6 veces respectivamente, seguidos de ANA 0,75 mg.l⁻¹ que indujo 0,5 veces el desarrollo de la altura.

Otra observación importante, con 0,75 y 1,5 mg.l⁻¹ de ANA promovieron el desarrollo de la altura del explante, de igual manera el crecimiento más rápido en *A. grande*, en relación a *A. acerbeyae*. Sin embargo, en ambas especies, ANA 0 mg.l⁻¹ generó mayor crecimiento de la altura del explante, de forma independiente en relación a los otros tratamientos en estudio.

El número de hojas en el ANVA (Anexo XXXI) mostró diferencias significativas en el factor especie, diferencias altamente significativas en las concentraciones de ANA y la interacción. Por tanto, *A. grande* generó 2,9 hojas mientras que *A. acerbeyae* formó 1,9 hojas. La prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XXXI), demostró que 0 y 0,75 mg.l⁻¹ de ANA generaron más hojas (4,1 y 3,3 ud respectivamente) por el contrario, 6 mg.l⁻¹ de ANA formó 0,9 hojas.

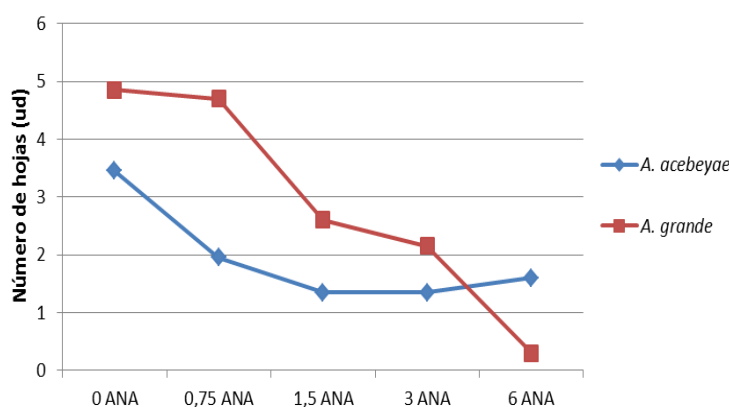
Tabla 35. Análisis de efectos simples del número de hojas (285 días).

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (.05)	Ft (.01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	19,60	1	19,60	2,81	NS	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	75,63	1	75,63	10,84	**		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	15,63	1	15,63	2,24	NS		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	6,40	1	6,40	0,92	NS		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	16,90	1	16,90	2,42	NS		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acebeyae</i>	61,84	4	15,46	2,22	NS	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	289,06	4	72,27	10,35	**		
ERROR	1326,10	190	6,98				

** Altamente significativo

NS No significativo

De acuerdo al análisis de efectos simples (Tabla 35), se puede observar diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en ANA 0,75 mg.l⁻¹ y en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. grande*.



Gráfica 20. Número de hojas (285 días).

Al analizar los efectos simples (Tabla 35 y gráfica 20) entre las especies se tiene que *A. grande* generó más hojas que *A. acebeyae* a excepción del tratamiento 6 mg.l⁻¹ de ANA que presentó una respuesta inversa. Paralelamente se tuvo la mayor cantidad de hojas formados por *A. grande* de 4,8 y 4,7 hojas, generados por 0 y 0,75 mg.l⁻¹ de ANA respectivamente, mientras que 1,5 y 3 mg.l⁻¹ de ANA generaron 2,6 y 2,5 hojas en promedio, por otro lado, ANA 6 mg.l⁻¹ casi no generó hojas (0,3). Sin embargo, en *A. acebeyae*, todos los tratamientos del fitoregulador generaron similar número de hojas.

Como se observó la formación de callo, se consideró la evaluación del largo de peciolo, que comenzó a los 83 días, por tanto, se la evaluó al finalizar la fase de enraizamiento donde el

ANVA (Anexo XXXII) mostró diferencias altamente significativas en los factores concentraciones de ANA y la interacción. Realizando la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XXXII), se mostró que 0 y 1,5 mg.l⁻¹ de ANA formaron 1,4 y 1,0 mm respectivamente en largo de peciolo, finalmente 6 mg.l⁻¹ de ANA generó 0,1 mm peor largo de peciolo.

Tabla 36. Análisis de efectos simples del largo de peciolo (285 días).

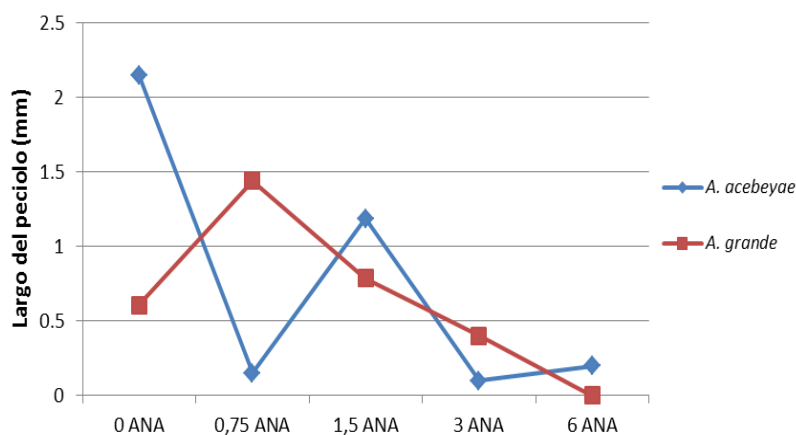
Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	23,85	1	23,85	10,89	**	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	16,68	1	16,68	7,62	**		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	1,60	1	1,60	0,73	NS		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	0,90	1	0,90	0,41	NS		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	0,40	1	0,40	0,18	NS		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acerbeyae</i>	64,72	4	16,18	7,39	**	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	22,65	4	5,66	2,59	*		
ERROR	416,17	190	2,19				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

En el análisis de efectos simples (Tabla 36), se observó diferencias significativas en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. grande*, así también, se obtuvo diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en 0 y 0,75 mg.l⁻¹ de ANA y en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. acerbeyae*.



Gráfica 21. Largo de peciolo (285 días).

Observando el análisis de efectos simples (Tabla 36 y gráfica 21) se tiene que, *A. acerbeyae* en ausencia de ANA formó 2,1 mm como el mayor largo de peciolo en relación a todas las combinaciones, también 1,5 mg.l⁻¹ de ANA formó 1,2 mm de largo de peciolo que fue viable.

Sin embargo, los tratamientos 0,75, 3 y 6 mg.l⁻¹ de ANA sólo generaron largo de peciolo 0,15, 0,1 y 0,2 mm respectivamente que son largos de peciolo no viables. Por otro lado, *A. grande* generó 1,4 mm como mayor largo de peciolo viable con 0,75 mg.l⁻¹ de ANA, también se observó que 1,5, 0 y 3 mg.l⁻¹ de ANA lograron similar largo de peciolo 0,8, 0,6 y 0,4 mm respectivamente, mientras que 6 mg.l⁻¹ de ANA no generó peciolos.

Así mismo, se observó el efecto inverso en la tasa de crecimiento del callo donde, a menor desarrollo del callo se formó un largo de peciolo viable, mientras que a mayor desarrollo del callo el largo de peciolo formado no fue viable, como en el caso de los niveles 0 y 0,75 mg.l⁻¹ de ANA, paralelamente a mayor concentración de ANA este efecto fue reduciendo.

A causa de la presencia de peciolos viables, se evaluó la formación de brote donde el ANVA (Anexo XXXIII) mostró diferencias altamente significativas en el factor especie y la concentración de ANA. En el factor especie, *A. acebeyae* expuso la mayor formación de brotes (46%) en relación a *A. grande* (26%), lo que explicó que, cuanto más tardó en iniciar la formación de brotes menor fue el número de brotes que generó. Por otro lado, al realizar la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 37) se observó que 0, 0,75 y 1,5 mg.l⁻¹ de ANA lograron mayor formación de brotes 60, 57 y 40 % respectivamente, mientras que 6 y 3 mg.l⁻¹ de ANA formaron 12 y 10 % de brotes respectivamente.

Tabla 37. Análisis de Duncan de la formación de brote.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	0,60	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	0,57	a
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	0,40	a
ANA 3 mg.l ⁻¹	0,10	b
ANA 6 mg.l ⁻¹	0,12	b

Luego de observar la formación de brote, se evaluó el número de brotes a los 285 días donde el ANVA (Anexo XXXIV), mostró diferencias altamente significativas en el factor ANA.

Tabla 38. Análisis Duncan del número de brotes (285 Días).

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	1,22	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	1,19	a
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	1,17	a
ANA 3 mg.l ⁻¹	1,02	b
ANA 6 mg.l ⁻¹	1,05	b

En las concentraciones de ANA el análisis de Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 38), mostró como 0, 0,75 y 1,5 mg.l⁻¹ de ANA generaron 1,2 ud en promedio que fueron el máximo número de brotes, al respecto, en *T. flagelliforme* con 0 mg.l⁻¹ de ANA lograron 4 brotes (Tiing *et al.* 2000). A la vez, 6 y 3 mg.l⁻¹ de ANA formaron 1,0 brote como la menor cantidad generada.

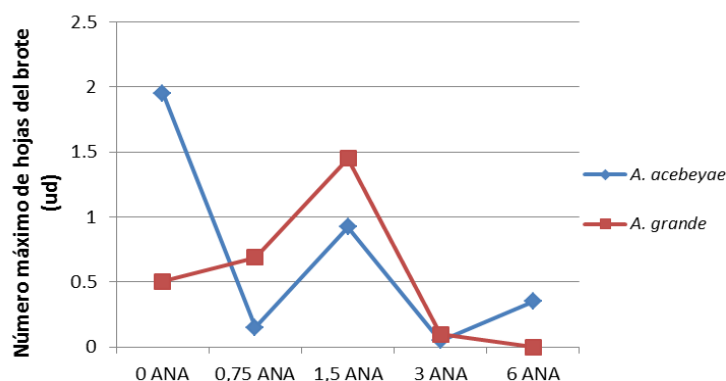
Por otro lado, fue necesario evaluar el máximo número de hojas del brote que con el ANVA (Anexo XXXV), presentó diferencias altamente significativas en las concentraciones de ANA y en la interacción. Con la prueba Duncan el factor ANA con $\alpha=,05$ (Anexo XXXV) logró que 0 y 1,5 mg.l⁻¹ de ANA generaran 1,2 hojas en promedio, mientras que, 0,75, 6 y 3 mg.l⁻¹ de ANA generaron los peores máximos números de hojas de 0,42, 0,17 y 0,07 respectivamente.

Tabla 39. Análisis de efectos simples del máximo número de hojas del brote.

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	20,88	1	20,88	15,40	**	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	2,92	1	2,92	2,15	NS		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	2,76	1	2,76	2,03	NS		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	0,03	1	0,03	0,02	NS		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	1,23	1	1,23	0,90	NS		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acebeyae</i>	49,19	4	12,30	9,07	**	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	26,73	4	6,68	4,93	**		
ERROR	257,62	190	1,36				

** Altamente significativo
NS No significativo

En el análisis de efectos simples (Tabla 39) se observó, diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en 0 mg.l⁻¹ de ANA y en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. acebeyae* y *A. grande*.



Gráfica 22. Máximo número de hojas del brote.

Observando el análisis de efectos simples (Tabla 39 y la gráfica 22), se tiene que *A. grande* formó más hojas que *A. acebeyae* exceptuando los niveles 0 y 6 mg.l⁻¹ de ANA que dieron resultados inversos. La combinación de *A. acebeyae* con ANA 0 mg.l⁻¹ generó 1,9 hojas que refirió el máximo número de hojas del brote, seguido de los tratamientos 1,5 y 6 mg.l⁻¹ de ANA que generaron 0,9 y 0,4 hojas en el brote respectivamente y los tratamientos de ANA 0,75 y 3 mg.l⁻¹ no generaron hojas en el brote.

Los resultados para *A. grande* indicaron que 1,5 mg.l⁻¹ de ANA logró 1,5 ud que fue el máximo número de hojas del brote, seguido de los tratamientos 0,75 y 0 mg.l⁻¹ de ANA que formaron 0,7 y 0,5 hojas en el brote respectivamente y por el contrario 3 y 6 mg.l⁻¹ de ANA no formaron hojas en el brote, los resultados obtenidos en la formación de hojas del brote están altamente correlacionados con la altura del explante.

Para *A. acebeyae* se analizó la asociación de las diferentes variables de respuesta con el ANOVA, para determinar el efecto en la generación del mayor largo de raíz (Tabla 40), donde se observa que el coeficiente de correlación múltiple (R) 0,99 mostró una asociación altamente significativa entre la variable dependiente y las variables independientes. Por tanto, el coeficiente de determinación (R²) presentó que el 99%, se debió al efecto del inicio de formación de raíz, número máximo de raíz y el diámetro de la raíz que permitieron la generación del mayor largo de raíz de *A. acebeyae*, por el contrario el 1% es el efecto de otros factores que influyen en la generación del mayor largo de raíz.

Tabla 40. ANOVA Correlación múltiple del mayor largo de raíz (*A. acebeyae*).

Modelo		Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	1187,86	3	395,95	160,46	,06(a)
	Residual	2,47	1	2,47		
	Total	1190,33	4			

Modelo	R	R cuadrado	Tablas en R		Significancia de R
			(α=,05)	(α=,01)	
1	,99(a)	,99	0,98	0,99	**

a Variables predictoras: (Constante), Inicio de formación de raíz, número máximo de raíz, diámetro de la raíz

** Altamente significativo

Realizando el análisis de correlación múltiple (ver Anexo XXXVI), el coeficiente de regresión parcial (β) mostró 31,13 que analizado con el β standard presentó que, en 1,18 mm aumentó el largo de la raíz de *A. acebeyae* por cada mm que engrosó el diámetro de la raíz. A la vez,

se observó que el β presentó -7,95, que con el β standard reveló que, en 1,42 mm disminuyó el largo de raíz por cada raíz que generó en el explante. Por último, el β expusó -0,15 que en el β standard demostró que, en 1,21 mm disminuyó el largo de raíz por cada día que se retrazó en el inicio de formación de la raíz.

En los análisis de los coeficientes de correlación (r) se obtuvo: r que generó 0,97 que mostró con el coeficiente de correlación parcial 0,79 que significa, una alta relación entre el diámetro de la raíz y la generación del mayor largo de raíz. También r logró 0,94 pero con r parcial determinó -0,95 que significa, una relación negativa muy alta entre el número de raíz y la generación del mayor largo de raíz. Posteriormente r presentó -0,98 que analizado con r parcial reveló -0,90 que indica una alta relación negativa entre el inicio de la formación de la raíz y el mayor largo de raíz de *A. acerbeyae*.

El análisis del coeficiente de determinación (r^2) mostró que la generación del largo de raíz afectó en 63% la formación del diámetro de la raíz, además en el r^2 se observó que el 91% se debió al efecto del número de raíz que permitió la generación del largo de raíz, finalmente el r^2 presentó que el 81% es el efecto del inicio de formación de raíz que permitió la generación del largo de raíz de *A. acerbeyae*.

En la fase de enraizamiento en *A. grande* se analizó la asociación de las diferentes variables de respuesta, que podrían afectar en la generación del mayor largo de raíz, donde el ANOVA (Tabla 41) mostró que el coeficiente de correlación múltiple (R) fue 0,986 que indicó una asociación significativa entre la variable dependiente y las variables independientes. Por tanto, el coeficiente de determinación (R^2) demostró como el 97% se debió al efecto de la formación del brote, número de hojas del explante y el número de raíz que permitieron la generación del largo de raíz en *A. grande* y por el contrario el 3% es el efecto de otros factores que influyeron en la generación del largo de raíz.

Tabla 41. ANOVA de la correlación múltiple del mayor largo de raíz (*A. grande*).

Modelo		Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	645,70	3	215,23	11,55	,21(a)
	Residual	18,64	1	18,64		
	Total	664,34	4			

Modelo	R	R cuadrado	Tablas en R		Significancia de R
			($\alpha=,05$)	($\alpha=,01$)	
1	,986(a)	,972	0,975	0,995	*

a Variables predictoras: (Constante), Formación del brote, número de hojas del explante, número máximo de la raíz

* Significativo

Con los datos obtenidos (Anexo XXXVII), se mostró que el coeficiente de regresión parcial (β) logró 1,47 pero el β standard presentó que en 0,68 mm aumentó el largo de raíz de *A. grande* por cada raíz que se formó, también se observó que el β presentó 3,91 que con el β standard reveló que, en 0,58 mm aumentó el largo de raíz por cada hoja que generó el explante, por último β expuso -15,86 que en el β standard demostró que, en 2,51 mm disminuyó el largo de raíz por cada brote que se formó en *A. grande*.

El análisis de correlaciones mostró lo siguiente: El coeficiente de correlación (r) logró 0,95 que con el coeficiente de correlación parcial mostró 0,66 que significa, una relación intermedia entre el máximo número de raíces y la generación del largo de raíz. Así se tiene que, r mostró 0,96 pero con r parcial determinó 0,83 que significa, una relación alta entre el número de hojas del explante y la generación del largo de raíz, posteriormente r presentó 0,92 que con r parcial reveló -0,32 lo que significa una relación baja y negativa entre la formación del brote y el largo de raíz en *A. grande*.

Finalmente, el coeficiente de determinación (r^2) mostró que el 43% fue efecto del máximo número de raíces formados que permitieron la generación del largo de raíz, además r^2 demostró que el 69% fue debido al efecto del número de hojas del explante que lograron la generación del largo de raíz y al mismo tiempo el r^2 presentó que, el 10% fue efecto de la formación del brote que permitió la generación del largo de raíz en *A. grande*.

Considerando que la contaminación apareció en *A. acebeyae* mucho más antes (333 días) que en *A. grande*, se deduce que podría deberse a factores como la presencia de bacterias endófitas²⁹ que se manifiestan en tiempo prudente y condiciones adecuadas, es así que los microorganismos endógenos están en forma localizada o de manera sistémica dependiendo de la anatomía del tejido (Cassells 1991; citado en Debergh y Zimmerman 1991).

Las bacterias endofíticas son capaces de permanecer latentes en el interior de las células, en los espacios intercelulares donde quedan protegidos de los agentes químicos, de esta forma se introducen en el cultivo de tejidos y permanecen sin expresarse por largos periodos

²⁹ *Bacterias endófitas*, considerado como endófito a todo microorganismo que vive en el interior de una planta por al menos un periodo de su ciclo de vida (Azevedo, Maccheroni, Pereira y Araújo 2000).

de tiempo, debido a la inhibición ocasionada por altas concentraciones de sales, sacarosa o el pH y solo se manifiestan en condiciones de estrés (Cassells 1991, de acuerdo con Leifert *et al.* 1994, citados en Jiménez 1999).

Las bacterias son consideradas los contaminantes más comunes *in vitro*, porque pueden ser sistémicos y su detección es más difícil, así mismo, la bacteria asociada con la planta (endophytica y epifítica) induce resistencia del huésped al estrés ambiental, por tanto está resistencia al estrés biótico y abiótico es inducida en las plantas por los jasmonatos y el ácido salicílico (Conrath *et al.* 2002; citado en Nowak y Pruski (2004). También puede ser debido a la asociación del explante-medio y las condiciones físicas en las que normalmente se cultivan los explantes, que conforman un ambiente propicio para la proliferación de bacterias y hongos, los cuales pueden destruir o competir con el explante o modificar la composición del medio de cultivo (Roca y Mroginski 1991; citado en Olivera, Tamariz y Gutierrez 2010).

La contaminación bacteriana en la mayoría de los casos permitió la sobrevivencia de los explantes, por eso se realizó el ANVA (Anexo XXXVIII) que mostró, diferencias altamente significativas en los factores especie, concentraciones de ANA y la interacción. La diferencia entre especies mostró que *A. acebeyae* se contaminó en 42% con bacterias mientras que *A. grande* no. En el análisis de Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XXXVIII) se observó que ANA 0 y 0,75 mg.l⁻¹ presentaron 37 y 35 % de contaminación bacteriana respectivamente. Mientras 3, 1,5 y 6 mg.l⁻¹ de ANA mostraron menor contaminación dando 12, 10 y 10 % respectivamente.

Tabla 42. Análisis de efectos simples de la contaminación con bacteria.

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	5,63	1	5,63	59,05	**	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	4,90	1	4,90	51,44	**		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	0,40	1	0,40	4,20	*		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	0,63	1	0,63	6,56	*		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	0,40	1	0,40	4,20	*		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. acebeyae</i>	6,26	4	1,57	16,43	**	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	0,00	4	0,00	0,00	NS		
ERROR	18,10	190	0,10				

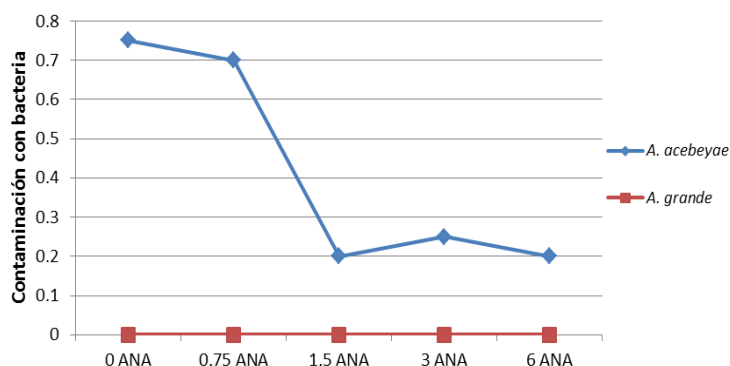
* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

La interacción, se analizó con efectos simples (Tabla 42) que presentó: diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en 0 y 0,75 mg.l⁻¹ de ANA, al igual que en el efecto

de las concentraciones de ANA en *A. acerbeyae*, de igual manera se observó diferencias significativas en el efecto de las especies en 1,5, 3 y 6 mg.l⁻¹ de ANA, pero no presentó diferencias estadísticas en el efecto de las diferentes concentraciones de ANA en *A. grande*.



Gráfica 23. Contaminación con bacteria.

Observando la gráfica 23 y el análisis de efectos simples (Tabla 42) se tiene que *A. acerbeyae* presentó mayor contaminación con bacteria en relación a *A. grande*. Así mismo, *A. acerbeyae* con 0 y 0,75 mg.l⁻¹ de ANA se contaminaron en 75 y 70 % respectivamente. Por otro lado, en 3, 1,5 y 6 mg.l⁻¹ de ANA se contaminaron en 25, 20 y 20 % respectivamente. También se observó que, a mayor concentración del regulador la contaminación bacteriana se redujo, porque estas concentraciones generaron menor estrés en el explante, el mismo que podría estar relacionado con la menor expresión de la bacteria endofítica por tanto, la interacción confirma lo observado en los factores por separado.

Por otro lado, se evaluó la oxidación del explante en el medio por su elevada presencia donde el ANVA (Anexo XXXIX) mostró, diferencias altamente significativas en el factor especie y la interacción. En el factor especie se observó que *A. acerbeyae* presentó 43% de oxidación, mucho más que en *A. grande* donde se presentó el 24%, lo que hace asumir una relación directa con el genotipo.

Tabla 43. Análisis de efectos simples de la oxidación.

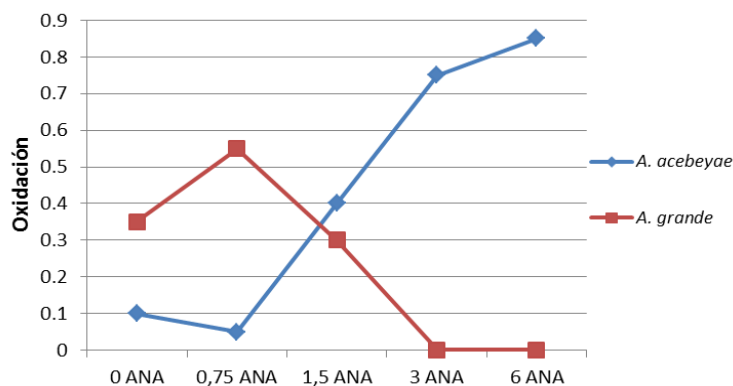
Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	0,63	1	0,63	4,31	*	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	2,50	1	2,50	17,24	**		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	0,10	1	0,10	0,69	NS		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	5,63	1	5,63	38,79	**		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	7,23	1	7,23	49,83	**		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. accebeyae</i>	10,66	4	2,67	18,38	**	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	4,54	4	1,14	7,83	**		
ERROR	27,55	190	0,15				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

Al realizar la (Tabla 43) del análisis de efectos simples se obtuvo el siguiente resultado: diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en 0,75, 3 y 6 mg.l⁻¹ de ANA y en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. accebeyae* y *A. grande*, finalmente presentó diferencias significativas en el efecto de las especies en 0 mg.l⁻¹ de ANA.



Gráfica 24. Oxidación.

Según la gráfica 24 y los análisis de efectos simples (Tabla 43) se observa que, *A. accebeyae* presentó mayor oxidación de 85 y 75 % con los tratamientos 6 y 3 mg.l⁻¹ de ANA respectivamente, a la vez mostró un resultado inverso al efecto de 0 y 0,75 mg.l⁻¹ de ANA que generaron 10 y 5 % respectivamente. Sin embargo, en relación a *A. accebeyae* fue contrario la reacción de *A. grande* con los tratamientos 0,75 y 0 mg.l⁻¹ de ANA que formaron 55 y 35 % de oxidación respectivamente, inversamente 6 y 3 mg.l⁻¹ de ANA no presentaron oxidación. Por otro lado, con 1,5 mg.l⁻¹ de ANA reaccionaron de manera similar ambas especies generando 40 y 30 % de oxidación para *A. accebeyae* y *A. grande*, respectivamente.

Otros estudios observaron que, la oxidación del explante en el medio de cultivo es atribuida a la producción de sustancias fenolicas por parte del explante cuando los tejidos son lastimados o senescentes, reportados por varios autores como Pérez 1998; citado en Ruiz Bertha 2000; Cassells y Curry 2001; George 2008 citado en George *et al.* 2008. Al respectó en *A. andraeanum* la presencia de oxidación en los explantes se manifestó en un 20% generando alta mortalidad (Oscullo M. 2011).

En resumen, *A. acebeyae* con los tratamientos 0 y 0,75 mg.l⁻¹ de ANA presentó mayor contaminación bacteriana, paralelamente en los mismos la oxidación fue menor. Por otro lado, los tratamientos 3 y 6 mg.l⁻¹ de ANA generaron mayor oxidación, pero estos mostraron menor contaminación bacteriana, de igual manera se observó que 1,5 mg.l⁻¹ de ANA mostró un porcentaje similar en la contaminación bacteriana y la oxidación.

Por lo anterior explicado, es importante mencionar que los explantes que presentaron a la vez oxidación y contaminación perecieron en menor tiempo y con alguna frecuencia ocurrió lo mismo en aquellos explantes que sufrieron primero contaminación bacteriana en aumentó y en el transcurso del tiempo se oxidaron. Por otro lado, se observó que 6 mg.l⁻¹ de ANA no formó callo o raíz y a la vez, este tratamiento eliminó la parte aérea, esto al parecer generó que el explante comience a oxidarse, el mismo que posteriormente se extendió al medio. Así, se observa en la Figura 9, oxidación y contaminación bacteriana en el explante y el medio.

Así mismo, en *A. acebeyae* la contaminación bacteriana se presentó en menor tiempo y sufrió mayor oxidación que *A. grande*, al respecto López C. (2005) también observó que la contaminación presente en algunos explantes fue controlada por la oxidación del medio, pudiendo ser eliminados completamente al trabajar con *Phalaenopsis*. La oxidación fenólica en ocaciones puede constituirse en un serio problema en el establecimiento y sobrevivencia de los explantes; aunque este efecto es mayor en especies leñosas, se ha reportado también en un amplio rango de vegetales (Jiménez 1998; citado en López C. 2005).

Un problema detectado no muy frecuente fue la vitrificación³⁰ en algunos callos y hojas *in vitro*, fenómeno que se observó principalmente, cuando el tiempo de cultivo se exedió, el mismo que no generó la muerte del explante pero si redujó su producción, al respecto Ziv M. (1991) indicaron que un desbalance entre citocininas y auxinas puede causar vitrificación.

³⁰ *Vitrificación*, anormal morfología con un aparente malfuncionamiento por el estrés causado por una elevada humedad relativa en el envase que contiene a la vitropanta (Ziv y halevy 1983; citado en Pierik R. 1989).

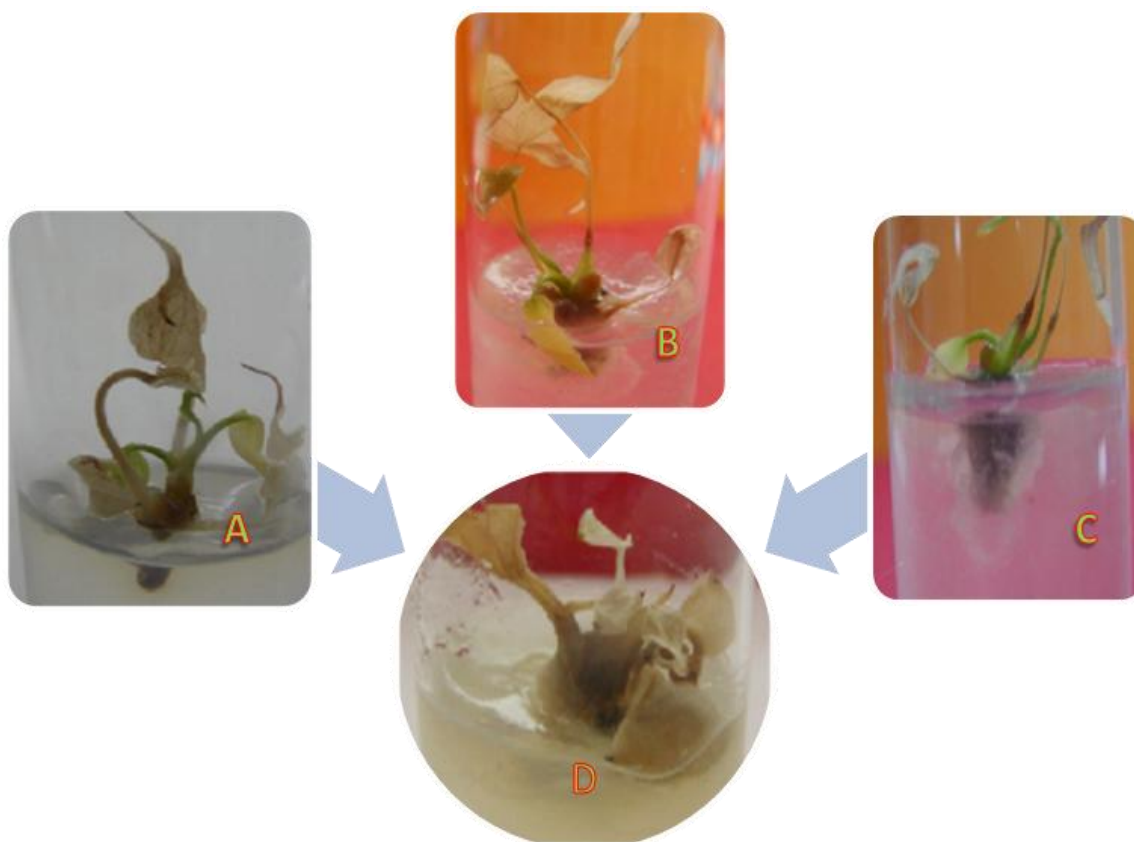


Figura 9. Contaminación y oxidación en la fase de enraizamiento, (A) oxidación del explante y el medio; **(B)** contaminación con bacteria e inicio de oxidación del explante; **(C)** contaminación con bacteria; **(D)** contaminación con bacteria y oxidación del explante y el medio. Elaboración propia.

Por otro lado, se evaluó la muerte de los explantes a los 10 meses, porque muchos factores afectaron en este proceso, como se observó anteriormente, en el ANVA (Anexo XL) mostró diferencias altamente significativas en el factor especie y concentraciones de ANA, finalmente presentó diferencias significativas en la interacción. La diferencia entre especies mostró que *A. grande* presentó 37% de explantes muertos, mientras que *A. acerbeyae* generó 20% de mortandad. Para las concentraciones de ANA se hizo la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Anexo XXXIX) que mostró como 6 mg.l⁻¹ de ANA generó 72% de explantes muertos mientras que, 3, 0,75, 1,5 y 0 mg.l⁻¹ de ANA generaron 25, 20, 15 y 10 % de explantes muertos, respectivamente.

Tabla 44. Análisis de efectos simples del % de mortalidad en los explantes.

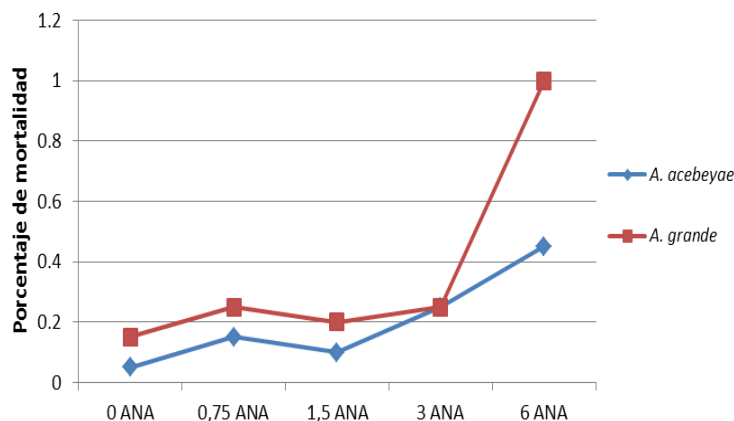
Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para Especie</i>							
Entre Especie en 0 mg.l ⁻¹ ANA	0,10	1	0,10	0,70	NS	3,91	6,81
Entre Especie en 0,75 mg.l ⁻¹ ANA	0,10	1	0,10	0,70	NS		
Entre Especie en 1,5 mg.l ⁻¹ ANA	0,10	1	0,10	0,70	NS		
Entre Especie en 3 mg.l ⁻¹ ANA	0,00	1	0,00	0,00	NS		
Entre Especie en 6 mg.l ⁻¹ ANA	3,025	1	3,03	21,09	**		
<i>Efectos simples para ANA</i>							
Entre ANA en <i>A. accebeyae</i>	2,00	4	0,50	3,49	*	2,43	3,44
Entre ANA en <i>A. grande</i>	10,06	4	2,52	17,54	**		
ERROR	27,25	190	0,14				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

Observando el análisis de efectos simples (Tabla 44) se tiene diferencias altamente significativas en el efecto de las especies en 6 mg.l⁻¹ de ANA y en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. grande*, finalmente se observó diferencias significativas en el efecto de las concentraciones de ANA en *A. accebeyae*.



Gráfica 25. % de mortalidad en los explantes.

Como se puede apreciar en la gráfica 25 y el análisis de efectos simples (Tabla 44), 0,75, 1,5 y 0 mg.l⁻¹ de ANA en ambas especies mostraron similares resultados: 25, 20 y 15 % para *A. grande* y 15, 10 y 5 % para *A. accebeyae* respectivamente, A la vez, 3 mg.l⁻¹ de ANA en ambas especies presentó el mismo porcentaje (25%) de mortalidad. Sin embargo 6 mg.l⁻¹ de ANA en *A. accebeyae* generó 45% de mortalidad, por el contrario en *A. grande* generó 100% de mortalidad. Al respectó, reportaron muerte de los explantes en *A. andraeanum*, que pudo deberse a la contaminación bacteriana que alcanzó un 40% y fungíca (Oscullo M., 2011).

En relación al anterior párrafo, también se puede aseverar que después de 10 meses, la más alta concentración de ANA afectó la sobrevivencia de *A. grande*, así mismo, ambas especies fueron afectadas en este parámetro por la alta concentración de ANA además, algunas auxinas en elevadas concentraciones son fitotóxicas esto podría deberse al efecto herbicida, que tienen algunas auxinas (Machakova *et al.* 2008; citado en George *et al.* 2008).

Por el efecto de la contaminación, se realizó el ANOVA de correlación múltiple para *A. grande* (Tabla 45) donde el coeficiente de correlación múltiple (R) mostró 0,99 que explica una asociación altamente significativa entre la variable dependiente y las variables independientes, el mismo que con el coeficiente de determinación (R^2) mostró que el 99% se debió al efecto del número de brotes, porcentaje de mortalidad y la oxidación que permitieron el mayor largo de raíz de *A. grande*, por otro lado el 1% se debió al efecto de otros factores que influyeron en la generación del largo de raíces.

Tabla 45. ANOVA de la correlación múltiple del mayor largo de raíz (*A. grande*).

Modelo		Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	657,46	3	219,15	31,86	,13(a)
	Residual	6,88	1	6,88		
	Total	664,34	4			

Modelo	R	R cuadrado	Tablas en R ($\alpha=,05$) ($\alpha=,01$)		Significancia de R
1	,99(a)	,99	0,98	0,99	**

a Variables predictoras: (Constante), número de brotes, porcentaje de mortalidad y oxidación

** Altamente significativo

De igual manera, en el Anexo XLI, se observó que el coeficiente de regresión parcial (β) mostró -22,73 pero con el β standard se tuvo que, en 0,62 mm disminuyó el largo de raíz por cada detrimento que generó la muerte de *A. grande*. En el análisis de β presentó 57,77 que con β standard mostró que 1,07 mm aumentó el largo de la raíz por cada presencia de oxidación. Por ultimo, β mostró -63,88 que con el análisis de β standard manifestó que en 0,58 mm disminuyó el largo de la raíz por cada brote que se generó.

Por otro lado, el coeficiente de correlación (r) presentó -0,90 pero, el r parcial mostró -0,98 que significa una relación negativa perfecta del porcentaje de mortalidad del explante y el largo de raíz producidos en *A. grande*, de igual manera, r mostró 0,85 que en el r parcial presentó 0,84 que significa una relación alta entre la oxidación y la generación del largo de

raíz, finalmente r mostró 0,83 que con el análisis de r parcial reveló -0,64 que indica la existencia de una relación negativa intermedia entre el número de brotes y el largo de raíz producidos en *A. grande*.

Finalmente, se analizó el coeficiente de determinación (r^2) que, mostró como el 96% del crecimiento del largo de raíz de *A. grande* fue afectado por el porcentaje de mortalidad del explante. Así mismo el r^2 presentó como el 70% del largo de raíz fue afectado por el efecto de la oxidación. Por último r^2 demostró que el 41% se debió al efecto del número de brotes que redujo el crecimiento del largo de raíz de *A. grande*.

En resumen (Figura 10) se observa los resultados de *Anthurium acebeyae*, en la fase de enraizamiento:

ANA 0 mg.l⁻¹, inició la formación de raíces de manera temprana, generó mayor largo de raíz con el máximo número y mayor diámetro, por otro lado, generó menor diámetro del callo, también estimuló regular desarrollo del explante con máximo número de hojas, se observó largo de peciolo adecuado que generó máximo número de brotes con el máximo número de hojas, presentó alta contaminación con bacteria, moderada oxidación y moderada cantidad de muertes en el explante.

ANA 1,5 mg.l⁻¹, inició la formación de raíz tardíamente, generó buen largo de raíz, con buena cantidad y buen diámetro, por otro lado, generó buen diámetro del callo, también promovió menor diámetro del explante con buen número de hojas, por otro lado, generó buen largo de peciolo que generó el máximo número de brotes con regular número de hojas, finalmente presentó regular contaminación bacteriana, regular oxidación y moderada muerte de los explantes.

ANA 0,75 mg.l⁻¹, inició la formación de raíz tardíamente, que generó buen largo de raíz con buen número y buen diámetro, así mismo presentó máximo desarrollo del callo, manifestó desarrollo menor del explante con buen número de hojas, tardó en generar largo de peciolo adecuado que generó máximo número de brotes con la menor cantidad de hojas. Sin embargo, sufrió alta contaminación bacteriana con moderada oxidación que manifestó moderada muerte de los explantes.

ANA 3 mg.l⁻¹, inició la formación de raíz tardíamente que generó buen largo de raíz con buen número y buen diámetro que mostró buen desarrollo del diámetro del callo, no estimuló el desarrollo del explante, generó buen número de hojas que tardó en generar largo de

peciolo adecuado pero generó buen número de brotes que generó menor cantidad de hojas, a la vez, presentó regular contaminación con bacteria, mínima oxidación y regular muerte de los explantes.

ANA 6 mg.l⁻¹, inició la formación de raíz tardíamente, generó menor largo de raíz con menor número y regular diámetro, así mismo generó menor diámetro de callo con menor desarrollo del explante y buen número de hojas, que tardó en formar el largo de peciolo adecuado que llegó a formar buen número de brotes con regular número de hojas, sin embargo, presentó regular contaminación bacteriana con mínima oxidación y mínima cantidad de muerte en los explantes.

Para *Anthurium grande*, (Figura 9) en particular todos los explantes no presentaron contaminación con bacteria y el resultado mostró lo siguiente:

ANA 0,75 mg.l⁻¹, inició la formación de raíces tempranamente, generó mayor largo de raíz con máximo número y mayor diámetro, por otro lado, promovió menor desarrollo del diámetro del callo, también estimuló regular desarrollo del explante con máxima cantidad de hojas, así mismo, formó mayor largo de peciolo que generó el máximo número de brotes con regular número de hojas, finalmente, presentó menor oxidación y menor muerte de los explantes.

ANA 0 mg.l⁻¹, inició la formación de raíz tempranamente, que generó el mayor largo de raíz con buen número y mayor diámetro, así mismo, promovió el menor desarrollo del callo y la máxima altura del explante con máximo número de hojas, generó regular largo de peciolo que formó el máximo número de brotes con regular número de hojas, finalmente presentó regular número de muertos en los explantes.

ANA 1,5 mg.l⁻¹, inició la formación de raíz tempranamente que generó mayor largo de raíz con buen número y mayor diámetro, que no promovió desarrollo del explante pero generó buen número de hojas, así mismo, formó regular largo de peciolo que formó máximo número de brotes con el máximo número de hojas, por otro lado, presentó regular oxidación con regular número de explantes muertos.

ANA 3 mg.l⁻¹, inició la formación de raíz en tiempo moderado, presentó mayor largo de raíz con regular número y mayor diámetro a la vez, generó desarrollo moderado del callo no promovió el desarrollo del explantes pero formó buen número de hojas, por otro lado, generó regular largo de peciolo que logró buen número de brotes con el menor número de hojas, finalmente, presentó alta oxidación y regular número de explantes muertos.

ANA 6 mg.l⁻¹, inició la formación de raíz en tiempo regular, generó menor largo de raíz con menor número y menor diámetro, no incentivó desarrollo del callo tampoco del explante y fomó menor número de hojas, tardó en generar el largo de peciolo adecuado y formó número de brotes moderado con menor cantidad de hojas, por último, presentó alta oxidación y menor número de explantes muertos.

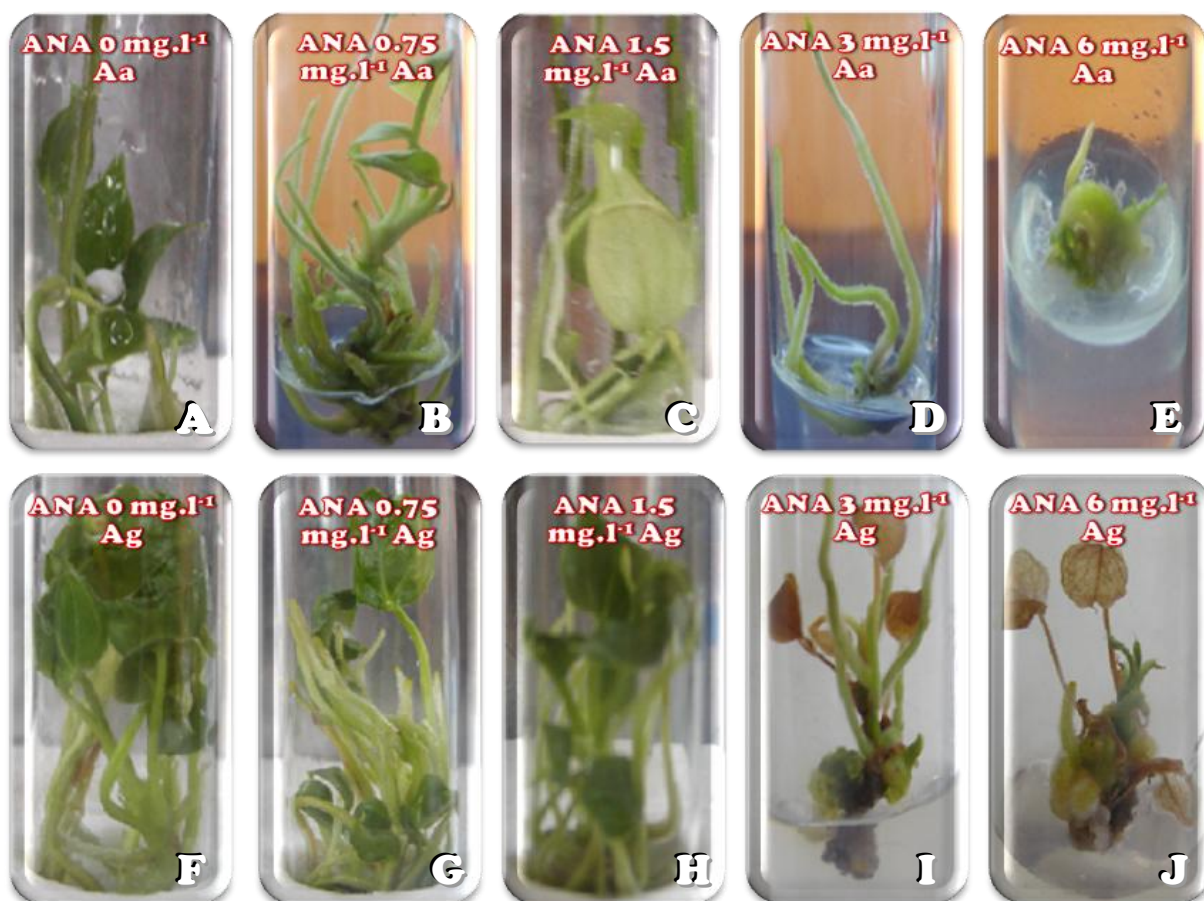


Figura 10. Fase de enraizamiento. Resultado final (A) *A. acebeyae* con ANA 0 mg.l⁻¹; (B) *A. acebeyae* con ANA 0,75 mg.l⁻¹; (C) *A. acebeyae* con ANA 1,5 mg.l⁻¹; (D) *A. acebeyae* con ANA 3 mg.l⁻¹; (E) *A. acebeyae* con ANA 6 mg.l⁻¹; (F) *A. grande* con ANA 0 mg.l⁻¹; (G) *A. grande* con ANA 0,75 mg.l⁻¹; (H) *A. grande* con ANA 1,5 mg.l⁻¹; (I) *A. grande* con ANA 3 mg.l⁻¹; (J) *A. grande* con ANA 6 mg.l⁻¹. Elaboración propia.

7.3. Aclimatación

Una vez que las vitroplantas han sido multiplicadas, enraizadas y poseían el tamaño adecuado, fueron llevadas a condiciones de vivero para su aclimatación, las vitroplantas al retornar a sus condiciones autótrofas necesitaron de cuidados especiales, donde fue muy importante el control de las condiciones de humedad, temperatura y sustrato utilizado, ya que de estos factores dependió la sobrevivencia de los individuos.

En la aclimatación de las especies en estudio se consideró para su evaluación 2 meses, donde los sustratos utilizados en común para todos los tratamientos fueron tierra de lecho de río con el sustrato de tratamiento en relación 1:1, carbón al 10% en aquellos tratamientos que lo contenían y ladrillo al 5% en todos los tratamientos, es así que, experiencias en *A. andraeanum* cv. Agnihothi cuando fueron tratado con tierra de lecho de río con carbón en relación 3:1 generó 89% de sobrevivencia según Bejoy *et al.* (2008).

Durante el tiempo de aclimatación las cajas que contenían a los tratamientos fueron colocadas bajo un mesón y techo semisombra que generó 98% de sombra aproximadamente y la temperatura dentro del vivero reportó 25,9 °C en promedio.

7.3.1. *Anthurium acebeyae*

La evaluación se inició con la sobrevivencia en *A. acebeyae* que mostró la capacidad de aclimatación de la planta vs el sustrato propuesto, se identificó la mejor mezcla así mismo, el tiempo en el cual logró el desarrollo y sobrevivencia de la vitroplanta a condiciones naturales.

Tabla 46. Análisis de duncan de la sobrevivencia (*A. acebeyae* a los 15 días).

Tratamiento	Promedio	Duncan
Cascarilla de arroz	1,0	a
Chachín	0,8	b
Grava	1,0	a
Fibra de coco	0,9	ab

De acuerdo al análisis de sobrevivencia para *A. acebeyae*, el ANVA para los 15 días (Anexo XLII), mostró diferencias estadísticas en el factor sustrato (Tabla 46), donde el tratamiento cascarilla de arroz alcanzó una sobrevivencia de 100% al respecto, Trujillo *et al.* (2000) en su investigación en *A. andraeanum* Lind. var. "Sonate" tratado con paja de arroz y cachaza en proporción 1:1 obtuvieron 90% de sobrevivencia, estos resultados fueron similares a los obtenidos en la presente investigación.

Así mismo, otro de los sustratos que generó buenos resultados, fue grava con 100% de sobrevivencia, en relación los estudios de *T. flagelliforme* trasplantadas en arena y fibra de coco 1:1 mostraron 92% de sobrevivencia (Tiing *et al.* 2000).

También se observó que con fibra de coco se generó 90% de sobrevivencia, que es similar al dato obtenido en *Philodendron* sp., sembrado en un sustrato compuesto por suelo y fibra de coco en proporción 1:1 donde presentó buenos resultados, obteniéndose hasta 91% de estabilidad según Blanco y Valverde, 2004 de igual manera, obtuvieron el mismo porcentaje

en *T. flageliforme* Tiing *et al.* (2000). También en *A. andraeanum* las combinaciones de arena, tierra y fibra de coco lograron un 85% de sobrevivencia reportados por Jahan *et al.* (2009) finalmente, en *A. andraeanum* var. Lambada la combinación de casting³¹, zeolita y fibra de coco generaron una sobrevivencia de 95% (Agramonte *et al.* 2007).

Por último, con el sustrato chachin se generó 80% de sobrevivencia, que estadísticamente mostró como el sustrato menos adecuado para la aclimatación.

Los análisis estadísticos no mostraron diferencias estadísticas en la utilización de sustratos adicionados con carbón y aquellos sin carbón.

Luego de los 15 días críticos de la aclimatación en *A. acebeyae* se evaluó la altura del explante, donde el ANVA (Anexo XLIII) mostró diferencias significativas en el factor sustrato. Para este factor se realizó la prueba Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 47), que mostró como el mejor sustrato a grava que generó 44,2 mm de altura, seguido de la cascarilla de arroz que generó 36,2 mm en altura por el contrario, Viégas *et al.* (2007) al experimentar con la combinación de suelo, vermiculita y arena lograron 69,9 mm de altura en *A. andraeanum*, así mismo, con la combinación de suelo, vermiculita y cascarilla de arroz carbonizado lograron 55,4 mm entonces, los resultados obtenidos son menores en relación a otras experiencias probablemente porque se trató con especies emparentadas a *A. acebeyae*.

Paralelamente los sustratos chachin y fibra de coco generaron 29,7 y 27,4 mm en promedio respectivamente, que fueron las menores alturas generadas entre los tratamientos en estudio, por otro lado, la combinación suelo, vermiculita y chachin en *A. andraeanum* lograron 69,6 mm de altura Viégas *et al.* (2007), mientras que estudios en *A. andraeanum* var. Lambada con la combinación de casting, zeolita y fibra de coco generaron plantines con altura de 101 mm (Agramonte *et al.* 2007) como se observó los resultados obtenidos generaron menores alturas en relación a otras experiencias.

Tabla 47. Análisis Duncan de la altura del explante (*A. acebeyae* a los 15 días de la aclimatación)

Tratamiento	Promedio	Duncan
Cascarilla de arroz	36,2	ab
Chachín	29,75	b
Grava	44,2	a
Fibra de coco	27,45	b

³¹ Casting = humus de lombriz

De igual manera, se evaluó el número de hojas donde el ANVA no mostró diferencias estadísticas para esta variable en estudio, al respecto Nguyen, Jo y Hernández (2012) al trabajar con *S. plicata* lograron mejores resultados en la obtención de mayor altura y máximo número de hojas adicionando al sustrato carbón.

La evaluación del largo de la raíz, no mostró diferencias estadísticas. Por ello, se evaluó el número de raíces a los dos meses, donde el ANVA (Anexo XLIV) presentó diferencias significativas en el factor carbón, que mostró la formación de 6,25 raíces y los tratamientos sin carbón generaron 3,08 raíces que se aproxima a la mitad de lo generado con carbón.

Finalmente, se evaluó el diámetro del cuello a los dos meses de sobrevivencia, donde el ANVA (Anexo XLV), mostró diferencias significativas en los factores presencia de carbón y sustrato. Para el factor presencia de carbón, se observó que los tratamientos con carbón generaron (6,88 mm) mayor diámetro, en referencia a los tratamientos sin carbón (4,65 mm) por tanto, el carbón coadyuvó al desarrollo del diámetro del cuello al igual que en el desarrollo de la raíz, este efecto referido se debió a la capacidad desinfectante del carbón como también a sus propiedades que en especies terrestres genera más raíces.

Al realizar las pruebas Duncan para los sustratos con un $\alpha=,05$ (Tabla 48), se obtuvo que los tratamientos cascarilla de arroz y grava generaron (7,58 y 7,05 mm) los mayores diámetros del cuello, como también establecieron y permitieron el desarrollo adecuado de los plantines en el tiempo. Por el contrario, los sustratos chachin y fibra de coco generaron menor diámetro de 4,33 y 4,10 mm en promedio respectivamente, que a la vez tardaron en establecer a los plantines y debido a su alta capacidad de retención de agua presentaron hongos que eliminaron algunos explantes en los primeros 15 días, pero fue posible controlarlos con el control de la humedad dentro de los ambientes de aclimatación.

Tabla 48. Análisis Duncan del diámetro de cuello (*A. acebeyae* a los dos meses).

Tratamiento	Promedio	Duncan
Cascarilla de arroz	7,58	a
Chachin	4,33	b
Grava	7,05	a
Fibra de coco	4,10	b

En resumen, el efecto de los diferentes sustratos en la aclimatación (Figura 11) para *Anthurium acebeyae ex vitro* generó:

Cascarilla de arroz con carbón, esta combinación generó alta sobrevivencia, que permitió buena altura del plantin con buenas características fenotípicas luego del mes permitió su buen establecimiento, con mayor largo de raíz y el mayor diámetro del cuello.

Grava con carbón, este tratamiento generó alta sobrevivencia, permitió la mayor altura del plantin que inicialmente logró buen desarrollo del explante pero con el tiempo requirió la adición de nutrientes, a la vez generó mayor largo de raíz y formó el mayor diámetro del cuello. Sin embargo, es importante informar que pasado los dos meses este sustrato desarrollo un pseudotallo fragil.

Cascarilla de arroz sin carbón, este tratamiento generó alta sobrevivencia, con buena altura de plantin que generó menor largo de raíz y el mayor diámetro del cuello.

Grava sin carbón, esta combinación generó alta sobrevivencia, logró la mayor altura del plantin con menor largo de raíz y el mayor diámetro del cuello.

Chachin con carbón, esta combinación generó menor sobrevivencia, promovió menor altura de la altura del plantin con mayor largo de raíz, finalmente formó el menor diámetro del cuello.

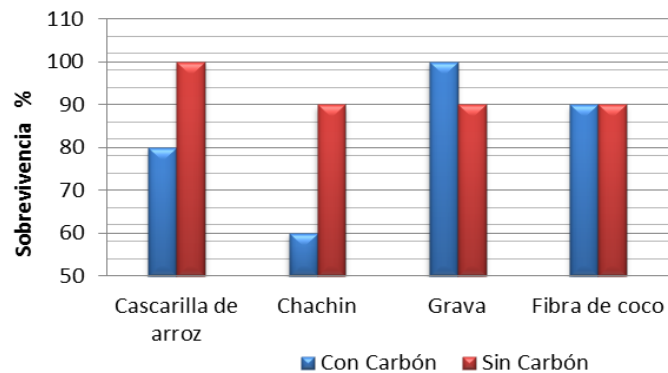
Fibra de coco con carbón, esta combinación generó regular sobrevivencia, que promovió menor altura del plantin, con mayor largo de raíz y menor diámetro del cuello.

Chachin sin carbón, este tratamiento generó menor sobrevivencia, insentivó menor altura del plantin con menor largo de raíz que formó el menor diámetro del cuello.

Fibra de coco sin carbón, este tratamiento generó regular sobrevivencia, permitió desarrollo menor de la altura de plantin con menor largo de raíz y formó menor diámetro del cuello.

7.3.2. *Anthurium grande*

En la aclimatación, de *A. grande* se consideró los mismos sustratos y tiempos de evaluación que *A. acebeyae*, donde se determinó la sobrevivencia en los diferentes sustratos con el ANVA a los dos meses, el mismo que no mostró diferencias estadísticas, por tanto, se consideró el porcentaje de sobrevivencia (gráfica 26) que mostró los siguientes resultados:



Gráfica 26. Supervivencia de *Anthurium grande*.

Como se indicó anteriormente el ANVA de esta variable no mostró diferencias estadísticas, sin embargo la supervivencia en la fase de aclimatación en *A. grande* se la explica de la siguiente manera: La combinación grava con carbón generó 100% de supervivencia, seguido de grava sin carbón que logró 90% de supervivencia por otro lado, estudios en *T. flageliforme* donde los explantes fueron trasplantados en arena y fibra de coco 1:1 generaron supervivencia del 92% según Tiing *et al.* 2000, datos que son aproximados debido probablemente al efecto del sustrato y al efecto del carbón en la aclimatación.

En la evaluación del tratamiento cascarilla de arroz sin carbón se obtuvo una supervivencia de 100% y la combinación de cascarilla de arroz con carbón generó supervivencia del 80%, así mismo, estudios en *A. andraeanum* Lind. var. "Sonate" aclimatado en sustratos de paja de arroz y cachaza en proporción 1:1 lograron un 90% de supervivencia según Trujillo *et al.* (2000), este resultado es próximo a los obtenidos en el presente estudio probablemente se debió al efecto del sustrato.

Pero los tratamientos aclimatados en fibra de coco sin carbón y fibra de coco con carbón presentaron igual resultado en supervivencia dando 90%, similar a *Philodendron* sp. que sembrada en un sustrato de suelo y fibra de coco en proporción 1:1 presentó buenos resultados obteniéndose hasta 91% de estabilidad según Blanco y Valverde (2004), otros estudios en *A. andraeanum* var. Lambada con la combinación de casting, zeolita y fibra de coco generaron una supervivencia de 95% (Agramonte *et al.* 2007), estos resultados son próximos y es probable que se deba al efecto del sustrato.

En las combinaciones de chachin sin carbón se generó 90% de supervivencia sin embargo, para el combinado de chachin con carbón solo se generó el 60% de supervivencia, por tanto,

la probabilidad de un buen efecto del carbón en la aclimatación de *A. grande* es menor, también en los primeros 15 días este tratamiento manifestó la presencia de hongo que desapareció con el control de la humedad dentro de la caja de aclimatación.

En las evaluaciones, de la altura del plantin al segundo mes, el ANVA (Anexo XLVI), mostró diferencias significativas en el factor sustrato. Este efecto se analizó con Duncan bajo el $\alpha=,05$ (Tabla 49) donde las mayores alturas 37,8 y 33,2 mm en promedio se generaron con los sustratos chachin y cascarilla de arroz respectivamente, por el contrario estudios por Viégas *et al.* (2007) al experimentar en la combinación de suelo, vermiculita y chachin en *A. andraeanum* lograron 69,6 mm al igual que, con la combinación de suelo, vermiculita y cascarilla de arroz carbonizado que generaron 55,4 mm, por tanto estos resultados menores se debieron al efecto del sustrato, al que reaccionan de manera individual cada especie.

Paralelamente se tuvo que el tratamiento fibra de coco generó la menor altura de 12,8 mm en promedio, al respecto investigaciones en *A. andraeanum* var. Lambada con la combinación de casting, zeolita y fibra de coco generaron una altura de 101 mm (Agramonte *et al.* 2007), resultados que son antagónicos a los obtenidos en la presente investigación y probablemente se debió al efecto del sustrato en cada especie.

Tabla 49. Análisis Duncan de la altura del plantin (*A. grande* a los 2 meses).

Tratamiento	Promedio	Duncan
Cascarilla de arroz	33,16	a
Chachin	37,76	a
Grava	19,63	ab
Fibra de coco	12,80	b

Entre las evaluaciones se consideró el número de hojas al segundo mes, donde el ANVA (Anexo XLVII) mostró diferencias significativas en el factor sustrato, el mismo que al realizar las pruebas Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 50) presentó que los sustratos con cascarilla de arroz y chachin generaron 3,9 y 3,8 hojas en promedio respectivamente, resultados aproximados hallaron Viégas *et al.* (2007) al experimentar en la combinación de suelo, vermiculita y chachin en *A. andraeanum* donde lograron 5,6 hojas así mismo, con la combinación de suelo, vermiculita y cascarilla de arroz carbonizado lograron 3,4 hojas, resultados que son próximos a los obtenidos en el presente estudio.

El efecto de los sustratos grava y fibra de coco generaron 2,5 y 1,6 hojas en promedio, sin embargo Viégas *et al.* (2007) cuando experimentó con la combinación de suelo, vermiculita y

arena en *A. andraeanum* lograron 5,5 hojas, resultado mejor al obtenido en el presente estudio probablemente se debió al efecto de la especie, así mismo se observó que los resultados están ligados a la altura del plantín.

Tabla 50. Análisis Duncan del número de hojas (*A. grande* a los 2 meses).

Tratamiento	Promedio	Duncan
Cascarilla de arroz	3,95	a
Chachin	3,80	a
Grava	2,55	ab
Fibra de coco	1,65	b

En la evaluación del largo de la raíz a los dos meses, se observó en el ANVA (Anexo XLVIII) diferencias significativas en el factor presencia de carbón, el mismo significa que los sustratos sin carbón generaron mayor largo de raíz en comparación con los tratamientos con carbón logrando 15,6 y 9,7 mm de largo en promedio respectivamente.

También se hizo un conteo de las raíces en las evaluaciones, donde el ANVA (Anexo XLIX) mostró diferencias significativas en el factor presencia de carbón. En el análisis, los sustratos sin carbón generaron máximo número de raíz en comparación con los tratamientos que contenían carbón, los que generaron 5,9 y 2,7 raíces respectivamente, resultado ligado al efecto del desarrollo de la raíz.

Los datos del diámetro de la raíz a los dos meses, generaron en el ANVA (Anexo L) diferencias significativas para el factor presencia de carbón, donde los sustratos sin carbón generaron mayor diámetro de raíz, logrando 1,4 mm en relación a los tratamientos que contenían carbón que formaron 1,0 mm en promedio, resultado que es afín a los datos obtenidos en el largo y número de raíz.

El diámetro del cuello a los 15 días, que en el ANVA (Anexo LI) mostró diferencias significativas en el factor sustrato y la interacción A*B. El factor sustrato (Anexo LI) se la analizó con Duncan ($\alpha=,05$) que mostró los sustratos cascarilla de arroz y chachin generaron 5,1 mm de diámetro del cuello, contrariamente fibra de coco generó 2,7 mm de diámetro.

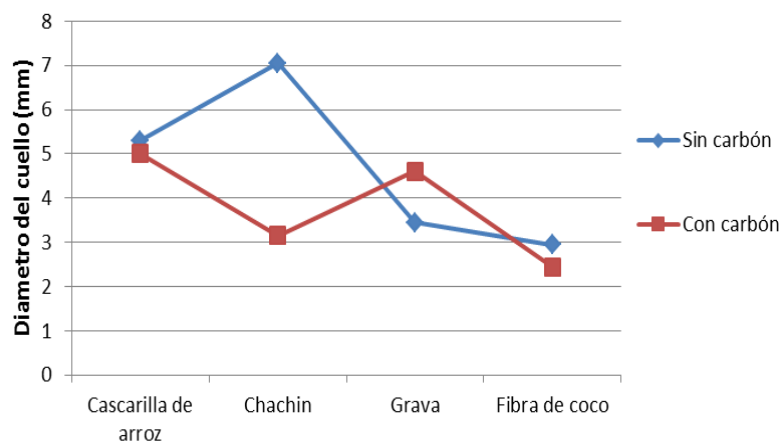
Tabla 51. Análisis de efectos simples del diámetro de cuello (A. grande a los 15 días).

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft (,05)	Ft (,01)
<i>Efectos simples para s/c CARBON</i>							
Entre s/c Carbón en cascarilla de arroz	0,45	1	0,45	0,06	NS	3,98	7,01
Entre s/c Carbón en chachin	76,05	1	76,05	10,58	**		
Entre s/c Carbón en grava	6,61	1	6,61	0,92	NS		
Entre s/c Carbón en fibra de coco	1,25	1	1,25	0,17	NS		
<i>Efectos simples para SUSTRATO</i>							
Entre Sustrato en sin carbón	105,07	3	35,02	4,87	**	2,74	4,08
Entre Sustrato en con carbón	43,25	3	14,42	2,01	NS		
ERROR	517,43	72	7,19				

** Altamente significativo

NS No significativo

Para la interacción, se realizó un análisis de efectos simples (Tabla 51) donde se presentó diferencias altamente significativas en el efecto de la presencia de carbón en chachin y en el efecto de los diferentes sustratos en los tratamientos sin carbón.



Gráfica 27. Diámetro del cuello (A. grande a los 15 días de la aclimatación).

Se puede observar en el análisis de efectos simples (tabla 51 y gráfica 27), que el sustrato chachin sin carbón generó el mayor diámetro del cuello logrando 7,0 mm, mientras que los combinados de grava y fibra de coco sin carbón generaron 3,4 y 2,9 mm en promedio, por otro lado, todas las combinaciones con carbón estadísticamente mostraron resultados similares así se tuvo que, cascarilla de arroz, grava, chachin y fibra de coco generaron 5,0, 4,6, 3,1 y 2,4 mm respectivamente. De igual manera, se puede afirmar que cascarilla de arroz, grava y fibra de coco con presencia o ausencia de carbón generaron similares resultados entre si. De acuerdo a estos resultados, se puede afirmar que para esta especie el efecto del carbón no afecta de manera positiva como en otras epifitas.

Se consideró en las evaluaciones la formación de brote donde el ANVA (Anexo LII) mostró diferencias significativas en el factor sustrato, que con el análisis Duncan con un $\alpha=,05$ (Tabla 55) mostró que el sustrato cascarilla de arroz forma el 55% de brotes, destacándose como el mejor, mientras que los sustratos grava y fibra de coco solo formaron 20% de brotes en promedio.

Tabla 52. Análisis Duncan de la formación de brote (*A. grande*).

Tratamiento	Promedio	Duncan
Cascarilla de arroz	0,55	a
Chachin	0,45	ab
Grava	0,20	b
Fibra de coco	0,20	b

En resumen, el efecto de los diferentes sustratos en la aclimatación (Figura 11) en *Anthurium grande ex vitro* generó:

Chachin sin carbón, esta combinación permitió buena sobrevivencia, promovió la mayor altura del plantin con máximo número de hojas, que logró generar raíces (con mayor largo, máximo número y mayor diámetro), de igual manera promovió el mayor diámetro del cuello y regular formación de brotes.

Cascarilla de arroz sin carbón, este tratamiento permitió alta sobrevivencia, con mayor altura del plantin que logró el máximo número de hojas, paralelamente formó raíces (con mayor largo, máximo número y mayor diámetro), también desarrollo buen diámetro del cuello y mayor formación de brotes.

Cascarilla de arroz con carbón, esta combinación permitió regular sobrevivencia que promovió mayor altura del plantin con el máximo número de hojas, que formó raíces (con menor largo, menor número y menor diámetro), de igual manera formó buen diámetro del cuello y formó mayor cantidad de brotes.

Grava sin carbón, este tratamiento permitió buena sobrevivencia, que logró regular altura del plantin con regular número de hojas, que formó raíces (con mayor largo, máximo número y mayor diámetro) que insentivo buen diámetro del cuello con la menor formación de brotes.

Grava con carbón, este tratamiento permitió sobrevivencia alta, desarrollo regular de la altura del plantin con regular número de hojas, formó raíces (con menor largo, menor número y menor diámetro), también logró buen diámetro del cuello que generó la menor cantidad de brotes.

Fibra de coco sin carbón, este tratamiento generó buena sobrevivencia, con menor altura del plantin que logró menor número de hojas, a la vez desarrollo raíces (con mayor largo, máximo número y mayor diámetro), que promovió buen diámetro del cuello y formó la menor cantidad de brotes.

Chachin con carbón, está combinación logró menor sobrevivencia, promovió la mayor altura del plantin con máximo número de hojas, formó raíces (con menor largo, menor número y menor diámetro), que logró desarrollar buen diámetro del cuello, por último promovió regular formación de brotes.

Fibra de coco con carbón, está combinación permitió buena sobrevivencia que insertivó la menor altura del plantin con el menor número hojas, que formó raíces (con menor largo, menor número y menor diámetro), a la vez logró buen desarrollo del diámetro del cuello con la menor formación de brotes.

Anthurium acebeyae

Anthurium grande



Figura 11. Sustratos de aclimatación, *Anthurium acebeyae*: (A) Grava**sin* carbón; (B) Grava**con* carbón; (C) Cascarilla de arroz**sin* carbón; (D) Cascarilla de arroz**con* carbón; (E) Fibra de coco**sin* carbón; (F) Fibra de coco**con* carbón; (G) Chachin**sin* carbón; (H) Chachin**con* carbón, *Anthurium grande*: (I) Grava**sin* carbón; (J) Grava**con* carbón; (K) Cascarilla de arroz**sin* carbón; (L) Cascarilla de arroz**con* carbón; (M) Fibra de coco**sin* carbón; (N) Fibra de coco**con* carbón; (O) Chachin**sin* carbón; (P) Chachin**con* carbón. Elaboración propia.

7.4. Otros Resultados

Las plántulas que ingresaron a la fase de multiplicación provenían de semillas, que con los tratamientos no reaccionaron formando regeneración directa³² por el contrario, generaron callos, al respecto, Abedini y Sharry (1994) en *Melia azederach* reportaron que las semillas formaron callo fácilmente. Otros estudios, con 10 mg.l⁻¹ de BAP estimularon el desarrollo del callo y la formación de brotes adventicios en explantes de *Cryptomeria* (Isikawa, H. 1974; citado en Moshkov, I. *et al.* 2008).

Las referencias indican que *Anthurium* sp. indujo únicamente la formación de callos a partir de tejidos inmaduros (Pierik *et al.* 1974; citado en Litz y Jarret 1993), la formación de callos y brotes ocurrían raramente en el primer cultivo, pero es promovido e inducido por repetidas disecciones del tejido y transferidos a medio fresco en *A. scherzianum* (Geir, T. 1982).

Estudios de Agramonte *et al.* (2007), en *A. andraeanum* con BAP en medio MS a los 60 días lograron callos con embriones somáticos de alta frecuencia (ESAF) y embriones somáticos de baja frecuencia (ESBF). Sin embargo, BAP en *Anthurium acebeyae* y *A. grande*, generó embriogénesis somática³³, caracterizados por su capacidad de formar propagulos ilimitado, que germinaron y produjeron nueva planta, también intentó la rápida propagación clonal de *Anthurium*, por otro lado Geir 1990; citado en Matsumoto, Webb y Kuehnle (1996) consideran este proceso como la mejor forma de propagación clonal a gran escala en diferentes cultivos.

En la multiplicación los tratamientos al inicio estimularon la regeneración indirecta³⁴, que formaron callo, en los explantes de *Anthurium acebeyae* a los 45,7 días y en *A. grande* a los 44,8 días, con presencia de callo compacto, color verde translúcido que posteriormente manifestó características nodulares verdes redondeadas y agregadas de forma similar a una mora, estos callos fueron capaces de originar brotes en el mismo medio. También algunas estructuras de color amarillo-pálido y otros verdoso mostraron estructura friable³⁵ (Figura 12).

³² *Regeneración directa*: es similar a la propagación vegetativa *in vivo*, producen plantas completas o casi completas y su descendencia es idéntica al material vegetal inicial (Pierik R. 1990; citado en Salgado J. 2007).

³³ *Embriogénesis somática*: es el proceso de originar embriones a partir de células somáticas, sin la necesidad de la fusión de gametos (Tisserat *et al.* 1979; citado en Litz y Jarret 1993), son estructuras bipolares con eje radical-apical y capacidad de crecer y formar plantas normales.

³⁴ *La regeneración indirecta*: se caracteriza por el crecimiento y desarrollo desorganizado (callo) previo al proceso de regeneración (Pierik 1990 citado en Salgado J. 2007)

³⁵ *Estructura friable*: que se desmenuza fácilmente.

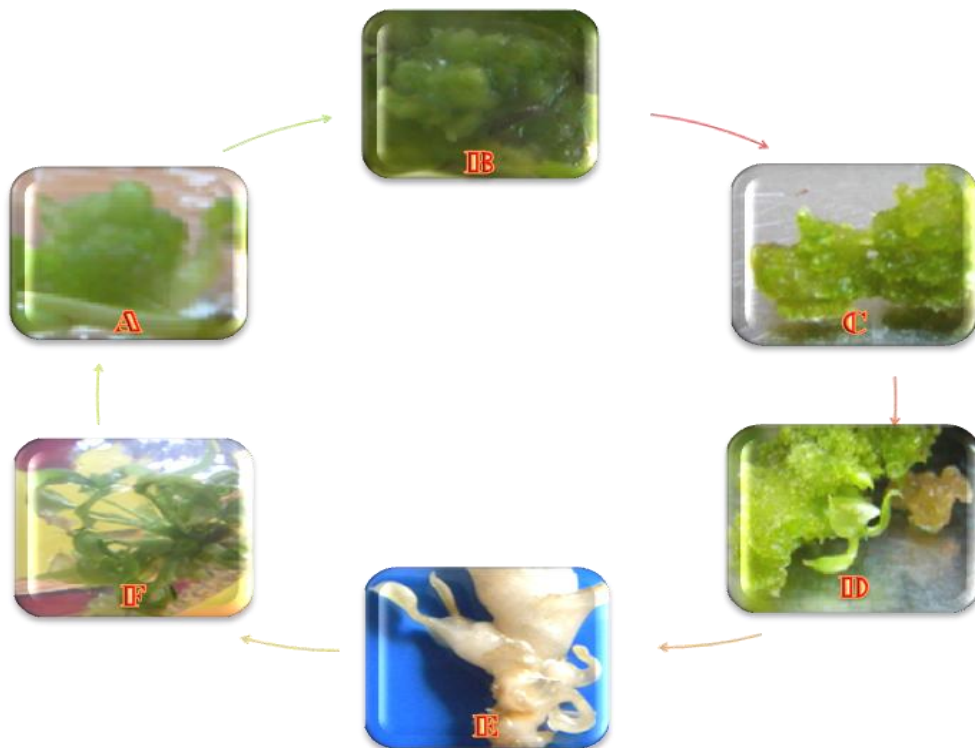


Figura 12. Obtención de los explantes en la fase de multiplicación, se generó la embriogénesis indirecta; **(A)** Callo con embriogénesis somática de alta frecuencia (ESAF); **(B)** Callo con embriogénesis somática de baja frecuencia (ESBF); **(C)** Callo con estructura friable; **(D)** Callo friable que generó diferenciación; **(E)** Callo compacto de forma nodular; **(F)** Callo con explantes diferenciados. Elaboración propia.

En referencia, con 2 mg.l^{-1} de BAP en *A. andraeanum* lograron mayor número de embriones somáticos así mismo, a un aumento de la concentración de BAP se incrementaron la formación de embriones somáticos por callo (Rivero *et al.* 2008) por otro lado, la propagación masiva de *A. andraeanum* mediante la embriogénesis somática, permitió la obtención de mayor volumen de plantas con calidad y menor costo por unidad (Agramonte *et al.* 2007).

En el enraizamiento hubo presencia de callo, similares a la fase de multiplicación y en otros, callos blancos y verdes suaves que se desmenuzaban fácilmente, según Abedini y Sharry (1994) el callo tipo nieve, de color blanco y suave se desarmaron con facilidad y aparecen en la superficie del explante, que luego del subcultivo en medio fresco se disgregan fácilmente. Así, experiencias con una concentración de $2,5 \text{ mg.l}^{-1}$ de BAP mostraron 40% de inducción de callos en hojas a los 35 días de coloración crema en *A. andraeanum* a la vez, obtuvieron una regeneración de 96% en brote con $1,0 \text{ mg.l}^{-1}$ de BAP según Jahan *et al.* (2009).

También se observó que los tratamientos no formaron brotes de manera homogénea pero, el desarrollo del brote y la calidad del callo dependieron de la adición de Sulfato de adenina. Así, Lucena y Gil (1992) cuando aumentaron a 120 mg.l^{-1} SA en *M. erythrophylla* observaron

quemado en las hojas que alcanzó el 100% y que el nivel de 40 mg.l^{-1} fue considerado como el más efectivo, donde Sulfato de adenina se manifestó como un factor responsable del crecimiento del explante y/o de la formación de brotes, tanto axilares como adventicios.

Así mismo, los brotes múltiples no muy elongados fueron reabsorvidos por el callo, debido a la velocidad de crecimiento de este, pero si desarrollaron hasta formar los primordios foliares, ellos lograron la diferenciación. La combinación de AIB, BAP y Sulfato de adenina en concentraciones adecuadas permitieron la inducción de la formación de callos y la posterior generación de brotes que se diferenciaron al crecer logrando vitroplantas listas para la siguiente etapa (Figura 13). Eperiencias en *A. andraeanum* tratados con 1 mg.l^{-1} de BAP formaron callos, seguido de $1,75 \text{ mg.l}^{-1}$ de BAP finalmente, formó menor cantidad de callos con $2,5 \text{ mg.l}^{-1}$ de BAP (Oscullo M. 2011).



Figura 13. Proceso de micropropagación: (A) Explante que ingreso a tratamientos de multiplicación; (B) Largo de peciolo, en el inicio de formación del primordio foliar; (C) Largo de brote, que logró desarrollar y diferenciarse; (D) Brotes en desarrollo disgregados a partir de callos friables; (E) Brotes desarrollados que se separan de un callo; (F) Explante listo para pasar a la fase de enraizamiento; (G) Explante con raíces generado en la fase de enraizamiento preparado para pasar a la fase de aclimatación. Elaboración propia.

7.5. Costos de producción

Para el presente trabajo, se realizó el análisis de costos de producción de un año utilizando la referencia de Sapag y Sapag (1985), se comenzó con la evaluación de la tasa de multiplicación efectiva (TME)³⁶ y el porcentaje total de pérdidas (PTP)³⁷, que consideraron el potencial de producción de la especie, con lo que se calculó la cantidad de frascos que se requirieron para cada transferencia. Por otro lado, se analizó los costos variables y costos fijos en los que se incurrieron en el laboratorio del IBMB-UBV para realizar cada uno de los tratamientos en las diferentes fases de micropropagación. Una vez determinado estos datos se calcularon el costo de producción por planta que permitieron determinar el Beneficio.Costo⁻¹ para cada tratamiento y por especie.

7.5.1. *Anthurium acebeyae*

7.5.1.1. Fase de multiplicación

Analizando los costos de *Anthurium acebeyae*, en el tratamiento 0 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP, se obtuvo una tasa de multiplicación de 11,5 al respecto, estudios en *A. andraeanum* lograron una tasa de multiplicación de 8 reportados por Kunisaki J. (1980), obteniéndose mayor tasa de multiplicación en el presente estudio. Paralelamente, el tratamiento 0 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP presentó 23% de pérdida de la producción anual (Anexo LIII), lo que permitió un volumen de producción de 53 frascos.año⁻¹, el cual requirió 30,15% de inversión en costo variable. En consecuencia el costo de producción fue de 11,07 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 1,07 que demostró la factibilidad de este tratamiento (Tabla 53).

Observando el tratamiento 0 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP, se tuvo una tasa de multiplicación de 18,6 al respecto, Lucena y Gil (1992) lograron una tasa de multiplicación de 8,4 en *M. erythrophylla* (*Rubiaceae*) cuando la trataron con 2,5 mg.l⁻¹ de BAP, así mismo, obtuvieron una tasa de multiplicación de 2,5 cuando experimentaron con 1 mg.l⁻¹ de BAP en *A. sherzerianum* (Geier T. 1986), entonces el tratamiento utilizado en el presente estudio fue más efectivo que los utilizados en otras especies que probablemente se debió a la individualidad de cada especie.

³⁶Tasa de Multiplicación Efectiva (TME), se toma en cuenta el número total de frascos que se transfirieron de un subcultivo a otro, a excepción de los frascos perdidos por contaminación y mortalidad, en todo el proceso (Salgado J. 2002).

³⁷Porcentaje Total de Pérdidas (PTP), se toma en cuenta el número total de frascos contaminados y muertos en cada subcultivo, en todo el proceso (Salgado J. 2002).

Por otro lado, 0 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP generó una pérdida de 7,4% de la producción anual (Anexo LII), que se convirtió en un volumen de producción de 90 frascos.año⁻¹, a la vez requirió 30,93% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 6,73 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de 2,37 que demostró la factibilidad de este tratamiento (Tabla 53).

Revisando el tratamiento 0 mg.l⁻¹ SA*7,5 mg.l⁻¹ BAP, se mostró una tasa de multiplicación de 5,4 con una pérdida de 6,7% de la producción anual (Anexo LIII), el mismo que generó un volumen de producción de 26 frascos.año⁻¹, que necesitó 29,60% de inversión en costo variable, para generar 22,09 Bs. por planta en costo de producción que logró una relación B.C⁻¹ de 0,04 manifestando infactibilidad a este tratamiento (Tabla 53).

Tabla 53. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 0 mg.l⁻¹ SA (A. acebeyae).

Tratamiento	(0 mg.l ⁻¹ SA * 0,3 mg.l ⁻¹ BAP)		(0 mg.l ⁻¹ SA * 1,5 mg.l ⁻¹ BAP)		(0 mg.l ⁻¹ SA * 7,5 mg.l ⁻¹ BAP)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Costos variables	558,21	30,15	596,35	30,93	533,15	29,60
Mano de obra directa	317,24	17,13	317,24	16,45	317,24	17,61
Materiales directos	75,76	4,09	113,89	5,91	50,69	2,81
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	165,22	8,92	165,22	8,57	165,22	9,17
Costos fijos	119,53	6,46	119,64	6,21	119,41	6,63
Costos indirectos	119,53	6,46	119,64	6,21	119,41	6,63
Gastos de administración	496,00	26,79	496,00	25,73	496,00	27,54
Costo total	1851,50	100,00	1927,99	100,00	1801,13	100,00
Sobrevivencia	106,00		180,00		52,00	
Costo de producción por planta	11,07		6,73		22,09	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	53,00		90,00		26,00	
Precio por planta	42,48		42,48		42,48	
Beneficio bruto	4503,08		7646,74		2209,06	
Beneficio neto	1976,12		4571,75		76,57	
Beneficio.Costo⁻¹	1,07		2,37		0,04	

Considerando los costos en el tratamiento 80 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP, se tuvo el siguiente resultado: Tasa de multiplicación de 6,3 al respecto, estudios en *A. andraeanum* tratados con 0,2 mg.l⁻¹ BAP lograron una tasa de multiplicación de 8 reportados por Kunisaki J. (1980). También 80 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP presentó pérdidas de 32,4% de la producción anual (Anexo LIV), el mismo que se tradujo en volumen de producción anual de 28 frascos.año⁻¹, el cual demandó 29,65% de inversión en costo variable. En efecto el costo de producción fue de 20,92 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 0,12 antecedente que no permitió factibilidad a este tratamiento (Tabla 54).

Analizando el tratamiento 80 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP, se tuvo una tasa de multiplicación de 21,5 al respecto, Lucena y Gil (1992) lograron una tasa de multiplicación de 8,4 en *M. erythrophylla* (*Rubiaceae*) cuando la trataron con 2,5 mg.l⁻¹ de BAP. Por otro lado, el presente nivel de estudio logró generar mayor tasa de multiplicación en referencia a la bibliografía utilizada, probablemente debido al uso de especies emparentadas.

Por otro lado, 80 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP presentó 0,0% de pérdida de la producción anual (Anexo LIV), el cual se transformó en volumen de producción de 67 frascos.año⁻¹, con 30,52% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue de 8,89 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 1,56 dato que demostró factibilidad (Tabla 54).

Estudiando el tratamiento 80 mg.l⁻¹ SA*7,5 mg.l⁻¹ BAP, se observó 10,8 en tasa de multiplicación con pérdida de 21,5% de la producción anual (Anexo LIV), el mismo que formó 50 frascos.año⁻¹ en volúmenes de producción, que necesitó 30,03% de inversión en costo variable, que generó 11,68 Bs. por planta en costo de producción que logró la relación B.C⁻¹ de 0,96 que no aprobó factibilidad (Tabla 54).

Tabla 54. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 80 mg.l⁻¹ SA (*A. acebeya*).

Tratamiento	(80 mg.l ⁻¹ SA * 0,3 mg.l ⁻¹ BAP)		(80 mg.l ⁻¹ SA * 1,5 mg.l ⁻¹ BAP)		(80 mg.l ⁻¹ SA * 7,5 mg.l ⁻¹ BAP)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Costos variables	535,12	29,65	575,90	30,52	552,44	30,03
Mano de Obra Directa	317,24	17,58	317,24	16,81	317,24	17,24
Materiales directos	52,66	2,92	93,44	4,95	69,98	3,80
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	165,22	9,15	165,22	8,76	165,22	8,98
Costos fijos	119,41	6,62	119,61	6,34	119,48	6,49
Costos indirectos	119,41	6,62	119,61	6,34	119,48	6,49
Gastos de administración	496,00	27,48	496,00	26,28	496,00	26,96
Costo total	1805,04	100,00	1887,01	100,00	1839,83	100,00
Sobrevivencia	55,00		134,00		100,00	
Costo de producción por planta	20,92		8,89		11,68	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	28,00		67,00		50,00	
Precio por planta	42,48		42,48		42,48	
Beneficio bruto	2378,99		5692,58		4248,19	
Beneficio neto	217,09		2951,68		1771,13	
Beneficio.Costo⁻¹	0,12		1,56		0,96	

Los costos en el tratamiento 160 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP, se tuvo el siguiente resultado: Tasa de multiplicación de 9,0 al respecto, estudios en *A. andraeanum* con 0,2 mg.l⁻¹ BAP lograron una tasa de multiplicación de 8 reportados por Kunisaki J. (1980) sin embargo, los diferentes tratamientos generaron similar resultado al obtenido en el presente estudio.

Así mismo, 160 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP presentó 25,6% en pérdida de la producción anual (Anexo LV), el mismo que logró 36 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que solicitó 29,89% de inversión en costo variable, que logró 16,36 Bs. por planta en costo de producción, que generó una relación B.C⁻¹ de 0,42 (Tabla 55).

Tabla 55. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 160 mg.l⁻¹ SA (A. acebeyae).

Tratamiento	(160 mg.l ⁻¹ SA * 0,3 mg.l ⁻¹ BAP)		(160 mg.l ⁻¹ SA * 1,5 mg.l ⁻¹ BAP)		(160 mg.l ⁻¹ SA * 7,5 mg.l ⁻¹ BAP)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Costos variables	546,19	29,89	545,60	29,88	557,33	30,13
Mano de Obra Directa	317,24	17,36	317,24	17,37	317,24	17,15
Materiales directos	63,73	3,49	63,14	3,46	74,87	4,05
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	165,22	9,04	165,22	9,05	165,22	8,93
Costos fijos	119,46	6,54	119,44	6,54	119,46	6,46
Costos indirectos	119,46	6,54	119,44	6,54	119,46	6,46
Gastos de administración	496,00	27,14	496,00	27,16	496,00	26,82
Costo total	1827,29	100,00	1826,08	100,00	1849,58	100,00
Sobrevivencia	71,00		77,00		98,00	
Costo de producción por planta	16,36		15,08		11,97	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	36,00		39,00		49,00	
Precio por planta	42,48		42,48		42,48	
Beneficio bruto	3058,70		3313,59		4163,23	
Beneficio neto	772,60		990,47		1689,16	
Beneficio.Costo⁻¹	0,42		0,54		0,91	

Examinando el tratamiento 160 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP, se tuvo una tasa de multiplicación de 10,0 así mismo, experiencias en *Philodendron* sp. con SA 160 mg.l⁻¹ obtuvieron una tasa de multiplicación de 1,5 (Blanco y Valverde 2004) así mismo, obtuvieron una tasa de multiplicación de 2,5 cuando experimentaron con 1 mg.l⁻¹ de BAP en *A. sherzerianum* (Geier T. 1986), al respecto, el presente nivel estudio generó mayor tasa de multiplicación en relación a la referencia debido a la comparación con especies emparentadas.

A la vez, 160 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP presentó 33,6% de pérdida en la producción anual (Anexo LV), transformado en 39 frascos.año⁻¹ de volumen de producción, el cual requirió 29,88% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 15,08 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de 0,54 que no le asignó factibilidad (Tabla 55).

El tratamiento 160 mg.l⁻¹ SA*7,5 mg.l⁻¹ BAP, mostró una tasa de multiplicación de 8,1 pero, cuando trataron a *Philodendron* sp. con SA 160 mg.l⁻¹ obtuvieron una tasa de multiplicación de 1,5 (Blanco y Valverde 2004), al respecto el nivel utilizado generó mayor tasa de multiplicación en relación a la referencia. El inconveniente del nivel 160 mg.l⁻¹ SA*7,5 mg.l⁻¹

BAP fue que generó 26,0% de pérdida de la producción anual (Anexo LV), el mismo que formó 49 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que precisó 30,13% de inversión en costo variable, que generó 11,97 Bs. por planta en costo de producción que logró la relación B.C⁻¹ de 0,91 que no dió factibilidad (Tabla 55).

7.5.1.2. Fase de enraizamiento

En el análisis de costos en *Anthurium acebeyae* el tratamiento 0 mg.l⁻¹ ANA, mostró la tasa de multiplicación de 5,1 que generó 38,3% de pérdida en la producción anual (Anexo LVI), el mismo que se convirtió en 43 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, el cual demandó 40,49% de inversión en costo variable. En consecuencia el costo de producción fue 24,93 Bs. por planta, que generó relación B.C⁻¹ de 0,47 que no permitió factibilidad (Tabla 56).

Tabla 56. Análisis de la distribución de costos de producción (*A. acebeyae*).

Tratamiento	(0 mg.l ⁻¹ ANA)		(0,75 mg.l ⁻¹ ANA)		(1,5 mg.l ⁻¹ ANA)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Costos variables	858,27	40,49	834,35	39,82	832,01	39,75
Mano de Obra Directa	386,42	18,23	386,42	18,44	386,42	18,46
Materiales directos	174,44	8,23	150,53	7,18	148,19	7,08
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	297,40	14,03	297,40	14,19	297,40	14,21
Costos fijos	145,21	6,85	145,14	6,93	145,18	6,94
Costos indirectos	145,21	6,85	145,14	6,93	145,18	6,94
Gastos de administración	1116,00	52,65	1116,00	53,26	1116,00	53,32
Costo total	2119,47	100,00	2095,49	100,00	2093,20	100,00
Sobrevivencia	85,00		49,00		54,00	
Costo de producción por planta	24,93		42,77		38,76	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	43,00		25,00		27,00	
Precio por planta	42,48		42,48		42,48	
Beneficio bruto	3653,44		2124,10		2294,02	
Beneficio neto	985,95		-290,01		-143,28	
Beneficio.Costo⁻¹	0,47		-0,14		-0,07	

Examinando el tratamiento 0,75 mg.l⁻¹ ANA, obtuvo en tasa de multiplicación 9,6 con pérdida de 61,1% de la producción anual (Anexo LVI), el cual se transformó en volumen de producción de 25 frascos.año⁻¹, el cual requirió 39,82% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 42,77 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de -0,14 que no le atribuyó factibilidad a este tratamiento (Tabla 56).

El tratamiento 1,5 mg.l⁻¹ANA se observó 4,5 en tasa de multiplicación con 103,0% de pérdida en la producción anual (Anexo LVI), el mismo formó 27 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que necesitó 39,75% de inversión en costo variable que generó 38,76 Bs.planta⁻¹ en costo de producción y logró un B.C⁻¹ de -0,07 que no aprobó factibilidad (Tabla 56).

Observando el tratamiento 3 mg.l⁻¹ ANA, se tuvo 3,0 en tasa de multiplicación con pérdida de 160% de la producción anual (Anexo LVII), que se transformó en volumen de producción de 14 frascos.año⁻¹, el cual requirió 39,48% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 74,42 Bs. por planta y generó la relación B.C⁻¹ de -0,51 que no permitió factibilidad a este tratamiento (Tabla 57).

Tabla 57. Análisis de la distribución de costos de producción (*A. acebeyae*).

Tratamiento	(3 mg.l ⁻¹ ANA)		(6 mg.l ⁻¹ ANA)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Descripción				
Costos variables	822,72	39,48	825,05	39,55
Mano de Obra Directa	386,42	18,54	386,42	18,52
Materiales directos	138,90	6,67	141,22	6,77
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	297,40	14,27	297,40	14,26
Costos fijos	145,11	6,96	145,17	6,96
Costos indirectos	145,11	6,96	145,17	6,96
Gastos de administración	1116,00	53,56	1116,00	53,49
Costo total	2083,83	100,00	2086,21	100,00
Sobrevivencia	28,00		42,00	
Costo de producción por planta	74,42		49,67	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	14,00		21,00	
Precio por planta	42,48		42,48	
Beneficio bruto	1189,49		1784,24	
Beneficio neto	-1072,76		-569,61	
Beneficio.Costo⁻¹	-0,51		-0,27	

Analizando el tratamiento 6 mg.l⁻¹ ANA se observó 3,5 en tasa de multiplicación con 118,1% de pérdida de la producción anual (Anexo LVII), el mismo que formó 21 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que necesitó 39,55% de inversión en costo variable, para generar 49,67 Bs./planta en costo de producción y lograr la relación B.C⁻¹ de -0,27 que no ratificó factibilidad a este tratamiento (Tabla 57).

7.5.1.3. Fase de Aclimatación

Analizando costos de *Anthurium acebeyae* el tratamiento carbón*cascarilla de arroz, mostró los siguientes resultados: Tasa de multiplicación de 2,9 con pérdida de 46,7% en la producción anual (Anexo LVIII), el mismo que se convirtió en un volumen de producción de 24 frascos.año⁻¹, el cual solicitó 63,54% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 17,99 Bs. por planta, que generó un B.C⁻¹ de 1,01 término que permitió factibilidad a este tratamiento (Tabla 58).

Revisando la combinación sin carbón*cascarilla de arroz se tuvo 2,5 en tasa de multiplicación con 91,7% de pérdida de en la producción anual (Anexo LVIII), el cual logró 19 frascos.año⁻¹

en volumen de producción, el cual requirió 60,54% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 21,0 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de 0,72 que no le atribuyó factibilidad a este tratamiento (Tabla 58).

Tabla 58. Análisis de la distribución de costos de producción (A. acedryae).

Tratamiento	(Carbón*Cascarilla de arroz)		(Sin Carbón* Cascarilla de arroz)		(Carbón*Chachin)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Descripción						
Costos variables	548,79	63,54	483,04	60,54	562,87	63,32
Mano de Obra Directa	133,27	15,43	133,27	16,70	173,73	19,54
Materiales directos	322,58	37,35	256,83	32,19	296,20	33,32
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	92,94	10,76	92,94	11,65	92,94	10,46
Costos fijos	35,87	4,15	35,86	4,49	47,01	5,29
Costos indirectos	35,87	4,15	35,86	4,49	47,01	5,29
Gastos de administración	279,00	32,30	279,00	34,97	279,00	31,39
Costo total	863,66	100,00	797,91	100,00	888,88	100,00
Sobrevivencia	48,00		38,00		44,00	
Costo de producción por planta	17,99		21,00		20,20	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	24,00		19,00		22,00	
Precio por planta	42,48		42,48		42,48	
Beneficio bruto	2039,13		1614,31		1869,20	
Beneficio neto	869,60		574,26		699,94	
Beneficio.Costo⁻¹	1,01		0,72		0,79	

El tratamiento carbón*chachin, dió 2,6 en tasa de multiplicación con pérdidas de 47,2 % de la producción anual (Anexo LVIII), el mismo formó 22 frascos.año⁻¹ en volumen de producción que invirtió 63,32% en costo variable, que generó un costo de producción de 20,20 Bs. por planta y logró el B.C⁻¹ de 0,79 que mostró falta de factibilidad a este tratamiento (Tabla 58).

El análisis de costos del tratamiento sin carbón*chachin, mostró 2,4 en tasa de multiplicación con pérdidas de 79,0% en la producción anual (Anexo LIX), el mismo que se convirtió en volumen de producción de 18 frascos.año⁻¹, el cual solicitó 61,02% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 23,23 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de 0,55 término que no aprobó factibilidad a este tratamiento (Tabla 59).

La combinación, carbón*grava tuvo 2,7 en tasa de multiplicación con pérdida de 48,6% en la producción anual (Anexo LIX), que logró 23 frascos.año⁻¹ en volumen de producción que requirió 63,34% de inversión en costo variable. Entonces, fue 18,98 Bs. por planta el costo de producción, que logró la relación B.C⁻¹ de 0,90 que no le permitió factibilidad (Tabla 59).

Analizando sin carbón*grava, se mostró 2,8 en tasa de multiplicación con pérdidas de 22,2 % en la producción anual (Anexo LIX), el mismo que formó 26 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que necesitó 64,91% de inversión en costo variable, para generar un costo de

producción de 17,55 Bs. por planta que logró una relación B.C⁻¹ de 1,06 que permitió factibilidad a este tratamiento (Tabla 59).

Tabla 59. Análisis de la distribución de costos de producción (*A. accebeyae*).

Tratamiento	(Sin Carbón*Chachin)		(Carbón*Grava)		(Sin Carbón*Grava)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Descripción						
Costos variables	510,33	61,02	553,12	63,34	592,19	64,91
Mano de Obra Directa	173,73	20,77	152,57	17,47	152,57	16,72
Materiales directos	243,66	29,13	307,61	35,22	346,68	38,00
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	92,94	11,11	92,94	10,64	92,94	10,19
Costos fijos	47,01	5,62	41,18	4,72	41,18	4,51
Costos indirectos	47,01	5,62	41,18	4,72	41,18	4,51
Gastos de administración	279,00	33,36	279,00	31,95	279,00	30,58
Costo total	836,34	100,00	873,30	100,00	912,37	100,00
Sobrevivencia	36,00		46,00		52,00	
Costo de producción por planta	23,23		18,98		17,55	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	18,00		23,00		26,00	
Precio por planta	42,48		42,48		42,48	
Beneficio bruto	1529,35		1954,17		2209,06	
Beneficio neto	463,61		787,75		965,33	
Beneficio.Costo⁻¹	0,55		0,90		1,06	

El nivel carbón*fibra de coco, mostró 2,2 en tasa de multiplicación con 120,6% de pérdidas en producción anual (Anexo LX), que generó 14 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que solicitó 60,55% de inversión en costo variable. Logrando costo de producción de 31,02 Bs. por planta, logró B.C⁻¹ de 0,16 que no permitió factibilidad (Tabla 60).

Tabla 60. Análisis de la distribución de costos de producción (*A. accebeyae*).

Tratamiento	(Carbón*Fibra de coco)		(Sin Carbón*Fibra de coco)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Descripción				
Costos variables	525,92	60,55	553,02	61,74
Mano de Obra Directa	234,41	26,99	234,41	26,17
Materiales directos	198,57	22,86	225,67	25,19
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	92,94	10,70	92,94	10,38
Costos fijos	63,70	7,33	63,70	7,11
Costos indirectos	63,70	7,33	63,70	7,11
Gastos de administración	279,00	32,12	279,00	31,15
Costo total	868,62	100,00	895,72	100,00
Sobrevivencia	28,00		32,00	
Costo de producción por planta	31,02		27,99	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	14,00		16,00	
Precio por planta	42,48		42,48	
Beneficio bruto	1189,49		1359,42	
Beneficio neto	142,45		259,78	
Beneficio.Costo⁻¹	0,16		0,29	

Analizando el tratamiento sin carbón*fibra de coco se tuvo 2,3 en tasa de multiplicación con pérdidas de 102,8% de la producción anual (Anexo LX), el cual se transformó en un volumen de producción de 16 frascos.año⁻¹, el cual requirió 61,74% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue de 27,99 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 0,29 que no le atribuyó factibilidad a este tratamiento (Tabla 60).

7.5.2. *Anthurium grande*

7.5.2.1. Fase de Multiplicación

En una comparación de *Anthurium grande* en la fase de multiplicación con los costos en el tratamiento 0 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP, se obtuvo los siguientes resultados: Tasa de multiplicación de 7,9 al respecto, estudios en *A. andraeanum* tratados con 0,2 mg.l⁻¹ BAP lograron 8 en tasa de multiplicación reportado por Kunisaki J. (1980) el resultado obtenido en el presente estudio es igual a la bibliografía debido al efecto del regulador.

El tratamiento 0 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP manifestó 0,0% de pérdida en la producción anual (Anexo LXI), que se convirtió en 48 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que solicitó 29,06% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 14,06 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de 0,40 término que no permitió factibilidad (Tabla 61).

En el tratamiento 0 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP, se obtuvo 5,5 en tasa de multiplicación con pérdidas de 0,0% de la producción anual (Anexo LXI), resultados similares se obtuvieron en *A. sherzerianum* de 2,5 en tasa de multiplicación cuando experimentaron con 1 mg.l⁻¹ de BAP (Geier T. 1986), los tratamientos de referencia lograron menores resultados que el presente estudio por tratarse de especies emparentadas.

Es así que, este tratamiento 0 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP se transformó en un volumen de producción de 31 frascos.año⁻¹, el cual requirió 28,68% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 21,24 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de -0,08 que no le atribuyó factibilidad a este tratamiento (Tabla 61).

Examinando el tratamiento 0 mg.l⁻¹ SA*7,5 mg.l⁻¹ BAP, mostró 4,1 en tasa de multiplicación con pérdidas de 10,0% en la producción anual (Anexo LXI), formó 20 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que necesitó 28,45% de inversión en costo variable, que generó en costo de producción 20,0 Bs. por planta y logró la relación B.C⁻¹ de -0,40 que no ratificó factibilidad a este tratamiento (Tabla 61).

Tabla 61. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 0 mg.l⁻¹ SA (A. grande).

Tratamiento	(0 mg.l ⁻¹ SA * 0,3 mg.l ⁻¹ BAP)		(0 mg.l ⁻¹ SA * 1,5 mg.l ⁻¹ BAP)		(0 mg.l ⁻¹ SA * 7,5 mg.l ⁻¹ BAP)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Descripción						
Costos variables	596,02	29,06	577,68	28,68	566,61	28,45
Mano de Obra Directa	317,24	15,47	317,24	15,75	317,24	15,93
Materiales directos	72,26	3,52	53,92	2,68	42,85	2,15
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	206,52	10,07	206,52	10,25	206,52	10,37
Costos fijos	119,49	5,83	119,39	5,93	119,36	5,99
Costos indirectos	119,49	5,83	119,39	5,93	119,36	5,99
Gastos de administración	620,00	30,23	620,00	30,78	620,00	31,13
Costo total	2051,03	100,00	2014,15	100,00	1991,94	100,00
Sobrevivencia	95,00		62,00		40,00	
Costo de producción por planta	14,06		21,24		32,65	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	48,00		31,00		20,00	
Precio por planta	35,13		35,13		35,13	
Beneficio bruto	3372,78		2178,25		1405,32	
Beneficio neto	815,83		-162,64		-797,41	
Beneficio.Costo⁻¹	0,40		-0,08		-0,40	

Examinando los costos en el tratamiento 80 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP, mostró 10,2 en tasa de multiplicación al respecto, estudios en *A. andraeanum* tratados con 0,2 mg.l⁻¹ BAP lograron 8 en tasa de multiplicación (Kunisaki J. 1980), es así que, el tratamiento del presente estudio generó resultados próximos en relación a las respuestas de las especies emparentadas. Por otro lado, 80 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP presentó 10,9% de pérdida en la producción anual (Anexo LXII), que se convirtió en 74 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que solicitó 29,69% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 9,24 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 1,09 término que permitió factibilidad (Tabla 62).

El tratamiento 80 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP, obtuvo 7,1 en tasa de multiplicación al respecto, Lucena y Gil (1992) lograron una tasa de multiplicación 8,4 en *M. erythrophylla* (*Rubiaceae*) con 2,5 mg.l⁻¹ de BAP. Por otro lado, este nivel presentó pérdidas de 5,4% en la producción anual (Anexo LXII), transformado en 41 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, requirió 28,87% de inversión en costo variable, costó 16,37 Bs. por planta en producción, y logró una relación B.C⁻¹ de 0,20 que no le permitió factibilidad (Tabla 62).

Investigando el tratamiento 80 mg.l⁻¹ SA*7,5 mg.l⁻¹ BAP, se mostró una tasa de multiplicación de 6,7 con 22,2% de pérdida en la producción anual (Anexo LXII), el mismo que formó un volumen de producción de 31 frascos.año⁻¹, que necesitó 28,60% de inversión en costo variable, para generar 21,18 Bs. por planta en costo de producción, que logró una relación B.C⁻¹ de -0,08 que no confirmó factibilidad a este tratamiento (Tabla 62).

Tabla 62. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 80 mg.l⁻¹ SA (A. grande).

Tratamiento	(80 mg.l ⁻¹ SA * 0,3 mg.l ⁻¹ BAP)		(80 mg.l ⁻¹ SA * 1,5 mg.l ⁻¹ BAP)		(80 mg.l ⁻¹ SA * 7,5 mg.l ⁻¹ BAP)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Descripción						
Costos variables	628,17	29,69	586,86	28,87	573,63	28,60
Mano de Obra Directa	317,24	15,00	317,24	15,61	317,24	15,81
Materiales directos	104,41	4,94	63,10	3,10	49,87	2,49
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	206,52	9,76	206,52	10,16	206,52	10,30
Costos fijos	119,61	5,65	119,41	5,88	119,36	5,95
Costos indirectos	119,61	5,65	119,41	5,88	119,36	5,95
Gastos de administración	620,00	29,31	620,00	30,50	620,00	30,91
Costo total	2115,55	100,00	2032,56	100,00	2005,98	100,00
Sobrevivencia	148,00		81,00		62,00	
Costo de producción por planta	9,24		16,37		21,18	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	74,00		41,00		31,00	
Precio por planta	35,13		35,13		35,13	
Beneficio bruto	5199,70		2880,91		2178,25	
Beneficio neto	2304,20		416,22		-154,47	
Beneficio.Costo⁻¹	1,09		0,20		-0,08	

En el análisis de costos del tratamiento 160 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP, mostró 12,3 en tasa de multiplicación al respecto, estudios en *A. andraeanum* tratados con 0,2 mg.l⁻¹ BAP lograron una tasa de multiplicación de 8 reportados por Kunisaki J. (1980), no obstante, cuando trataron a *Philodendron* sp. con 160 mg.l⁻¹ de SA obtuvieron una tasa de multiplicación de 1,5 (Blanco y Valverde, 2004), por tanto el tratamiento utilizado generó mejores resultados que la referencia, debido a que se tratan de especies emparentadas.

Así mismo, 160 mg.l⁻¹ SA*0,3 mg.l⁻¹ BAP presentó 11,0% de pérdidas en la producción anual (Anexo LXIII), que se convirtió en 64 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que solicitó 29,44% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 10.66 Bs. por planta, que logró la relación B.C⁻¹ de 0,83 término que no permitió factibilidad (Tabla 63).

Revisando 160 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP, se tuvo 9,5 en tasa de multiplicación al respecto, Lucena y Gil (1992) en *M. erythrophylla* (*Rubiaceae*) lograron 8,4 en tasa de multiplicación tratandolo con 2,5 mg.l⁻¹ de BAP, como se observó el dato obtenido en el presente estudio fue mejor a la referencia utilizada, por tratarse de especies emparentadas.

Por otro lado, el tratamiento 160 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP generó pérdidas de 7,7% de la producción anual (Anexo LXIII), el cual se transformó en 31 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que requirió 28,69% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 21,60 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de -0,08 que no le

reconoce factibilidad a este tratamiento (Tabla 63).

Tabla 63. Análisis de la distribución de costos de producción para el nivel 160 mg.l⁻¹ SA (A. grande).

Tratamiento	(160 mg.l ⁻¹ SA * 0,3 mg.l ⁻¹ BAP)		(160 mg.l ⁻¹ SA * 1,5 mg.l ⁻¹ BAP)		(160 mg.l ⁻¹ SA * 7,5 mg.l ⁻¹ BAP)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Descripción						
Costos variables	614,80	29,44	578,19	28,69	562,41	28,41
Mano de Obra Directa	317,24	15,19	317,24	15,74	317,24	16,03
Materiales directos	91,04	4,36	54,43	2,70	38,65	1,95
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	206,52	9,89	206,52	10,25	206,52	10,43
Costos fijos	119,52	5,72	119,39	5,92	117,24	5,92
Costos indirectos	119,52	5,72	119,39	5,92	117,24	5,92
Gastos de administración	620,00	29,68	620,00	30,77	620,00	31,32
Costo total	2088,64	100,00	2015,17	100,00	1979,29	100,00
Sobrevivencia	127,00		61,00		29,00	
Costo de producción por planta	10,66		21,60		44,82	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	64,00		31,00		15,00	
Precio por planta	35,13		35,13		35,13	
Beneficio bruto	4497,04		2178,25		1053,99	
Beneficio neto	1733,84		-163,65		-1083,39	
Beneficio.Costo⁻¹	0,83		-0,08		-0,55	

Por otro lado, el tratamiento 160 mg.l⁻¹ SA*1,5 mg.l⁻¹ BAP generó pérdidas de 7,7% de la producción anual (Anexo LXIII), el cual se transformó en 31 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que requirió 28,69% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 21,60 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de -0,08 que no le reconoce factibilidad a este tratamiento (Tabla 63).

El tratamiento 160 mg.l⁻¹ SA*7,5 mg.l⁻¹ BAP, mostró 4,1 en tasa de multiplicación así mismo, *Philodendron sp.* con SA 160 mg.l⁻¹ generó 1,5 en tasa de multiplicación (Blanco y Valverde 2004). También este nivel generó pérdidas de 14,3% en la producción anual (Anexo LXIII), el mismo que formó 15 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que necesitó 28,41% de inversión en costo variable, para generar el costo de producción de 44,82 Bs. por planta que logró una relación B.C⁻¹ de -0,55 que no afirmó factibilidad (Tabla 63).

7.5.2.2. Fase de Enraizamiento

En un análisis de costos en *Anthurium grande* mostró que el tratamiento 0 mg.l⁻¹ ANA, logró 4,9 en tasa de multiplicación con pérdidas de 2,6% de la producción anual (Anexo LXIV), el mismo que se convirtió en 49 frascos.año⁻¹ como volumen de producción, el cual solicitó 40,29% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 21,78 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 0,39 término que no permitió factibilidad (Tabla 64).

Revisando el tratamiento 0,75 mg.l⁻¹ ANA, se tuvo 5,8 en tasa de multiplicación con pérdidas de 21,1% en la producción anual (Anexo LXIV), el cual se transformó en volumen de producción de 54 frascos.año⁻¹, el cual requirió 40,35% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 19,58 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 0,53 que no le atribuyó factibilidad a este tratamiento (Tabla 64).

Tabla 64. Análisis de la distribución de costos de producción (A. grande).

Tratamiento	(0 mg.l ⁻¹ ANA)		(0,75 mg.l ⁻¹ ANA)		(1,5 mg.l ⁻¹ ANA)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Costos variables	851,02	40,29	853,34	40,35	882,05	41,15
Mano de Obra Directa	386,42	18,29	386,42	18,27	386,42	18,03
Materiales directos	167,20	7,92	169,52	8,02	198,23	9,25
Uso de Energía eléctrica, agua, Teléfono	297,40	14,08	297,40	14,06	297,40	13,88
Costos fijos	145,25	6,88	145,28	6,87	145,30	6,78
Costos indirectos	145,25	6,88	145,28	6,87	145,30	6,78
Gastos de administración	1116,00	52,83	1116,00	52,78	1116,00	52,07
Costo total	2112,27	100,00	2114,62	100,00	2143,36	100,00
Sobrevivencia	97,00		108,00		135,00	
Costo de producción por planta	21,78		19,58		15,88	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	49,00		54,00		68,00	
Precio por planta	35,13		35,13		35,13	
Beneficio bruto	3443,04		3794,38		4778,10	
Beneficio neto	814,32		1110,60		1918,03	
Beneficio.Costo⁻¹	0,39		0,53		0,89	

Observando 1,5 mg.l⁻¹ ANA, se mostró 7,1 en tasa de multiplicación con pérdidas de 15,5% en la producción anual (Anexo LXIV), que formó 68 frascos.año⁻¹ en volumen de producción que necesitó 41,15% de inversión en costo variable, para generar costo de producción de 15,88 Bs. por planta que logró la relación B.C⁻¹ de 0,89 que no ratificó factibilidad (Tabla 64).

En un análisis de costos el tratamiento 3 mg.l⁻¹ de ANA, mostró 3,2 en tasa de multiplicación con pérdidas de 53,6% en la producción anual (Anexo LXV), que logró 27 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, el cual solicitó 39,82% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 39,54 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de -0,23 término que no permitió factibilidad a este tratamiento como se observa en la Tabla 65.

El nivel 6 mg.l⁻¹ ANA, logró 3,5 en tasa de multiplicación con pérdidas de 114,9% en la producción anual (Anexo LXV), transformado en 21 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que requirió 40,03% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 50,07 Bs.planta, generando el B.C⁻¹ de -0,40 que no le habilitó factibilidad (Tabla 65).

Tabla 65. Análisis de la distribución de costos de producción (*A. grande*).

Tratamiento	(3 mg.l ⁻¹ ANA)		(6 mg.l ⁻¹ ANA)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Costos variables	834,36	39,82	841,72	40,03
Mano de Obra Directa	386,42	18,44	386,42	18,38
Materiales directos	150,53	7,18	157,90	7,51
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	297,40	14,19	297,40	14,14
Costos fijos	145,18	6,93	145,12	6,90
Costos indirectos	145,18	6,93	145,12	6,90
Gastos de administración	1116,00	53,26	1116,00	53,07
Costo total	2095,54	100,00	2102,85	100,00
Sobrevivencia	53,00		42,00	
Costo de producción por planta	39,54		50,07	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	27,00		21,00	
Precio por planta	35,13		35,13	
Beneficio bruto	1897,19		1475,59	
Beneficio neto	-482,93		-848,59	
Beneficio.Costo⁻¹	-0,23		-0,40	

7.5.2.3. Fase de Aclimatación

En un balance de *Anthurium grande* con los costos en el tratamiento carbón*cascarilla de arroz mostró 4,0 en tasa de multiplicación con pérdidas de 72,5% en la producción anual (Anexo LXVI), que se convirtió en un volumen de producción de 30 frascos.año⁻¹, que solicitó 66,59% de inversión en costo variable, Por tanto, el costo de producción fue 15,71 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 0,90 término que no permitió factibilidad (Tabla 66).

Tabla 66. Análisis de la distribución de costos de producción (*A. grande*).

Tratamiento	(Carbón*Cascarilla de arroz)		(Sin Carbón* Cascarilla de arroz)		(Carbón*Chachin)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Costos variables	627,57	66,59	1060,71	77,11	549,77	62,78
Mano de Obra Directa	133,27	14,14	133,27	9,69	173,73	19,84
Materiales directos	401,36	42,59	834,50	60,66	283,10	32,33
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	92,94	9,86	92,94	6,76	92,94	10,61
Costos fijos	35,87	3,81	35,90	2,61	47,00	5,37
Costos indirectos	35,87	3,81	35,90	2,61	47,00	5,37
Gastos de administración	279,00	29,60	279,00	20,28	279,00	31,86
Costo total	942,45	100,00	1375,61	100,00	875,78	100,00
Sobrevivencia	60,00		126,00		42,00	
Costo de producción por planta	15,71		10,92		20,85	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	30,00		63,00		21,00	
Precio por planta	35,13		35,13		35,13	
Beneficio bruto	2107,99		4426,77		1475,59	
Beneficio neto	849,34		2387,14		378,48	
Beneficio.Costo⁻¹	0,90		1,74		0,43	

Revisando el tratamiento sin carbón*cascarilla de arroz se tuvo 6,4 en tasa de multiplicación con pérdidas de 4,3% de la producción anual (Anexo LXVI), el cual se transformó en un volumen de producción de 63 frascos.año⁻¹, que necesitó 77,11% de inversión en costo variable, Por tanto, el costo de producción fue 10,92 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 1,74 que le atribuyó factibilidad a este tratamiento (Tabla 66).

Analizando carbón*chachin, se mostró 3,2 en tasa de multiplicación con pérdidas de 101,2% en la producción anual (Anexo LXVI), que formó 21 frascos.año⁻¹ en volumen de producción que necesitó 62,78% de inversión en costo variable, para generar 20,85 Bs. por planta en costo de producción que logró la relación B.C⁻¹ de 0,43 que no ratificó factibilidad (Tabla 66).

Observando los costos en el tratamiento sin carbón*chachin, mostró 7,5 como tasa de multiplicación con pérdidas de 23,9% de la producción anual (Anexo LXVII), el mismo se convirtió en 69 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que requirió 78,34% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 10,91 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de 1,74 que permitió factibilidad a este tratamiento (Tabla 67).

Examinando el tratamiento carbón*grava se tuvo 7,1 en tasa de multiplicación con pérdidas de 64,1% en la producción anual (Anexo LXVII), el cual se transformó en 61 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, el cual requirió 76,61% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 11,22 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 1,66 que le atribuyó factibilidad a este tratamiento (Tabla 67).

Tabla 67. Análisis de la distribución de costos de producción (A. grande).

Tratamiento	(Sin Carbón*Chachin)		(Carbón*Grava)		(Sin Carbón*Grava)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Costos variables	1179,67	78,34	1049,12	76,61	461,70	59,05
Mano de Obra Directa	173,73	11,54	152,57	11,14	152,57	19,51
Materiales directos	913,00	60,63	803,61	58,69	216,19	27,65
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	92,94	6,17	92,94	6,79	92,94	11,89
Costos fijos	47,07	3,13	41,23	3,01	41,17	5,27
Costos indirectos	47,07	3,13	41,23	3,01	41,17	5,27
Gastos de administración	279,00	18,53	279,00	20,37	279,00	35,68
Costo total	1505,74	100,00	1369,35	100,00	781,87	100,00
Sobrevivencia	138,00		122,00		32,00	
Costo de producción por planta	10,91		11,22		24,43	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	69,00		61,00		16,00	
Precio por planta	35,13		35,13		35,13	
Beneficio bruto	4848,37		4286,24		1124,26	
Beneficio neto	2615,37		2273,95		173,75	
Beneficio.Costo⁻¹	1,74		1,66		0,22	

Analizando el tratamiento sin carbón*grava, se mostró 2,3 en tasa de multiplicación con pérdidas de 102,8% en la producción anual (Anexo LXVII), que formó 16 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, que necesitó 59,05% de inversión en costo variable, para generar un costo de producción de 24,43 Bs. por planta que logró la relación B.C⁻¹ de 0,22 que no ratificó factibilidad a este tratamiento (Tabla 67).

En un análisis de costos en el tratamiento carbón*fibra de coco, mostró 3,0 en tasa de multiplicación con pérdidas de 39,3% en la producción anual (Anexo LXVIII), que se convirtió en 26 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, el cual solicitó 66,80% de inversión en costo variable. Por tanto, el costo de producción fue 19,85 Bs. por planta, que generó la relación B.C⁻¹ de 0,50 término que no permitió factibilidad a este tratamiento (Tabla 68).

Tabla 68. Análisis de la distribución de costos de producción (A. grande).

Tratamiento	(Carbón*Fibra de coco)		(Sin Carbón*Fibra de coco)	
	Valor en Bs.	%	Valor en Bs.	%
Descripción				
Costos variables	689,56	66,80	593,92	63,41
Mano de Obra Directa	234,41	22,71	234,41	25,03
Materiales directos	362,21	35,09	266,57	28,46
Uso de Energía eléctrica, agua, teléfono	92,94	9,00	92,94	9,92
Costos fijos	63,74	6,17	63,71	6,80
Costos indirectos	63,74	6,17	63,71	6,80
Gastos de administración	279,00	27,03	279,00	29,79
Costo total	1032,30	100,00	936,64	100,00
Sobrevivencia	52,00		38,00	
Costo de producción por planta	19,85		24,65	
Volumen de producción (frasco.año⁻¹)	26,00		19,00	
Precio por planta	35,13		35,13	
Beneficio bruto	1826,92		1335,06	
Beneficio neto	520,59		198,16	
Beneficio.Costo⁻¹	0,50		0,21	

Revisando sin carbón*fibra de coco se tuvo 3,1 en tasa de multiplicación con pérdidas de 109,4% en la producción anual (Anexo LXVIII), que logró 19 frascos.año⁻¹ en volumen de producción, necesitó 63,41% de inversión en costo variable. Es así, que costo 24,65 Bs. por planta, que generó una relación B.C⁻¹ de 0,21 que no le atribuyó factibilidad (Tabla 68).

En resumen, para *Anthurium acebeyae*, se tiene los siguientes resultados en la fase de multiplicación en base a los costos de producción:

	BAP 0,3 mg.l⁻¹	BAP 1,5 mg.l⁻¹	BAP 7,5 mg.l⁻¹
SA 0 mg.l⁻¹			
TM	11,50	18,60	5,40
C	11,07	6,73	22,09
B.C ⁻¹	1,07 ³	2,37 ¹	0,04 ⁸
SA 80 mg.l⁻¹			
TM	6,30	21,50	10,80
C	20,92	8,89	11,68
B.C ⁻¹	0,12 ⁹	1,56 ²	0,96 ⁴
SA 160 mg.l⁻¹			
TM	9,60	10,00	8,10
C	16,36	15,08	11,97
B.C ⁻¹	0,42 ⁷	0,54 ⁵	0,91 ⁶

TM Tasa de multiplicación C Costo de producción
B.C⁻¹ Beneficio/Costo ¹ Orden de importancia

En *Anthurium acebeyae*, se tiene los siguientes resultados para la fase de enraizamiento en base a los costos de producción:

	ANA 0 mg.l⁻¹	ANA 1,5 mg.l⁻¹	ANA 0,75 mg.l⁻¹	ANA 6 mg.l⁻¹	ANA 3 mg.l⁻¹
TM	5,10	4,50	9,60	3,50	3,00
C	24,93	38,76	42,77	49,67	74,42
B.C ⁻¹	0,47 ¹	-0,07 ²	-0,14 ³	-0,27 ⁴	-0,51 ⁵

TM Tasa de multiplicación C Costo de producción
B.C⁻¹ Beneficio/Costo ¹ Orden de importancia

También en *Anthurium acebeyae*, se tiene los siguientes resultados para la fase de aclimatación en base a los costos de producción:

	Cascarilla de arroz	Grava	Chachin	Fibra de coco
sin carbón				
TM	2,50	2,80	2,40	2,30
C	21,00	17,55	23,23	27,99
B.C ⁻¹	0,72 ⁵	1,06 ¹	0,55 ⁶	0,29 ⁷
con carbón				
TM	2,90	2,70	2,60	2,20
C	17,99	18,98	20,20	31,02
B.C ⁻¹	1,01 ²	0,90 ³	0,79 ⁴	0,16 ⁸

TM Tasa de multiplicación C Costo de producción
B.C⁻¹ Beneficio.Costo⁻¹ ¹ Orden de importancia

En resumen, para *Anthurium grande*, se tiene los siguientes resultados para la fase de multiplicación en base a los costos de producción:

	BAP 0,3 mg.l⁻¹	BAP 1,5 mg.l⁻¹	BAP 7,5 mg.l⁻¹
SA 0 mg.l⁻¹ TM	7,90	5,50	4,10
C	14,06	21,24	20,00
B.C⁻¹	0,40 ³	-0,08 ⁸	-0,40 ⁷
SA 80 mg.l⁻¹ TM	10,20	7,10	6,70
C	9,24	16,37	21,18
B.C⁻¹	1,09 ¹	0,20 ⁴	-0,08 ⁶
SA 160 mg.l⁻¹ TM	12,30	9,50	4,10
C	10,66	21,60	44,82
B.C⁻¹	0,83 ²	-0,00 ⁵	-0,55 ⁹

TM Tasa de multiplicación C Costo de producción
B.C⁻¹ Beneficio.Costo⁻¹ ¹ Orden de importancia

Para *Anthurium grande*, se tiene los siguientes resultados para la fase de enraizamiento en base a los costos de producción:

	ANA 1,5 mg.l⁻¹	ANA 0,75 mg.l⁻¹	ANA 0 mg.l⁻¹	ANA 3 mg.l⁻¹	ANA 6 mg.l⁻¹
TM	7,10	5,80	4,90	3,20	3,50
C	15,88	19,58	21,78	39,54	50,07
B.C⁻¹	0,89 ¹	0,53 ²	0,39 ³	-0,23 ⁴	-0,40 ⁵

TM Tasa de multiplicación C Costo de producción
B.C⁻¹ Beneficio.Costo⁻¹ ¹ Orden de importancia

Finalmente en *Anthurium grande*, se tiene los siguientes resultados para la fase de aclimatación en base a los costos de producción:

	Cascarilla de arroz	Grava	Chachin	Fibra de coco
sin carbón TM	6,40	2,30	7,50	3,10
C	10,92	24,43	10,91	24,65
B.C⁻¹	1,74 ²	0,22 ⁷	1,74 ¹	0,21 ⁸
con carbón TM	4,00	7,10	3,20	3,00
C	15,71	11,22	20,85	19,85
B.C⁻¹	0,90 ⁴	1,66 ³	0,43 ⁶	0,50 ⁵

TM Tasa de multiplicación C Costo de producción
B.C⁻¹ Beneficio.Costo⁻¹ ¹ Orden de importancia

Al evaluar la pérdida de producción en *Anthurium acebeyae*, en los mejores tratamientos se obtuvo 0 y 1,5 % para la fase de multiplicación, así mismo, en la fase de enraizamiento se tuvo 38,3 y 61,1 % de igual manera, en la fase de aclimatación se encontró 22,2 y 46,7 % de pérdida. Pero, en *Anthurium grande* se observó en la fase de multiplicación 10,9 y 11 % de pérdida, del mismo modo, en la fase de enraizamiento se demostró 15,5 y 21,1 % finalmente, para la fase de aclimatación se mostró 4,3 y 23,9 % de pérdida.

Por lo expuesto se observó que, en *A. acebeyae* el porcentaje de pérdidas va en aumento a manera que cambia a las diferentes fases, en relación a *A. grande* que varía muy poco el porcentaje de pérdidas en las diferentes fases, estas pérdidas de explantes se debieron principalmente a la contaminación bacteriana, oxidación y posterior muerte de las vitroplantas, también se observó pérdidas pero en menor cuantía por contaminación con hongos y en la aclimatación las pérdidas fueron debido al manejo, cabe recalcar que el IBMB-UBV es una institución que tiene las puertas abiertas a los estudiantes lo cual de alguna manera influyó en el incremento de la contaminación ambiental.

Al respecto, experiencias en laboratorios comerciales según Espinal-Rueda, 2002 citado en Salgado J. 2002, indicaron que las pérdidas de frascos con vitroplantas no deben ser mayor a 2% del total de la producción, pero Ahloowalia y Savangikar 2004; citado en Mohan y Ahloowalia 2004 indicaron que en una producción a gran escala las pérdidas por contaminación el 5% no deben superar.

8. Conclusiones

Anthurium acebeyae

- En la fase de multiplicación los subcultivos deben realizarse cada 4 meses en *Anthurium acebeyae* para permitirle desarrollo adecuado del callo, los brotes y el explante, para tener éxito en la obtención de vitroplantas listas para la fase de enraizamiento.
- El mejor tratamiento en *Anthurium acebeyae* es **BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹** que inicia antes la formación de brotes, genera vitroplantas con buenas características fenotípicas, así mismo, presenta alta dependencia del brote formado con el número de hojas del explante paralelamente, el tamaño de callo produce multiplicación progresiva que logra 21,5 en tasa de multiplicación con un costo por vitroplanta de 8,89 Bs. que genera un beneficio.Costo⁻¹ de 1,56 que lo justifica como el mejor tratamiento.
- El segundo mejor tratamiento en *Anthurium acebeyae* es **BAP 1,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹**, que genera explantes fuertes y vigorosos, con buen desarrollo del callo que logra una tasa de multiplicación de 18,6 así mismo, no requiere de la influencia de Sulfato de adenina, que incrementa el costo de producción por planta a 6,73 Bs. que logró un Beneficio.Costo⁻¹ de 2,37 que hace a este tratamiento viable.
- El tratamiento menos recomendable para la fase mencionada en *Anthurium acebeyae* es **BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹**, que produce la peor tasa de multiplicación logrando 5,4 que encarece demasiado los costos de producción en 22,09 Bs.vitroplanta⁻¹ que genera un Beneficio.Costo⁻¹ de 0,04 que no hace viable a este tratamiento.
- La concentración de la citocinina BAP evita la formación de raíces, que es deseable para la fase de multiplicación, pero si la carga es demasiada perjudica la formación de brotes.
- El tiempo adecuado para *Anthurium acebeyae* en la fase de enraizamiento es 4 meses, tiempo en el cual las vitroplantas logran desarrollo adecuado de las raíces al igual que la parte aérea.
- El mejor resultado en *Anthurium acebeyae* es **ANA 0 mg.l⁻¹**, que forma raíces (en menor tiempo con mayor largo, máximo número y mayor diámetro), también genera menor diámetro del cuello con mayor largo de peciolo que forma brotes alcanzando 5,1 en tasa de multiplicación que permite el desarrollo del explante y máximo número de hojas en el explante, de igual manera manifiesta alta contaminación bacteriana con moderada

oxidación que se manifiesta en porcentaje moderado de muerte en los explantes, este tratamiento presentó 24,93 Bs. en costo de producción por vitroplanta generando un Beneficio.Costo⁻¹ de 0,47 que es aceptable.

- Un tratamiento que prosigue al anterior en *Anthurium acebeyae* es **ANA 1,5 mg.l⁻¹**, que genera explantes con buenas características fenóticas *in vitro* a la vez permite buen desarrollo del diámetro del callo que forma brotes, por tanto logra 4,5 en tasa de multiplicación que no afecta en la formación de raíz (con buen desarrollo, buen número y buen diámetro). Por otro lado, mantiene regular contaminación bacteriana, regular oxidación y en consecuencia moderada muerte de los explantes, así mismo, los costos aumentan por el uso del regulador de crecimiento, dando el costo de 38,76 Bs. por vitroplanta que logra un Beneficio.Costo⁻¹ de -0,07 en costos de producción.
- En *Anthurium acebeyae*, el tratamiento menos recomendable es **ANA 6 mg.l⁻¹**, que reduce la sobrevivencia del explante, presenta menor desarrolló, genera raíces (con el menor desarrollo y menor número), forma callos no bien definidos que se disgregan fácilmente y generan 3,5 en tasa de multiplicación por otro lado, sufre mínima oxidación, regular contaminación bacteriana que forma mínima muerte de los explantes, por tanto, los costos de producción se elevan, dando 49,67 Bs. por vitroplanta con Beneficio.Costo⁻¹ de -0,27.
- La fase de aclimatación en *Anthurium acebeyae* debe realizarse por al menos 2 meses para garantizar la sobrevivencia de los plantines.
- El mejor tratamiento en *Anthurium acebeyae* es **cascarilla de arroz con carbón**, que genera alta sobrevivencia, que tarda en aclimatar a la vitroplanta pero con buenas características fenóticas, a la vez proporciona las mejores condiciones de medio, que permite buen desarrollo del plantin con mayor largo de raíz por otro lado, genera mayor diámetro del cuello que produce 2,9 en tasa de multiplicación con costo 17,99 Bs. por vitroplanta que logra un Beneficio.Costo⁻¹ de 1,01 que justifica en costos de producción.
- El segundo mejor sustrato que permite alta sobrevivencia en *Anthurium acebeyae* es **grava con carbón**, que genera plantines con buenas características fenóticas, que con el tiempo comienzan a ponerse vigorosas, con mayor altura del explante y mayor largo de raíz, también presenta mayor diámetro del cuello con 2,7 en tasa de multiplicación con

costo por vitroplanta de 18,98 Bs. que logra un Beneficio.Costo⁻¹ de 0,90 que justifica en costos de producción.

- El sustrato menos recomendable en *Anthurium acebeyae* es, **fibra de coco sin carbón**, que genera regular sobrevivencia, porque en el transcurso del tiempo sus hojas se queman y secan la raíz, genera menor altura del plantin con menor largo de raíz este efecto se debe al sustrato que requiere un lavado adicional en su preparación, también desarrolla el menor diámetro del cuello, que genera 2,3 en tasa de multiplicación con costo por vitroplanta de 27,99 Bs. logrando un Beneficio.Costo⁻¹ de 0,29 que no justifica en costos de producción.

Anthurium grande

- En *Anthurium grande* para la fase de multiplicación, es mejor realizar los subcultivos cada 5 meses para obtener buenos explantes con características fenotípicas deseables para la fase de enraizamiento.
- En *Anthurium grande*, el mejor resultado es **BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 80 mg.l⁻¹**, que genera explantes más vigorosos y con buenas características fenotípicas, así mismo muestra alta relación entre el número de hojas generadas en el brote por cada brote formado, también desarrolla el mayor diámetro del callo que alcanza 10,2 en tasa de multiplicación con costo por vitroplanta de 9,24 Bs. logrando un Beneficio.Costo⁻¹ de 1,09.
- El segundo mejor tratamiento en *Anthurium grande* es **BAP 0,3 mg.l⁻¹ con SA 160 mg.l⁻¹**, que genera vitroplantas con buenas características fenotípicas, que inicia primero la formación de brotes, que logra 12,3 en tasa de multiplicación con costo por vitroplanta de 10,66 Bs. logrando el Beneficio.Costo⁻¹ de 0,83 que justifica costos de producción elevado por el uso de sulfato de adenina.
- El tratamiento menos recomendable en *Anthurium grande* para la fase de multiplicación es **BAP 7,5 mg.l⁻¹ con SA 0 mg.l⁻¹**, que genera explantes que tardan en formar brotes y logran 4,1 en tasa de multiplicación con 20,0 Bs. en costo por vitroplanta que genera el Beneficio.Costo⁻¹ de -0,40 en costos de producción.
- En *Anthurium grande* la concentración de la citocinina BAP reduce la formación de raíces y favorece a la formación de brotes, pero la más alta carga reduce la capacidad de formar brotes deseables para la fase de multiplicación.

- La fase de enraizamiento para *Anthurium grande*, requiere 4 meses para lograr raíces con buen tamaño y número suficientes para continuar su proceso en la fase de aclimatación.
- En *Anthurium grande* el mejor tratamiento es **ANA 0,75 mg.l⁻¹**, que genera explantes con buenas características fenotípicas con máximo número de hojas, que en menor tiempo genera raíces (con mayor largo, máximo número y buen diámetro), presenta alta relación entre el aumento del largo de raíz por cada hoja generada en el explante. Por otro lado, permite el menor desarrollo del diámetro de callo, que logra mayor largo de peciolo, que forma brotes generando 5,8 en tasa de multiplicación con 19,58 Bs. en costo por vitroplanta. Así mismo, presenta menor oxidación, menor muerte de los explantes, también se determina alta relación entre la presencia de oxidación que permite el aumento del largo de raíz, finalmente el Beneficio.Costo⁻¹ es de 0,53 en costos de producción.
- En *Anthurium grande* el segundo mejor tratamiento es **ANA 0 mg.l⁻¹**, que genera raíces (con mayor largo, buen número y mayor diámetro) en menor tiempo, con buenas características fenotípicas que promueve el desarrollo del explante, así mismo, genera menor diámetro del callo que forma buen largo de peciolo que logra brotes que alcanza 4,9 en tasa de multiplicación con un costo por vitroplanta de 21,78 Bs. logrando un Beneficio.Costo⁻¹ de 0,39 que justifica económicamente en costos de producción, por otro lado, no presenta contaminación bacteriana pero manifiesta regular muerte de explantes.
- El tratamiento menos recomendable en *Anthurium grande* es **ANA 6 mg.l⁻¹**, que no logra el desarrollo adecuado del explante, genera raíces (con menor largo, menor número y menor diámetro), que en su mayoría son inicios de formación de raíz, por otro lado, genera alta oxidación con menor número de explantes muertos y logra 3,5 en tasa de multiplicación con costo por vitroplanta de 50,07 Bs. que logra Beneficio.Costo⁻¹ de -0,40 en costos de producción.
- La fase de aclimatación de *Anthurium grande* se debe realizar por al menos dos meses, tiempo en el cual se garantiza la alta sobrevivencia de los plantines y se define a la vez los sustratos que le permiten mejor desarrollo.
- El mejor tratamiento en *Anthurium grande* destaca **chachin sin carbón**, que genera buena sobrevivencia de los plantines con mayor altura y máximo número de hojas, que también formaron raíces (con mayor largo, máximo número y mayor diámetro), los

plantines presentaron buenas características fenotípicas. Por otro lado, genera mayor diámetro del cuello con regular número de rebrotes que alcanzó una tasa de multiplicación de 7,5 con costo por vitroplanta de 10,91 Bs. logrando un Beneficio.Costo⁻¹ de 1,74 que justifica en costos de producción.

- El segundo tratamiento en *Anthurium grande* es **cascarilla de arroz sin carbón**, que genera alta sobrevivencia en plantines con mayor altura, máximo número de hojas que forma raíces (con mayor largo, máximo número y mayor diámetro), que presenta buenas características fenotípicas, permite buen diámetro del cuello que forma mayor número de brotes que logra una tasa de multiplicación de 6,4 con costo por vitroplanta de 10,92 Bs. logrando un Beneficio.Costo⁻¹ de 1,74 que justifica en costos de producción.
- En *Anthurium grande* el tratamiento menos recomendable es **fibra de coco con carbón**, que genera buena sobrevivencia del explante con menor altura y menor número de hojas que forma raíces (con menor largo, menor número y menor diámetro), que genera menor diámetro del cuello que logra una tasa de multiplicación de 3,0 con un costo por vitroplanta de 19,85 Bs. logrando un Beneficio.Costo⁻¹ de 0,50 que no justifica en costos de producción.
- Se estableció protocolos para la multiplicación y enraizamiento *in vitro*, además de la aclimatación para las dos especies en estudio.

9. Recomendaciones

- Las colectas de los espádices de *Anthurium* no deben realizarse en fase inmadura, sino en la última etapa de maduración para tener éxito en la germinación.
- Se recomienda realizar más estudios sobre colecta de espádices y las épocas adecuadas de colecta ya que se observó como en algunas épocas de recolección el porcentaje de germinación es cero.
- Pasado los 6 meses en la fase de multiplicación en *A. acebeyae* el medio de cultivo no es capaz de mantener al callo y las vitroplantas por falta de espacio, luego de este tiempo las vitroplantas pueden comenzar a sufrir procesos de oxidación que lo necrosa ó en algunos casos puede presentar vitrificación.
- En *A. grande* los explantes no pueden estar en medio de multiplicación por más de 7 meses debido al espacio del frasco y el medio de cultivo que no es capaz de mantener al callo, pasado este tiempo las vitroplantas pueden comenzar a sufrir un proceso de oxidación que necrosa los callos por la base.
- En la fase de enraizamiento se sugiere investigar sobre el enraizamiento *ex vitro* ó buscar diferentes enraizadores para reducir costos, porque esta fase encarece el costo de producción en el proceso de micropropagación.
- Para los subcultivos de multiplicación y enraizamiento se recomienda añadir al medio nutritivo sustancias antioxidantes como ácido cítrico, ácido ascórbico, carbón activado, leche de coco, etc. para reducir la oxidación, producida por la excisión del explante.
- Las vitroplantas que sufren oxidación ó contaminación bacteriana preferentemente deben pasar a un medio con carbón que reduce su efecto y permite salvar los explantes para llevarlos a la fase de aclimatación.
- Si los explantes sufren oxidación y contaminación bacteriana los repiques más próximos salvarán a los explantes para llevarlos a la fase de aclimatación, pero si su efecto es severo es más probable la muerte del explante.
- En la fase de aclimatación, *Anthurium acebeyae* es más exigente a las condiciones de semisombra por su alta sensibilidad a la luz.

- En el periodo de aclimatación, *Anthurium grande* requiere semisombra, si bien es más resistente al efecto de la luz directa, sí está expuesta por mucho tiempo sufre quemado, deshidratación y puede sufrir una muerte lenta.
- Se recomienda hacer estudios de embriogénesis somática, que por lo observado daría mejores resultados en la obtención de vitroplantas a nivel comercial.

10. Bibliografía

- Abedini, WI y Sharry, SE. 1994. Producción de callo *in vitro* de *Melia azederach* L. para la obtención de compuestos con propiedades insectífugas. VIII Congreso Nacional de Recursos Naturales Aromáticos y Medicinales. La Plata, Argentina. XV: p. 289-294. Anales de SAIPA.
- Acebey, A; Kessler, M; Maass, B y Krömer, T. 2006. Araceas y Bromelias de Bolivia. M. Moraes R., B. Ollgaard, L. P. Kvist, F. Göttingen, AL. p. 434-448.
- Acebey, A; Kessler, M; Maass, B. 2007. Potencial de aprovechamiento de Araceae y Bromeliaceae Como recurso no maderable en el bosque montano húmedo del Parque Nacional Cotapata, Bolivia. Göttingen, AL. *Ecología en Bolivia*. 42(1):4-22.
- Agramonte, PD; Barbón R, R; Jiménez T, F; Pérez P, M; Gutierrez M, O; Collado L, R y Cardenas, LM. 2007. Embriogenesis Somática en *Anthurium andraeanum* Lind. variedad 'Lambada' en medio de cultivo semisólido. Instituto de Biotecnología de las plantas. Forum XVI. p. 13.
- Ahloowalia, BS y Savangikar, VA. 2004. Low cost options for energy and labour: In Mohan, J y Ahloowalia, BS. Low cost options for tissue culture technology in developing countries. International Atomic Energy Agency IAEA. Viena, Austria. P. 41-45.
- Alanís M, JL; Muñoz A. FO; López O, M; Cuervo L, L y Raya C, BE. 2007. Aporte al conocimiento de las epifitas (Bromeliaceae, Cactaceae y Orchidaceae) en dos tipos de vegetación del municipio de Pánuco, Veracruz, México. UDO Agrícola. v. 7(1): p. 160-174.
- Alvarado M. y Solano J, 2002. Producción de Sustratos para Viveros. Proyecto regional de fortalecimiento de la vigilancia fitosanitaria en cultivos de exportación no tradicional – VIFINEX. Costa Rica. p. 50.
- Azevedo, JL; Maccheroni Jr, W; Pereira, JO y Araújo, WL. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. Universidad Católica de Valparaíso, Chile. EJB Electronic Journal of Biotechnology. vol. 3 N° 1. p. 40-64.
- Bach, K; Grandstein, SR. 2007. Cambio hipsométrico de la vegetación en un bosque nublado de los Yungas de Bolivia-metodología y cinturones altitudinales. La Paz, BO. *Ecología en Bolivia*. v 42(2): p. 15.

- Bach, K; Schawe, M; Beck, S; Gerold, G; Gradstein, SR y Moraes R, M. 2003. Vegetación, suelos y clima en los diferentes pisos altitudinales de un bosque montano de Yungas, Bolivia: Primeros resultados. *Ecología en Bolivia* 38(1): 3-14.
- Barba, AA, 1994. Reguladores del crecimiento vegetal. In Hurtado M, DV y Merino M, MA. *Cultivo de Tejidos Vegetales*. Editorial Trillas. Mexico DF. p. 48-66.
- Bazaldúa M, C; Ventura Z, E; Salcedo M, G; Maldonado A. U; López G, A. 2008. Densidad Estomatal y Potencial Hidrico en Plantas de Tomate (*Physalis ixocarpa* Brot.) Propagadas por cultivo de meristemas. Mexico. *Revista Chapingo*. 14 (2). P. 147-152 (Serie horticultura).
- Bejoy, M; Sumitha, VR y Anish, NP. 2008. Foliar Regeneration in *Anthurium andraeanum* Hort. cv. Agnihothi. Kerala, In. *Biotechnology* 7 (1): p. 134-138.
- Bisby, FA; Roskov, YR; Ruggiero, MA; Orrell, TM; Paglinawan, LE; Brewer, PW; Bailly, N; y van Hertum, J. 2007. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life: 2007 Annual Checklist. Species 2000: Reading, UK. Global Biodiversity Information Facility. Accessed November 16, 2007. Disponible en: <http://www.gbif.org/>
- Blanco, M; Valverde, R. 2004. Micropropagación de *Philodendron* sp (Posiblemente *P. corcovadense*). *Agronomía Costarricense*. Costa rica 28(1): 39-46.
- Boissieu D; Lilienfel, MD y Pauquet, S. 2005. Diagnóstico del Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Cotapata. Bolivia. P. 66. Serie Perfiles de Parques Parks Watch. <http://www.parkswatch.org/parkprofile.php?l=spa&country=bol&park=cong>
- Bruna Marcos, 2009. Sustratos de coco. Empresa española radicada en República Dominicana especialista en sustrato de coco para plantas ornamentales o para cultivos. Disponible en: <http://www.galeon.com/marcosbrunaplaz@gmail.com>
- Calderón, SF. 2002. La cascarilla de arroz "caolinizada"; una alternativa para mejorar la retención de humedad como sustrato para cultivos hidropónicos. Dr. Calderón Asistencia Técnica Agrícola Ltda. Bogotá D. C., Colombia S.A. Disponible en: <http://www.drcalderonlabs.com>
- Calzada, BJ. 1970. Métodos estadísticos para la investigación. 3º Edición. Jurídica S.A. Lima, Peru. p. 645.

- Cassells, AC. 1991. Problems in tissue culture: culture contamination. In Debergh, PC y Zimmerman, RH. 1991. Micropropagation. Technology and application. Dordrecht, the Netherlands, USA. Kluwer Academic Publisher. p. 31-44.
- Cassells, AC & Curry, RF. 2001. Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers. Ireland. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 64: p. 145–157.
- Castilla, Y; Prieto, Y y Rodríguez, R. (2003). Trabajo de Curso de Fisiología Vegetal. Presentación Power Point.
- Castillo Alicia. 2004. Propagación de Plantas por Cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Unidad de Bioecnología, INIA las Brujas. Uruguay. 8 p.
- Cortez, FC. 2006. Variación altitudinal de la riqueza y abundancia relativa de los anuros del Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Cotapata. Bolivia. *Instituto de Ecología*. 41 (1): p. 46-64.
- Croat, TB y Acebey, A. 2005. New species of Araceae from Bolivia and the tropical Andes. La Paz, BO. *Novon* 15(1): 80-103.
- Debergh, PC y Zimmerman, RH. 1991. Micropropagation. Technology and application. Dordrecht, the Netherlands, USA. Kluwer Academic Publisher. p. 484.
- Debergh, PC y Read, PE. 1991. Micropropagation. In Debergh, PC y Zimmerman, RH. 1991. Micropropagation. Technology and application. Dordrecht, the Netherlands, USA. Kluwer Academic Publisher. p. 1-13.
- Dewir, Chakrabarty, Hahn y Paek, 2006. A simple method for mass propagation of *Spathiphyllum cannifolium* using an airlift bioreactor. South Korea. *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 42: p. 291-297.
- Ding, J; Shi, S; Jiang, BH; Yang, YH; Huang, J; Shen, HG; Xia, K; Zhang, J y Jiang, X. 2004. Effects of methyl jasmonate with indole-3-acetic acid and 6-benzylaminopurine on the secondary metabolism of cultured *Onosma paniculatum* cells. *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 40: p. 581-585.
- Engler, A. 1905 Das Pflanzenreich. Regni vegetabilis conspectus. Im Auftrage der Königl, preuss, Akademie der Wissenschaften. IV 23 B. Araceae-Pothoideae. Mit 618

- Einzelbildern in 88 Figuren von. Leipzig Verlag von Wilhelm Engelmann. Page. 330 p. 204.
- Geir, T. 1982. Morphogenesis and plant regeneration from spadix fragments of *Anthurium Scherzerianum* cultivated *in vitro*. Germany. Proc. 5th Intl. Cong. Plant Tissue y Cell Culture. p. 137-138.
- Geier, T. 1986. Factors affecting plant regeneration from leaf segments of *Anthurium Scherzerianum* Schott (Araceae) cultured *in vitro*. Germany. Plant Cell. Tissue and Organ Culture. 6: p. 115-125.
- George, EF. 2008. Plant Tissue Culture Procedure – Background. In George, EF; Hall, MA y De Klerk, GJ. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. 3rd Edition. The Netherlands. OO. v. 1. The Background. p. 1-28.
- George, EF y Davies, W., 2008. Effects of the Physical Environment. In George, EF; Hall, MA y De Klerk, GJ. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. 3rd Edition. The Netherlands. OO. v. 1. The Background. 504 p.
- George, EF y Debergh, PC. 2008. Micropropagation: Uses and Methods. In George, EF; Hall, MA y De Klerk, GJ. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. 3rd Edition. The Netherlands. OO. v. 1. The Background. p. 29-64.
- George, EF; Hall, MA y De Klerk, GJ. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. 3rd Edition. The Netherlands. OO. v. 1. The Background. 504 p.
- Goel, N; Singh, N y Saini, R. 2009. Efficient *in vitro* multiplication of Syrian Rue (*Peganum harmala* L.) usig 6-benzylaminopurine preconditioned seeding explants. Nature and Science. India. 7(7). Disponible en: ramanksaini@rediffmail.com<http://www.sciencepub.net/naturesciencej@gmail.com>
- Gonzales AM. 2000. Compuestos secundarios. Disponible en: <http://gened.emc.maricopa.edu/Bio/BIO181/BIOBK/BioBookTOC.html>
- Govil, S; Gupta, SC. 1997. Commercialization of plant tissue culture in India. India. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 51: p. 67-73.
- Guerra, MP; Nodari, RO. 2007. Biotecnologia. Brasil. Universidad Federal de Santa Catarina-UFSC. p. 32.

- Guerra S, JF y Ledezma AJ. 2006. "Plan de manejo para mariposas diurnas mediante crianza y cosecha directa del estado silvestre en el Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Cotapata". Estación Biológica Tunquini, Instituto de Ecología, UMSA. La Paz, BO. 36 p.
- Hamidah, M; Abdul G, AK; Debergh, P. 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium scherzerianum*. Netherlands. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 48: p. 189-193.
- Hedden, P. y Thomas, GS. 2006. Plant Hormone Signaling. Blakwell Publishing. Chennai, India. p. 348.
- Heyl, A; Werner, T. y Schmölling, T. 2006. Cytokinin metabolism and signal transduction. In Plant Hormone Signaling. Hedden P. y Thomas, GS. Blakwell Publishing. Chennai, India. p. 93-124.
- Hernández R, JI. 2000. Patrones de distribución de las epifitas vasculares y arquitectura de los forofitos de un bosque húmedo tropical del Alto Oroco, Edo. Amazonas, Venezuela. Acta Biol. Venezuela. v. 20(3): p. 43-60.
- Hurtado M, DV y Merino M, ME. 1994. Cultivo de Tejidos Vegetales. Editorial Trillas. Mexico DF. p. 230.
- INFOJARDIN 2005. Carbon en el sustrato de orquídeas: ¿es bueno? Infojardin>plantas>orquídea>sustratos para orquídeas Powered by V Bulletin Version 3.6.7. Disponible en: Infojardin.com http://articulos.infojardin.com/sustratosparaorquideas/Plantas_interior/Carbon.htm
- Jácome, J; Kessler, M y Smith, AR. 2005. Differential spatial variability of the upper and lower elevational range limits of pteridophytes in the Bolivian Andes: In Jacome R, JH. Factors controlling the lower elevational limits in tropical montane plants in the Andes and their implications under the current climatic change. Bogota, Co. 2, pp. 9-16.
- Jacome R, JH. 2005. Factors controlling the lower elevational limits in tropical montane plants in the Andes and their implications under the current climatic change. Bogota, Co. p. 82.

- Jahan, MT; Islam, MR; Khan, R; Mamun, ANK; Ahmed, G and Hakim, L. 2009. *In vitro* Clonal Propagation of *Anthurium* (*Anthurium andraeanum* L.) Using Callus Culture. *Plant Tissue Cult. & Biotech.* 19(1): p. 61-69. *Agronomia Tropical* 47(2): p. 171-183.
- Jiménez G, E. 1999. Aplicaciones de la Biotecnología en la mejora genética de plantas y en la producción de semillas. Modulo IV. In *Propagación Másiva de plantas in vitro*. Instituto de Biotecnología de las plantas-Cuba. p. 83.
- Jiménez, IV. 2012. Trabajo realizado en el Proyecto “Estudio del potencial de Aprovechamiento Sostenible de Epifitas del PN-ANMI Cotapata”. Unidad de Biotecnología Vegetal. Instituto de Biología Molecular Com. Pers.
- Jiménez, IV y Miranda AF. 2007. Epiphyte Orchid Diversity in a Yungas Montane Forest in the Cotapata National Park and Integrated Management Natural Area, La Paz. Bolivia, *LANKESTERIANA* 7(1-2): 49-52.
- Jørgensen, PM; Macía, MJ; Fuentes, A; Beck, SG; Kessler, M; Paniagua, N; Seidel, R; Maldonado, C; Araujo-Murakami, A; Cayola, L; Consiglio, T; Killeen, TJ; Cabrera, WH; Bascope, F; De la Quintana, D; Miranda, T; Canqui, F & Cardona-Peña, V. 2005. Lista anotada de las plantas vasculares registradas en la región de Madidi. *Ecología en Bolivia* v. 40(3): p. 70-169.
- Kessler, M y Croat, TB. 1999. State of Knowledge of Bolivian Araceae. Göttingen, Germany. *Selbyana* 20(2): p. 224-234.
- Krikorian, AD. 1969. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. Nueva York, EU. SUNY p. 42-77.
- Krömer, T; Gradstein, RS y Acebey, A. 2007. Diversidad y ecología de epífitas vasculares en bosques montanos primarios y secundarios de Bolivia. En, Institute of Plant Sciences. Göttingen, AL. *Ecología en Bolivia*, 42(1): 23-33
- Kuehnle, AR y Sugii, N. 1991. Callus induction and Plantlet regeneration in tissue cultures of hawaiian *Anthuriums*. *HortScience*, Honolulu. 26(7): p. 919-921.
- Kunisaki, JT. 1980. *In vitro* propagation of *Anthurium andraeanum* Lind. *HortScience of Hawaii*. Serie 2443. 15(4): p. 508-509.

- Lee E, HE; Cruz C, GJ y García R, B. 2003. Proliferación de brotes múltiples y aclimatación de anturio (*Anthurium andraeanum* L.) 'Midori' y 'Kalapana' cultivados *in vitro*. Revista Fitotecnia Mexicana. 26:(4) p. 301-307.
- Liendo, M y Mogollón, N. 2009. Multiplicación clonal *in vitro* del anturio (*Anthurium andraeanum* Lind. Cv. Nicoya). Barquisimeto, VE. Bioagro. v. 21(3): p. 6.
- Lima, CF; Ulisses, C; Camara. RT; Cavalcante, TMU; Albuquerque, CC y Willadino, L. 2006. *Anthurium andraeanum* Lindl. cv. Eidibel *in vitro* rooting and acclimatization with arbuscular mycorrhizal fungi. Revista Brasileira de Ciências Agrarias. 33. v1. (n. único): p. 13-16.
- Litz, RE y Jarret, RL. 1993. Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos: embriogénesis somática y organogénesis. In Roca, WM y Mroginski, LA. Cultivo de tejidos en la Agricultura. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. p. 143-172.
- López R, MC. 2005. Micropropagación de orquídeas del género *Phalaenopsis* a partir de yemas del tallo floral. Tesis de Grado. Universidad Loyola. La Paz, BO. p. 87.
- LPB (Herbario Nacional de Bolivia) 2007. UMSA. La Paz, BO.
- Lucena M, N; Gil S, M. 1992. Propagación de *Mussaenda erythrophylla* SCHUM Y THONN, 'Rosea' mediante cultivo *in vitro*. Tesis de Grado. Universidad Centro-Occidental "Lisandro Alvarado" (CADIS-UCLA). Barquisimeto. Venezuela. Agronomía Tropical. 42(5-6): p. 261-283.
- Machakova, I; Zazimalova, E y George, EF. 2008. Plant Growth Regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors. In George, EF; Hall, MA y De Klerk, GJ. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. 3rd Edition. The Netherlands. OO. v. 1. The Background. p. 175-204.
- Marassi, MA. (2008). Otros Reguladores de crecimiento. Disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/plantas/reguladores.htm>
- Mardegan, SF; Bielefeld N, G; Higuchi, N; Reinert, F y Martinelli, LA. 2009. Variation in nitrogen use strategies and photosynthetic pathways among vascular epiphytes in the Brazilian central Amazon. Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil. São Paulo-MG. Rio de Janeiro, Brazil. p. 1-4.

- Martinez P, J; Arizaleta, M; Sanabria, ME y Brito, L. 2004. Características de los Estomás, Densidad e Índice Estomático y su Variación en Función a la Injestaación en *Annona muricata* L. y *A. montana* MADFAC. Barquisimeto, Ve. Bioagro 16(3) p. 7.
- Matehus, J; Romay, G; Santana, MA. 2006. Multiplicación *in vitro* de Ocumo y Taro. *Agronomia Tropical*. 56(4): p. 607-613.
- Matsumoto, TK; Webb, DT y Kuehnle AR. 1996. Histology and Origin of Somatic Embryos Derived from *Anthurium andraeanum* Linden ex André Lamina. Hawaii. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 121(3): p. 404-407.
- Matsumoto, TK; Kuehnle AR y Webb, DT. 1998. Zygotic embryogenesis in *Anthurium* (Araceae). Hawaii. American Journal of Botany. 85(11): p. 1560-1568.
- Meneses, RI y Beck, S. 2005. Especies Amenazadas de la Flora de Bolivia. Herbario Nacional de Bolivia. La Paz, BO. 34 p
- Merino M, ME. 1994. Medio de cultivo. In Hurtado M, DV y Merino M, MA. Cultivo de Tejidos Vegetales. Editorial Trillas. Mexico DF. p. 67-85.
- MO, 2011. (Missouri Botanical Garden, EU). page: Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Missouri Botanical Garden - 4344 Shaw Boulevard - Saint Louis, Missouri 63110; *Anthurium acebeyae* Tropicos Specimen-Thomás B-Croat-84274.htm Discover Life-MO-10832205182628 sheet Disponible en: <<http://www.tropicos.org/specimen/1473403>
- MO, 2011. (Missouri Botanical Garden, EU). page: Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Missouri Botanical Garden - 4344 Shaw Boulevard - Saint Louis, Missouri 63110; *Anthurium acebeyae* Tropicos Specimen-Thomás B-Croat-84274.htm Discover Life-MO-10832205182628 sheet.RBG Kew World Checklist of Seed Plants Species 2006. Disponible en: <<http://www.tropicos.org/Name/50224980>
- MO, 2011. (Missouri Botanical Garden, EU). Page: Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 4344. Shaw Boulevard-Saint Louis, Missouri 63110 *Anthurium grande* N.E. Br. ex Engl. Discover Life-MO-01473001.htm 2011. Disponible en: <<http://www.tropicos.org/Name/2101041>
- MO, 2011. (Missouri Botanical Garden, EU). page: Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Shaw Boulevard-Saint Louis, Missouri 20211 *Anthurium grande* N.E. Br. ex Engl. Discover Life-MO-01473001.htm.The Marine Biological Laboratory. *Anthurium grande*.

Discover Life-MO01062215. Disponible en: [htm file:///C:/mp/201?comment_email=aloina@sbcglobal.net&id=MO01062215](http://www.tropicos.org/Name/50224980)

- MO, 2011. (Missouri Botanical Garden, EU). page: Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Shaw Boulevard - Saint Louis, Missouri 63110; Bolivia. Publicado en: Das Pflanzenreich 23B(Heft 37): 204. 1905. (Pflanzenr.): Tropicos.org <http://www.tropicos.org/Specimen/1473403>. Missouri Botanical Garden - 4344 Checklist, 2005. Novon 15(1): 80–82, f. 1. 2005. Disponible en: <<http://www.tropicos.org/Name/50224980>>, <<http://www.tropicos.org/Name/2101041>>
- Montaño C, FA. 2007. Evaluación de la ornitofauna del PN-ANMI Cotapata para aprovechamiento turístico. Tesis para optar al grado de Master in Science. La Paz, Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés. p. 198.
- Mohan, J y Ahloowalia, BS. 2004. Low cost options for tissue culture technology in developing countries. International Atomic Energy Agency IAEA. Viena, Austria. P. 67-81.
- Montes, S; Morales, C; Bell, E. 2004. Regeneración de plantas de *Anthurium andraeanum* Lind. mediante el empleo del Cultivo *in vitro*. La Habana, Cu. Cultivos tropicales. 25(3). p. 5-7.
- Morales de B, Cecile. 1995. Caminos de Cotapata. Instituto de Ecología. La Paz, Bolivia. Artes Gráficas Latina. p. 182.
- Morales, C; de la Fe, C; Corbera, J y Calaña, JM. 2009. Estudio de la aclimatación de vitroplantas de anturio (*Anthurium andraeanum* Lin.)” Cultivos Tropicales, v. 30(4): p. 48-51.
- Moshkov, IE; Novikova, GV; Hall, MA y George, EF. 2008. Plant Growth Rgulators III: Gibberellins, Ethylene, Abscisic Acid, their Analogues and Inhibitors; Miscellaneous Compounds. In George, EF; Hall, MA y De Klerk, GJ. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. 3rd Edition. The Netherlands. OO. v. 1. The Background. p. 227-282.
- Moyo, SJ; Bogner, J y Boyce, PC. 1997. The genera of araceae. The trustees, Royal Botanic Garden, Kew. The European Union. p. 370.

- Muñoz J, ZP. 2007. Comparación del sustrato de fibra de coco con los sustratos de corteza de pino compostada, perlita y vermiculita en la producción de plantas de *Eucalyptus globulus* (Labill). Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile. Chile. p. 58.
- Nachtigal. JC y Fachinello, JC. 1995. Efeito de sustratos e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine). UFPEL/FAEM. Departamento de Fitotecnia. Universidad Pelotas/RS-Brasil. Rev. Brás. De AGROCIÊNCIA. v. 1, N° 1. p. 34-39.
- Navarro U, S. 1994. Cultivo de Meristemas. In Hurtado M, DV y Merino M, MA. Cultivo de Tejidos Vegetales. Editorial Trillas. Mexico DF. p. 133-148.
- Navarro U, S y Vera E, R. 1994. Historia del cultivo de tejidos vegetales. In Hurtado M, DV y Merino M, MA. Cultivo de Tejidos Vegetales. Editorial Trillas. Mexico DF. p. 15-34.
- Nguyen V, G; Jo G, M y Hernández G, R. 2012. Adaptación de vitroplantas de *Spathoglottis plicata* con diferentes sustratos en la Biofábrica de Pinar del Rio. p. 17. Disponible en: <http://www.buscagro.com/www.buscagro.com/biblioteca/Giap-Nguyen-Van/vitroplantas-de-orquideas.pdf>
- Nowak, J y Pruski, K. 2004. Priming Tissue Cultured Propagules. p. 67-81; In Mohan, J y Ahloowalia, BS. Low cost options for tissue culture technology in developing countries. International Atomic Energy Agency IAEA. Viena, Austria. P. 67-81.
- Olivera G, P; Tamariz A. C y Gutierrez C, M. 2010. Desinfección e Influencia del Bencil aminopurina (BAP) y Ácido Naftalén Acético (ANA) en la Multiplicación *in vitro* de *Perezia coerulescens* Wedd, planta Medicinal Altoandina. Huaraz, Peru. Revistas Peruanas. v. 3 (1): p. 10.
- Oscullo A, MB. 2011. Organogénesis Indirecta *in vitro* de Anturio (*Anthurium andraeanum* L.), a partir de secciones de hoja. Tesis Lic. Ing. Agr. Sangolqui, Ecuador. Escuela Politécnica del Ejército. Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias IASA I. 92 p.
- Palacios R, M. 2006. "El maquique" Pteridophyta. El uso del Maquique o Xaxim y la pérdida de los helechos arborescentes. Veracruz, Méx. In: Memorias del Seminario sobre Conservación y Manejo de las Materias Primás de Uso Artesanal. AMACUP

(Asociación mexicana de arte y cultura popular A. C., ME).p. 211-216. Correo electrónico: monica@ecologia.edu.mx

Paniagua Z, N; Maldonado G, C & Chumacero M, C. 2003. Mapa de Vegetación de los Alrededores de la Estación Biológica de Tunquini, Bolivia. Instituto de Ecología en Bolivia. 38 (1):15-26.

Pato, FA; Condés, RLF; Vicente, CFE. 2005. Cultivo del *Anthurium* para flor cortada en la región de Murcia. Oficina Comercial Agraria. Cartagena - Mar Menor, Colombia. www.abc-garden.com, Disponible en: www.infogro.com

Parque Cotapata Foto <http://www.parkswatch.org/parkprofile.php?l=spa&country=bol&park=conp&pA.grandee=phy#>.

Pérez M, L; Vargas, OL y Rodríguez Q, Y. 2006. Orquideas cubanas: una opción tentadora para la ornamentación. La Habana, Cuba. Revista del Jardín Botánico Nacional. 27: p. 129-134.

Pierik, RLM. 1989. *In vitro* Culture of Higher Plants. By Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. Netherlands. p. 348.

Portilla, J; Díaz, A y Salazar, L. 2006. Orquideas. Manual de cultivo. Ecuagerena, Cía. Ltda. Orquideas del Ecuador. p. 95.

Preece, JE y Sutter EG. 1991. Acclimatization of micropropagated plantas to the greenhouse and field. In Debergh, PC y Zimmerman, RH. 1991. Micropropagation. Technology and application. Dordrecht, the Netherlands, USA. Kluwer Academic Publisher. p. 71-93.

Preece, JE. 2008. Stock Plant Physiological Factors Affecting Growth and Morphogenesis. In George, EF; Hall, MA y De Klerk, GJ. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. 3rd Edition. The Netherlands. OO. v. 1. The Background. p. 403-422.

Quintanilla A, ME. 2010. Industrialización de la fibra de estopa de coco. Tesis de grado en Ingeniería Industrial. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Universidad del Salvador. El Salvador. p. 515.

Ribera A, MO. 1995. Aspectos Ecológicos del Uso de la Tierra y Conservación en el Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Cotapata. In Caminos de Cotapata. Instituto de Ecología. La Paz, Bolivia. Artes Gráficas Latina. p. 1-84.

- Rivero B, N; Agramonte P, D; Barbón R, R; Camacho Ch, W; Collado L, R; Jiménez T, F; Pérez P, M; Gutiérrez M, O. 2008. Embriogénesis Somática en (*Anthurium andraeanum* Lind.) Variedad 'Lambada'. Ra Ximhai. Mochicahui, Me. 4(1): p. 135-149.
- Roca, MW y Mroginski, LA. 1991. Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. p. 968.
- Roca, MW y Mroginski, LA. 1993. Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. p. 968.
- Ross, JJ; Symons, MG; Abas, L; Reid, BJ. y Luschnig, C, 2006. Hormone distribution and transport. In Plant Hormone Signaling. Hedden P. y Thomas, GS. Blakwell Publishing. Chennai, India. p. 257-292.
- Ruiz R, BJ. 2000. Efecto del BAP y 2,4-D en la incucción de organogénesis indirecta *in vitro* de *Anthurium andreanum* L. Tesis de grado. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Zamorano, Honduras. p. 45.
- Salgado Mejía, JM. 2007. Cultivo *in vitro* de *Anthurium andreanum*. Monografía. Grupo de Investigación Biotecnología Productos Naturales. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Tecnología Química. 91p.
- Salgado M, JD. 2002. Análisis del Costo de Producción y Evaluación de la Tasa de Multiplicación *in vitro* de *Rhynchoaelia digbyana* en Zamorano. Tesis de grado para optar al grado de Licenciatura y optar al título de Ingeniero Agronomo. Honduras. Carrera de Ciencias y Producción Agropecuaria. p. 57.
- Sánchez M, 2009. Evaluación de medios de cultivo para la reproducción *in vitro* de *Laelia anceps*. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Montecillos, ME. p. 116.
- Santos L, JA. 1966. Bótanica. Undécima edición. Buenos Aires, AR. TROQUEL. p. 308.
- Sapag, CN y Sapag, CR. 1985. Preparación y Evaluación de proyectos. Segunda edición. Chile. p. 390.

- Sevilla, CM. 2006. Usos del suelo, conservación de la naturaleza y desarrollo rural en el Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Cotapata (Bolivia). Madrid. p. 1-8.
- Sevilla C, M; Mata O, R y Gil R, G. 2001. Aplicación de las Tecnologías de la Información Geográfica al Estudio del Parque Nacional de Cotapata (Bolivia). Departamento de Geografía, Madrid, ES.15 p.
- Sotomayor L, S. 2009. Bases para la embriogénesis somática directa e indirecta en *Oncidium excavatum* Lindl. (Orchidaceae). Tesis Lic. En Biología. La Paz, Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés. p. 64.
- Steel D, RG; Torrie, JH. 1988. Bioestadística: Principios y Procedimientos. Mexico. Ed. 2da. McGraw-Hill Inc. p. 622.
- Taiz, L y Zeiger, E. 2006. Fisiología Vegetal. Publicacions de la Universitat Jaume I. Sunderland, USA. Col·lecció "Ciències experimentals" vol. 2. n. 10. p. 1338.
- Taller, Memorias. 1998. Taller nacional para la identificación de necesidades y prioridades en evaluación de riesgos de organismos transgénicos. II Reunión Boliviana de Biotecnología. Memorias. p. 187.
- Tiing, SS; Keng LC; Pargini N; Teo CKH. 2000. En la propagación *in vitro* de *Typhonium flagelliforme* (Lodd) Blume. *In vitro Cell. Dev. Biol. Malaysia*. 36: 402-406.
- Thorpe, T; Stasolla, C; Yeung, EC; De Klerk, GJ; Roberts, A y George, EF. 2008. The components of Plant Tissue Culture Media II: Organic Additions, Osmotic and pH Effects, and Support Systems. In George, EF; Hall, MA y De Klerk, GJ. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. 3rd Edition. The Netherlands. OO. v. 1. The Background. p. 115-174.
- Trujillo S, R; Concepción L, O; Daquinta G, M; Nápoles B, L y Balsamede A, M. 2000. Propagación *in vitro* de *Anthurium andreanum* Lind. variedad 'Sonate'. Cuba. Biotecnología vegetal 1: p. 33-38.
- Usnayo, R; Ascarrunz, M y Silva, M. 1998. Efecto de diferentes medios de cultivo en la propagación *in vitro* via embriogenesis somática del anturio (*Anthurium andraeanum* Lind. Var. nitta). In Taller nacional para la identificación de necesidades y prioridades en evaluación de riesgos de organismos transgénicos. II Reunión Boliviana de Biotecnología. Memorias. p. 70-72.

- Van Standen, J; Zazimalova, E y George, EF. 2008. Plant Growth Regulators II: Cytokinins, their Analogues and Antagonists. In George, EF; Hall, MA y De Klerk, GJ. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. 3rd Edition. The Netherlands. OO. v. 1. The Background. p. 205-226.
- Vargas, ET y García, E. 1995. Propagación *in vitro* de Cala Blanca *Spathiphyllum* sp. Caracas. Agronomía Tropical. 47(2):171-183
- Vásquez, L y Yanitza, M. 2003. Regeneración *in vitro* del anturio (*Anthurium andraeanum*. LIND.) a partir de ápices caulinares y segmentos de hojas. p. 77.
- Viégas, J; da Rocha R, MT; Ferreira M, I; da Rosa L, D; de Souza A, J; Senna C, MG y da Silva T, J. 2007. *Anthurium andraeanum* (Linden ex André) Culture: *In vitro* and *Ex vitro*. Brazil. Floriculture and Ornamental Biotechnology. 1(1), p. 61-65.
- Villegas, G y López, C. 2007: Trabajo realizado en el Proyecto “Estudio del potencial de Aprovechamiento Sostenible de Epifitas del PN-ANMI Cotapata”. Unidad de Biotecnología Vegetal. Instituto de Biología Molecular. Com. Pers.
- Villegas, G; Sanchez, B. 2010: Información adicional desarrollada por el Proyecto Micorrizas. In Quezada, J; Villegas, G; Mamani, B; López, MC; Rey, L y Tórrez, M. 2010. Caracterización y cultivo de hongos micorrizicos asociados a orquídeas epifitas del genero *Másdevallia* del Parque Nacional y Area Natural de Manejo Integrado Cotapata (PN-ANMI Cotapata), destinados a la optimización de su producción ornamental para su manejo sostenible, mediante el uso de herramientas biotecnológicas. La Paz, Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés. p. 18. Com. Pers.
- Wikipedia. (La Enciclopedia libre). 2010. Célula diana: De Wikipendia, la enciclopedia libre: Categoría: célula. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%A9lula_diana
- Winkelmann, T; Geier, T; Preil, W. 2006. Comercial *in vitro* plant production in Germany in 1985-2004. Plant Cell Tiss Organ Cult (2006) 86:319-327.
- Yam W, T; Young P, LJ; Fan L, KP y Arditti, J. 1990. Induction of callus from axillary buds of taro (*Colocasia esculenta* var. *esculenta*, Araceae) and subsequent plantlet regeneration. California, USA. Plant Cell Reports. 9: p. 459-462.
- Ziv, M. 1991. Quality of micropropagated plants-vitrification”. Jerusalem, Israel. *In vitro* cell. 27: p. 64-69.

11. Anexos

Anexo I. Materiales, equipos y reactivos utilizados

Tabla 1. Materiales, equipos y reactivos utilizados.

A. Reactivos de laboratorio	D. Equipos y materiales de laboratorio
MS Murashige y Skoog, 1962	Cámara de flujo laminar
Ácido α -naftalenacético (ANA)	Microndas
N-6 Bencil aminopurina (BAP)	Autoclave
Sulfato de adenina (SA)	Balanza analítica
Ácido indol-3-butírico (IBA)	Destilador de Agua
Alcohol etílico al 96%	Refrigerador
Hipoclorito de sodio al 10%	Estantes de metal
Phytigel	pH metro
Ácido clorhídrico 1N	Bisturios
Hidroxido de sodio 1N	Temporizador
Sacarosa	Pinzas largas y bayoneta
B. Material de Gabinete	Agitador magnético
GPS	Plastifilm
Computadora	Mango
Cámara fotográfica	Papel aluminio
Marcadores	Pipetas semiautomáticas de 1 a 1000 ml
Cinta másking	Probetas graduadas
Cinta métrica	Vasos de precipitado
Regla	Matraz Erlenmeyer
Vernier	Gas licuado de petróleo
Cuaderno de registro	Tubos de ensayo
Material de escritorio	Fascos de vidrio
C. Material de Campo	Cajas Petri
Diferentes sustratos	Atomizadores
Macetas de plásticos	Algodón

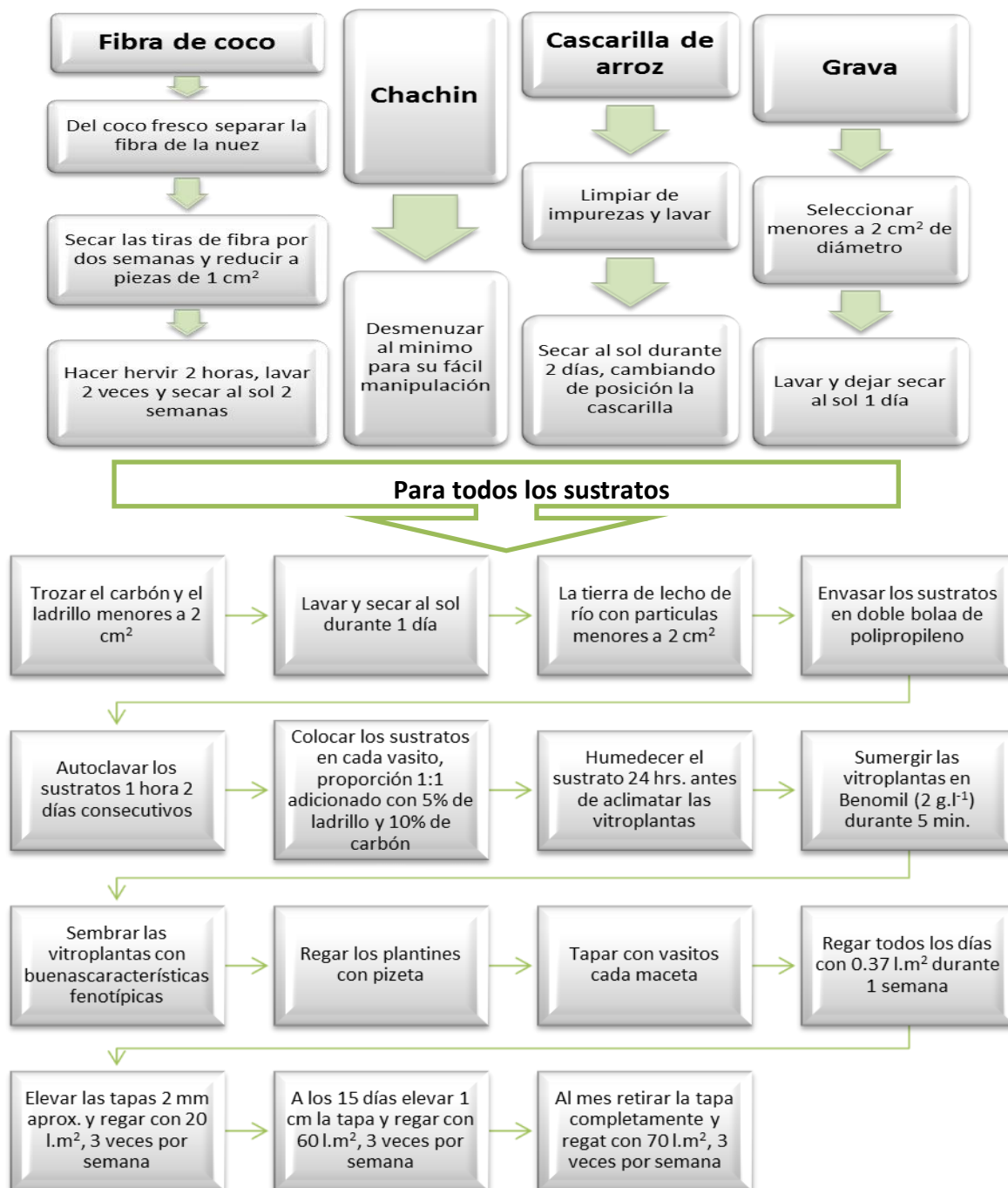
Anexo II. Composición del medio de cultivo

Tabla 1. Composición del medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962).

Elementos Esenciales	
Macroelementos	(mg.l⁻¹)
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂ *2H ₂ O	440
MgSO ₄ *7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
Microelementos	
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ *4H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ *7H ₂ O	8,6
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ *6H ₂ O	0,025
Fuente de Hierro	
FeSO ₄ *7H ₂ O	27,8
Na ₂ EDTA*2H ₂ O	37,3
Suplementos orgánicos	
Myoinositol	100
Acido nicotínico	0,5
Piridoxina-HCl	0,5
Tiamina-HCl	0,5
Glicina	2

Anexo III. Protocolo de aclimatación

Figura 1. Protocolo de aclimatación. *Anthurium acebeyae* y *A. grande*.



De acuerdo a la experiencia obtenida se planteó el presente protocolo de aclimatación donde se observa el proceso de preparación de cada uno de los sustratos (Fibra de coco, chachin, cascarilla de arroz, grava, tierra de lecho de río y los aditivos carbón y ladrillo). Elaboración propia.

Anexo IV. Análisis estadístico del inicio de formación del callo

Tabla 1. Análisis de Varianza del inicio de formación del callo para *A. accebeyae*.

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	866,756	433,378	3,8599	0,0250 *
BAP (B)	2	553,156	276,578	2,4634	0,0915 ns
AB	4	648,978	162,244	1,4450	0,2267 ns
Error	81	9094,400	112,277		
Total	89	11163,289			

CV: 21,15%

* Significativo

ns No significativo

Anexo V. Análisis estadístico del diámetro y del mayor diámetro del callo

Tabla 1. Análisis de Varianza del diámetro de callo para *A. accebeyae* en la semana 9

(Transformado con \sqrt{x}).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,436	0,218	0,9543	
BAP (B)	2	2,091	1,045	,5739	0,0131 *
AB	4	0,852	0,213	0,9316	
Error	81	18,514	0,229		
Total	89	21,893			

CV: 23,11%

* Significativo

Tabla 2. Análisis de Duncan del diámetro de callo para *A. accebeyae* en la semana 9.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	3,97	b
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	5,40	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	4,53	ab

Tabla 3. Análisis de Varianza del diámetro de callo para *A. accebeyae* en la semana 21

(Transformado con \sqrt{x}).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	6,664	3,332	6,5159	0,0024 **
BAP (B)	2	5,930	2,965	5,7976	0,0044 **
AB	4	2,396	0,599	1,1712	0,3297 ns
Error	81	41,422	0,511		
Total	89	56,412			

CV: 19,53%

** Altamente significativo

ns No significativo

Tabla 4. Análisis Duncan del diámetro de callo para *A. accebeyae* en la semana 21.

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	11,40	b
SA 80 mg.l ⁻¹	15,07	a
SA 160 mg.l ⁻¹	15,60	a

Tabla 5. Análisis Duncan del diámetro de callo para *A. accebeyae* en la semana 21.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	14,83	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	15,73	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	11,50	b

Tabla 6. Análisis de Varianza del mayor diámetro de callo para *A. accebeyae* (Transformado con \sqrt{x}).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	17,531	8,765	10,7674	0,0001 **
BAP (B)	2	21,304	10,652	13,0849	0,0000 **
AB	4	8,767	2,192	2,6924	0,0367 *
Error	81	65,940	0,814		
Total	89	113,542			

CV: 20,30%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 7. Análisis de Duncan del mayor diámetro de callo para *A. accebeyae*.

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	15,97	b
SA 80 mg.l ⁻¹	24,90	a
SA 160 mg.l ⁻¹	21,97	a

Tabla 8. Análisis Duncan del mayor diámetro de callo para *A. accebeyae*.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	18,87	b
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	27,47	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	16,50	b

Anexo VI. Análisis estadístico del largo y del mayor largo de peciolo del explante

Tabla 1. Análisis de Varianza del largo de peciolo del explante para *A. accebeyae* en la semana 5 (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,194	0,097	1,4237	0,2468 ns
BAP (B)	2	0,513	0,256	3,7726	0,0271 *
AB	4	0,100	0,025	0,3694	
Error	81	5,506	0,068		
Total	89	6,313			

CV: 23,89%

* Significativo

ns No significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del largo de peciolo del explante para *A. accebeyae* en la semana 5.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	0,20	ab
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	0,57	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,03	b

Tabla 3. Análisis de Varianza del mayor largo de peciolo del explante para *A. acebeyae*
(Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,058	0,029	0,1508	
BAP (B)	2	0,680	0,340	1,7818	0,1749 ns
AB	4	2,088	0,522	2,7353	0,0344 **
Error	81	15,461	0,191		
Total	89	18,287			

CV: 19,91%

** Altamente significativo

ns No significativo

Anexo VII. Análisis estadístico del inicio de formación del brote

Tabla 1. Análisis de Varianza del inicio de formación del brote para *A. acebeyae* (Transformado con \sqrt{x}).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,034	0,017	0,0031	
BAP (B)	2	39,284	19,642	3,6292	0,0309 *
AB	4	94,310	23,577	4,3563	0,0031 **
Error	81	438,397	5,412		
Total	89	572,025			

CV: 29,80%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis de Duncan del inicio de formación del brote para *A. acebeyae*.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	84,6	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	56,5	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	60,9	b

Anexo VIII. Análisis estadístico del número y del máximo número de brotes

Tabla 1. Análisis de Varianza del número de brotes para *A. acebeyae* en la semana 22
(Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	GL.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,985	0,492	2,1272	0,1258
BAP (B)	2	1,137	0,568	2,4555	0,0922
AB	4	4,072	1,018	4,3973	0,0029 **
Error	81	18,751	0,231		
Total	89	24,945			

CV: 31,00%

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis de Varianza del número máximo de brotes para *A. acebeyae* (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,940	0,470	1,4849	0,2326 ns
BAP (B)	2	2,945	1,472	4,6542	0,0122 *
AB	4	4,896	1,224	3,8687	0,0063 **
Error	81	25,626	0,316		
Total	89	34,406			

CV: 28,63 %

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 3. Análisis de Duncan del número máximo de brotes para *A. acebeyae*.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	2,77	b
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	4,47	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	2,73	b

Anexo IX. Análisis estadístico del mayor largo de brote

Tabla 1. Análisis de Varianza del mayor largo de brote para *A. acebeyae* (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	3,314	1,657	0,9214	
BAP (B)	2	17,298	8,649	4,8097	0,0106 *
AB	4	20,668	5,167	2,8734	0,0280 *
Error	81	145,654	1,798		
Total	89	186,933			

CV: 35,00%

* Significativo

Tabla 2. Análisis de Duncan del mayor largo del brote para *A. acebeyae*.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	18,69	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	18,04	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	10,63	b

Anexo X. Análisis estadístico del máximo número de hojas del brote

Tabla 1. Análisis de Varianza del máximo número de hojas del brote para *A. acebeyae*
(Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,083	0,041	0,2410	
BAP (B)	2	1,110	0,555	3,2255	0,0449 *
AB	4	2,482	0,620	3,6072	0,0093 **
Error	81	13,932	0,172		
Total	89	17,606			

CV: 23,50%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis de Duncan del máximo número de hojas del Brote para *A. acebeyae*.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	2,48	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	2,75	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	1,86	b

Anexo XI. Análisis estadístico de la altura y la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante

Tabla 1. Análisis de Varianza de la altura del explante para *A. acebeyae* en la semana 4.

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	188,067	4,033	3,5887	0,0321 *
BAP (B)	2	31,267	15,633	0,5966	
AB	4	150,267	37,567	1,4337	0,2304 ns
Error	81	2122,400	26,202		
Total	89	2492,000			

CV: 17,06%

* Significativo

ns No significativo

Tabla 2. Análisis de Varianza de la altura del explante para *A. acebeyae* en la semana 22.

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	290,422	145,211	1,6919	0,1906 ns
BAP (B)	2	3200,822	600,411	18,6472	0,0000 **
AB	4	453,978	113,494	1,3224	0,2687 ns
Error	81	6951,900	85,826		
Total	89	10897,122			

CV: 19,36%

** Altamente significativo

ns No significativo

Tabla 3. Análisis Duncan de la altura del explante para *A. accebeyae* en la semana 22.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	55,87	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	46,13	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	41,57	b

Tabla 4. Análisis de Varianza de la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante para *A. accebeyae* (Transformado con \sqrt{x}).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,322	0,161	2,1406	0,1242 ns
BAP (B)	2	0,705	0,353	4,6887	0,0118 *
AB	4	0,250	0,063	0,8324	
Error	81	6,091	0,075		
Total	89	7,368			

CV: 28,64%

*Significativo

ns No significativo

Anexo XII. Análisis estadístico del número de hojas

Tabla 1. Análisis de Varianza del número de hojas para *A. accebeyae* en la semana 22
(Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	4,452	2,226	2,9910	0,0558 *
BAP (B)	2	9,060	4,530	6,0871	0,0034 **
AB	4	16,395	4,099	5,5079	0,0006 **
Error	81	60,277	0,744		
Total	89	90,183			

CV: 24,41%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del número de hojas para *A. accebeyae* en la semana 22.

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	15,27	a
SA 80 mg.l ⁻¹	14,50	a
SA 160 mg.l ⁻¹	10,87	b

Tabla 3. Análisis de Duncan del número de hojas para *A. accebeyae* en la semana 22.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	12,73	b
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	16,33	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	11,57	b

Anexo XIII. Análisis estadístico de la formación y del inicio de formación de la raíz

Tabla 1. Análisis de Varianza de la formación de raíz para *A. accebeyae* (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,022	0,011	0,2400	
BAP (B)	2	1,672	0,836	18,0600	0,0000 **
AB	4	0,044	0,011	0,2400	
Error	81	3,750	0,046		
Total	89	5,489			

CV: 23,62%

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis de Varianza del inicio de formación de la raíz para *A. accebeyae* en días.

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	250,200	125,100	0,0555	
BAP (B)	2	124159,267	62079,633	27,5176	0,0000 **
AB	4	3111,333	777,833	0,3448	
Error	81	182735,600	2255,995		
Total	89	310256,400			

CV: 30,74%

** Altamente significativo

Anexo XIV. Análisis estadístico de la regresión y correlación múltiple

Tabla 1. Coeficientes de regresión y correlación múltiple de la formación de las hojas del brote, número de hojas del explante e inicio de formación del brote para *A. accebeyae*.

Mo delo		Coeficientes no están darizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%		Correlaciones			Estadísticos de colinealidad		
		B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior	Orden cero	Parcial	Semi parcial	Tolerancia	FIV	
1	Constante	-3,19	1,79		-1,78	,14	-7,79	1,42						
	Formación de hojas del brote	2,97	1,21	,61	2,45	,06	-,15	6,09	,79	,74	,31	,27	3,77	
	Nº de hojas semana 22	,13	,03	,71	3,94	,01	,05	,22	,88	,87	,51	,51	1,96	
	Inicio de formación del brote	,01	,01	,24	,85	,43	-,02	,04	-,77	,36	,11	,20	5,01	

a Variable dependiente: Número de brotes

Anexo XV. Análisis estadístico del inicio de formación de callo

Tabla 1. Análisis de Varianza del inicio de formación de callo para *A. grande*.

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	422,489	211,244	4,9045	0,0098 **
BAP (B)	2	226,489	113,244	2,6292	0,0783 ns
AB	4	531,378	132,844	3,0843	0,0204 *
Error	81	3488,800	43,072		
Total	89	4669,156			

CV: 12,19%

* Significativo

** Altamente significativo

ns No significativo

Tabla 2. Análisis de Varianza del inicio de formación de callo para *A. grande*.

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	56,00	a
SA 80 mg.l ⁻¹	54,60	a
SA 160 mg.l ⁻¹	50,87	b

Anexo XVI. Análisis estadístico del diámetro y del mayor diámetro del callo

Tabla 1. Análisis de Varianza del diámetro de callo para *A. grande* en la semana 9 (Transformado con \sqrt{x}).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	2,521	1,260	5,0994	0,0082 *
BAP (B)	2	1,262	0,631	2,5520	0,0842 ns
AB	4	0,506	0,127	0,5122	
Error	81	20,021	0,247		
Total	89	24,310			

CV: 26,46%

* Significativo

ns No significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del diámetro de callo para *A. grande* en la semana 9.

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	2,97	b
SA 80 mg.l ⁻¹	4,47	a
SA 160 mg.l ⁻¹	4,27	a

Tabla 3. Análisis de Varianza del diámetro de callo para *A. grande* en la semana 21 (Transformado con \sqrt{x}).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	16,365	8,182	20,6162	0,0000 **
BAP (B)	2	12,081	6,040	15,2192	0,0000 **
AB	4	5,071	1,268	3,1940	0,0173 *
Error	72	32,148	0,397		
Total	89	65,664			

CV: 21,14%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 4. Análisis de Varianza del diámetro de callo para *A. grande* en la semana 21.

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	6,23	b
SA 80 mg.l ⁻¹	12,13	a
SA 160 mg.l ⁻¹	10,53	a

Tabla 5. Análisis de Varianza del diámetro de callo para *A. grande* en la semana 21.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	12,40	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	9,77	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	6,73	b

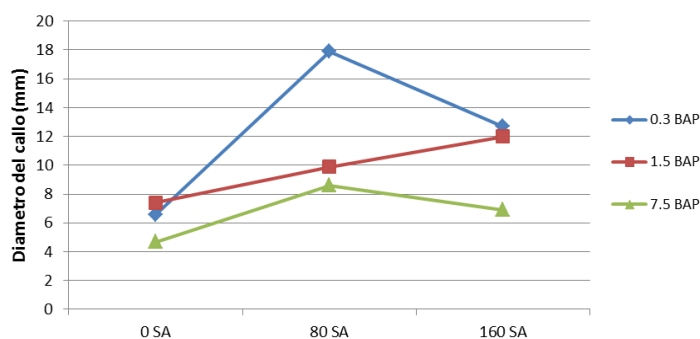
Tabla 6. Análisis de efectos simples del diámetro de callo para *A. grande* en la semana 21.

Fuente de variabilidad	S.C.	G.L.	C.M.	F. cal.		Ft(0,05)	Ft(0,01)
<i>Efectos simples para SA</i>							
Entre SA (A) en b1	639,80	2	319,90	22,57	**	3,11	4,86
Entre SA (A) en b2	106,07	2	53,03	3,74	*		
Entre SA (A) en b3	76,47	2	38,23	2,70	NS		
<i>Efectos simples para BAP</i>							
Entre BAP (B) en a1	38,47	2	19,23	1,36	NS		
Entre BAP (B) en a2	507,27	2	253,63	17,89	**		
Entre BAP (B) en a3	200,47	2	100,23	7,07	**		
ERROR	1148,10	81	14,17				

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo



Gráfica 1. Diámetro del callo para *A. grande* en la semana 21.

Tabla 6. Análisis de Varianza del mayor diámetro de callo para *A. grande* (Transformado con \sqrt{x}).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	20,862	10,431	9,7106	0,0002 **
BAP (B)	2	27,341	13,670	12,7262	0,0000 **
AB	4	23,053	5,763	5,3653	0,0007 **
Error	81	87,009	1,074		
Total	89	158,265			

CV: 26,92%

** Altamente significativo

Tabla 7. Análisis Duncan del mayor diámetro de callo para *A. grande*.

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	11,33	b
SA 80 mg.l ⁻¹	20,27	a
SA 160 mg.l ⁻¹	18,17	a

Tabla 8. Análisis Duncan del mayor diámetro de callo para *A. grande*.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	23,87	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	14,20	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	11,70	b

Anexo XVII. Análisis estadístico del largo de peciolo

Tabla 1. Análisis de Varianza del largo de peciolo para *A. grande* en la semana 5 (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,032	0,016	3,8571	0,0251 *
BAP (B)	2	0,032	0,016	3,8571	0,0251 *
AB	4	0,064	0,016	3,8571	0,0064 **
Error	81	0,336	0,004		
Total	89	0,464			

CV: 6,36%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del largo de peciolo para *A. grande* en la semana 5.

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	0,00	b
SA 80 mg.l ⁻¹	0,10	a
SA 160 mg.l ⁻¹	0,00	b

Tabla 3. Análisis Duncan del largo de peciolo para *A. grande* en la semana 5.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	0,00	b
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	0,00	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,10	a

Anexo XVIII. Análisis estadístico del número y del máximo número de brotes

Tabla 1. Análisis de Varianza del número de brotes para *A. grande* en la semana 22 (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,779	0,389	3,7808	0,0269 *
BAP (B)	2	0,872	0,436	4,2340	0,0178 *
AB	4	0,433	0,108	1,0520	0,3857 ns
Error	81	8,341	0,103		
Total	89	10,425			

CV: 25,67%

* Significativo

ns No significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del número de brotes para *A. grande* en la semana 22.

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	0,40	b
SA 80 mg.l ⁻¹	1,03	a
SA 160 mg.l ⁻¹	0,67	b

Tabla 3. Análisis Duncan del número de brotes para *A. grande* en la semana 22.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	1,03	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	0,73	ab
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,33	b

Tabla 4. Análisis de Varianza del número máximo de brotes para *A. grande* (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,518	0,259	1,8650	0,1615
BAP (B)	2	1,505	0,752	5,4173	0,0062 **
AB	4	0,197	0,049	0,3552	
Error	81	11,249	0,139		
Total	89	13,469			

CV: 26,56%

** Altamente significativo

Anexo XIX. Análisis estadístico de la formación de hojas del brote

Tabla 1. Análisis de Varianza de la formación de hojas del brote para *A. grande* (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,174	0,087	2,4915	0,0891
BAP (B)	2	0,270	0,135	3,8644	0,0249 *
AB	4	0,316	0,079	2,2627	0,0695 ns
Error	81	2,832	0,035		
Total	89	3,593			

CV: 15,70%

* Significativo

ns No significativo

Anexo XX. Análisis estadístico del número de hojas y máximo número de hojas del brote

Tabla 1. Análisis de Varianza del número de hojas del brote para *A. grande* en la semana 22 (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,486	0,243	3,4208	0,0375 *
BAP (B)	2	0,449	0,224	3,1580	0,0478 *
AB	4	0,587	0,147	2,0670	0,0927 ns
Error	81	5,754	0,071		
Total	89	7,276			

CV: 22,09%

* Significativo

ns No significativo

Tabla 2. Análisis de Duncan del número de hojas del brote para *A. grande* (semana 22).

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	0,33	b
SA 80 mg.l ⁻¹	0,78	a
SA 160 mg.l ⁻¹	0,56	ab

Tabla 3. Análisis de Duncan del número de hojas del brote para *A. grande* (semana 22).

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	0,75	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	0,64	ab
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,28	b

Tabla 4. Análisis de Varianza del máximo número de hojas del brote para *A. grande*

(Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,278	0,139	1,7429	0,1815
BAP (B)	2	0,717	0,358	4,4930	0,0141 *
AB	4	0,589	0,147	1,8474	0,1278 ns
Error	81	6,460	0,080		
Total	89	8,044			

CV: 22,53%

* Significativo

ns No significativo

Anexo XXI. Análisis estadístico de la altura y de la tasa de crecimiento del explante

Tabla 1. Análisis de Varianza de la altura del explante para *A. grande* en la semana 4.

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	562,400	281,200	10,2323	0,0001 **
BAP (B)	2	301,667	150,833	5,4885	0,0058 **
AB	4	140,333	35,083	1,2766	0,2860 ns
Error	81	2226,000	27,481		
Total	89	3230,400			

CV: 20,58%

** Altamente significativo

ns No significativo

Tabla 2. Análisis Duncan de la altura del explante para *A. grande* en la semana 4.

Tratamiento	Promedio	Duncan
SA 0 mg.l ⁻¹	22,00	b
SA 80 mg.l ⁻¹	26,60	a
SA 160 mg.l ⁻¹	27,80	a

Tabla 3. Análisis Duncan de la altura del explante para *A. grande* en la semana 4.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	26,13	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	22,97	b
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	27,30	a

Tabla 4. Análisis de Varianza de la altura del explante para *A. grande* en la semana 22.

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	756,200	378,100	6,4266	0,0026 **
BAP (B)	2	860,867	430,433	7,3161	0,0012 **
AB	4	94,333	23,583	0,4008	
Error	81	4765,500	58,833		
Total	89	6476,900			

CV: 21,13%

** Altamente significativo

Tabla 5. Análisis de Varianza de la tasa de crecimiento máximo del explante para *A. grande*
(Transformado con \sqrt{x}).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,340	0,170	2,6561	0,0763
BAP (B)	2	1,641	0,820	12,8257	0,0000 **
AB	4	0,791	0,198	3,0928	0,0201 *
Error	81	5,181	0,064		
Total	89	7,953			

CV: 28,33%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 6. Análisis de Duncan de la tasa de crecimiento máximo del explante para *A. grande*.

Tratamiento	Promedio	Duncan
BAP 0,3 mg.l ⁻¹	1,02	a
BAP 1,5 mg.l ⁻¹	1,10	a
BAP 7,5 mg.l ⁻¹	0,53	b

Anexo XXII. Análisis estadístico de la formación y del inicio de formación de la raíz

Tabla 1. Análisis de Varianza de la formación de raíz para *A. grande* (Transformado con $\sqrt{x+0,5}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,050	0,025	1,0658	0,3492
BAP (B)	2	3,350	1,675	71,4079	0,0000 **
AB	4	0,100	0,025	1,0658	0,3789 ns
Error	81	1,900	0,023		
Total	89	5,400			

CV: 17,02%

** Altamente significativo

ns No significativo

Tabla 2. Análisis de Varianza del inicio de formación de la raíz para *A. grande* (Transformado con $\sqrt{x+0,5}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	15,904	7,952	1,0024	
BAP (B)	2	482,118	241,059	30,3881	0,0000 **
AB	4	25,996	6,499	0,8193	
Error	81	642,547	7,933		
Total	89	1166,565			

CV: 24,17%

** Altamente significativo

Anexo XXIII. Análisis estadístico del número de raíz

Tabla 1. Análisis de Varianza del número de raíz para *A. grande* (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
SA (A)	2	0,055	0,027	0,2928	
BAP (B)	2	9,374	4,687	50,0104	0,0000 **
AB	4	0,750	0,188	2,0019	0,1020 ns
Error	81	7,591	0,094		
Total	89	17,770			

CV: 23,57%

** Altamente significativo

ns No significativo

Anexo XXIV. Análisis estadístico de la regresión y correlación múltiple

Tabla 1. Coeficientes de regresión y correlación múltiple de la formación de las hojas del brote, número de hojas del explante e inicio de formación del brote para *A. grande*.

Mo del o		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	T	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%		Correlaciones			Estadísticos de colinealidad		
		B	Error tip.	Beta			Límite inferior	Límite superior	Orden cero	Parcial	Semiparcial	Tolerancia	FIV	
1	Constante	-,02	,22		-,08	,94	-,57	,54						
	Mayor Diámetro del callo	,003	,02	,01	,02	,98	-,04	,04	,60	,01	,01	,48	2,08	
	Nº máximo de hojas del brote	,98	,32	,83	3,05	,03	,16	1,81	,90	,81	,61	,55	1,83	
	Formación de raíz	,11	,30	,10	,35	,74	-,67	,88	,58	,16	,07	,53	1,88	

a Variable dependiente: Nº de Brotes semana 22

Anexo XXV. Análisis estadístico de la formación y del inicio de formación de la raíz

Tabla 1. Análisis de Varianza de la formación de la raíz (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	0,423	0,423	24,4550	0,0000 **
ANA (B)	4	1,883	0,471	27,2056	0,0000 **
AB	4	0,325	0,081	4,6922	0,0012 **
Error	190	3,288	0,017		
Total	199	5,919			

CV: 10,10%

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan de la formación de la raíz.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	1,00	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	0,73	b
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	0,97	a
ANA 3 mg.l ⁻¹	0,75	b
ANA 6 mg.l ⁻¹	0,32	c

Tabla 3. Análisis de Varianza del inicio de formación de la raíz (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	1130,501	1130,501	70,7523	0,0000 **
ANA (B)	4	1968,335	492,084	30,7970	0,0000 **
AB	4	482,262	120,566	7,5456	0,0000 **
Error	190	3035,877	15,978		
Total	199	6616,976			

CV: 29,11%

** Altamente significativo

Tabla 4. Análisis Duncan del inicio de formación de la raíz.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	96,12	d
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	203,70	c
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	165,05	c
ANA 3 mg.l ⁻¹	251,40	b
ANA 6 mg.l ⁻¹	385,12	a

Anexo XXVI. Análisis estadístico del mayor largo de la raíz

Tabla 1. Análisis de Varianza del mayor largo de la raíz (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	38,456	38,456	14,2139	0,0002 **
ANA (B)	4	461,192	115,298	42,6153	0,0000 **
AB	4	67,691	16,923	6,2548	0,0001 **
Error	190	514,056	2,706		
Total	199	1081,396			

CV: 37,52%

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del mayor largo de la raíz.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	42,78	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	26,66	b
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	25,48	bc
ANA 3 mg.l ⁻¹	19,38	c
ANA 6 mg.l ⁻¹	3,72	d

Anexo XXVII. Análisis estadístico del número máximo de raíz

Tabla 1. Análisis de Varianza del número máximo de raíz (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	56,498	56,498	55,8711	0,0000 **
ANA (B)	4	101,470	25,367	26,0858	0,0000 **
AB	4	18,227	4,557	4,5061	0,0017 **
Error	190	192,134	1,011		
Total	199	368,329			

CV: 38,13%

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del número máximo de raíz.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	10,82	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	11,27	a
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	9,67	a
ANA 3 mg.l ⁻¹	6,05	b
ANA 6 mg.l ⁻¹	1,22	c

Anexo XXVIII. Análisis estadístico del diámetro de la raíz

Tabla 1. Análisis de Varianza del diámetro de la raíz a los 285 días (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	0,650	0,650	5,8563	0,0165 *
ANA (B)	4	6,992	1,748	15,7544	0,0000 **
AB	4	1,084	0,271	2,4417	0,0483 *
Error	190	21,082	0,111		
Total	199	29,808			

CV: 23,47%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del diámetro de la raíz a los 285 días.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	1,76	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	1,28	b
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	1,35	ab
ANA 3 mg.l ⁻¹	1,28	b
ANA 6 mg.l ⁻¹	0,18	c

Anexo XXIX. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento máximo del callo

Tabla 1. Análisis de Varianza de la tasa de crecimiento máximo del callo (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	0,045	0,045	0,4170	
ANA (B)	4	2,654	0,663	6,1470	0,0001 **
AB	4	2,257	0,564	5,2293	0,0005 **
Error	190	20,506	0,108		
Total	199	25,462			

CV: 24,65%

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan de la tasa de crecimiento máximo del callo.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	0,46	c
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	1,52	a
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	0,86	bc
ANA 3 mg.l ⁻¹	1,10	ab
ANA 6 mg.l ⁻¹	0,64	bc

Anexo XXX. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante

Tabla 1. Análisis de Varianza de la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	0,490	0,490	15,2601	0,0001 **
ANA (B)	4	1,289	0,322	10,0348	0,0000 **
AB	4	0,368	0,092	2,8664	0,0245 *
Error	190	6,102	0,032		
Total	199	8,249			

CV: 16,33%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan de la tasa de crecimiento máximo de la altura del explante.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	0,55	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	0,28	ab
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	0,31	ab
ANA 3 mg.l ⁻¹	0,05	b
ANA 6 mg.l ⁻¹	0,03	b

Anexo XXXI. Análisis estadístico del número de hojas

Tabla 1. Análisis de Varianza del número de hojas a los 285 días (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	2,060	2,060	5,5964	0,0190 *
ANA (B)	4	14,335	3,584	9,7336	0,0000 **
AB	4	5,275	1,319	3,5820	0,0077 **
Error	190	69,954	0,368		
Total	199	91,624			

CV: 35,58%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del número de hojas a los 285 días.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	4,15	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	3,32	a
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	1,97	b
ANA 3 mg.l ⁻¹	1,75	bc
ANA 6 mg.l ⁻¹	0,95	c

Anexo XXXII. Análisis estadístico del largo de peciolo

Tabla 1. Análisis de Varianza del largo de peciolo a los 285 días (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	0,120	0,120	0,6793	
ANA (B)	4	4,204	1,051	5,9468	0,0002 **
AB	4	3,650	0,912	5,1633	0,0006 **
Error	190	33,576	0,177		
Total	199	41,549			

CV: 34,53%

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del largo de peciolo a los 285 días.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	1,38	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	0,79	ab
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	0,99	a
ANA 3 mg.l ⁻¹	0,25	bc
ANA 6 mg.l ⁻¹	0,10	c

Anexo XXXIII. Análisis estadístico de la formación de brote

Tabla 1. Análisis de Varianza de la formación de brote (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	0,320	0,320	11,3433	0,0009 **
ANA (B)	4	1,461	0,365	12,9455	0,0000 **
AB	4	0,232	0,058	2,0560	0,0882 ns
Error	190	5,360	0,028		
Total	199	7,373			

CV: 14,68%

** Altamente significativo

ns No significativo

Anexo XXXIV. Análisis estadístico del número de brote

Tabla 1. Análisis de Varianza del número de brote a los 285 días (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	0,010	0,010	0,1244	
ANA (B)	4	1,267	0,317	4,0190	0,0037 **
AB	4	0,703	0,176	2,2310	0,0672 ns
Error	190	14,972	0,079		
Total	199	16,952			

CV: 24,86%

** Altamente significativo

ns No significativo

Anexo XXXV. Análisis estadístico del máximo número de hojas del brote

Tabla 1. Análisis de Varianza del máximo número de hojas del brote (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	0,115	0,115	0,9231	
ANA (B)	4	4,771	1,193	9,5577	0,0000 **
AB	4	2,461	0,615	4,9295	0,0008 **
Error	190	23,712	0,125		
Total	199	31,059			

CV: 29,39%

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del máximo número de hojas del brote.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	1,23	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	0,42	b
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	1,19	a
ANA 3 mg.l ⁻¹	0,07	b
ANA 6 mg.l ⁻¹	0,17	b

Anexo XXXVI. Análisis estadístico de la regresión y correlación múltiple

Tabla 1. Coeficientes de regresión y correlación múltiple de la formación de las hojas del brote, número de hojas del explante e inicio de formación del brote para *A. acebeyae*.

Mo del o		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%		Correlaciones			Estadísticos de colinealidad		
		B	Error típ.				Beta	Límite inferior	Límite superior	Orden cero	Parcial	Semiparcial	Tolerancia	FIV
1	Constante	69,91	36,49		1,92	0,31	-393,71	533,53						
	Diámetro de la raíz	31,13	23,77	1,18	1,31	0,42	-270,85	333,12	0,97	0,80	0,06	0,003	389,90	
	Nº máximo de raíz	-7,95	2,57	-1,42	-3,10	0,20	-40,55	24,65	0,94	-0,95	-0,14	0,01	101,55	
	Inicio de formación de raíz	-0,15	0,07	-1,21	-2,06	0,29	-1,05	0,76	-0,98	-0,90	-0,09	0,01	167,50	

a Variable dependiente: Mayor largo de raíz

Anexo XXXVII. Análisis estadístico de la regresión y correlación múltiple

Tabla 1. Coeficientes de la regresión y correlación múltiple de la formación de las hojas del brote, número de hojas del explante e inicio de formación del brote para *A. grande*.

Mo del o		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	T	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%		Correlaciones			Estadísticos de colinealidad	
		B	Error típ.				Beta	Límite inferior	Límite superior	Orden cero	Parcial	Semiparcial	Tolerancia
1	Constante	2,45	6,57		0,37	0,77	-81,06	85,95					
	Nº máximo de raíz	1,47	1,69	0,68	0,87	0,54	-20,03	22,98	0,95	0,66	0,15	0,05	21,74
	Nº de hojas del explante	3,91	2,60	0,58	1,50	0,37	-29,13	36,94	0,96	0,83	0,25	0,19	5,24
	Formación del brote	-15,86	46,71	-0,25	-0,34	0,79	-609,37	577,66	0,92	-0,32	-0,06	0,05	19,55

a Variable dependiente: Mayor largo de raíz

Anexo XXXVIII. Análisis estadístico de la contaminación con bacteria

Tabla 1. Análisis de Varianza de contaminación con bacteria (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	1,411	1,411	92,586	0,0000 **
ANA (B)	4	0,501	0,125	8,2141	0,0000 **
AB	4	0,501	0,125	8,2141	0,0000 **
Error	190	2,896	0,015		
Total	199	5,309			

CV: 11,39%

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan de contaminación con bacteria.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	0,37	a
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	0,35	a
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	0,10	b
ANA 3 mg.l ⁻¹	0,12	b
ANA 6 mg.l ⁻¹	0,10	b

Anexo XXXIX. Análisis estadístico de la oxidación

Tabla 1. Análisis de Varianza de la oxidación (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	0,289	0,289	12,4483	0,0005 **
ANA (B)	4	0,149	0,037	1,6034	0,1751 ns
AB	4	2,283	0,571	24,6034	0,0000 **
Error	190	4,408	0,023		
Total	199	7,129			

CV: 13,43%

** Altamente significativo

ns No significativo

Anexo XL. Análisis estadístico del % de mortalidad de los explantes

Tabla 1. Análisis de Varianza del % de mortalidad de los explantes (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
Especie (A)	1	0,231	0,231	10,0752	0,0018 **
ANA (B)	4	1,629	0,407	17,7450	0,0000 **
AB	4	0,301	0,075	3,2771	0,0126 *
Error	190	4,360	0,023		
Total	199	6,521			

CV: 13,60%

* Significativo

** Altamente significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del % de mortalidad de los explantes.

Tratamiento	Promedio	Duncan
ANA 0 mg.l ⁻¹	0,100	b
ANA 0,75 mg.l ⁻¹	0,200	b
ANA 1,5 mg.l ⁻¹	0,150	b
ANA 3 mg.l ⁻¹	0,250	b
ANA 6 mg.l ⁻¹	0,725	a

Anexo XLI. Análisis estadístico de la regresión y correlación múltiple

Tabla 1. Coeficientes de la regresión y correlación múltiple del % de mortalidad, oxidación, número de brotes y mayor largo de raíz para *A. grande*.

Mo del o		Coeficientes no estandarizados		Coeficien tes estanda rizados	t	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%		Correlaciones			Estadísticos de colinealidad	
		B	Error tip.	Beta			Límite inferior	Límite superior	Orden cero	Parci al	Semipar cial	Tolera ncia	FIV
1	Constante	92,03	76,67		1,20	,44	-882,21	1066,26					
	% de mortalidad	-22,73	4,53	-,63	-5,02	,16	-80,22	34,76	-,90	-,98	-,51	,67	1,50
	oxidación	57,77	37,45	1,07	1,54	,37	-418,02	533,56	,85	,84	,16	,02	46,27
	Nº de brotes	-63,88	76,07	-,58	-,84	,56	-1030,45	902,70	,83	-,64	-,09	,02	46,33

a Variable dependiente: Mayor largo de raíz

Anexo XLII. Análisis estadístico de la supervivencia

Tabla 1. Análisis de Varianza de la supervivencia para *A. acebeyae* a los 15 días.

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	0,050	0,050	0,7500	
Sustrato (B)	3	0,550	0,183	2,7500	0,0489 *
AB	3	0,150	0,050	0,7500	
Error	72	4,800	0,067		
Total	79	5,550			

CV: 27,91%

* Significativo

ns No significativo

Anexo XLIII. Análisis estadístico de la altura del explante

Tabla 1. Análisis de Varianza de la altura del explante para *A. acebeyae* a los 15 días

(Transformado con $\sqrt[4]{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	0,351	0,351	1,2387	0,2694 ns
Sustrato (B)	3	2,357	0,786	2,7722	0,0476 *
AB	3	0,206	0,069	0,2427	
Error	72	20,409	0,283		
Total	79	23,324			

CV: 23,24%

* Significativo

ns No significativo

Anexo XLIV. Análisis estadístico del número de raíces

Tabla 1. Análisis de Varianza del número de raíces para *A. acebeyae* a los 2 meses

(Transformado con $\sqrt[4]{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	0,648	0,648	5,6053	0,0196 *
Sustrato (B)	3	0,263	0,088	0,7705	
AB	3	0,225	0,075	0,6592	
Error	72	8,192	0,114		
Total	79	9,328			

CV: 23,75%

* Significativo

Anexo XLV. Análisis estadístico del diámetro del cuello

Tabla 1. Análisis de Varianza del diámetro del cuello para *A. acebeyae* a los 2 meses

(Transformado con $\sqrt[4]{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	0,338	0,338	4,5234	0,0369 *
Sustrato (B)	3	0,656	0,219	2,9264	0,0395 *
AB	3	0,148	0,049	0,6602	
Error	72	5,380	0,075		
Total	79	6,522			

CV: 17,81%

* Significativo

ns No significativo

Anexo XLVI. Análisis estadístico de la altura del explante

Tabla 1. Análisis de Varianza de la altura del explante para *A. grande* a los 2 meses

(Transformado con $\sqrt[4]{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	0,841	0,841	2,6311	0,1092 ns
Sustrato (B)	3	2,809	0,936	2,9317	0,0392 *
AB	3	0,846	0,282	0,8823	
Error	72	23,000	0,319		
Total	79	27,495			

CV: 27,47%

* Significativo

ns No significativo

Anexo XLVII. Análisis estadístico del número de hojas

Tabla 1. Análisis de Varianza del número de hojas para *A. grande* a los 2 meses (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	0,378	0,378	0,8699	
Sustrato (B)	3	3,864	1,288	2,9636	0,0377 *
AB	3	1,216	0,405	0,9328	
Error	72	31,295	0,435		
Total	79	36,754			

CV: 35,47%

* Significativo

Anexo XLVIII. Análisis estadístico del largo de raíz

Tabla 1. Análisis de Varianza del largo de raíz para *A. grande* a los 2 meses (Transformado con $\sqrt[4]{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	1,300	1,300	5,5445	0,0213 *
Sustrato (B)	3	1,185	0,395	1,6840	0,1780 ns
AB	3	0,668	0,223	0,9500	
Error	72	16,888	0,235		
Total	79	20,042			

CV: 27,91%

* Significativo

ns No significativo

Anexo XLIX. Análisis estadístico del número de raíz

Tabla 1. Análisis de Varianza del número de raíz para *A. grande* a los 2 meses (Transformado con $\sqrt[4]{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	0,630	0,630	6,8358	0,0109 *
Sustrato (B)	3	0,142	0,047	0,5148	
AB	3	0,234	0,078	0,8475	
Error	72	6,637	0,092		
Total	79	7,644			

CV: 22,14%

* Significativo

Anexo L. Análisis estadístico del diámetro de la raíz

Tabla 5. Análisis de Varianza del diámetro de la raíz para *A. grande* a los 2 meses (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	0,351	0,351	5,1499	0,0262 *
Sustrato (B)	3	0,109	0,036	0,5347	
AB	3	0,184	0,061	0,9014	
Error	72	4,909	0,068		
Total	79	5,554			

CV: 17,66%

* Significativo

Anexo LI. Análisis estadístico del diámetro del cuello

Tabla 1. Análisis de Varianza del diámetro del cuello para *A. grande* a los 15 días (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	0,760	0,760	2,4458	0,1222 ns
Sustrato (B)	3	3,046	1,015	3,2659	0,0262 *
AB	3	2,660	0,887	2,8521	0,0432 *
Error	72	22,388	0,311		
Total	79	28,855			

CV: 25,43%

* Significativo

ns No significativo

Tabla 2. Análisis Duncan del diámetro del cuello para *A. grande* a los 15 días.

Tratamiento	Promedio	Duncan
Cascarilla de arroz	5,150	a
Chachin	5,100	a
Grava	4,025	ab
Fibra de coco	2,700	b

Anexo LII. Análisis estadístico de la formación de brote

Tabla 1. Análisis de Varianza de la formación de brote para *A. grande* (Transformado con $\sqrt{x+1}$).

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	Pr>F
s/c carbón (A)	1	0,072	0,072	2,1039	0,1513 ns
Sustrato (B)	3	0,304	0,101	2,9610	0,0378 *
AB	3	0,072	0,024	0,7013	
Error	72	2,464	0,034		
Total	79	2,912			

CV: 16,23%

* Significativo

ns No significativo

Anexo LIII. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. accebeyae*.

(0 mg.l⁻¹ SA * 0,3 mg.l⁻¹ BAP)

Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	23	2,3	2,3	0,0
S2	10	26	2,6	2,2	15,4
S3	10	66	6,6	6,1	7,6
Total			11,5	10,6	23,0
Promedio			3,8	3,5	7,7

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. accebeyae*.

(0 mg.l⁻¹ SA * 1,5 mg.l⁻¹ BAP)

Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	29	2,9	2,9	0,0
S2	10	62	6,2	6,0	3,2
S3	10	95	9,5	9,1	4,2
Total			18,6	18,0	7,4
Promedio			6,2	6,0	2,5

Tabla 3. Tasa de multiplicación para *A. accebeyae*.

(0 mg.l⁻¹ SA * 7,5 mg.l⁻¹ BAP)

Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	10	1,0	1,0	0,0
S2	10	14	1,4	1,4	0,0
S3	10	30	3,0	2,8	6,7
Total			5,4	5,2	6,7
Promedio			1,8	1,7	2,2

Anexo LIV. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. accebeyae*.

(80 mg.l⁻¹ SA * 0,3 mg.l⁻¹ BAP)

Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	12	1,2	1,2	0,0
S2	10	21	2,1	1,7	19,0
S3	10	30	3,0	2,6	13,3
Total			6,3	5,5	32,4
Promedio			2,1	1,8	10,8

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. accebeyae*.

(80 mg.l⁻¹ SA * 1,5 mg.l⁻¹ BAP)

Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	27	2,7	2,7	0,0
S2	10	26	2,6	2,6	0,0
S3	5	81	16,0	16,2	0,0
Total			21,5	21,5	0,0
Promedio			7,2	7,2	0,0

Tabla 3. Tasa de multiplicación para *A. accebeyae*.

(80 mg.l⁻¹ SA * 7,5 mg.l⁻¹ BAP)

Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	29	2,9	2,9	0,0
S2	10	30	3,0	2,6	13,3
S3	10	49	4,9	4,5	8,2
Total			10,8	10,0	21,5
Promedio			3,6	3,3	7,2

Anexo LV. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. acerbeyae*.

(160 mg.l ⁻¹ SA * 0,3 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	14	1,4	1,4	0,0
S2	10	21	2,1	1,8	14,3
S3	8	44	5,5	4,9	11,4
Total			9,0	8,1	25,6
Promedio			3,0	2,7	8,5

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. acerbeyae*.

(160 mg.l ⁻¹ SA * 1,5 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	19	1,9	1,9	0,0
S2	10	26	2,6	2,2	15,4
S3	8	44	5,5	4,5	18,2
Total			10,0	8,6	33,6
Promedio			3,3	2,9	11,2

Tabla 3. Tasa de Multiplicación para *A. acerbeyae*.

(160 mg.l ⁻¹ SA * 7,5 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	19	1,9	1,9	0,0
S2	10	43	4,3	3,9	9,3
S3	25	48	1,9	1,6	16,7
Total			8,1	7,4	26,0
Promedio			2,7	2,5	8,7

Anexo LVI. Tasa de multiplicación en la fase de enraizamiento

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. acerbeyae*.

(0 mg.l ⁻¹ ANA)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	20	21	1,1	1,1	0,0
S2	20	38	1,9	1,9	2,6
S3	20	42	2,1	1,4	35,7
Total			5,1	4,3	38,3
Promedio			1,7	1,4	12,8

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. acerbeyae*.

(0,75 mg.l ⁻¹ ANA)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	20	20	1,0	1,0	5,0
S2	20	147	7,4	0,9	6,1
S3	20	24	1,2	0,6	50,0
Total			9,6	2,5	61,1
Promedio			3,2	0,8	20,4

Tabla 3. Tasa de multiplicación para *A. acerbeyae*.

(1,5 mg.l ⁻¹ ANA)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	20	20	1,0	0,9	15,0
S2	20	23	1,2	0,8	34,8
S3	20	47	2,4	1,1	53,2
Total			4,5	2,7	103,0
Promedio			1,5	0,9	34,3

Anexo LVII. Tasa de multiplicación en la fase de enraizamiento

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. acerbeyae*.

(3 mg.l ⁻¹ ANA)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	20	20	1,0	0,8	20,0
S2	20	20	1,0	0,4	65,0
S3	20	20	1,0	0,3	75,0
Total			3,0	1,4	160,0
Promedio			1,0	0,5	53,3

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. acerbeyae*.

(6 mg.l ⁻¹ ANA)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	20	20	1,0	0,7	30,0
S2	20	21	1,1	0,5	52,4
S3	20	28	1,4	0,9	35,7
Total			3,5	2,1	118,1
Promedio			1,2	0,7	39,4

Anexo LVIII. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. acerbeyae*.

(Carbón * Cascarilla de arroz)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	7	0,7	0,7	0,0
S2	10	10	1,0	0,7	30,0
S3	10	12	1,2	1,0	16,7
Total			2,9	2,4	46,7
Promedio			1,0	0,8	15,6

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. acerbeyae*.

(Sin Carbón * Cascarilla de arroz)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	8	0,8	0,6	25,0
S2	10	6	0,6	0,2	66,7
S3	10	11	1,1	1,1	0,0
Total			2,5	1,9	91,7
Promedio			0,8	0,6	30,6

Tabla 3. Tasa de multiplicación para *A. acerbeyae*.

(Carbón * Chachin)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	9	0,9	0,8	11,1
S2	10	8	0,8	0,6	25,0
S3	10	9	0,9	0,8	11,1
Total			2,6	2,2	47,2
Promedio			0,9	0,7	15,7

Anexo LIX. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. acebeyae*.

(Sin Carbón * Chachin)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	7	0,7	0,4	42,9
S2	10	9	0,9	0,8	11,1
S3	10	8	0,8	0,6	25,0
Total			2,4	1,8	79,0
Promedio			0,8	0,6	26,3

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. acebeyae*.

(Carbón * Grava)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	10	1,0	1,0	0,0
S2	10	9	0,9	0,8	11,1
S3	10	8	0,8	0,5	37,5
Total			2,7	2,3	48,6
Promedio			0,9	0,8	16,2

Tabla 3. Tasa de multiplicación para *A. acebeyae*.

(Sin Carbón * Grava)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	10	1,0	1,0	0,0
S2	10	9	0,9	0,8	11,1
S3	10	9	0,9	0,8	11,1
Total			2,8	2,6	22,2
Promedio			0,9	0,9	7,4

Anexo LX. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. acebeyae*.

(Carbón * Fibra de coco)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	9	0,9	0,8	11,1
S2	10	6	0,6	0,2	66,7
S3	10	7	0,7	0,4	42,9
Total			2,2	1,4	120,6
Promedio			0,7	0,5	40,2

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. acebeyae*.

(Sin Carbón * Fibra de coco)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	9	0,9	0,8	11,1
S2	10	8	0,8	0,6	25,0
S3	10	6	0,6	0,2	66,7
Total			2,3	1,6	102,8
Promedio			0,8	0,5	34,3

Anexo LXI. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para A.
grande.

(0 mg.l ⁻¹ SA * 0,3 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	17	1,7	1,7	0,0
S2	10	29	2,9	2,9	0,0
S3	15	49	3,3	3,3	0,0
Total			7,9	7,9	0,0
Promedio			2,6	2,6	0,0

Tabla 2. Tasa de multiplicación para A.
grande.

(0 mg.l ⁻¹ SA * 1,5 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	13	1,3	1,3	0,0
S2	10	27	2,7	2,7	0,0
S3	15	22	1,5	1,5	0,0
Total			5,5	5,5	0,0
Promedio			1,8	1,8	0,0

Tabla 3. Tasa de multiplicación para A. *grande.*

(0 mg.l ⁻¹ SA * 7,5 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	10	1,0	1,0	0,0
S2	10	20	2,0	1,8	10,0
S3	11	12	1,1	1,1	0,0
Total			4,1	3,9	10,0
Promedio			1,4	1,3	3,3

Anexo LXII. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para A.
grande.

(80 mg.l ⁻¹ SA * 0,3 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	19	1,9	1,9	0,0
S2	10	50	5,0	4,8	4,0
S3	26	87	3,3	3,1	6,9
Total			10,2	9,8	10,9
Promedio			3,4	3,3	3,6

Tabla 2. Tasa de multiplicación para A.
grande.

(80 mg.l ⁻¹ SA * 1,5 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	19	1,9	1,9	0,0
S2	10	37	3,7	3,5	5,4
S3	18	27	1,5	1,5	0,0
Total			7,1	6,9	5,4
Promedio			2,4	2,3	1,8

Tabla 3. Tasa de multiplicación para A. *grande.*

(80 mg.l ⁻¹ SA * 7,5 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	20	2,0	2,0	0,0
S2	10	31	3,1	2,8	9,7
S3	10	16	1,6	1,4	12,5
Total			6,7	6,2	22,2
Promedio			2,2	2,1	7,4

Anexo LXIII. Tasa de multiplicación en la fase de multiplicación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(160 mg.l ⁻¹ SA * 0,3 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	21	2,1	2,1	0,0
S2	10	52	5,2	4,8	7,7
S3	12	60	5,0	4,8	3,3
Total			12,3	11,7	11,0
Promedio			4,1	3,9	3,7

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(160 mg.l ⁻¹ SA * 1,5 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	16	1,6	1,6	0,0
S2	10	26	2,6	2,4	7,7
S3	4	21	5,3	5,3	0,0
Total			9,5	9,3	7,7
Promedio			3,2	3,1	2,6

Tabla 3. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(160 mg.l ⁻¹ SA * 7,5 mg.l ⁻¹ BAP)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	10	1,0	1,0	0,0
S2	10	13	1,3	1,3	0,0
S3	4	7	1,8	1,5	14,3
Total			4,1	3,8	14,3
Promedio			1,4	1,3	4,8

Anexo LXIV. Tasa de multiplicación en la fase de enraizamiento

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(0 mg.l ⁻¹ ANA)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	20	28	1,4	1,4	0,0
S2	20	31	1,6	1,6	0,0
S3	20	39	2,0	1,9	2,6
Total			4,9	4,9	2,6
Promedio			1,6	1,6	0,9

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(0,75 mg.l ⁻¹ ANA)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	20	32	1,6	1,5	6,3
S2	20	38	1,9	1,7	10,5
S3	20	46	2,3	2,2	4,3
Total			5,8	5,4	21,1
Promedio			1,9	1,8	7,0

Tabla 3. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(1,5 mg.l ⁻¹ ANA)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	20	30	1,5	1,4	6,7
S2	20	60	3,0	2,9	5,0
S3	20	52	2,6	2,5	3,8
Total			7,1	6,8	15,5
Promedio			2,4	2,3	5,2

Anexo LXV. Tasa de multiplicación en la fase de enraizamiento

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(3 mg.l ⁻¹ ANA)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	20	17	0,9	0,7	23,5
S2	20	23	1,2	0,9	21,7
S3	20	24	1,2	1,1	8,3
Total			3,2	2,7	53,6
Promedio			1,1	0,9	17,9

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(6 mg.l ⁻¹ ANA)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	20	16	0,8	0,6	25,0
S2	20	28	1,4	1,2	17,9
S3	20	25	1,3	0,4	72,0
Total			3,5	2,1	114,9
Promedio			1,2	0,7	38,3

Anexo LXVI. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(Carbón * Cascarilla de arroz)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	14	1,4	1,2	14,3
S2	10	15	1,5	0,9	40,0
S3	10	11	1,1	0,9	18,2
Total			4,0	3,0	72,5
Promedio			1,3	1,0	24,2

Tabla 2. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(Sin Carbón * Cascarilla de arroz)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	22	2,2	2,2	0,0
S2	10	23	2,3	2,2	4,3
S3	10	19	1,9	1,9	0,0
Total			6,4	6,3	4,3
Promedio			2,1	2,1	1,4

Tabla 3. Tasa de multiplicación para *A. grande*.

(Carbón * Chachin)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	13	1,3	0,9	30,8
S2	10	11	1,1	0,6	45,5
S3	10	8	0,8	0,6	25,0
Total			3,2	2,1	101,2
Promedio			1,1	0,7	33,7

Anexo LXVII. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para A.
grande.

(Sin Carbón * Chachin)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	21	2,1	2,0	4,8
S2	10	30	3,0	2,8	6,7
S3	10	24	2,4	2,1	12,5
Total			7,5	6,9	23,9
Promedio			2,5	2,3	8,0

Tabla 2. Tasa de multiplicación para A.
grande.

(Carbón * Grava)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	18	1,8	1,8	0,0
S2	10	42	4,2	3,8	9,5
S3	10	11	1,1	0,5	54,5
Total			7,1	6,1	64,1
Promedio			2,4	2,0	21,4

Tabla 3. Tasa de multiplicación para A. *grande.*

(Sin Carbón * Grava)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	9	0,9	0,8	11,1
S2	10	8	0,8	0,6	25,0
S3	10	6	0,6	0,2	66,7
Total			2,3	1,6	102,8
Promedio			0,8	0,5	34,3

Anexo LXVIII. Tasa de multiplicación en la fase de aclimatación

Tabla 1. Tasa de multiplicación para A.
grande.

(Carbón * Fibra de coco)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	9	0,9	0,8	11,1
S2	10	11	1,1	0,9	18,2
S3	10	10	1,0	0,9	10,0
Total			3,0	2,6	39,3
Promedio			1,0	0,9	13,1

Tabla 2. Tasa de multiplicación para A.
grande.

(Sin Carbón * Fibra de coco)					
Año	Inicial	Final	TMRF	TMRE	% Perdidas
S1	10	9	0,9	0,8	11,1
S2	10	12	1,2	0,5	58,3
S3	10	10	1,0	0,6	40,0
Total			3,1	1,9	109,4
Promedio			1,0	0,6	36,5