

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ciencias Y Humanidades  
Departamento de Ciencias Agrícolas

EVALUACION DE LA CAPACIDAD DE TUBERIZACION in vitro DE DOS  
VARIEDADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) CON TRES DIFERENTES  
CONCENTRACIONES DE BENCIL ADENINA

CESAR ESTUARDO ANLEU SCHIPPERS



GUATEMALA

1990

EVALUACION DE LA CAPACIDAD DE LA TUBERIZACION in vitro DE DOS  
VARIETADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) CON TRES DIFERENTES  
CONCENTRACIONES DE BENCIL ADENINA

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ciencias Y Humanidades  
Departamento de Ciencias Agricolas

EVALUACION DE LA CAPACIDAD DE TUBERIZACION in vitro DE DOS  
VARIEDADES DE PAPA. (*Solanum Tuberosum* L.) CON TRES DIFERENTES  
CONCENTRACIONES DE BENCIL ADENINA

CESAR ESTUARDO ANLEU SCHIPPERS

Trabajo de investigación presentado para optar al título de  
Ingeniero Agrónomo en el grado de Licenciado

GUATEMALA

1990

## AGRADECIMIENTOS

QUIERO AGRADECER:

Mis padres por su constante interés y ayuda que me proporcionaron.

La Universidad del Valle de Guatemala, por la formación académica.

El Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, por el material vegetativo prestado.

El Ing. Juan Antonio Paz, por su amistad y asesoramiento.

A mis profesores y amigos en general, por su constante interés y apoyo.

**ACTO QUE DEDICO**

A DIOS

A MIS PADRES

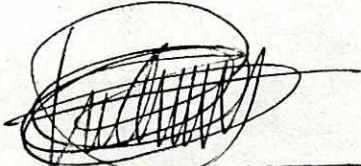
CESAR ARNULFO ANLEU BOLAÑOS

MARY ALICE SCHIPPERS DE ANLEU

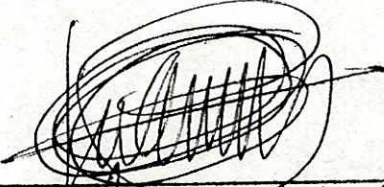
A MIS PROFESORES


A MIS AMIGOS

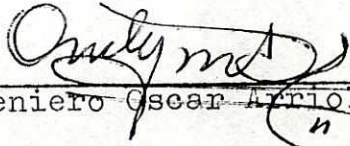
Vo. Bo. :

(f)   
Ingeniero Juan Antonio Paz x  
Asesor

Tribunal:

(f)   
Ingeniero Juan Antonio Paz x

(f)   
Ingeniero Ricardo Del Valle x

(f)   
Ingeniero Oscar Arriola x

Fecha de aprobación: 22 de octubre de 1990.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN	
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
A. Generalidades de la papa	3
1. Origen y clasificación botánica	3
2. Adaptación general	5
3. Relación entre el número de tallos y el número de tubérculos por planta.	7
4. Composición	8
5. Almacenamiento	10
B. Cultivo de tejidos	10
1. Cultivo de tejidos y tipos de explantes	10
2. Esterilización de los explantes	11
3. Factores físicos	12
4. Manipulación del material vegetal	13
5. Precauciones que deben tenerse en cuenta por el personal del laboratorio	14
6. Características de la propagación "IN VITRO"	15
7. Mejoramiento genético	16
C. Reguladores del crecimiento vegetal	17
1. Auxinas	17
2. Giberelinas	18
3. Citoquininas	19
III. OBJETIVOS	22

	Página
IV. HIPOTESIS	23
V. MATERIALES Y METODOS	24
VI. RESULTADOS	27
VII. DISCUSION	46
VIII. CONCLUSIONES	50
IX. RECOMENDACIONES	51
X. BIBLIOGRAFIA	52
APENDICES	53

## LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
2.1	Composición química de la papa por 100 grs de porción comestible	9
2.2	Contenido de aminoácidos de la papa mg/grs	9
5.1	Altura (mm) promedio de 30 días de las variedades, tratamientos e interacción	32
5.2	Altura (mm) promedio de 60 días de las variedades, tratamientos e interacción	33
5.3	Análisis de varianza de las alturas alcanzadas en 30 días por las dos variedades de papa	33
5.4	Análisis de varianza de las alturas alcanzadas en 60 días por las dos variedades de papa	34
5.5	Altura (mm) de 30 días promedio por tratamiento y comparador de la prueba de medias de tukey, al 1%	34
5.6	Altura (mm) de 60 días promedio por tratamiento y comparador de la prueba de tukey al 1%	35
5.7	Brotos promedio de 30 días de las variedades, tratamientos e interacción	35
5.8	Brotos promedio de 60 días de las variedades, tratamientos e interacción	36
5.9	Análisis de varianza de los brotes formados en 30 días por las dos variedades de papa	36
5.10	Análisis de varianza de los brotes formados en 60 días por las dos variedades de papa	37

Cuadro		Página
5.11	Brotos de 30 días promedio formados por tratamiento y comparador de la prueba de tukey al 1%	37
5.12	Brotos de 60 días promedio formados por tratamiento y comparador de la prueba de tukey al 1%	38
5.13	Microtubérculos promedio de 30 días formados por variedad, tratamiento e interacción	38
5.14	Microtubérculos promedio de 60 días formados por variedades, tratamientos e interacción	39
5.15	Análisis de varianza de los microtubérculos formados en 30 días por las dos variedades de papa	39
5.16	Análisis de varianza de los microtubérculos formados en 60 días por las dos variedades de papa	40
5.17	Microtubérculos de 30 días promedio formados por tratamiento y comparador de la prueba de tukey al 1%	40
5.18	Microtubérculos de 60 días promedio formados por tratamientos y comparador de la prueba de tukey al 1%	41
5.19	Peso (mg) promedio de 60 días de los microtubérculos de las variedades, tratamientos e interacción	41
5.20	Análisis de varianza del peso de los microtubérculos formados en 60 días por las dos variedades de papa	42
5.21	Peso (mg) de 60 días promedio de los microtubérculos formados por tratamiento y comparador de la prueba de tukey al 1%	42
5.22	Largo (mm) promedio de 60 días de los microtubérculos formados por las variedades, tratamientos e interacción	43

Cuadro		Página
5.23	Análisis de varianza del largo de los microtubérculos formados en 60 días por las dos variedades de papa.	43
5.24	Largo (mm) de 60 días promedio de los microtubérculos formados por tratamiento y comparador de prueba de tukey 1%	44
5.25	Ancho (mm) promedio de 60 días de los microtubérculos de las variedades, tratamientos e interacción	44
5.26	Análisis de varianza del ancho de los microtubérculos formados en 60 días por las dos variedades de papa	45
5.27	Ancho (mm) de 60 días promedio de los microtubérculos por tratamiento y comparador de la prueba tukey al 1%	45

## RESUMEN

En la presente investigación se evaluó la capacidad de tuberización in vitro de dos variedades de papa (Solanum tuberosum L.) con tres diferentes concentraciones de bencil adenina. La investigación se realizó en el Laboratorio de cultivo de tejidos de la Universidad Del Valle de Guatemala durante los meses de febrero y marzo de 1990, utilizando plantas de papa de las variedades ICTA - CHIQUIRICHAPA y TOLLOCAN.

El método estadístico utilizado fue el de análisis de varianza y prueba de medias de Tukey obteniendo los siguientes resultados:

El tratamiento con 1 ppm de BA, fue el que mejor rendimiento produjo; y se logró obtener un total de 118 microtubérculos, con un peso promedio de 22.49 mg., un diametro de 1.68 mm y un largo promedio de 3.63 mm. Y para el caso de altura de planta y número de brotes el mejor tratamiento, estadísticamente, significativo fue el de 0 ppm de bencil adenina, con una altura de planta promedio de 57.19 mm. y un número promedio de brotes de 11.1.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de tuberización de dos variedades de papa (Solanum tuberosum L.) con tres diferentes concentraciones de bencil adenina y contribuir en la agricultura guatemalteca produciendo un aumento de semilla libre de virus y agentes patógenos.

## I. INTRODUCCION

El consumo de la papa (*Solanum tuberosum* L. ) es de gran importancia en el régimen alimenticio de los pueblos consumiendo cada persona al año 22 libras y, en consecuencia, la producción de papa libre de virus y agentes patógenos es de una significación económica muy grande.

Las enfermedades virosas de la papa constituyen uno de los factores limitantes de producción en Guatemala, como lo son ciertos hongos y bacterias. Aparentemente en algunas zonas volcánicas y en las sierras las condiciones no siempre han sido propicias para la amplia difusión de ciertos virus. Sin embargo, no se podría subestimar la importancia de los virus en nuestro país, ya que su presencia es responsable de disminuir la producción.

El presente trabajo proporciona técnicas de propagación mediante cultivo de tejidos, que es el único método conocido, actualmente, para erradicar virus, viroides, micoplasmas y otros patógenos a partir de material enfermo. Además, mantiene el cultivo libre de plagas y enfermedades, por ser una técnica que requiere mucha asepsia.

Además de propagar las plantas, se aumenta la tuberización por mata mediante esta técnica *in vitro*.

Con este adelanto, el costo de la semilla que se usa para sembrar papa es sólo una pequeña parte de la inversión

total.

La calidad de la semilla, sin embargo, puede significar una diferencia grande en el rendimiento y en las ganancias. Con semilla mala y con semilla buena se gasta lo mismo en preparación de la tierra, compra de abonos y fungicidas y se requieren los mismos jornales. La diferencia reside en el hecho de que es buena semilla de papa en virtud de sus características superiores tiene la capacidad potencial de dar mayores rendimientos.

## II. REVISION DE LITERATURA

### A. Generalidades de la papa

#### 1. Origen y clasificación botánica

La papa cultivada tiene su origen en los andes sudamericanos, probablemente en el antiplano, cerca del lago Titicaca, de acuerdo con los investigadores ingleses y según informes de Talburt (1975: 241). La escuela rusa señala a la isla de Chiloé, al sur de Chile, como el centro de origen. Las dos especies de papa que más se cultivan se reconocen como Solanum andigenum, para los tipos de día corto y Solanum tuberosum para los tipos de día largo, aunque la separación por fotoperíodo no siempre es válida. Ambas son tetraploides; S. tuberosum incluye las variedades corrientes de Europa, Norteamérica y Chile y S. andigenum incluye ciertas variedades nativas de las regiones paperas de los andes en la región Ecuatorial.

Ammirato (1984: 291), opina que el nombre Solanum andigenum es válido, designándose como S. tuberosum a las formas especializadas derivadas de la primera. Fersini (1985: 322) opina que como en los últimos años se ha generalizado la separación de la especie original S. tuberosum en dos subespecies, es preferible usar los términos S. tuberosum Chileanum y S. tuberosum andigenum para referirse a las dos formas principales de papa cultivada.

Según los investigadores ingleses, en épocas remotas se distribuyeron plantas de los tipos originales de papa de la región del lago Titicaca hacia el norte hasta Colombia y Ecuador y hacia el sur hasta Chile y la isla de Chiloé. En el sur, ya fuera por selección natural, o por la intervención del hombre, ciertas formas fueron escogidas y multiplicadas porque eran más apropiadas para la producción de tubérculos y éstas llegaron a ser más similares a la especie comercial S. tuberosum de hoy que al grupo que es típico de las variedades conocidas como S. andigenum que se desarrolló más al norte, en las latitudes bajas, más cerca del Ecuador.

Estudios cuidadosos de grandes colecciones de variedad de S. andigenum han indicado, según Casseres (1976: 73), que se puede hacer seis grupos de tales plantas, de acuerdo con las características del follaje. Estos grupos varían desde aquellos típicamente andigenum en los grupos 1, 2 y 3 (que se distinguen generalmente por las hojuelas más pequeñas, porte alto, numerosos tallos), hasta los grupos 5 y 6 que son aquellos similares a las variedades Europeas y Norteamericanas consideradas como S. tuberosum. El grupo 4 es intermedio, y los grupos 5 y 6 son de hojas más grandes.

Ecuador y Colombia, por una parte, y el sur de Chile (isla de Chiloé), son regiones que quedan a 2400 kilómetros del área del lago Titicaca. Se cree, por lo

tantò, que los deseos del hombre y los dictados de la naturaleza resultaron, a través del tiempo, en la selección de dos tipos especializados de papa de cada uno de los extremos del continente sudamericano.

Entre 1925 y 1933 los científicos rusos hicieron expediciones para coleccionar especies de solanum desde México hasta la parte más septentrional de Sudamérica. Los rusos proponen que la primera papa llevada a Europa fue un tuberosum de Chiloé. Los datos y razonamientos de los ingleses tienden a probar que las primeras papas que llegaron a España eran de tipo andigenum, proveniente de la parte norte de América del Sur, región que tenía una comunicación más directa con España que Chiloé, en la época en que la papa fue dada a conocer por primera vez en el viejo mundo.

Casseres (1976: 71) ha publicado un excelente trabajo sobre las especies silvestres tuberíficas de solanum que se encuentran en el Perú.

La papa fue introducida en los Estados Unidos procediendo de Europa, en 1621, vía Bermuda. La primera introducción fue cultivada en virginia, según Casseres (1976: 72). Otra introducción en New Hampshire fue hecha en 1719 por un grupo de inmigrantes irlandeses.

## 2. Adaptacion general

La papa tiene una amplia adaptación a diversos

climas dentro de un ambiente predominante fresco a frío, sin exceso de humedad. Las principales regiones del mundo se encuentran en regiones templadas de latitudes intermedias, con una temperatura media de 18°C. Se puede producir desde el nivel del mar hasta los 4000 metros de elevación.

A bajas alturas en la faja tropical y cerca del nivel del mar, la época más propicia es aquella en que se produce un tiempo relativamente fresco y seco con facilidades de irrigación.

El ambiente fresco es importante para que el desarrollo vegetativo de la planta sea lento y se dé oportunidad de que se produzca una cantidad de carbohidratos en exceso de los que la planta requiere para sus procesos normales de respiración. Así, dicho exceso de carbohidratos puede acumularse y dar lugar a la formación de tubérculos.

En México y América, la papa se puede producir prácticamente durante todo el año, variando el lugar y la época de siembra de acuerdo con las temperaturas medias mensuales. En Guatemala se produce aproximadamente 42,000 toneladas de papa.

Las siembras se hacen 2 veces al año y la mayor producción de papa corresponde a la época de lluvias. Hacia fines de año, cuando las lluvias decrecen, la papa se vuelve a sembrar para aprovechar la humedad residual del suelo. La producción tiene menos problemas durante el período más

seco, aunque con frecuencia los rendimientos son inferiores debido a la limitación del agua.

La papa se adapta a terrenos muy diversos, con preferencia a los de mediana textura, bien labrados, de fácil penetración al agua, bien provistos de materia orgánica descompuesta y, por lo tanto, se adapta mal a los terrenos duros y fuertes tendiendo a lo compacto. Rechaza, por lo tanto, cualquier contacto directo con abono fresco, con las cenizas de la leña y la cal que la hacen arrugada y escamosa, según Casseres (1976:73).

3. Relación entre el número de tallos y el número de tubérculos por planta.

Existe una correlación positiva entre el número de tallos en cada planta de papa y el número de tubérculos que se producen. Esto es consecuencia del origen morfológico de los estolones que desarrollan de los nudos de los tallos en la porción que queda bajo del suelo. Por lo tanto, con un número mayor de tallos, por ejemplo cuatro a seis, el número de tubérculos medianos y pequeños es superior cuando hay un número inferior de ellos; con dos o tres tallos hay menor número de papas; pero éstas son más grandes debido a que existe menor competencia por agua y nutrientes. Esta circunstancia se aprovecha para la producción de una porción predominante de tubérculos medianos y pequeños para usar enteros como semilla.

Hay varias maneras de conseguir un número alto de tallos por planta:

- a. El almacenamiento prolongado de papa para semilla produce brotes en un mayor número de ojos.
- b. El desbrote o remoción de los primeros brotes estimula la producción de tallos en el resto del tubérculo.
- c. Temperaturas relativamente altas durante el almacenamiento, de 20° a 30° c, resultan en mayor brotación que temperaturas usuales bajas.
- d. Tratamientos químicos. Estos tratamientos resultan en acortar el reposo y especialmente en la eliminación de la dominancia apical o en la modificación de la dominancia del ojo central de una yema.

#### 4. Composición

El valor energético de la papa es similar al del arroz y trigo. Si bien es cierto, en diferentes cuadros de composición de la papa, se tiene que hay variantes, pero se debe a que los lugares y planes de manejo de este cultivo son distintos.

Con base a porción comestible, los principales componentes de la papa son los que se indican en los dos cuadros a continuación:

CUADRO 2.1

COMPOSICION QUIMICA DE LA PAPA POR 100 GRS. DE PORCION COMESTIBLE

COMPONENTE	Grs./100 grs. porcion comestible
VALOR ENERGETICO (CAL./100 grs)	327.0
HUMEDAD (%)	16.5
PROTEINA	2.1
GRASA	0.2
HIDRATOS DE CARBONO TOTALES	79.2
FIBRA	3.1
CENIZA	2.0
CALCIO (mg./100 grs)	98.0
FOSFORO (mg./100 grs)	51.0
HIERRO (mg./100 grs)	3.2
CALCIO (mg./100 grs)	98.0
FOSFORO (mg./100 grs)	51.0
HIERRO (mg./100 grs)	3.2
VITAMINA A ACTIVADA (mcg./100 grs)	0.0
VITAMINA C (mg./100 grs)	21.0
TIAMINA (mg./100 grs)	0.03
RIBOFLAVINA (mg./100 grs)	0.14
NIACINA (mg./100 grs)	3.4

FUENTE: INCAP. GUATEMALA

Con base a la porción comestible los principales aminoácidos que contiene la papa son:

CUADRO 2.2

CONTENIDO DE AMINOACIDOS DE LA PAPA MG./100 GRS.

AMINOACIDO	PAPA HERVIDA	PAPA FRITA
ISOLEUCINA	0.89	2.89
LEUCINA	1.09	2.25
LISINA	1.10	2.03
METIONINA	0.26	0.47
FENILALANINA	0.86	1.57
TREONINA	0.76	1.47
TRIPTOFANO	0.24	0.45
VALINA	1.19	2.48

FUENTE: POTATOE PROCESSING. USA

## 5. Almacenamiento

Las condiciones elementales para almacenar papas son un lugar fresco o frío, oscuro, algo húmedo y ventilado. Heidrick et al (1958) indican que la temperatura ideal es de 4 a 6°C., en un ambiente con humedad relativa de 80 a 90 por ciento, lo que sólo se logra con equipos frigoríficos. Una bodega con piso de cemento y ventilación natural pero en un sitio frío permite almacenar la papa al granel, preferiblemente hasta una altura de un metro. La papa se conserva por tres a seis meses sin brotar, según la variedad y las condiciones específicas de la bodega.

Si el lugar de almacenamiento permite regular la temperatura y la humedad, conviene que la papa esté durante la primera semana o dos a una temperatura de 10°C. a 15°C. y a una humedad del 85 a 90 por ciento. Después se baja la temperatura y se regula la humedad para que no ocurra condensación en los tubérculos.

La utilización de productos comerciales a base de sustancias químicas con acción hormonal permite alargar el período de almacenamiento sin que broten las papas.

### B. Cultivo de tejidos

#### 1. Cultivo de tejidos y tipos de explantes

El cultivo de tejidos vegetales "in vitro" consiste en cultivar pequeños segmentos de la planta (explantes) sobre medios sintéticos y en condiciones

controladas con el propósito de regenerar plantas enteras.

Se pueden regenerar plantas a partir de cualquier parte de planta: meristemos, yemas axilares, embriones, cotiledón, hipocótilo, tallo, hojas, raíz, inflorescencias, pétalos, óvulos y polen. Sin embargo, es necesario seleccionar el explante una vez, aunque se hallan definido los objetivos de la investigación.

Se puede definir dos tipos de explantes:

- a. Explantes organizados: Meristemos, ápices, yemas, embrión óvulo y antera.
- b. Explantes no organizados: Segmentos del órgano que lo conforman, según Perea (1988:1).

## 2. Esterilización de los explantes

Es indispensable realizar una asepsia rigurosa utilizando desinfectantes en diferentes concentraciones.

Hipoclorito de sodio ( $\text{NaOCl}$ ), es una de las más utilizadas. Esta sustancia penetra en los tejidos sin impedir el posterior desarrollo celular.

Hipoclorito de calcio ( $\text{Ca(OCl)}_2$ ). Este producto penetra en los tejidos, pero es poco estable y es necesario prepararlo al momento de ser utilizado. La preparación consiste en adicionar la cantidad requerida de ( $\text{Ca(OCl)}_2$ ) en volumen determinado de agua, agitar durante 10 minutos, luego filtrar de acuerdo con Perea (1988:2).

Para la esterilización de los explantes es necesario tener en cuenta la inmersión en la solución

detergente, y enjuague en agua destilada estéril tres veces.

Cuando se utilizan explantes provenientes de cultivos "in vitro", los cuales son estériles, es necesario tan sólo realizar la manipulación en completa asepsia para posteriores subcultivos.

La esterilización de meristemos obtenidos de material sano no es necesaria, ya que estos están protegidos por varias hojas pequeñas. Sólo se hará la esterilización de las ramas o esquejes.

El cuarto de cultivo debe ser climatizado con temperatura estable y con estantes sobre los cuales se colocan los cultivos que deberán ser sometidos a fotoperíodo para un buen desarrollo según Perea (1988:4).

### 3. Factores físicos

Perea (1988:7) establece que, los factores físicos que deben tomarse en cuenta son la temperatura y la luz; el grado higrométrico del aire no tiene mucha importancia, puesto que las plantas cultivadas en medio cerrado ("in vitro"), se encuentran en una atmósfera naturalmente saturada.

La temperatura es un factor físico que es necesario programar de acuerdo con los períodos de luz y oscuridad o constante. De igual manera se debe establecer la temperatura de acuerdo con las exigencias de la planta, climas cálidos o fríos, según Perea (1988:9).

La luz es requerida para la fotosíntesis de los explantes verdes cultivados "in vitro". Además, la luz es indispensable para regular ciertos procesos morfológicos.

Hay tres parámetros considerados que son: el fotoperíodo, la intensidad lumínica y la calidad del espectro de luz.

Generalmente la duración de luz en los cuartos de cultivo está regulada de 16-18 horas. En ocasiones el fotoperíodo puede ser nulo (cultivos de callos y embriones).

Usualmente la intensidad lumínica necesaria para los cultivos no es muy alta, varía entre 1.000 y 10.000 lux.

Thorpe (1981: 379) establece los rangos de luminosidad de acuerdo al estado de desarrollo de la planta. Actualmente la intensidad de luz se mide por unidad de superficie ( $w/m^2$ ).

La calidad del espectro de luz parece influenciar los procesos morfogenéticos. Quak (1977: 598) considera que sobre callos de tabaco las radiaciones azules y violetas inducen la formación de brotes, mientras que las radiaciones rojas inducen la rizogénesis.

Generalmente las fuentes de luz utilizadas consisten en tubos fluorescentes caracterizados por sus curvas de emisión espectral.

#### 4. Manipulación del material vegetal

El material vegetal, una vez esterilizado, debe

ser manipulado en el ambiente estéril (cámara de flujo laminar) con los instrumentos y recipientes estériles. El investigador debe ser consciente y tomar todas las precauciones necesarias como si estuviera en una sala de cirugía.

Es necesario trabajar con toda la asepsia posible y disponer de una cámara de flujo laminar. Antes de su utilización es conveniente ponerla a funcionar, al menos por una hora. También debe hacerse una limpieza profunda con alcohol. Posteriormente la cámara recibirá solamente material estéril.

Un tubo de luz ultravioleta (uv) que funcione fuera de las horas de servicio ayudará a controlar la asepsia del área estéril, según Perea (1988:14).

La cámara de flujo laminar debe estar equipada con mecheros de alcohol que se utilizan para flamear los instrumentos colocados con un recipiente con alcohol (bisturí, cuchillas, pinzas, agujas, tijeras, etc.), recipientes esteriles (cajas petri, frascos) papel de filtro estéril y agua destilada estéril.

Los medios de cultivo y agua destilada deben ser esterelizados en autoclave a 15 lb/I<sup>2</sup> a 121°C durante 20 minutos, según Hurtado (1987:118).

5. Precauciones que deben tenerse en cuenta por el personal del laboratorio

Quak (1977:600) establece que el investigador, antes de comenzar sus experiencias, debe proveerse de una blusa de laboratorio completamente limpia. Deberá bañarse las manos y antebrazos con jabón.

Una vez instalado para el comienzo de su trabajo debe humedecerse las manos y puños con alcohol, lejos del fuego.

De acuerdo con Perea (1988:16) la permanencia en el área estéril debe tomarse algunas precauciones elementales: evitar hablar, toser, estornudar etc.

Los instrumentos deben ser flameados completamente, los cuales deben estar fríos antes de ser utilizados.

Es conveniente estar atento a los riesgos de quemaduras graves que pudieran ocurrir durante las manipulaciones, algunas recomendaciones podrán ser útiles.

-- Al humedecerse las manos con alcohol, espere su evaporación antes de empezar a flamear los instrumentos.

-- El recipiente con alcohol en el que se colocan los instrumentos debe ser estable y será colocado lejos del mechero, según Perea (1988:17).

-- Es conveniente reaccionar lo antes posible en el caso que el alcohol se derrame: utilizar una tela de algodón, accionar la ducha o rodar sobre el suelo.

## 6. Características de la propagación "in vitro"

Perea (1988:10) establece que una de las ventajas de la micropropagación es la posibilidad de realizar, en poco tiempo y en espacios reducidos, la multiplicación a gran escala de una planta seleccionada por sus calidades de producción y por su estado sanitario.

La tasa de multiplicación obtenida por esta vía es considerablemente más elevada que por las vías convencionales y presenta enormes ventajas:

- Comercialización rápida de una nueva variedad.
- Propagación de plantas de difícil propagación vegetativa.
- Propagación de plantas cuyas condiciones normales de multiplicación son largas y difíciles (orquídeas).
- Producción vegetativa de un gran número de ornamentales: clavel, crisantemo, begonia etc.
- Producción de clones provenientes de plantas sanas (fresa, plátano y banano).

#### 7. Mejoramiento genético

La variabilidad genética en el fitomejoramiento tradicional constituye para los genetistas y fitomejoradores una herramienta muy importante según Ammirato (1984:293).

Actualmente, con la implementación y los avances del cultivo y células vegetales se pueden lograr nuevas variantes naturales a partir de tejidos somáticos, lo cual permite el hallazgo de mutaciones espontáneas en corto tiempo con la obtención de plantas haploides, rescate de embriones, fertilización "in vitro", ingeniería genética y

mutagénesis se puede lograr variedades de mejor rendimiento, productividad, resistencia a enfermedades o a condiciones de stress de acuerdo con Ammirato (1984:295).

### C. Reguladores del crecimiento vegetal

#### 1. Auxinas

Son consideradas como sustancias de crecimiento y estimulan el alargamiento celular, estimulan la mitosis en los meristemas secundarios.

Es probable que la auxina sea producida y estimule el crecimiento en los brotes de todas las plantas superiores. La producción de auxina, de ordinario se efectúa en el ápice del brote y, en particular, en las hojas jóvenes, según Perea (1988:12).

La hormona es transportada hacia abajo en el tallo por un mecanismo especial de transporte que se denomina sistema de transporte polar debido a que mueve a la auxina a través de los tejidos estrictamente en dirección basal, sin importar la orientación del tejido respecto a influencias externas como la luz o la gravedad. El transporte polar se efectúa a través del tejido general de parénquima de órganos jóvenes como los coleóptilos pero, hay pruebas de que en ciertos casos también se efectúa transporte de auxina a través de los sistemas vasculares.

Las auxinas como ácido indolacético (AIA), ácido naftalenacético (ANA), y ácido 2,4 diclorofenoxiacético

(2,4-D), son las más frecuentemente usadas en el cultivo de tejidos. El ANA es la auxina más usada en el cultivo de tejidos, concentraciones altas de ésta favorecen el crecimiento de callos, según Mejía (1988:23).

## 2. Giberelinas

Las giberelinas constituyen otra clase de sustancias de crecimiento de plantas. Varias giberelinas se han sintetizado a partir de la planta, pero solamente dos o tres compuestos activos se encuentran disponibles en el mercado. El ácido giberélico (AG3) es el producto más frecuentemente empleado en el cultivo "in vitro".

Mayormente son sintetizadas en puntos de crecimiento como embriones, meristemas o tejidos en desarrollo. Las giberelinas influyen en el crecimiento y desarrollo de diferentes maneras: por ejemplo, promueven el crecimiento de entrenudos, estimulan y aceleran la floración, inducen la fructificación y partenocarpia de éstos. Sin embargo, tienden a inhibir el normal crecimiento de raíces y tallos en cultivos de callos, según Perea (1988:20).

Tienen efectos similares a las auxinas, pero su distribución no es polar como la de estas, además trabajan en los puntos donde las auxinas son inefectivas o inhibidas y viceversa. Sustancias como cloromequat (CCC), carvadan y ancimidoc son conocidas como antigeberélicos, porque

bloquean la síntesis de las geberelinas.

### 3. Citoquininas

Las citoquininas estimulan la división celular. Se encuentran en casi todos los tejidos, son particularmente abundantes en los granos, frutas y raíces. Las citoquinas sintéticas tienen propiedades análogas. Las más utilizadas son BAP O BA. En cultivos in vitro, las citoquininas han permitido grandes progresos, especialmente en micropropagación por su función de proliferación celular mediante la división celular y la diferenciación de los explantes, según Perea (1988:24).

De más de cuarenta especies vegetales, se han obtenido extractos cuyos compuestos manifiestan actividad citocínica. Niveles relativamente altos de esos compuestos se han hallado, sobre todo, en tejidos que presentan una división celular activa como las semillas en germinación y los frutos jóvenes. Por tal razón las citocininas se consideran reguladores de la división celular. Generalmente las actividades de las citocininas se correlacionan con la ubicación de las regiones, de división celular activa y los períodos de división celular activa. La cromatografía ha revelado que, por lo general, la savia contiene más de una citocinina. Es probable que los citoquininas se sinteticen en las puntas de las raíces y se desplacen por el xilema hacia las hojas, donde desempeñan importantes funciones en

el metabolismo y envejecimiento, según Mejía (1988:29).

Dos efectos sorprendentes de las citocininas son provocar la división celular y regular la diferenciación en los tejidos cortados. Se requiere citocinina, tanto en la iniciación como en la continuación de la división celular. La disponibilidad de citocininas ha hecho posible el cultivo de muchos tejidos; algunos de ellos crecen activamente in vitro, al añadir tan solo unos cuantos compuestos orgánicos necesarios como sacarosa, tiamina, mioinositol y auxinas, así como una citocinina. En los bioanálisis de citocininas en cultivos de tejidos, deben agregarse auxinas al medio basal, debido a que esas hormonas ejercen una acción sinérgica en la inducción de la división celular y el crecimiento no diferenciado de los cultivos de tejidos.

Hurtado (1987: 116) encontró que los cultivos de médula de tabaco requieren tanto citocininas como auxinas para su crecimiento activo cuando la concentración de citocininas es baja en proporción con las auxinas, se produce un desarrollo en las raíces, pero cuando es elevada, se desarrollan tanto las yemas como los brotes. Cuando la relación es intermedia, se desarrollan tejidos de callos no diferenciados. Esos resultados sugieren firmemente que las citocininas pueden resultar importantes en el control de la forma de las plantas, así como en la división celular.

Las citoquininas provocan también la elongación

de algunas hojas y la elongación de segmentos de tallos etiolados Ray (1981:272).

Otro efecto de las citocininas es retrasar el envejecimiento de los tejidos vegetales. Aparentemente los efectos antisenescentes de las citocininas se deben al mantenimiento de la síntesis de proteínas y ácido nucleico.

Las citocininas son también importantes para el fenómeno de la movilización de las plantas. Cuando una parte de una hoja se trata con citocininas, los aminoácidos y otros elementos nutritivos se ven atraídos hacia la parte tratada.

### III OBJETIVOS

#### A. Objetivos generales

1. Evaluar la capacidad de tuberización de dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) con tres diferentes concentraciones de bencil adenina.

2. Contribuir con la horticultura guatemalteca produciendo un aumento de semilla libre de virus y agentes patógenos.

3. Desarrollar la investigación científica y tecnología apropiada.

#### B. Objetivos específicos

1. Determinar el número de brotes producidos por cada variedad.

2. Evaluar el número de microtubérculos producidos por cada variedad.

3. Determinar el peso de los microtubérculos producidos por cada variedad.

4. Evaluar el tamaño (diámetro y largo) de los microtubérculos.

5. Determinar la altura de cada una de las plantas.

#### IV HIPOTESIS

Como hipótesis nula para probarse a nivel de laboratorio se planteó la siguiente:

Ho = No se presentará diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos utilizados con bencil adenina para la microtuberización de papa en las variedades Loman y Tollocan.

## V. MATERIALES Y METODOS

### A. Localización

El trabajo de tuberización de dos variedades de papa (Solanum tuberosum L.) en tres diferentes concentraciones de bencil adenina, se efectuó en el laboratorio de cultivo de tejidos ubicado en la Universidad del Valle de Guatemala, durante 60 días, comprendidos de Febrero a Marzo de 1990.

### B. Material experimental

El material fue obtenido de plantas de papa "in vitro" de las variedades ICTA-Chiquirichapa y Tolloccan, que el instituto de ciencia y tecnología agrícolas (ICTA) recibió del centro internacional de la papa (CIP), con certificado de pureza que garantiza su utilización.

### C. Procedimiento

Los recipientes cuadrados de plástico transparente (magentas) con el material ("in vitro") colocadas en el cuarto de crecimiento, fueron trasladadas a la campana de flujo laminar, para extraer de cada una de las dos variedades de papa las yemas correspondientes. Estas fueron extraídas por medio de un bisturí y una pinza, trasladando las yemas, según la variedad, a una caja petri. Se utilizaron 40 tubos para cada variedad. En cada tubo se sembraron 3 yemas y se utilizaron 10 tubos en cada tratamiento, para hacer un total de 80 tubos. Los medios de

cultivo son los siguientes: control (ver apéndice A), el medio con 1 ppm de bencil adenina BA ( Ver apéndice B), el medio con 3 ppm de BA (ver apéndice C) y el medio con con 5 ppm de BA (ver apéndice D). Inmediatamente después de ser sembradas las yemas los tubos fueron trasladados al cuarto de crecimiento, a una temperatura promedio de 22°C, una intensidad de 1500 lux y un fotoperíodo de 16 horas diarias, tomándose datos durante 60 días. (ver evaluación de datos).

#### D. Materiales y equipo

Los materiales utilizados fueron los del laboratorio de cultivo de tejidos, así como los medios mencionados en los apéndices A, B, C, y D.

#### E. Evaluación de datos

##### 1. Altura de planta

Se obtuvo las alturas promedio en cada tubo y en cada variedad, así como también se siguió su crecimiento semanal hasta el final.

##### 2. Brotes

Se evaluó el número de brotes promedio en cada tubo, haciendo conteos a los 30 y 60 días.

##### 3. Micro-tubérculos

Se evaluó el número de microtubérculos producido por tubo, haciendo conteos a los 30 y 60 días.

##### 4. Largo y diámetro

Se comparó el largo y el diámetro de los

microtubérculos en las dos variedades, utilizando un promedio por tubo.

#### 5. Peso

Se obtuvo un peso promedio de los microtubérculos por tubo.

#### F. Método estadístico

Con el propósito de probar la hipótesis planteada se utilizó el análisis de varianza y para hacer la comparación de las medias de tratamiento el comparador de Tukey.

## VI. RESULTADOS

Se hicieron dos conteos masales para altura de planta, número de brotes y número de microtubérculos. El primero se hizo a los 30 días y el segundo a los 60 días. Los resultados de peso, ancho y largo de los microtubérculos fueron tomados a los 60 días.

### Altura de las plantas

Las alturas promedio de las dos variedades de papa se simplifican en los cuadros 5.1 y 5.2.

El análisis de varianza está representado en los cuadros 5.3 y 5.4, en los cuales los tratamientos presentan un valor de F calculada ( $F_c$ ) mayor que F de tabla, ( $F_t$ ) lo que nos indica que sí existe alta diferencia, estadísticamente, significativa entre los cuatro tratamientos estudiados, por lo que se efectuó las pruebas de media de Tukey para establecer un orden de rango entre los tratamientos y determinar cuál es el mejor. Los cuadros 5.5 y 5.6 resumen las pruebas de Tukey. El cuadro 5.5 con datos de 30 días y el cuadro 5.6 con datos de 60 días nos indican, según el comparador de la prueba de medias de Tukey, que el tratamiento de 0 ppm de Bencil Adenina, estadísticamente, es superior con altura promedio de 112.35 mm a los 30 días y 142.5 mm a los 60 días y los tratamientos con 1, 3 y 5 ppm son, estadísticamente, iguales.

Número de brotes formados.

Los brotes promedio de las variedades con período de 30 días se resumen en el cuadro 5.7, y para 60 días en el cuadro 5.8.

No existe diferencia significativa entre variedades ni interacción entre variedades y tratamientos, como lo muestran los valores de Fc menores que los valores de Ft en el cuadro 5.9 y 5.10.

Los cuadros 5.9 y 5.10 muestran que los tratamientos en el análisis de varianza presentan alta diferencia, estadísticamente, significativa entre el número de brotes obtenidos de los cuatro tratamientos con una Fc mayor que la Ft. Como existe esta diferencia significativa, se realizó la prueba de medias de Tukey para analizar cual de los tratamientos es el mejor. El cuadro 5.11 con datos de 30 días nos indica que el tratamiento con 0 ppm de Bencil Adenina es el que mejor rendimiento obtuvo con un número de brotes promedio de 11.65 y es, estadísticamente, diferente a los tratamientos de 3 y 5 ppm de Bencil Adenina.

El cuadro 5.12 con datos de 60 días presenta que los tratamientos con 0 y 1 ppm de Bencil adenina son, estadísticamente, iguales con un número promedio de brotes de 15.20 y 13.20 respectivamente, obteniendo los mejores resultados y le siguen en orden de rango los tratamientos de 3 y 5 ppm que son, estadísticamente iguales. Microtubérculos formados.

Los promedios de microtubérculos formados se resumen para 30 días en el cuadro 5.13 y para 60 días en el cuadro 5.14.

El análisis de varianza entre las variedades e interacción entre variedades y tratamientos no presentó diferencia, estadísticamente significativa, como se puede ver en los cuadros 5.15 y 5.16 con valores de  $F_c$  menores que los valores de  $F_t$ .

En los cuadros 5.15 y 5.16 existe alta diferencia significativa entre los cuatro tratamientos estudiados, obteniendo un valor de  $F_c$  mayor que  $F_t$ . Al realizar la prueba de medias de Tukey se puede ver que en el cuadro 5.17 para datos de 30 días y en el cuadro 5.18 para datos de 60 días el tratamiento con 1 ppm de Bencil Adenina fue el que mejor rendimiento obtuvo y donde se logró producir un promedio de 2.40 microtubérculos, siguiendo en el orden por rango los tratamientos de 3 y 5 ppm.

#### Peso de los microtubérculos

El peso de los microtubérculos está representado en el cuadro 5.19.

Al realizar el análisis de varianza se puede ver el cuadro 5.20 mostrando, por una parte, que no hay diferencia, estadísticamente, significativa entre variedades y tampoco interacción entre variedades y tratamientos, ya que el valor de  $F_c$  es menor que el valor de  $F_t$ . Por otra

parte, el cuadro 5.20 muestra que existe alta significancia entre los cuatro tratamientos con valores de Fc mayores que los de Ft.

Habiendo alta significancia se realizó la prueba de medias de Tukey, donde resultó que el tratamiento de 1, 3 y 5 ppm son estadísticamente iguales con un peso promedio de 39.84 mg., 28.75 mg. y 26.4 mg. respectivamente, siendo el tratamiento de 1 ppm el que mejor rendimiento obtuvo. El tratamiento con 0 ppm de Bencil Adenina es estadísticamente, diferente a los demás, teniendo un peso promedio de microtubérculos de 0 mg. (ver Cuadro 21).

#### Largo de los microtubérculos

El largo promedio de los microtubérculos se resume en el cuadro 5.22.

El análisis de varianza en el cuadro 5.23 muestra que no existe diferencia significativa entre variedades ni tampoco interacción entre variedades ni tampoco interacción entre variedades y tratamientos indicados con valores de Fc menores que los valores de Ft.

El cuadro 5.23 indica que entre tratamientos sí existe alta diferencia significativa con valor de Fc mayor que el valor de Ft. Habiendo alta significancia se realizó la prueba de medias de Tukey para determinar qué tratamiento es el mejor. El cuadro 5.24 muestra que los tratamientos 1, 3 y 5 ppm de Bencil Adenina son estadísticamente, iguales

con un largo promedio de 6 mm., 4.80 mm. y 3.70 mm. respectivamente.

El tratamiento que mejor rendimiento obtuvo fue el de 1 ppm de Bencil Adenina con un largo promedio de 6 mm.

#### Ancho de los microtubérculos

El cuadro 5.25 muestra el ancho promedio de los microtubérculos.

El análisis de varianza nos indica que entre variedades e interacción entre variedades y tratamientos no existe diferencia, estadísticamente, significativa, mostrando valores de Fc menores que valores de Ft. Entre tratamientos sí existe diferencia significativa con un valor de Fc mayor que el valor de Ft (ver cuadro 5.26).

Como hay diferencia significativa entre los tratamientos, la prueba de medias de Tukey determina cuál de los cuatro tratamientos es el mejor (ver cuadro 5.27). Este cuadro indica que los tratamientos con 1, 3 y 5 ppm son estadísticamente iguales con un ancho promedio de 2.75 mm., 2.10 mm. y 1.85 mm. respectivamente y el tratamiento con 0 ppm es, estadísticamente diferente. El tratamiento con 1 ppm es el que mejor rendimiento obtuvo con un ancho promedio de 2.75 mm.

CUADRO 5.1

ALTURA (mm) PROMEDIO DE 30 DIAS DE LAS VARIETADES,  
TRATAMIENTOS E INTERACCION

VAR	TRAT		Altura promedio(mm)	Altura Total(mm)
*	1	*	42.025	1681.000
*	2	*	47.675	1907.000
*	*	1	112.350	2247.000
*	*	2	26.750	535.000
*	*	3	21.400	428.000
*	*	4	18.900	378.000
*	1	1	106.200	1062.000
*	1	2	25.100	251.000
*	1	3	20.000	200.000
*	1	4	16.800	168.000
*	2	1	118.500	1185.000
*	2	2	28.400	284.000
*	2	3	22.800	228.000
*	2	4	21.000	210.000

VAR 1 = ICTA - CHIQUIRICHAPA

VAR 2 = TOLLOCAN

TRAT 1 = 0 ppm

TRAT 2 = 1 ppm

TRAT 3 = 3 ppm

TRAT 4 = 5 ppm

CUADRO 5.2

ALTURA (mm) PROMEDIO DE 60 DIAS DE LAS VARIEDADES,  
TRATAMIENTOS E INTERACCION

VAR	TRAT	Altura promedio(mm)	Altura Total(mm)
*	1	54.100	2164.000
*	2	60.275	2411.000
*	*	142.500	2850.000
*	*	36.650	733.000
*	*	26.600	532.000
*	*	23.000	460.000
*	1	135.000	1350.000
*	1	34.800	348.000
*	1	26.000	260.000
*	1	20.600	206.000
*	2	150.000	1500.000
*	2	38.500	385.000
*	2	27.200	272.000
*	2	25.400	254.000

VAR 1 = ICTA - CHIQUIRICHAPA

VAR 2 = TOLLOCAN

TRAT 1 = 0 ppm

TRAT 2 = 1 ppm

TRAT 3 = 3 ppm

TRAT 4 = 5 ppm

CUADRO 5.3

ANALISIS DE VARIANZA DE LAS ALTURAS ALCANZADAS EN 30 DIAS  
POR LAS DOS VARIEDADES DE PAPA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor Fc	Valor Ft
Variedades	1	638.450	638.450	2.4592	7.01
Tratamientos	3	122143.300	40714.433	156.8235**	4.08
Interacción	3	299.850	99.950	0.3850	4.08
Error	72	18692.600	259.619		
Total	79	141774.200			

Fc = F calculada

Ft = F de tabla

\*\* = Altamente significativo ( $\alpha = 0.01$ )

CUADRO 5.4

ANALISIS DE VARIANZA DE LAS ALTURAS ALCANZADAS EN 60 DIAS  
POR LAS DOS VARIEDADES DE PAPA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor Fc	Valor Ft
Variedades	1	762.612	762.612	1.9799	7.01
Tratamientos	3	196087.838	65362.613	169.6965**	4.08
Interacción	3	553.237	184.412	0.4788	4.08
Error	72	27732.500	385.174		
Total	79	225136.188			

Fc = F calculada

Ft = F de tabla

\*\* = Altamente significativo ( $\alpha = 0.01$ )

CUADRO 5.5

ALTURA (mm) DE 30 DIAS PROMEDIO POR TRATAMIENTO Y COMPARADOR  
DE LA PRUEBA DE MEDIAS DE TUKEY AL 1%

Orden Original			Orden por Rango		
Trat.	Alt.(mm)	Sig.	Trat.	Alt.(mm)	Sig.
0 ppm	= 112.35	A	0 ppm	= 112.35	A
1 ppm	= 26.75	B	1 ppm	= 26.75	B
3 ppm	= 21.40	B	3 ppm	= 21.40	B
5 ppm	= 18.90	B	5 ppm	= 18.90	B

$w(0.01) = 23.4$  mm.

Trat. = Tratamientos

Alt. = Alturas (mm)

Sig. = Significancia

CUADRO 5.6

ALTURA (mm) DE 60 DIAS PROMEDIO POR TRATAMIENTO Y  
COMPARADOR DE LA PRUEBA DE TUKEY AL 1%

Orden Original			Orden por Rango		
Trat.	Alt.(mm)	Sig.	Trat.	Alt.(mm)	Sig.
0 ppm	= 142.50	A	0 ppm	= 142.50	A
1 ppm	= 36.65	B	1 ppm	= 36.65	B
3 ppm	= 26.60	B	3 ppm	= 26.60	B
5 ppm	= 23.00	B	5 ppm	= 23.00	B

$w(0.01) = 28.51$  mm.

Trat. = Tratamientos

Alt. = Alturas (mm)

Sig. = Significancia.

CUADRO 5.7

BROTOS PROMEDIO DE 30 DIAS DE LAS VARIEDADES,  
TRATAMIENTOS E INTERACCION

VAR TRAT			Brotos promedio	Brotos Totales
*	1	*	7.575	303.000
*	2	*	7.625	305.000
*	*	1	11.650	233.000
*	*	2	8.400	168.000
*	*	3	5.500	110.000
*	*	4	4.300	97.000
*	1	1	10.700	107.000
*	1	2	8.900	89.000
*	1	3	5.300	53.000
*	1	4	5.400	54.000
*	2	1	12.600	126.000
*	2	2	7.900	79.000
*	2	3	5.700	57.000
*	2	4	4.300	43.000

VAR 1 = ICTA - CHIQUIRICHAPA

VAR 2 = TOLLOCAN

TRAT 1 = 0 ppm

TRAT 2 = 1 ppm

TRAT 3 = 3 ppm

TRAT 4 = 5 ppm

CUADRO 5.8

BROTOS PROMEDIO DE 60 DIAS DE LAS VARIEDADES,  
TRATAMIENTOS E INTERACCION

VAR TRAT			Brotos promedio	Brotos Totales
*	1	*	10.975	439.000
*	2	*	11.225	449.000
*	*	1	15.200	304.000
*	*	2	13.200	264.000
*	*	3	8.500	170.000
*	*	4	7.500	150.000
*	1	1	14.300	143.000
*	1	2	13.800	138.000
*	1	3	8.900	89.000
*	1	4	6.900	69.000
*	2	1	16.100	161.000
*	2	2	12.600	126.000
*	2	3	8.100	81.000
*	2	4	8.100	81.000

VAR 1 = ICTA - CHIQUIRICHAPA

VAR 2 = TOLLOCAN

TRAT 1 = 0 ppm

TRAT 2 = 1 ppm

TRAT 3 = 3 ppm

TRAT 4 = 5 ppm

CUADRO 5.9

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS BROTOS FORMADOS EN 30 DIAS  
POR LAS DOS VARIEDADES DE PAPA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor Fc	Valor Ft
Variedades	1	0.050	0.050	0.0073	7.01
Tratamientos	3	580.300	193.433	28.2499**	4.08
Interacción	3	29.850	9.950	1.4531	4.08
Error	72	493.000	6.847		
Total	79	1103.200			

Fc = F calculada

Ft = F de tabla

\*\* = Altamente significativo ( $\alpha = 0.01$ )

CUADRO 5.10

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS BROTES FORMADOS EN 60 DIAS  
POR LAS DOS VARIETADES DE PAPA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor Fc	Valor Ft
Variedades	1	1.250	1.250	0.1068	7.01
Tratamientos	3	818.800	272.933	23.3221**	4.08
Interacción	3	32.550	10.850	0.9271	4.08
Error	72	842.600	11.703		
Total	79	1695.200			

Fc = F calculada

Ft = F de tabla

\*\* = Altamente significativo ( $\alpha = 0.01$ )

CUADRO 5.11

BROTES DE 30 DIAS PROMEDIO FORMADOS POR TRATAMIENTO Y  
COMPARADOR DE LA PRUEBA DE TUKEY AL 1%

Orden Original				Orden por Rango			
Trat.	=	Brotos	Sig.	Trat.	=	Brotos	Sig.
0 ppm	=	11.65	A	0 ppm	=	11.65	A
1 ppm	=	8.40	AB	1 ppm	=	8.40	AB
3 ppm	=	5.50	BC	3 ppm	=	5.50	BC
5 ppm	=	4.30	C	5 ppm	=	4.30	C

w (0.01) = 3.80

Trat. = Tratamientos

Sig. = Significancia.

CUADRO 5.12

BROTOS DE 60 DIAS PROMEDIO FORMADOS POR TRATAMIENTO Y  
COMPARADOR DE LA PRUEBA DE TUKEY AL 1%

Orden Original			Orden por Rango		
Trat.	Brotos	Sig.	Trat.	Brotos	Sig.
0 ppm	= 15.20	A	0 ppm	= 15.20	A
1 ppm	= 13.20	AB	1 ppm	= 13.20	AB
3 ppm	= 8.50	BC	3 ppm	= 8.50	BC
5 ppm	= 7.50	C	5 ppm	= 7.50	C

w (0.01) = 4.97

Trat. = Tratamientos

Sig. = Significancia

CUADRO 5.13

MICROTUBERCULOS PROMEDIO DE 30 DIAS FORMADOS POR  
VARIEDAD, TRATAMIENTOS E INTERACCION

VAR TRAT			Microtubérculos Promedio	Microtubérculos Totales
*	1	*	0.425	17.000
*	2	*	0.475	19.000
*	*	1	0.000	0.000
*	*	2	1.200	24.000
*	*	3	0.350	7.000
*	*	4	0.250	5.000
*	1	1	0.000	0.000
*	1	2	1.200	12.000
*	1	3	0.300	3.000
*	1	4	0.200	2.000
*	2	1	0.000	0.000
*	2	2	1.200	12.000
*	2	3	0.400	4.000
*	2	4	0.300	3.000

VAR 1 = ICTA - CHIQUIRICHAPA

VAR 2 = TOLLOCAN

TRAT 1 = 0 ppm

TRAT 2 = 1 ppm

TRAT 3 = 3 ppm

TRAT 4 = 5 ppm

CUADRO 5.14

MICROTUBERCULOS PROMEDIO DE 60 DIAS FORMADOS POR  
VARIEDAD, TRATAMIENTOS E INTERACCION

VAR TRAT			Microtubérculos Promedio	Microtubérculos Totales
*	1	*	1.425	57.000
*	2	*	1.525	61.000
*	*	1	0.000	0.000
*	*	2	2.400	48.000
*	*	3	1.800	36.000
*	*	4	1.700	34.000
*	1	1	0.000	0.000
*	1	2	2.300	23.000
*	1	3	1.600	16.000
*	1	4	1.800	18.000
*	2	1	0.000	0.000
*	2	2	2.500	25.000
*	2	3	2.000	20.000
*	2	4	1.600	16.000

VAR 1 = ICTA - CHIQUIRICHAPA

VAR 2 = TOLLOCAN

TRAT 1 = 0 ppm

TRAT 2 = 1 ppm

TRAT 3 = 3 ppm

TRAT 4 = 5 ppm

CUADRO 5.15

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS MICROTUBERCULOS FORMADOS  
EN 30 DIAS POR LAS DOS VARIEDADES DE PAPA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor Fc	Valor Ft
Variedades	1	0.050	0.050	0.1856	7.01
Tratamientos	3	16.300	5.433	20.1649**	4.08
Interacción	3	0.050	0.017	0.0619	4.08
Error	72	19.400	0.269		
Total	79	35.800			

Fc = F calculada

Ft = F de tabla

\*\* = Altamente significativo ( $\alpha = 0.01$ )

CUADRO 5.16

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS MICROTUBERCULOS FORMADOS  
EN 60 DIAS POR LAS DOS VARIETADES DE PAPA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor Fc	Valor Ft
Variedades	1	0.200	0.200	0.2215	7.01
Tratamientos	3	63.750	21.250	23.5385**	4.08
Interacción	3	1.000	0.333	0.3692	4.08
Error	72	65.000	0.903		
Total	79	129.950			

Fc = F calculada

Ft = F de tabla

\*\* = Altamente significativo ( $\alpha = 0.01$ )

CUADRO 5.17

MICROTUBERCULOS DE 30 DIAS PROMEDIO FORMADOS POR  
TRATAMIENTO Y COMPARADOR DE LA PRUEBA DE TUKEY AL 1%

Orden Original			Orden por Rango		
Trat.	Microtub.	Sig.	Trat.	Microtub.	Sig.
0 ppm	= 0.00	B	1 ppm	= 1.20	A
1 ppm	= 1.20	A	3 ppm	= 0.35	B
3 ppm	= 0.35	B	5 ppm	= 0.25	B
5 ppm	= 0.25	B	0 ppm	= 0.00	B

w (0.01) = 0.75

Trat. = Tratamiento

Microtub. = Microtubérculos

Sig. = Significancia.

CUADRO 5.18

MICROTUBERCULOS DE 60 DIAS PROMEDIO FORMADOS POR TRATAMIENTO, Y COMPARADOR DE LA PRUEBA DE TUKEY AL 1%

Orden Original			Orden por Rango		
Trat.	Microtub.	Sig.	Trat.	Microtub.	Sig.
0 ppm	= 0.00	B	1 ppm	= 2.40	A
1 ppm	= 2.40	A	3 ppm	= 1.80	A
3 ppm	= 1.80	A	5 ppm	= 1.70	A
5 ppm	= 1.70	A	0 ppm	= 0.00	B

w (0.01) = 1.48

Trat. = Tratamiento

Microtub. = Microtubérculos

Sig. = Significancia.

CUADRO 5.19

PESO (mg) PROMEDIO DE 60 DIAS DE LOS MICROTUBERCULOS DE LAS VARIEDADES, TRATAMIENTOS E INTERACCION

VAR TRAT	Peso Promedio(mg)	Peso Total (mg)
* 1 *	19.375	775.000
* 2 *	25.620	1024.000
* * 1	0.000	0.000
* * 2	39.840	796.000
* * 3	28.750	575.000
* * 4	26.400	428.000
* 1 1	0.000	0.000
* 1 2	32.600	326.000
* 1 3	24.500	245.000
* 1 4	20.400	204.000
* 2 1	0.000	0.000
* 2 2	47.080	470.000
* 2 3	33.000	330.000
* 2 4	22.400	224.000

VAR 1 = ICTA - CHIQUIRICHAPA

VAR 2 = TOLLOCAN

TRAT 1 = 0 ppm

TRAT 2 = 2 ppm

TRAT 3 = 3 ppm

TRAT 4 = 5 ppm

CUADRO 5.20

ANALISIS DE VARIANZA DEL PESO DE LOS MICROTUBERCULOS FORMADOS  
EN 60 DIAS POR LAS DOS VARIETADES DE PAPA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor Fc	Valor Ft
Variedades	1	780.000	780.000	2.5164	7.01
Tratamientos	3	16943.961	5647.987	18.2212**	4.08
Interacción	3	649.601	216.534	0.6986	4.08
Error	72	22317.696	309.968		
Total	79	40691.259			

Fc = F calculada

Ft = F de tabla

\*\* = Altamente significativo ( $\alpha = 0.01$ )

CUADRO 5.21

PESO (mg) DE 60 DIAS PROMEDIO DE LOS MICROTUBERCULOS FORMADOS  
POR TRATAMIENTO Y COMPARADOR DE LA PRUEBA DE TUKEY AL 1%

Orden Original			Orden por Rango		
Trat.	Peso	Sig.	Trat.	Peso	Sig.
0 ppm	= 0.00	B	1 ppm	= 39.84	A
1 ppm	= 39.84	A	3 ppm	= 28.75	A
3 ppm	= 28.75	A	5 ppm	= 26.40	A
5 ppm	= 26.40	A	0 ppm	= 0.00	B

$w(0.01) = 25.58$  mg.

Fc = F calculada

Ft = F de tabla

CUADRO 5.22

LARGO (mm) PROMEDIO DE 60 DIAS DE LOS MICROTUBERCULOS FORMADOS POR LAS VARIEDADES, TRATAMIENTOS E INTERACCION

VAR	TRAT	Largo Promedio(mm)	Largo Total(mm)
*	1	3.575	143.000
*	2	3.675	147.000
*	*	1	0.000
*	*	2	6.000
*	*	3	4.800
*	*	4	3.700
*	1	1	0.000
*	1	2	5.300
*	1	3	5.000
*	1	4	4.000
*	2	1	0.000
*	2	2	6.700
*	2	3	4.600
*	2	4	3.400

VAR 1 = ICTA - CHIQUIRICHAPA

VAR 2 = TOLLOCAN

TRAT 1 = 0 ppm

TRAT 2 = 1 ppm

TRAT 3 = 3 ppm

TRAT 4 = 5 ppm

CUADRO 5.23

ANALISIS DE VARIANZA DEL LARGO DE LOS MICROTUBERCULOS FORMADOS EN 60 DIAS POR LAS DOS VARIEDADES DE PAPA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor Fc	Valor Ft
Variedades	1	0.200	0.200	0.0382	7.01
Tratamientos	3	403.350	134.450	25.6775**	4.08
Interacción	3	12.200	4.067	0.7767	4.08
Error	72	377.000	5.236		
Total	79	792.750			

Fc = F calculada

Ft = F de tabla

\*\* = Altamente significativo ( $\alpha = 0.01$ )

CUADRO 5.24

LARGO (mm) PROMEDIO A LOS 60 DIAS DE LOS MICROTUBERCULOS FORMADOS POR TRATAMIENTO Y COMPARADOR DE LA PRUEBA DE TUKEY AL 1%

Orden Original			Orden por Rango		
Trat.	Largo	Sig.	Trat.	Largo	Sig.
0 ppm	= 0.00	B	1 ppm	= 6.00	A
1 ppm	= 6.00	A	3 ppm	= 4.80	A
3 ppm	= 4.80	A	5 ppm	= 3.70	A
5 ppm	= 3.70	A	0 ppm	= 0.00	B

w (0.01) = 2.40 mm.

Trat. = tratamientos

Sig. = Significancia

CUADRO 5.25

ANCHO (mm) PROMEDIO A LOS 60 DIAS DE LOS MICROTUBERCULOS DE LAS VARIEDADES, TRATAMIENTOS E INTERACCION

VAR TRAT			Largo Promedio(mm)	Largo Total(mm)
*	1	*	1.625	65.000
*	2	*	1.725	69.000
*	*	1	0.000	0.000
*	*	2	2.750	55.000
*	*	3	2.100	42.000
*	*	4	1.850	37.000
*	1	1	0.000	0.000
*	1	2	2.400	24.000
*	1	3	2.200	22.000
*	1	4	1.900	19.000
*	2	1	0.000	0.000
*	2	2	3.100	31.000
*	2	3	2.000	20.000
*	2	4	1.800	18.000

VAR 1 = ICTA - CHIQUIRICHAPA

VAR 2 = TOLLOCAN

TRAT 1 = 0 ppm

TRAT 2 = 1 ppm

TRAT 3 = 3 ppm

TRAT 4 = 5 ppm

CUADRO 5.26

ANALISIS DE VARIANZA DEL ANCHO DE LOS MICROTUBERCULOS  
FORMADOS EN 60 DIAS POR LAS DOS VARIETADES DE PAPA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor Fc	Valor Ft
Variedades	1	0.200	0.200	0.2136	7.01
Tratamientos	3	83.450	27.817	29.7151**	4.08
Interacción	3	2.500	0.833	0.8902	4.08
Error	72	67.400	0.936		
Total	79	153.550			

Fc = F calculada

Ft = F de tabla

\*\* = Altamente significativo ( $\alpha = 0.01$ )

CUADRO 5.27

ANCHO (mm) DE 60 DIAS PROMEDIO DE LOS MICROTUBERCULOS  
FORMADOS POR TRATAMIENTO Y COMPARADOR DE LA PRUEBA DE TUKEY AL 1%

Orden Original			Orden por Rango		
Trat.	Ancho	Sig.	Trat.	Ancho	Sig.
0 ppm	= 0.00	B	1 ppm	= 2.75	A
1 ppm	= 2.75	A	3 ppm	= 2.10	A
3 ppm	= 2.10	A	5 ppm	= 1.85	A
5 ppm	= 1.85	A	0 ppm	= 0.00	B

w (0.01) = 1.40 mm.

Trat. = Tratamientos

Sig. = Significancia

## VII. DISCUSION

Al realizar el análisis de varianza se obtiene que el tratamiento con 0 ppm de bencil adenina es el que obtuvo alta diferencia, estadísticamente, significativa en comparación con los demás trataminentos, en lo que se refiere a la altura y número de brotes. Esto se debió a que en este tratamiento, la concentración de bencil adenina fue de 0 ppm y siendo esta hormona una inhibidora del crecimiento, no logró causar su efecto inhibidor en la elongación de las plantas y producción de brotes.

Respecto del número de tubérculos, ancho, largo y peso el tratamiento que mejor rendimiento obtuvo fue el de 1 ppm de BA. Esto se debió a que la concentración de BA fue la de menor proporción, causando que la bencil adenina no provocara tanta inhibición en los tejidos, sino que un ensanchamiento y acumulación de clorofila en las yemas.

En el experimento llevado a cabo en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Universidad del Valle en 1989, se trabajó con microtuberización en papa, obteniéndose un total de 19 microtubérculos provenientes de 1000 plantas, lo cual indica que nuestro trabajo de investigación superó el rendimiento, produciendo 36 microtubérculos en 30 días y 118 en 60 días con la diferencia de que se utilizarón un total de 240 plantas. Esto se debió a varias razones; a la concentración de bencil

adenina más óptima para no inhibir el ensanchamiento de las yemas, ya que esta hormona, como se comentó anteriormente, tiene diferente efecto según su concentración, como por ejemplo retrasar el envejecimiento de los tejidos vegetales debido al mantenimiento de la síntesis de proteína y ácido nucleico.

Otro factor importante es la temperatura a la que se mantuvo el cuarto de crecimiento, que fue, aproximadamente, de 18 - 22 °C. que según Espinoza (1989) las plantas necesitan ese rango de temperatura para producir microtubérculos.

En los cultivos de papa la temperatura para su fotosíntesis está entre los 20 - 25 °C.

La luz utilizada para la fotosíntesis y ciertos procesos morfológicos se presentó con intensidad lumínica de 1500 lux, lo cual según Murashige (1974) es adecuado.

Con estos factores de luz, temperatura y concentración de hormona adecuados se tiene que la producción de microtubérculos aumentó en cantidades considerables (ver cuadro 5.14).

Todas las plantas tratadas con BA no presentaron raíz y esto, posiblemente, se deba a que las citocininas tienden a inducir en los tejidos de cultivo y en partes aisladas de plantas la formación de yemas adventicias, mientras que la auxina tiende a inducir la iniciación de

raíces pero, se encuentra en concentración muy baja.

No se conoce exactamente cómo operan estos efectos morfogenéticos de la citocininas y auxinas, pero son de gran interés debido a los indicios que pueden proporcionar respecto de la comprensión del control de la morfogénesis compleja en términos químicos.

Se encuentran citocininas en la savia del xilema y, aparentemente, son translocadas de la raíz al brote. Esto proporciona un medio de correlacionar el crecimiento y la longevidad de las yemas y de las hojas con el desarrollo y vigor del sistema radical.

Los efectos complementarios de la auxina y de citocinina nos permite visualizar cómo la interacción entre hormonas pueden regular procesos de desarrollo en unas formas más sutiles y complejas de lo que se podría lograr con una sola hormona reguladora.

La formación de tubérculos en estolones de papa se estimula mediante las citocininas (Smith y Palmer 1970). Los estolones tratados con BA demostraron tener una mayor acumulación de almidones que los no tratados antes de dar muestras visibles de formación de microtubérculos.

Una posible explicación de la actuación de la bencil adenina, es quizá que opera a nivel molecular o de los genes pero, aún se desconoce su mecanismo de acción.

En la actualidad se sabe que la bencil adenina

puede incorporarse a ácidos nucleicos en las células (Hall 1968).

El hecho que de muchas citocininas se hayan aislado a partir de preparados de RNA, indica que las citocininas están relacionadas de algún modo con los ácidos nucleicos.

Hay ciertas pruebas de que el RNA dé transferencia para el aminoácido serina. La citocinina 6 dimetilamino purina es una base impar inmediatamente adyacente al anticodon (secuencia de bases que llevan el código de igualación del RNA mensajero que especifica a su vez el lugar apropiado del aminoácido en la nueva proteína) (Helgenson 1968).

Las dos variedades de papa no presentan diferencia, estadísticamente, significativa entre sí lo cual es bueno, debido a que un mismo tratamiento funciona igual en ICTA - CHIQUIRICHAPA y TOLLOCAN. Esto viene a facilitar la manipulación de preparación de reactivos, reducir el tiempo y costo de producción.

Con la ayuda de investigaciones posteriores sólo nos queda ir perfeccionando pequeños detalles que la experimentación en el campo de la biotecnología nos otorga.

### VIII. CONCLUSIONES

A. El tratamiento con 1 ppm de BA, fue el que mejor rendimiento obtuvo; se logró producir un total de 118 microtubérculos, con un peso promedio de 22.49 mg., un diámetro de 1.68 mm y un largo promedio de 3.63 mm.

B. Para el caso de altura de planta y número de brotes, el mejor tratamiento estadísticamente significativo fue el de 0 ppm de BA, con una altura de planta promedio de 57.19 mm. y un número promedio de brotes de 11.1.

C. A mayor concentración de Bencil Adenina aplicada corresponde un menor número de microtubérculos producidos.

D. La variedades ICTA-CHIQUIRICHAPA y TOLLOCAN responden estadísticamente igual a un mismo tratamiento.

E. No existe interacción significativa entre tratamientos y variedades.

## IX. RECOMENDACIONES

Es recomendable para futuras investigaciones, determinar si 1 ppm de BA, es el tratamiento óptimo para producir microtubérculos o podría ser alguna otra concentración entre 0 ppm y 1 ppm.

El cultivo de tejidos nos proporciona todas las armas para provocar un ambiente controlado, por lo que se debe tener mucho cuidado con el control de la temperatura que esté siempre dentro del rango establecido para no tener rendimientos bajos. Además, la luz debe permanecer un período de horas ya establecido continuamente.

Tener cuidado con la manipulación de los tubos con medio de BA, debido que en esta clase de medios las plantas no enraízan ni se sujetan fuertemente al medio; entonces fácilmente se caen.

## X. BIBLIOGRAFIA

- Ammirato P.; D. EVANS, W. SHARP & Y. YAMADA. Handbook of  
1984 Plant Cell Culture. Vol. 3. New York,  
Macmillan Publishing Co. 291-295 pp.
- Casseres E. Producción de Hortalizas.  
1976 IICA; Lima Perú. 71-73 pp.
- Fersini A. Horticultura Práctica.  
1985 México, D.F. Editorial Diana. 322 pp.
- Hurtado D. y M. MERINO. Cultivo de Tejidos Vegetales.  
1987 México, D.F. Editorial Trillas. 116-120 pp.
- Mejia R. y C. VITTORELLI. Cultivo in vitro de Plantas  
1988 de Papa. CIP. Perú. 21-32 pp.
- Perea D. Técnicas in Vitro para la Producción y  
Mejoramiento. Costa Rica. 1-25 pp.
- Quak F. Meristem Culture and Virus Free Plants.  
1977 New York. Sringer - Verlag. 598-602 pp.
- Ray P. La Planta Viviente.  
1981 México, D. F. 7a. Edición. Edit. Continental. 272 pp.
- Spiegel M. Teoría y Problemas de Estadística.  
1976 Colombia, Bogota. Editorial Andes. 188 pp.
- Talbert W. Potatoes Processing.  
1975 Connecticut, MacMillan Publishing Co. 241 pp.
- Thorpe A. Plant Tissue Culture Methods and Applications in  
1981 Agriculture. New York, Academic Press. 379 pp.

**APENDICE A**

Medio de propagación de papa in vitro

- 1. lt Murashige - Skoog
- 0.40 ppm Acido Giberélico
- 0.50 ppm Bencsilaminopurina (\*)
- 0.01 ppm Acido Naftaleno Acético (ANA)
- 2.00 ppm Pantotenato de Calcio
- 8 % Sucrosa

Se calibra el medio a pH 5.6

(\*) El compuesto Bencilaminopurina (BA) es un regulador de crecimiento que viene en polvo y es sintetizado por la compañía SHELL.

**APENDICE B**

## Medio de tuberización in vitro

- 1. lt Murashige - Skoog
- 0.40 ppm Acido Giberélico
- 0.01 ppm Acido Naftaleno Acético
- 2.00 ppm Pantotenato de Calcio
- 1.00 ppm Benciladenina

Se calibra el medio a pH 5.6

**APENDICE C**

## Medio de tuberización in vitro

- 1. lt Murashige - Skoog
- 0.40 ppm Acido Giberélico
- 0.01 ppm Acido Naftaleno Acético
- 2.00 ppm Pantotenato de Calcio
- 3.00 ppm Benciladenina

Se calibra el medio a pH 5.6

## APENDICE D

## Medio de tuberización in vitro

- 1. lt Murashige - Skoog
- 0.40 ppm Acido Giberélico
- 0.01 ppm Acido Naftaleno Acético
- 2.00 ppm Pantotenato de Calcio
- 5.00 ppm Benciladenina

Se calibra el medio a pH 5.6

## APENDICE K

Valores para  $q_{\alpha}$  para la prueba de Tukey

G.L. del error	$\alpha$	$\alpha$ = número de promedios de los tratamientos							
		2	3	4	5	6	7	8	9
5	05	3.64	4.60	5.22	5.67	6.03	6.33	6.58	6.80
	01	5.70	6.97	7.80	8.42	8.91	9.32	9.67	9.97
6	05	3.46	4.34	4.90	5.31	5.63	5.89	6.12	6.32
	01	5.24	6.33	7.03	7.56	7.97	8.32	8.61	8.87
7	05	3.34	4.16	4.68	5.06	5.36	5.61	5.82	6.00
	01	4.95	5.92	6.54	7.01	7.37	7.68	7.94	8.17
8	05	3.26	4.04	4.53	4.89	5.17	5.40	5.60	5.77
	01	4.74	5.63	6.20	6.63	6.96	7.24	7.47	7.68
9	05	3.20	3.95	4.42	4.76	5.02	5.24	5.43	5.60
	01	4.60	5.43	5.96	6.35	6.66	6.91	7.13	7.32
10	05	3.15	3.88	4.33	4.65	4.91	5.12	5.30	5.46
	01	4.48	5.27	5.77	6.14	6.43	6.67	6.87	7.05
11	05	3.11	3.82	4.26	4.57	4.82	5.03	5.20	5.35
	01	4.39	5.14	5.62	5.97	6.25	6.48	6.67	6.84
12	05	3.08	3.77	4.20	4.51	4.75	4.95	5.12	5.27
	01	4.32	5.04	5.50	5.84	6.10	6.32	6.51	6.67
13	05	3.06	3.73	4.15	4.45	4.69	4.88	5.05	5.19
	01	4.26	4.96	5.40	5.73	5.98	6.19	6.37	6.53
14	05	3.03	3.70	4.11	4.41	4.64	4.83	4.99	5.13
	01	4.21	4.89	5.32	5.63	5.88	6.08	6.26	6.41
15	05	3.01	3.67	4.08	4.37	4.60	4.78	4.94	5.08
	01	4.17	4.83	5.25	5.56	5.80	5.99	6.16	6.31
16	05	3.00	3.65	4.05	4.33	4.56	4.74	4.90	5.03
	01	4.13	4.78	5.19	5.49	5.72	5.92	6.08	6.22
17	05	2.98	3.63	4.02	4.30	4.52	4.71	4.86	4.99
	01	4.10	4.74	5.14	5.43	5.66	5.85	6.01	6.15
18	05	2.97	3.61	4.00	4.28	4.49	4.67	4.82	4.96
	01	4.07	4.70	5.09	5.38	5.60	5.79	5.94	6.08
19	05	2.96	3.59	3.98	4.25	4.47	4.65	4.79	4.92
	01	4.05	4.67	5.05	5.33	5.55	5.73	5.89	6.02
20	05	2.95	3.58	3.96	4.23	4.45	4.62	4.77	4.90
	01	4.02	4.64	5.02	5.29	5.51	5.69	5.84	5.97
24	05	2.92	3.53	3.90	4.17	4.37	4.54	4.68	4.81
	01	3.96	4.54	4.91	5.17	5.37	5.54	5.69	5.81
30	05	2.89	3.49	3.84	4.10	4.30	4.46	4.60	4.72
	01	3.89	4.45	4.80	5.05	5.24	5.40	5.54	5.65
40	05	2.86	3.44	3.79	4.04	4.23	4.39	4.52	4.63
	01	3.82	4.37	4.70	4.93	5.11	5.27	5.39	5.50
60	05	2.83	3.40	3.74	3.98	4.16	4.31	4.44	4.55
	01	3.76	4.28	4.60	4.82	4.99	5.13	5.25	5.36
120	05	2.80	3.36	3.69	3.92	4.10	4.24	4.36	4.48
	01	3.70	4.20	4.50	4.71	4.87	5.01	5.12	5.21
$\infty$	05	2.77	3.31	3.63	3.86	4.03	4.17	4.29	4.39
	01	3.64	4.12	4.40	4.60	4.76	4.88	4.99	5.08