

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS**

**RESPUESTA AL CULTIVO *IN VITRO* DE CUATRO VARIEDADES DE
ALCACHOFA**

(Cynara scolymus L.)

**TESIS
PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA
DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

**Mario Washington De León García
En el acto de investidura como**

**INGENIERO AGRÓNOMO
EN
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA
EN EL GRADO ACADÉMICO DE
LICENCIADO**

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2003

INDICE

	PAGINA
I. Introducción.....	1
II. Definición del problema.....	2
III. Marco teórico	
III.I Marco conceptual.....	3
III.II Marco referencial.....	17
IV. Objetivos.....	22
V. Hipotesis.....	23
VI. Metodología	
VI.I Fase de iniciación (germinación).....	24
VI.II Fase de propagación.....	26
VI.III Fase de enraizamiento.....	29
VII. Resultados	
VII.I Fase de iniciación (germinación)	33
VII.II Fase de propagación.....	35
VII.III Fase de enraizamiento.....	40
VIII. Conclusiones.....	41
IX. Recomendaciones.....	42
X. Bibliografía.....	43
XI. Apéndices.....	45

INDICE DE CUADROS

	PAGINA
i. Cuadro 1. Valor nutritivo de 100 g de alcachofa	4
ii. Cuadro 2. Tiempo mínimo requerido para esterilización de diferentes volúmenes de medio	16
iii. Cuadro 3. Desinfectantes comúnmente usados en cultivo de tejidos	17
iv. Cuadro 4. Exportación de alcachofa en Guatemala	18
v. Cuadro 5. Componentes del medio MS (murashige y Skoog, 1962) para medio de germinación	25
vi. Cuadro 6. Medios empleados para la fase de propagación 27	
vii. Cuadro 7. Tratamientos para la fase de propagación	28
viii. Cuadro 8. Medios de cultivo utilizados para enraizamiento	30
ix. Cuadro 9. Tratamientos evaluados en la fase de enraizamiento	31
x. Cuadro 10. Resultados de la fase de iniciación (germinación)	34
xi. Cuadro 11. Resultados SAS para la variable número promedio de brotes	35
xii. Cuadro 12. Número de brotes por medio de cultivo y Duncan al 10%	35
xiii. Cuadro 13. Número promedio de brotes por variedad	38
xiv. Cuadro 14. Resultados de SAS para la variable altura de brotes	39
xv. Cuadro 15. Promedios de altura y Duncan al 10%	39

INDICE DE FIGURAS

	PAGINA
i. Figura 1. Número promedio de brotes por medio de cultivo	37
ii. Figura 2. Promedio de brotes por variedad	38
iii. Figura 3. Promedio de altura de brote por variedad	39
iv. Figura 4 "A". Exportación de alcachofa	53

RESPUESTA AL CULTIVO *IN VITRO* DE CUATRO VARIEDADES DE ALCACHOFA

(*Cynara scolymus* L.)

IN VITRO CULTURE RESPONSE OF FOUR ARTICHOKE (*Cynara scolymus* L.)

VARIETIES

RESUMEN

El cultivo de tejidos ha sido utilizado en la propagación de muchas especies con bastante éxito, ya sea para fines experimentales o comerciales. En alcachofa se han realizado algunos trabajos con variedades que no están presentes en el país, por lo cual se evaluaron tres protocolos para conocer cual producía los mejores resultados para las cuatro variedades que fueron sujeto de estudio. Se utilizó un diseño de bloques al azar con arreglo bifactorial de los tratamientos y se realizó una prueba de Duncan al 10% de significancia para las variables de respuesta, número de brotes por variedad, número de brotes por medio de cultivo y altura de brotes por variedad. El mejor medio de cultivo para la fase de propagación fue el utilizado por Debergh *et al* , con una media de 3.4 brotes por explante para las cuatro variedades. Las variedades Imerial Star, Dash III y Emerald fueron estadísticamente superiores a Green Globe en cuanto a número de brotes por variedad. Las variedades Imperial Star y Emerald, tuvieron brotes de mayor altura en comparación con las variedades Dash III y Green Globe. Para la fase de enraizamiento se utilizaronb cuatro niveles de ANA, con los cuales no se obtuvieron respuesta en cuanto a formación de raíces.

1. INTRODUCCIÓN

Las hortalizas son unas de las principales fuentes de carbohidratos, fibra y vitaminas que posee en la actualidad el ser humano; dentro de estas hay una gran variedad, un ejemplo de esto es la alcachofa, producto poco conocido en nuestro país, pero de gran consumo en Norteamérica y los países occidentales de Europa. Su consumo es tan grande que muchas veces la oferta no alcanza a cubrir la demanda. La exportación de esta hortaliza por parte de los países latinoamericanos ha sido poco explotada, solamente Chile y Colombia lo han realizado en muy poca medida. Guatemala presenta buenas condiciones en general, para la adaptación de la alcachofa, además de tener la ventaja de que el costo de transporte es menor que en los otros países.

La alcachofa tradicionalmente es propagada por vía asexual, aunque las variedades provenientes de California que se siembran por semilla están apareciendo en el mercado, aunque claro, con varios inconvenientes para el agricultor nacional, tales como precios muy altos y bajo porcentaje de germinación. La micropropagación, dentro de las técnicas de reproducción de plantas, ha sido poco explotada como recurso de producción masiva de plantas de alcachofa, por lo tanto es objetivo de esta investigación, tratar de generar, en la medida de lo posible, información dentro de este campo, con el fin de que sea útil al agricultor nacional.

2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Uno de los principios básicos en todo proceso de establecimiento de un cultivo nuevo lo constituye poseer la mayor cantidad de conocimiento generado por medio de la investigación a cerca de todas las posibilidades de propagación que actualmente se tienen. El cultivo de tejidos, es una de ellas. Sin embargo en Guatemala el cultivo de tejidos no ha sido aplicado en la alcachofa, por lo que no hay un protocolo local para la propagación *in vitro* y a nivel internacional para las variedades que son sujeto de estudio de esta investigación.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. MARCO CONCEPTUAL

3.1.1 . ORIGEN DEL CULTIVO:

Europa meridional (España, Francia e Italia), aunque también se cultiva en regiones más frías. Es sabido que, en la antigüedad clásica, los griegos y los romanos consumían una verdura de esta familia aunque debía de tratarse del cardo silvestre (*Cinara cardunculus* L), antecesor de la alcachofa, cuyos capítulos inmaduros aun se siguen usando en algunas partes del sur de España y a los que se les denomina Alcauciles (14).

En la Edad Media parece ser que esta hortaliza fue objeto de selecciones en Italia y en la España árabe (12). La selección se realizó a partir de ejemplares silvestres. En el siglo XV se difundió por Francia y posteriormente por Inglaterra, donde tuvo gran aceptación (14).

Después del siglo XV se introdujo a América con la colonización europea, ya su cultivo adquirió gran extensión en ciertas áreas americanas, como en California, Estados Unidos. El cultivo de la alcachofa está muy localizado en los países de la cuenca mediterránea (Italia, España y Francia) que producen aproximadamente el 80% de la producción mundial, aunque también es importante en América, principalmente en los Estados Unidos (por ejemplo Castroville, California) (1).

3.1.2 IMPORTANCIA Y APROVECHAMIENTO DEL CULTIVO:

La parte aprovechable de esta hortaliza es el capítulo floral antes de que alcance la madurez, cuando aun no se han desarrollado las flores y las hojas escamosas que los envuelven, las cuales aún están tiernas (1).

La alcachofa puede ser consumida en fresco o industrializada. Normalmente en fresco se consume cocida, asada o frita. El destino industrial mas corriente de la alcachofa es

la conserva. Los subproductos obtenidos en el proceso del aprovechamiento industrial de la alcachofa pueden ser empleados en la alimentación del ganado (1).

También puede indicarse que de la alcachofa se extrae un extracto líquido que es utilizado como licor refrescante. Se dice que es un buen alimento para los diabéticos, pues como el cardo, posee un alto contenido de insulina (1).

Al igual que las hortalizas que son aprovechables por sus hojas, las que se cultivan para utilizar sus inflorescencias, tienen en sus tejidos elevada cantidad de agua; suministran a la dieta vitaminas, minerales y fibra (14).

Cuadro1. Valor nutritivo De 100 g de alcachofa

COMPONENTE	CANTIDAD
Agua	89.6 g
Proteínas	2.59 g
Grasas	0
Glucidos	6.72 g
Calorías	38
Vitamina A	270 UI
Vitamina B1	180 mg
Vitamina B2	10 mg
Vitamina C	5 mg
Calcio	50 mg

Fuente: Enciclopedia práctica de la agricultura y Ganadería. Editorial Océano.

3.1.3 . CLASIFICACIÓN BOTÁNICA Y MORFOLOGÍA DEL CULTIVO:

Reino: Vegetal
 Clase: Magnoliopsida
 Subclase: Asteridae
 Orden: Asterales
 Familia: Compositae
 Genero: Cynara
 Especie: Cynara scolymus L.
 Nombre Común: Alcali, Alcaucil, Alcaucí, Cachofra, Cardo.

Se trata de una planta vivaz que acumula sustancias de reserva en su sistema radical. Presenta tallos gruesos, acanalados longitudinalmente y ramificados, que pueden alcanzar hasta 150 cm de altura (15).

Es una planta vivaz, dotada de un poderoso sistema radical que se inserta en un rizoma muy desarrollado. En el que se acumulan reservas alimenticias que elabora la planta. Las hojas son de color grisáceo o verde púrpura, largas, pubescentes, con el envés blanquecino y el haz de color verde claro. Los nervios centrales están muy marcados y el limbo dividido en lóbulos laterales, a veces muy profundos en las hojas basales y mucho menos hendidos en hojas de tallo. Las flores aparecen en cabezuelas que rematan los tallos, constituidas por una serie de brácteas carnosas que encierran un receptáculo asimismo carnoso, que engloba un alto número de flores inmaduras, siendo estas cabezuelas la parte comestible de la planta. Estas cabezuelas, si no se recolectan en estado tierno, se abren, dando lugar a flores azuladas, fundamentalmente alógamas (1).

Los frutos son aquenios provistos de vilano,(fundamental para la dispersión), de forma oblonga y color grisáceo, que son considerados como las semillas de la planta. En 1 gramo pueden contenerse 25-27 semillas, con una capacidad germinativa media de 6-12 años (1).

3.1.3 GENÉTICA DEL CULTIVO Y SUS VARIEDADES:

La alcachofa es una planta de polinización cruzada. Depende de los insectos y el viento para su polinización. Este sistema de polinización de las flores al azar resulta en una variación genética potencialmente amplia y heterogénea. En este caso el empleo de semilla para sembrar nuevas plantaciones puede dar como resultado la producción de plantas de una variabilidad genética muy amplia (15).

La mejor forma de producir plantas que tengan consistencia en sus características genéticas es utilizando la propagación vegetativa (12). Las variedades de alcachofa pueden clasificarse atendiendo a caracteres morfológicos o productivos, pero,

normalmente, se consideran el color del capítulo que puede ser verde o violeta, y su precocidad (14).

Se han desarrollado numerosas variedades, entre las que se encuentran: De Getafe, Callosinas, Blanca de Tudela, Blanca de Catania, Green Globe, Imperial Star, Magnífico, Talpiot, White Globe, Violet Artichoke (2). En Guatemala, en los últimos 5 años, se han cultivado básicamente 2 variedades, la Green Globe y la Imperial Star (1).

3.1.4 AGROECOLOGÍA DEL CULTIVO:

Las temperaturas promedio más adecuadas para el cultivo son de 15 a 18° C con mínimas de 5° C y máximas de 25° C. Las bajas temperaturas (heladas) pueden producir daño al exterior de la alcachofa, no tanto su calidad comestible. A temperaturas de 28° C o más, las brácteas de la alcachofa se abren y la carnaza es más fibrosa, perdiendo calidad. La precipitación adecuada para el cultivo va de 1000 a los 4000 mm anuales, pero es preferente lugares donde la precipitación sea menor a los 1500 mm. Los rangos de alturas están comprendidos entre los 500 a 2,700 msnm; se necesita una humedad relativa alrededor del 70% (1).

3.1.5 SUELOS:

No tienen exigencias marcadas en cuanto a suelos, pero en terrenos excesivamente arenosos las producciones son muy bajas. Prefiere los terrenos profundos, francos y algo

calizos, ricos en materia orgánica sin tendencia al encharcamiento, debido a que no soporta el exceso de humedad en el suelo. Su pH adecuado está de 5.5 a 6.5 aunque tolera suelos ligeramente alcalinos; es una planta resistente a la salinidad (14).

3.1.6 PROPAGACIÓN:

Se puede realizar por medio de semillas en forma sexual o asexualmente por separación de brotes que se originan al pie de los tallos, por esquejes o sección de raíz y por cultivo de meristemas. La reproducción por semillas hasta hace poco se utilizaba únicamente cuando no se contaba con material suficiente, debido a que un buen porcentaje de plantas producían frutos de mala calidad (1).

Comercialmente la forma de producción más utilizada es la propagación vegetativa, plantando brotes de la planta madre. Los brotes se pueden tomar de la planta madre entre febrero y marzo, seleccionando los más vigorosos. Además, se puede realizar por medio de esquejes o secciones de raíz (1).

3.1.7 CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES:

La técnica de tejidos vegetales se define como: el cultivo de células, tejidos y/u órganos extraídos de plantas, que se mantienen bajo condiciones artificiales y permite reproducir plantas que poseen todas las características de las plantas madre, o sea que esta es una técnica de propagación vegetativa en condiciones artificiales. El cultivo de tejidos *in vitro* fue desarrollado al darle aplicación al fenómeno de la totipotencia, que forma parte de la teoría celular actual. El pionero en este campo fue Alexis Carrel, quien a principios de siglo IX consiguió cultivar células animales *in vitro* (9, 19, 22).

La totipotencia de una célula está definida como la capacidad de desarrollar a un individuo completo, basado en que toda célula contiene la información genética necesaria

para dar origen a un individuo completo. Este término fue acuñado en 1901 por Morgan (9, 11, 16).

El cultivo de tejidos permite la propagación clonal rápida de un gran número de plántulas en un período breve, y la conservación del germoplasma de papa, bajo condiciones controladas, en espacios pequeños y con poca mano de obra. El buen estado de sanidad de muchos cultivos *in vitro* facilita enormemente el intercambio de germoplasma (10).

3.1.8 VENTAJAS DEL CULTIVO DE TEJIDOS:

En general estas son las principales ventajas que se obtienen en el cultivo de tejidos (19).

- a. Propagación acelerada
- b. Ahorro y ganancia de espacio. Es posible mantener cantidades considerables de plantas en espacio reducido; permite el uso del espacio vertical, acumulando varios niveles para el efecto
- c. Ausencia de infecciones y factores climáticos adversos. Debido a las condiciones de asepsia en que se trabaja.
- d. Disponibilidad inmediata y permanente del material. Se tiene acceso a la micropropagación en épocas en que las condiciones del campo no son las adecuadas.

3.1.10 COMPONENTES DEL MEDIO DE CULTIVO:

El éxito del cultivo de tejidos de plantas está influenciado por la composición química de los medios de cultivo. Se ha determinado que utilizando las sustancias químicas necesarias, y las condiciones apropiadas de nutrientes, así como su forma química adecuada, ha

permitido establecer cultivos para casi todas las partes de una planta en diversas especies vegetales(12). Los componentes del medio de cultivo se pueden dividir en las siguientes categorías (20).

- a. Agua
- b. Nutrición mineral
- c. Nutrición orgánica
- d. Materiales de soporte
- e. Cualidades físicas del medio
- f. Condiciones de incubación
- g. Esterilización del medio de cultivo
- h. Consideraciones Generales

3.1.10.A AGUA:

La calidad del agua es muy importante en cultivo de tejidos, ya que este es el componente que entra en mayor proporción en el medio. Para mejor control se debe usar agua destilada estéril (20).

3.1.10.B NUTRICIÓN MINERAL:

La mayoría de los medios incluyen en su composición los elementos necesarios esenciales de la planta en el campo (20, 21).

- a. Nitrógeno, puede ser acondicionado en la forma de nitrato, nitrito y amonio, dependiendo del material en cultivo. Es constituyente de aminoácidos, nucleótidos y coenzimas, tiene importancia en la síntesis protéica.
- b. Fósforo, es adicionado al medio, principalmente, como fosfato. Desempeña un papel importante en el metabolismo energético, en la regulación de procesos enzimáticos y en la activación de enzimas. Necesario para la síntesis de ATP. En la organogénesis

está involucrado en la diferenciación de la parte aérea, pues revierte el efecto de las auxinas.

- c. Potasio, es usado en la forma de nitrato, fosfato o cloruro, es activador de varias enzimas del metabolismo de carbohidratos y proteínas.
- d. Magnesio, usado como sulfato de magnesio, es uno de los componentes de la clorofila; cofactor importante para varias reacciones enzimáticas que actúan como substratos fosforilados.
- e. Calcio, adicionado en la forma de cloruro o nitrato, su papel es importante en el metabolismo de la planta
- f. Hierro, adicionado en la forma de quelatos de hierro, involucrado en las reacciones oxidoreducción en los organismos vivos.
- g. Manganeso, adicionado como sulfato de manganeso, esencial para la reacción de Hill en la fotosíntesis, cuando la molécula de agua es quebrada produciendo electrones y oxígeno.
- h. Zinc, es usado como sulfato de zinc, importante en las reacciones de oxireducción de las plantas.
- i. Cobre, usado como sulfato de cobre, constituyente de la enzima plastocianina que es importante componente del transporte electrónico.
- j. Boro, usado en la forma de ácido bórico, involucrado en el metabolismo de carbohidratos y ácidos nucleicos.

3.1.10.C NUTRICIÓN ORGÁNICA:

Los compuestos orgánicos importantes son: los carbohidratos, sustancias reguladoras de crecimiento, vitaminas, aminoácidos y amidas, ciertas purinas y pirimidinas, y ácidos orgánicos (20).

3.1.10.C.a FUENTE DE CARBONO Y ENERGÍA:

Al extraer parte de la planta y cultivarla *in vitro* las células no son fotosintéticamente activas y necesitan de carbohidratos para su crecimiento y desarrollo. La utilización de determinado azúcar depende del proceso en cuestión.

Muchas veces, azúcares que son inefectivos en el crecimiento del “callo”, inducen la iniciación de brotaciones adventicias y la embriogénesis somática. Ball(1953) citado por Torres (20), mostró que al someter azúcares a procesos de autoclave, a 120 grados centígrados, durante una hora se hidroliza parcialmente la sacarosa y, esta alteración hace que el crecimiento del tejido sea estimulado (20).

Los carbohidratos más comúnmente usados son: la sacarosa, glucosa y fructosa, en los niveles de 2 a 5%. La concentración de 3% es la más usada. Concentraciones de sacarosa de 6 a 12% pueden ser usadas en determinadas situaciones, por ejemplo, en cultivo de embriones y anteras, en tanto que el nivel de 1.5% es usado en cultivo de protoplastos.

El azúcar es purificado con acetato, para precipitar impurezas, y puede contener alto nivel de zinc que es tóxico para el tejido. Glucosa y fructosa deben ser esterilizados en frío, a través de un filtro (20).

3.1.10.C.b REGULADORES DE CRECIMIENTO:

Las hormonas son, por definición, compuestos orgánicos sintetizados por las plantas superiores que influyen sobre el crecimiento y desarrollo; que actúan generalmente en lugar diferente de donde son producidas y se encuentran presentes y activas en muy pequeñas

cantidades. También se han desarrollado otro tipo de hormonas sintéticas que pueden tener un efecto semejante a las naturales (17).

Las auxinas y citocininas son componentes importantes en el control de la morfogénesis *in vitro*. Se a podido comprobar que el desenvolvimiento de la parte aérea, raíz y callo está determinado por el balance entre auxinas y citocininas. Medios como concentraciones relativamente altas de auxina y bajas de citocinina favorece el enraizamiento y el balance inverso promueve la formación de la parte aérea. Concentraciones iguales propician la formación de callo. Las auxinas más usadas son ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB), ácido nafatalenacético (ANA), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (21).

Las auxinas 2,4-D y ANA son sintéticas y tienen efectos semejantes a las auxinas de ocurrencia natural. Las auxinas son disueltas en NaOH 1N, se usa 0.3 ml de esta base para disolver 10 mg de auxina (9).

Las citocininas son derivadas de la adenina y tienen un papel fundamental en la diferenciación y regeneración de plantas en la mayoría de las especies. Inducen la división celular, proliferación y morfogenésis de la parte aérea. Las citocininas más usadas en el cultivo de tejidos son: la cinetina (CIN), benciladenina (BA) o bencilaminopurina (BAP) y la zeatina (ZEA). Las citocininas son disueltas en HCl 1N. Se utiliza 0.3 ml de este ácido para disolver 10 mg de citocinina. Las hormonas y las sustancias reguladoras de crecimiento no deben ser disueltas en alcohol, pues este producto tiene efecto inhibitor en la morfogénesis (20).

3.1.10.C.c OTRAS FUENTES DE CARBONO Y ENERGÍA:

Se pueden mencionar aquí componentes como las vitaminas, que son compuestos orgánicos que en bajas concentraciones desempeñan funciones reguladoras catalíticas en el

metabolismo celular. Las vitaminas más usadas en el cultivo de tejidos son, la tiamina (B1), el ácido nicotínico (B3) y la piridoxina (B6). Además, están los aminoácidos y las amidas que tienen importancia en la amplificación de las respuestas morfogénicas, proporcionando mayor crecimiento celular y facilitando la diferenciación en el sentido de la regeneración. El inositol, es el más usado de los hexitoles, es considerado un estimulador de procesos de crecimiento *in vitro* y puede servir como fuente de carbohidrato. Desempeña un papel importante en el transporte del azúcar, en la nutrición mineral, en el metabolismo de carbohidratos, en la estructura de membranas, formación de pared celular y el estrés fisiológico (20).

También están las purinas y pirimidinas, las cuales pueden ser suministradas por la levadura y la malta, así como extractos selectos de tejidos. Ácidos orgánicos como el ácido ascórbico y el cítrico, son usados para prevenir el oscurecimiento de tejidos extraídos de las plantas (12).

3.1.10.D MATERIALES DE SOPORTE:

Existen dos materiales básicos, el agar, que es uno de los componentes más impuros en cultivo de tejidos, es un polisacárido de algas marinas. Este debe ser de buena calidad. El agar impuro es constituido de polisacáridos, aminoácidos, sales, azúcar, debiendo ser lavado con agua destilada antes de ser usado. El agar es alcalino, líquido a temperatura de 80 grados centígrados y se solidifica a 40 grados centígrados. Otros productos gelificantes, como el Gelrite y Phytigel son más puros que el agar. El otro material usado es el Carbón activado, usado para eliminar sustancias tóxicas producidas por el explante *in vitro*. Es usado cuando ocurre el oscurecimiento de tejido *in vitro*, decoloración del medio de cultivo, formación de callo en la fase de enraizamiento de propágulos, o cuando el crecimiento del tejido es inhibido (20, 21).

3.1.10.E CUALIDADES FÍSICAS DEL MEDIO:

Las cualidades físicas del medio de cultivo, a semejanza de la composición química, pueden desempeñar un papel importante en el establecimiento de un cultivo *in vitro*. Hay especies cuyos explantes se desenvuelven mejor en medio líquido, otros en medio sólido, un tercer grupo responden mejor en medio líquido con soporte de papel filtro (20).

3.1.12.E.a El pH:

El crecimiento de tejido *in vitro* es mejor en pH 5.0. Se recomienda este valor para formulaciones líquidas. En medio gelificados con agar, el pH debe ser ajustado a 5.8, pues en pH 5.0 ocurre hidrólisis de polisacáridos. En pH 6.0-6.2 se verifica la precipitación de sales (20).

3.1.10.E.b CANTIDAD DE MEDIO:

Como regla general, cuanto mejor es el explante, menor la cantidad de medio a ser utilizado. Entre tanto, en cultivos establecidos, la tasa de crecimiento es directamente proporcional a la cantidad de medio (20).

3.1.10.E.c CONDICIONES DE INCUBACIÓN:

Deben ser consideradas las exigencias de luz, temperatura y acumulación de productos tóxicos en el medio (20).

3.1.10.E.d LUZ:

No ocurre diferenciación de parte aérea en cultivos mantenidos en obscuridad. Las tres características: luz/intensidad, período de exposición y calidad, son fundamentales (20).

3.1.10.E.e INTENSIDAD Y CALIDAD DE LUZ:

La fase inicial de desenvolvimiento del explante *in vitro* requiere baja intensidad luminosa (1000 lux). En la fase de multiplicación de parte aérea las exigencias son de 1000 a

3000 lux. En el pretransplante, aclimatación, se recomienda de 3000 a 10000 lux. En esta última fase el propágulo se prepara para la fotosíntesis. La calidad del espectro de la lámpara utilizada es de suma importancia en la iniciación de parte aérea y raíz en cultivo *in vitro*. Las lámparas recomendadas deben tener emisiones de onda en las regiones del rojo (430 nm) y azul (660 nm). La región azul es crítica para la inducción de la parte aérea. La iniciación de raíces adventicias es estimulada por la luz roja (20).

3.1.10.E.f FOTOPERIODO:

Las exigencias en fotoperíodo deben ser satisfechas. El inicio de determinado proceso morfogénico solo se manifiesta cuando los cultivos están expuestos a una adecuada longitud del día. En general, 16 horas de iluminación y 1000 lux de intensidad luminosa, se utilizan para una gran cantidad de especies. La manutención de los cultivos bajo iluminación constante no es recomendable (20).

3.1.10.E.g TEMPERATURA:

Deben ser considerados los aspectos de fluctuación diurna versus temperatura constante. Las plantas en su hábitat natural no se desenvuelven en temperatura constante. En cultivo de tejidos el uso de temperatura constante se debe a la manutención de diferentes especies cultivadas en la misma cámara de crecimiento.

Algunos procesos morfogénicos exigen fluctuaciones diurnas de temperaturas. Las exigencias de temperatura para el desenvolvimiento de la planta en condiciones naturales deben ser consideradas como punto de partida para establecer un cultivo *in vitro* de las especies en cuestión. Se debe tener siempre en mente que los requerimientos son un reflejo de lo que ocurre *in vivo* (16).

3.1.10.E.h INTERCAMBIO GASEOSO:

Las plantas producen oxígeno, gas carbónico, aldehído y otros volátiles. En la naturaleza estos productos son disipados en la atmósfera. El etileno acelera la senescencia, abscisión foliar y maduración. El alcohol en bajas concentraciones induce la formación de callo. El cultivo de tejidos es un sistema cerrado. La acumulación de CO₂ en altas concentraciones conduce a la anaerobiosis, fermentación y producción de alcoholes. En algunos casos, altas concentraciones de gas carbónico induce disturbios en el crecimiento y desarrollo de la planta *in vitro*. (20).

3.1.10.F ESTERILIZACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

3.1.10.F.a TIEMPO MÍNIMO DE ESTERILIZACIÓN EN AUTOCLAVE:

El medio de cultivo de tejidos de plantas son generalmente esterilizados y autoclaveados a 121 grados centígrados y 1.05 kilogramos por centímetro cuadrado de presión (18). El tiempo requerido para esterilización depende del volumen del medio en el recipiente.

Cuadro 2. Tiempo mínimo requerido para esterilización de diferentes volúmenes de medio.

VOLUMEN DE MEDIO POR RECIPIENTE (ml)	TIEMPO MINIMO DE AUTOCLAVEADO (MIN)
25	20
50	25
100	28
250	31
500	35
1000	40
2000	48
4000	63

Fuente. Sigma. 1990. Catalogue plant cell culture. P.91

3.1.10.F.b DESINFECTANTES COMUNMENTE USADOS:

La contaminación bacterial y por hongos es detrimental en el cultivo de tejidos, los explantes son esterilizados en soluciones desinfectantes, (18). Se presentan en el cuadro 4

los desinfectantes comúnmente usados, con su concentración y tiempo de exposición requeridos para preservar los explantes libres de contaminación microbial(18).

Cuadro 3. Desinfectantes comúnmente usados en cultivo de tejidos de plantas.

DESINFECTANTE	CONCENTRACION (%)	TIEMPO DE EXPOSICION (MIN)
Hipoclorito de calcio	9.-10.	5.-30.
Hipoclorito de sodio	0.5-5	5.-30.
Agua oxigenada	3.-12.	5.-15.
Alcohol etílico	70-95	5.-15.
Nitrato de plata	1	5.-30.
Cloruro de mercurio	0.1-1	2.-10.

Fuente. Sigma. 1990. Catalogue plant cell culture. P.91

3.2 MARCO REFERENCIAL

3.2.1 SITUACIÓN A NIVEL MUNDIAL DEL CULTIVO:

La alcachofa es consumida, ya sea en fresco o en conserva. Los mercados donde su consumo es popular son, Norteamérica, especialmente en California y en áreas de descendencia mediterránea como Boston y Nueva York, Europa Occidental en países como Italia, España, Francia, Alemania e Inglaterra y en menor medida Japón (5).

Para el año 1997 solamente en USA se importaron 1,769,669 libras de alcachofa, la mayoría proveniente de Chile y Colombia, además, en Canadá se importaron 4,116,911 libras, provenientes en su mayoría de la región de California. El consumo en USA es mayor que en Canadá, pero debido a que posee zonas de producción en lugares como California, la importación es menor. En Europa Occidental se consumieron alrededor de 36,614,000 libras (2). Los precios en el mercado norteamericano se mantienen arriba de los 12 dólares, la mayor parte del año, llegando hasta los US \$30 por caja en marzo a mayo. Los precios en el mercado europeo varían de acuerdo al país (5).

Existen clasificaciones de calidad para la alcachofa, uno específico para el mercado norteamericano y otro para el mercado europeo, en las cuales se toman en cuenta la forma, el tamaño del fruto y el peso (6).

3.2.2 SITUACIÓN A NIVEL DE GUATEMALA Y CENTROAMÉRICA:

El cultivo no es muy conocido en Guatemala, aunque su producción en los últimos cinco años ha ido en aumento según estadísticas de exportación del Banco de Guatemala.

Cuadro 4. Exportación de alcachofa en Guatemala

Año	Cantidad en Kg.
1995	37,918
1996	46,308
1997	50,262
1998	52,497
1999	55,005
2000	56,033

Fuente. Exportación de alcachofa en Centroamérica. 2001

Las exportaciones en los últimos cinco años han ido en aumento, la producción es destinada principalmente a Norteamérica. Las zonas que se encuentran cultivadas en Guatemala se encuentran en el altiplano central en los departamentos de Chimaltenango, Sacatepéquez y Guatemala (1). Las variedades que se cultivan son la “Green Globe” y la “Imperial Star” (4). Se tienen cálculos de que los costos por hectárea sembrada son alrededor de Q 31,464.91 con un rendimiento promedio de 8.5 toneladas métricas por año y con una rentabilidad alrededor de 48.58% (12).

3.2.3 Características Del Material Utilizado:

3.2.3.A Imperial Star:

Esta variedad fue desarrollada en California, por la universidad del estado, es la mas utilizada dentro de las variedades de semilla, su cultivo se realiza para consumo en fresco básicamente (15).

3.2.3.B Emerald:

Esta variedad fue desarrollada en 1992 en California por una empresa privada en el Imperial county, su consumo básicamente es en fresco (7).

3.2.3.C Dash III:

Es un variedad destinada para la producción de productos enlatados, con un amplio rango de adaptación a la temperatura, es de muy reciente introducción al mercado, por lo que su comportamiento en nuestras zonas aún no ha sido probado (7).

3.2.3.D Green Globe:

Variedad desarrollada en California, hasta hace poco únicamente se propagaba por esquejes, aunque en la actualidad se puede propagar por semilla, es la variedad mas sembrada en Estados Unidos (15).

3.2.3 Antecedentes De Micropropagación:

Existen estudios sobre cultivo de meristemas en alcachofa, por ejemplo en Italia se han obtenido buenos resultados utilizando el medio de Skoog. En España ha sufrido diversas complicaciones, como la frecuente contaminación bacteriana en las primeras fases de proliferación y la aparición de variaciones somatoclonales que pierden notoriamente precocidad. En relación con el tema de las usuales contaminaciones, se ha apuntado que muchas de las bacterias detectadas podrían ser de tipo endógeno, que no serían eliminadas con la desinfección previa a la extracción de ápices meristemáticos (1).

En 1981 Ancora *et al* (3), investigó el efecto del ácido indolacético (AIA) y Cinetina sobre plantas de alcachofa provenientes del mediterráneo, utilizando como explante inicial, brotes apicales, se encontró con muchos problemas de contaminación, los cuales llevo a controlar en alguna parte con la adición de antibióticos al medio de cultivo (3). Con la utilización ácido naftalenacético (ANA) en cantidad de 2 mg/l logro obtener un 84% de enraizamiento (3).

En 1986 Debergh *et al*, (8) ensayó sobre plantas de la variedad Green Globe, su medio de cultivo con diferentes combinaciones de hormonas, siendo la siguiente con la que obtuvo mayor producción de brotes, 1 mg/l de ácido indolacético, 2.5 mg/l Cinetina y 2 mg/l 2-Dimetil alil aminopurina. Debergh *et al.*, (8) utilizó como explante inicial brotes apicales de 0.5 a 0.8 milímetros (8).

En 1990 Lauzer y Vieth (13), realizó una micropropagación a partir de semillas de la variedad denominada Globe Artichoke, luego de la fase de germinación utilizó cinetina, ácido naftalenacético, ácido indolbutírico y bencil aminopurina en diferentes combinaciones para inducir la proliferación de brotes. Estos brotes se colocaron en diferentes concentraciones de los siguientes reguladores de crecimiento para inducir formaciones de raíces, ácido indolacético, ácido indolbutírico y ácido naftalenacético, obteniendo el mejor porcentaje de enraizamiento con ácido naftalenacético en concentración de 5 miligramos por litro (13).

3.2.4 Localización del Experimento:

El experimento se ubicó dentro del laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, el cual se encuentra ubicado en el km. 21.5 de la ruta hacia el Pacífico, en Bárcena, Villa Nueva, departamento de Guatemala.

4. OBJETIVOS

4.1 GENERAL: Evaluar tres diferentes metodologías de micropropagación sobre cuatro variedades de alcachofa actualmente en fase de introducción en el país

4.2. ESPECÍFICOS:

1. Evaluar la germinación de las semillas de 4 variedades de alcachofa en medio de cultivo y bajo condiciones ambientales controladas.
2. Establecer la respuesta de 4 variedades de alcachofa a tres combinaciones de reguladores de crecimiento para inducir proliferación masiva de brotes.
3. Establecer la respuesta de 4 variedades de alcachofa a 4 diferentes concentraciones de la auxina ácido naftalenacético para inducir enraizamiento.

5. HIPOTESIS

1. Al menos una variedad de alcachofa posee un porcentaje de germinación mayor que las otras variedades, bajo condiciones controladas en cultivo *in vitro*.
2. Al menos una variedad de alcachofa produce mayor cantidad de brotes y de mayor altura.
3. Al menos un medio de propagación produce incremento en cuanto al número y altura de brotes.
4. Al menos uno de los medios de enraizamiento produce inducción de raíces en cualquiera de las 4 variedades.

6. METODOLOGÍA

6.1 FASE DE INICIACIÓN

Para fines del experimento se utilizó como explante inicial semilla proveniente de la variedad con mayor producción en Estados Unidos (Green Globe) y tres variedades de reciente introducción (Imperial Star, Emerald y Dash III), toda la semilla fue importada de Estados Unidos, único lugar donde se produce.

6.1.1. Desinfección del Material

Para este procedimiento las semillas previamente se lavaron con jabón antibacterial y agua destilada y luego colocadas en un beacker por espacio de 24 horas; al siguiente día fueron desinfectadas con etanol (alcohol etílico) al 70% durante 30 minutos e hipoclorito de sodio (cloro comercial) al 5.25%, por espacio de 10 minutos, después de cada desinfección se enjuagó tres veces con agua destilada estéril; todo este procedimiento fue llevado a cabo dentro de una cámara de flujo laminar y con cristalería e instrumentos previamente esterilizados en autoclave.

6.1.2 Características del Explante

La testa de las semillas, las cuales habían sido colocadas 24 horas antes en agua, fue fácilmente removida con la ayuda de un bisturí y unas pinzas de disección, dejando al descubierto los embriones, los cuales fueron colocados en tubos de cultivo conteniendo cada uno de ellos 10 ml de un medio de germinación libre de reguladores del crecimiento.

Cuadro 5. Componentes del medio MS (Murashige y Skoog, 1962) para germinación.

REACTIVO	MACRO-NUTRIENTES (mg/l)	MICRO-NUTRIENTES (mg/l)	HIERRO (mg/l)	VITAMINAS (mg/l)	PHYTAGEL (g/l)	SACAROSA (g/l)	pH
NH ₄ NO ₃	1650						
KNO ₃	1900						
CaCl ₂ .2H ₂ O	440						
MgSO ₄	370						
KH ₂ PO ₄	170						
KI		0.8					
H ₃ BO ₃		6.3					
MnSO ₄ .4H ₂ O		22.3					
ZnSO ₄ .7H ₂ O		8.6					
NaMoO ₄ .2H ₂ O		0.25					
CuSO ₄ .5H ₂ O		0.025					
CoSO ₄ .6H ₂ O		0.025					
Na ₂ EDTA			37.3				
FeSO ₄ .7H ₂ O			27.8				
Myo-Inositol				100			
Glicina				2			
Acido nicotínico				0.5			
Piridoxina				0.5			
Tiamina				0.1			
					2	30	5.6

6.1.3 Condiciones de Incubación

Las plantas colocadas en tubos de cultivo fueron identificadas de acuerdo a la variedad que pertenecían y colocadas en un cuarto de crecimiento con un fotoperíodo de 16 horas luz y ocho de oscuridad y una intensidad lumínica de 1000 lux y una temperatura promedio de 24° centígrados. Las plantas estuvieron en este medio de germinación por espacio de seis semanas.

6.1.4 Características de la Fase de Iniciación

Para la fase de Iniciación se utilizaron un total de 160 semillas, distribuidas en 40 semillas de cada una de las siguientes variedades: Green Globe, Imperial Star, Emerald y Dash III. Se sembraron 10 semillas de cada variedad por día, utilizándose para toda la siembra cuatro días. Estas semillas fueron evaluadas una semana después de haber sido colocadas en este medio de germinación y se contó el porcentaje de germinación de cada una de las variedades.

6.2 FASE DE PROPAGACION

6.2.1 Características del Explante

El explante en esta fase fue obtenido de las plantas germinadas en la fase de iniciación. Dentro de una cámara de flujo laminar, con la ayuda de pinzas y bisturí, a estas plantas les fue separado las hojas y raíces, a manera de dejar un explante de aproximadamente 5 mm, los cuales fueron colocados al azar en frascos de vidrio, conteniendo 25 ml de medio de propagación. (Cuadro 6).

6.2.2 Medios de Propagación

Se utilizaron tres medios de propagación, reportados para la propagación de la variedad Green Globe, y que son los siguientes: Ancora (1981), Debergh (1986) y el de Lauzer (1990), cada uno de ellos con la mejor combinación de reguladores del crecimiento reportadas en sus respectivos trabajos.

Cuadro 6. Medios empleados para la fase de propagación.

REACTIVO	MEDIO ANCORA	MEDIO DEBERGH	MEDIO LAUZER
MACRONUTRIENTES(mg/l)			
NH ₄ NO ₃	1650	1650	1650
KNO ₃	1900	1900	1900
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	440	400
MgSO ₄	370	370	370
KH ₂ PO ₄	170	170	170
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	220		
NaHPO ₄			50
MICRONUTRIENTES (mg/l)			
KI	0.83		0.80
H ₃ BO ₃	6.2	10	6.3
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3	25	22.3
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6	10	8.6
NaMoO ₄ .5H ₂ O	0.25	0.25	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.025	0.025
CoSO ₄ .6H ₂ O			0.025
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.25	37.25	37.3
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.85	27.85	27.80
VITAMINAS (mg/l)			
Myo-inositol	100	100	100
Glicina	2		2
Acido nicotínico	0.5		0.5
Piridoxina	0.5		0.5
Sulfato de adenina			40
Tiamina	0.1	0.4	0.1
REGULADORES DEL CRECIMIENTO (mg/l)			
Acido Naftalenacético			0.5
Acido Indolacético	0.5	1	
Cinetina	5	2.5	
2-dimetil alil aminopurina		2	
Bencil-aminopurina			1
OTROS COMPONENTES			
Sacarosa (gr/l)	40	20	30
Gelificante (gr/l)	2	2	2
Ph	5.5	5.8	5.6

6.2.3 Estadística de la Propagación

Para la fase de propagación se utilizó un diseño de Bloques al Azar, con arreglo bifactorial de los tratamientos.

$$Y_{ijk} = u + B_i + m_j + n_k + mn_{jk} + E_{ijk}$$

- U** = Efecto de la media general
- B_i** = Efecto del i-ésimo día de siembra
- m_j** = Efecto de la j-ésima variedad de alcachofa
- n_k** = Efecto del k-ésimo medio de propagación *in vitro*
- mn_{ijk}** = Efecto de la interacción medio por variedad
- E_{ijk}** = Efecto del error experimental

Para esta fase de propagación se evaluaron 12 tratamientos, repartidos cada uno en 11 bloques, para un total de 132 unidades experimentales. Los tratamientos fueron los siguientes:

Cuadro 7. Tratamientos para fase de propagación

	MEDIO 1	MEDIO 2	MEDIO 3
VARIEDAD 1	V1M1	V1M2	V1M3
VARIEDAD 2	V2M1	V2M2	V2M3
VARIEDAD 3	V3M1	V3M2	V3M3
VARIEDAD 4	V4M1	V4M2	V4M3

M1= Medio empleado por Ancora
M2= Medio empleado por Lauzer
M3= Medio empleado por Debergh

V1= Variedad Green Globe
V2= Variedad Imperial Star
V3= Variedad Dash III
V4= Variedad Emerald

6.2.4 Variables de Respuesta

Las variables de respuesta analizadas fueron número de brotes obtenido por explante y altura promedio de brotes por frasco de vidrio (unidad experimental). Estas fueron tomadas luego de cuatro semanas en los medios de propagación. La altura se midió en centímetros, a partir de la base del brote hasta la punta de la última hoja; el número de brotes se hizo por medio de una inspección visual.

6.2.5 Análisis de la Información

Se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables de respuesta y, además, cuando se encontró significancia, se realizó una prueba de separación de medias de Duncan.

6.3 FASE DE ENRAIZAMIENTO

6.3.1 Características del Explante

Para esta fase se utilizaron los brotes obtenidos en la fase de propagación, se seleccionaron 32 brotes de cada variedad que tuvieran un rango de altura entre 1 y 2.5 centímetros. Dentro de una cámara de flujo laminar, con ayuda de pinzas y bisturí, le fue separado de la base de la planta el tejido muerto y luego colocados al azar en cuatro medios con diferentes concentraciones de ácido naftalenacético (ANA).

6.3.2 Medios de Cultivo

Los medios de enraizamiento que se evaluaron fueron dos. Ancora (1981) y Lauzer (1990). Estos fueron los medios que mejor resultado obtuvieron en sus respectivos trabajos, además, se evaluó el medio de Murashige y Skoog (1962) con dos concentraciones de ANA, al igual que los dos medios anteriores utilizan ácido naftalenacético como regulador del crecimiento responsable de inducir el enraizamiento.

Cuadro 8. Medios de cultivo utilizados para enraizamiento.

REACTIVO	MEDIO ANCORA	MEDIO MS	MEDIO LAUZER
MACRONUTRIENTES(mg/l)			
NH ₄ NO ₃	1650	1650	825
KNO ₃	1900	1900	950
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	400	200
MgSO ₄	370	370	185
KH ₂ PO ₄	170	170	85
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	220		
MICRONUTRIENTES (mg/l)			
KI	0.83	0.80	0.4
H ₃ BO ₃	6.2	6.3	3.1
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3	22.3	11.15
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6	8.6	4.3
NaMoO ₄ .5H ₂ O	0.25	0.25	0.125
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.025	0.0125
CoSO ₄ .6H ₂ O		0.025	
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.25	37.3	18.62
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.85	27.80	13.92
VITAMINAS (mg/l)			
Myo-inositol	100	100	50
Glicina	2	2	2
Acido nicotínico	0.5	0.5	0.5
Piridoxina	0.5	0.5	0.5
Sulfato de adenina		40	20
Tiamina	0.1	0.1	0.1
REGULADORES DEL CRECIMIENTO (mg/l)			
Acido Naftalenacético	2	3 y 4	5
OTROS COMPONENTES			
Sacarosa (gr/l)	40	30	20
Gelificante (gr/l)	2	2	2
Ph	5.5	5.6	5.8

6.3.3 Estadística de la Fase de Enraizamiento

Para la fase de enraizamiento se planteó un diseño de Bloques al Azar, con arreglo bifactorial de los tratamientos. El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = u + B_i + m_j + n_k + mn_{jk} + E_{ijk}$$

- U** = Efecto de la media general
- B_i** = Efecto del i-ésimo día de siembra (bloques)
- m_j** = Efecto de la j-ésima variedad de alcachofa
- n_k** = Efecto del k-ésimo medio de enraizamiento *in vitro*
- mn_{ijk}** = Efecto de la interacción medio por variedad
- E_{ijk}** = Efecto del error experimental

Para esta fase se plantearon 16 tratamientos resultantes de la combinación de cuatro medios de enraizamiento y cuatro variedades. Para esta fase se utilizaron ocho bloques, para obtener un total de 128 unidades experimentales, cada una de ellas representadas por un frasco de vidrio tipo compota de 70 x 45 milímetros, conteniendo 25 mililitros de medio de enraizamiento.

Cuadro 9. Tratamientos evaluados en la fase de enraizamiento.

	MEDIO 1	MEDIO 2	MEDIO 3	MEDIO 4
VARIEDAD 1	V1M1	V1M2	V1M3	V1M4
VARIEDAD 2	V2M1	V2M2	V2M3	V2M4
VARIEDAD 3	V3M1	V3M2	V3M3	V3M4
VARIEDAD 4	V4M1	V4M2	V4M3	V4M4

M1= Medio empleado por Ancora
M2= Medio MS con 3 ppm ANA
M3= Medio MS con 4 ppm ANA
M4= Medio empleado por Lauzer

V1= Variedad Green Globe
V2= Variedad Imperial Star
V3= Variedad Dash III
V4= Variedad Emerald

6.3.4 Variables de Respuesta

Las variables de respuesta que se plantearon para esta fase fueron número de raíces por planta, y largo promedio de raíces por planta. Las lecturas se tomaron luego de seis semanas de haberse trasladado a los diferentes medios de enraizamiento.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. FASE DE INICIACIÓN

Para la fase de iniciación no se realizó ningún análisis estadístico a las semillas sembradas, únicamente se tomó la lectura de la germinación y se expresó en porcentaje. Para las cuatro variedades este porcentaje fue de 100% luego de seis días de haber sido colocadas en un medio MS sin reguladores del crecimiento, es de notar, también, que no existió contaminación en esta fase, debido a una buena desinfección de la semilla utilizada.

Por otro lado el periodo de emergencia de los cotiledones fue para todas las variedades de aproximadamente 48 horas, esto a pesar de que las variedades Dash III y Emerald, en condiciones de semillero reportan períodos de emergencia menores que Green Globe e Imperial Star, los cuales son, respectivamente, de cuatro y seis días (7). En la fase de germinación *In vitro* se logró reducir el período de emergencia de los cotiledones y a la vez uniformizar dicho tiempo, respecto a las condiciones reportadas en invernadero por la empresa que produce la semilla (7). Estos factores se deben a que le fue removida la testa a la semilla, lo cual representa un menor esfuerzo de emergencia para los cotiledones. Por otro lado, el segundo factor se debió a las condiciones uniformes, tanto del medio de cultivo como la temperatura del cuarto de incubación y humedad relativa dentro de los tubos de cultivo donde fueron colocadas las semillas. (Cuadro 10).

Cuadro 10. Resultados de la fase de germinación (iniciación).

VARIEDAD	DIA DE	SEMILLAS/DIA	GERMINACIÓN	CONTAMINACIÓ	DIAS A EMERGENCIA
----------	--------	--------------	-------------	--------------	-------------------

	SIEMBRA		(%)	N (%)	DE LOS COTILEDONES
Green Globe	1	10	100	0	3
Imperial Star	1	10	100	0	3
Emerald	1	10	100	0	3
Dash III	1	10	100	0	3
Green Globe	2	10	100	0	3
Imperial Star	2	10	100	0	3
Emerald	2	10	100	0	3
Dash III	2	10	100	0	3
Green Globe	3	10	100	0	3
Imperial Star	3	10	100	0	3
Emerald	3	10	100	0	3
Dash III	3	10	100	0	3
Green Globe	4	10	100	0	3
Imperial Star	4	10	100	0	3
Emerald	4	10	100	0	3
Dash III	4	10	100	0	3
TOTAL	4 Días de siembra	160	100	0	

7.2 FASE DE PROPAGACIÓN

Debido a que el análisis de varianza reportó coeficientes de variación altos, para todas las variables de respuesta se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para conocer si los datos tenían una distribución normal, lo cual fue confirmado por dicha prueba, los resultados de esta se presentan en el apéndice a partir de la página 47.

Cuadro 11 Resultados SAS para la variable número promedio de brotes

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	F Calculada	Pr > Fc
Modelo	21	121.5024023	1.92	0.0253
REP	10	33.81073563	1.12	0.3623
MEDIO	2	40.68821074	6.74	0.0022
VAR	3	24.99728917	2.76	0.0496
MEDIO*VAR	6	31.42224437	1.73	0.1279

Error 62 187.19997866
 Corregido Total 83 308.70238095

R-Cuadrado C.V. BRO Media
 0.393591 71.20041 2.44047619

Cuadro 12. Número de brotes por medio de cultivo y prueba Duncan al 10%.

MEDIO	NUMERO DE UNIDADES EXPERIMENTALES	MEDIAS Y PRUEBA DUNCAN AL 10%
Debergh	24	3.417 a
Lauzer y Vieth	31	2.419 b
Ancora	29	1.655 b

Según el análisis de varianza realizado para la variable de respuesta número de brotes, en cuanto a los medios de cultivo, existe significancia, por lo que se hizo la prueba de Duncan al 10% de nivel de significancia, donde se determinó que el medio Debergh fue el que produjo una media mayor en cuanto al número de brotes, esto es igual, para las cuatro variedades, puesto que el análisis de varianza muestra que no hay significancia para la interacción medio por variedad. Ancora *et al* (3) trabajó con materiales de alcachofa provenientes del mediterráneo, para los cuales reporta una media de brotes de 2.1 por explante, mayor al obtenido en el presente experimento, es probable que los materiales utilizados no respondan del todo bien a dicho medio por tratarse de materiales mejorados y producidos en California. El medio utilizado por Debergh *et al* (8) evaluado sobre el material Green globe tuvo la mejor respuesta en este experimento, superior a la media reportada en por el autor que fue de 2.6 brotes por explante (8), mientras que en la presente investigación produjo una media de brotes por explante de 3.41, se pudo observar que de acuerdo a la prueba de medias este medio es el mas adecuado para inducir mayor proliferación de brotes en las cuatro variedades evaluadas. Lauzer y Vieth (13) reportan una media de 2.45 brotes por explante, muy similar a la media obtenida en este experimento.

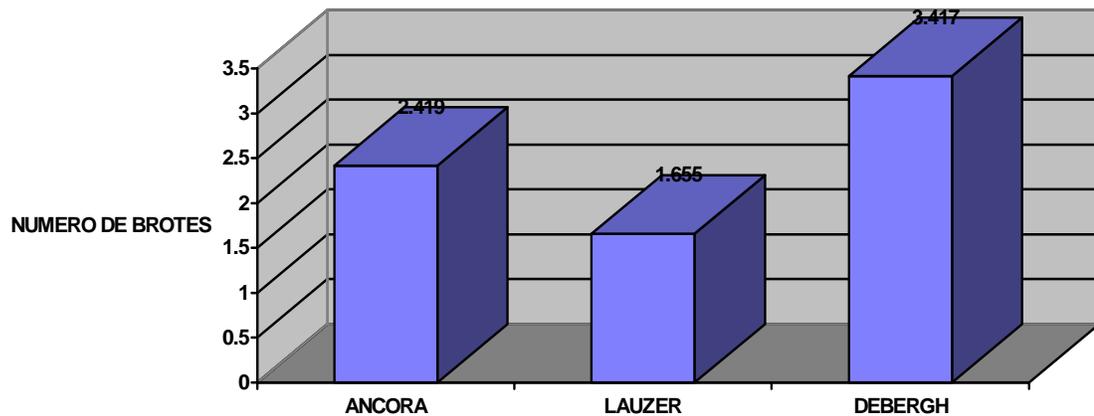


Figura 1. Número promedio de brotes por medio de cultivo.

Para la variable número de brotes en cuanto a variedades también existe significancia, por lo que se realizó una prueba de Duncan al 10% de nivel de significancia, en donde según los resultados las variedades Imperiall star, Dash III y Emerald son estadísticamente iguales, pero superiores a la variedad Green Globe. De las variedades que obtuvieron mayor número de brotes por variedad, Imperial Star es la mas utilizada en California (15) debido a sus buenas características de rápido crecimiento y buena brotación luego de la cosecha. (15). Dah III y Emerald poseen un crecimiento acelerado, y brotación del 100% luego de 30 días a partir de la cosecha (7). Estas características, pudieron observarse durante la fase de propagación, las cuales fueron expresadas bajo el efecto de los reguladores de crecimiento utilizados en esta fase. Por otro lado Green Globe es una variedad que tiene muchos años de sembrarse en California, donde ha presentado problemas de bajos rendimientos y problemas de enfermedades y plagas, en la actualidad su uso se ha reducido ya que paulatinamente se ah remplazado por variedades mas rendidoras y de menor tiempo de cosecha (7). Se pudo observar que el numero de brotes que presentó por explante fue mucho menor que el de las otras variedades.

Cuadro 13. Número de brotes y prueba de Duncan al 10%.

VARIEDAD	NUMERO DE UNIDADES EXPERIMENTALES DE DONDE PROVIENE LA MEDIA	NUMERO DE BROTES Y PRUEBA DUNCAN AL 10%
Imperial Star	20	2.75 a
Dash III	20	2.65 a
Emerald	27	2.63 a
Green Globe	17	1.53 b

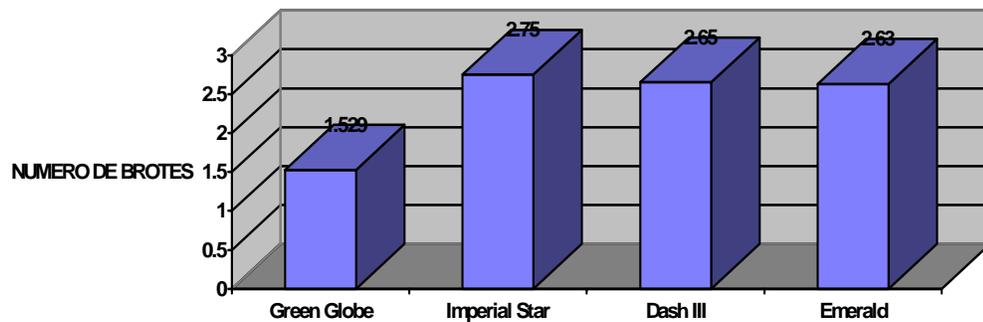


Figura 2. Promedio de brotes por variedad.

Para la variable de respuesta altura promedio de brotes en el análisis de varianza, se obtuvo significancia únicamente para variedades, no así para los medios ni la interacción medio por variedad, por lo que se hizo una prueba de Duncan al 10% de nivel de significancia para la separación de las medias de las variedades, en donde se encontró que las variedades con mayor altura de brote fueron Imperial Star y Emerald. En este caso la altura de brote fue influenciada por el vigor de las variedades, puesto que las que presentaron mayor altura de brote fueron también parte del grupo de las variedades donde hubo mayor número de brotes por explante. La baja altura promedio para la variedad Dash

III, probablemente se deba a que en condiciones de campo es de por sí una planta de porte bajo, no mayor a 1 metro (7).

Cuadro 14 Resultados de SAS para la variable altura de brotes

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	F Calculada	Pr > Fc
Model	21	33.83797603	1.22	0.2694
REP	10	15.19552248	1.15	0.3428
MEDIO	2	1.70191309	0.64	0.5292
VAR	3	9.12681369	2.30	0.0862
MEDIO*VAR	6	7.3046931	0.92	0.4870

Error 62 82.06836296
 Corregido Total 83 115.90633899

R-Cuadrado 0.291942 C.V. 64.59891 ALT Media 1.78101190

Cuadro 15. Promedios de altura y prueba de Duncan al 10%.

VARIEDAD	NUMERO DE UNIDADES EXPERIMENTALES DE DONCE PROVIENE LA MEDIA	MEDIAS DE ALTURA Y PRUEBA DE DUNCAN AL 10%
Imperial Star	20	2.082 a
Emerald	27	2.014 a
Dash III	20	1.644 b
Green Globe	17	1.218 b

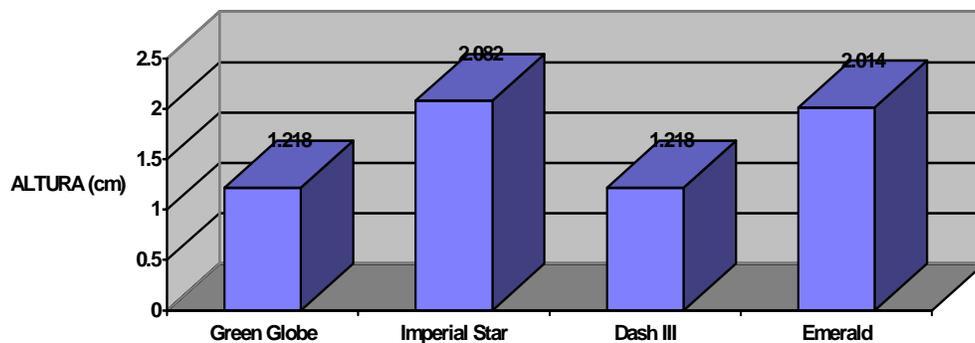


Figura 3. Promedio de altura por variedad.

Del total de 132 unidades experimentales, se tuvo una contaminación de 32 unidades experimentales contaminadas (24%), y 16 unidades experimentales que presentaron oxidación (16%), debido a compuestos fenólicos, por lo que no fueron tomadas en cuenta para el análisis estadístico.

7.2. FASE DE ENRAIZAMIENTO

En esta fase se probaron dos medios reportados por Ancora(1982) y Lauzer (1990), además, de el medio Mushige y Skoog (MS) con dos concentraciones de reguladores del crecimiento, para hacer, en total, cuatro medios con diferentes concentraciones de ácido naftalenacético. Basado en los trabajos de estos dos autores, en donde estos niveles de reguladores del crecimiento fueron los que presentaron mejores resultados, la investigación se limitó a los niveles de ANA, los cuales no arrojaron datos satisfactorios, puesto que en ninguna de las 128 unidades experimentales se observó presencia de raíces. Lo que pudo ser observado en todos los tratamientos fue la presencia de formación de callo en la base de las plantas, lo cual puede indicar que las concentraciones de ANA fueron demasiado elevadas y en lugar de producir raíces produjeron callo, por lo que se sugiere probar, en futuros experimentos, niveles más bajos de ANA que los evaluados en este experimento. En esta parte del experimento se tuvieron 15 unidades experimentales contaminadas (12%) y 10 (8%) que presentaron oxidación del medio. Usui et Al (22) sugiere que el balance entre auxinas y citocininas es determinante en cuanto al efecto causado sobre un explante, generalmente para la inducción de raíces es necesaria una combinación donde la cantidad de auxina se mayor que la de citosina (22). En cebolla y fresa se reportaron casos en donde las altas concentraciones de ANA inhibieron la formación de raíces y se obtuvo presencia de

callo (12), luego de agregar al medio, pequeñas concentraciones de zeatina se pudo obtener un porcentaje de enraizamiento de 20 y 34% respectivamente (22).

8. CONCLUSIONES

8.1 La germinación de todas las variedades fue del 100% bajo condiciones *in vitro*.

8.2 El medio de propagación que produjo mayor número de brotes por explante (3.417), para las cuatro variedades, es el medio propuesto por Debergh (1986).

8.3 Las variedades Imperial Star, Dash III y Emerald (2.75, 2.65 y 2.63 respectivamente) producen mayor cantidad de brotes por explante que la variedad Green Globe (1.53), para cualquiera de los tres medios evaluados de propagación.

8.4 Las variedades Imperial Star y Emerald produjeron brotes de mayor altura (2.08 y 2.01 centímetros respectivamente) en cualquiera de los tres medios evaluados, que las variedades Green Globe y Dash III (1.64 y 1.21 centímetros respectivamente).

8.5 Ninguno de los tres medios de cultivo es superior para las cuatro variedades en cuanto a la altura de los brotes.

8.6 Los niveles de ácido naftalenacético (ANA) propuestos por Lauzer en 1990 (5 mg/l) y Ancora en 1986 (2 mg/l) más los evaluados en el medio Murashige y Skoog (3 y 4 mg/l) no producen formación de raíces en ninguna de las cuatro variedades incluidas dentro del experimento.

9. RECOMENDACIONES

1. Evaluar concentraciones de ácido nafatalenacético (ANA) menores a las evaluadas en esta investigación para inducir formación de raíces.
2. Evaluar otras auxinas, tales como: ácido indolbutírico (IBA) y ácido indolacético (AIA), en combinación o solas, en diferentes dosis para inducir formación de raíces para las tres variedades que mostraron un comportamiento superior en la fase de propagación.

10. BIBLIOGRAFIA

1. AGEXPRONT (Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales). 1999 Manual del cultivo de la alcachofa
2. Agribusiness on line, US. 2002. Artichoke (en línea). US. Consultado 20 Ago. 2002. Disponible en www.agribusinessonline.com/regulations/grades/grades_eu_fresh/Artichokes.pdf.
3. Ancora, G; Belli-Domini, m.L; Couzzo, L. 1981. Globe artichoke plants obtained from shoot apices through rapid *in vitro* micropropagation. *Scientia Hort.* 14:207-213
4. Arevalo GUERRA, M. 1995. Aislamiento e identificación del agente causante de la pudrición del tallo y raíz de la alcachofa (*Cynara scolymus*). Guatemala Universidad del Valle. 55 p.
5. Azmitia, C. 1993. Exportación de alcachofa en Centroamérica. Guatemala. USAID. 7 p.
6. Cantwell, M. 2001. Características, condiciones y recomendaciones para el almacenamiento por tiempo largo de frutas y hortalizas, perspectivas de mercado. (en línea). California, US, UC Davis, Postharvest Technology, Reserch & information Center. Consultado 13 Nov. 2001. Disponible en postharvest.ucdavis.edu/produce/storage/span_a.html.
7. Corona seeds, US. 2001. Corona seeds catalogue. US. 96 p.
8. Deberhgh, P; Dumas Devalux, R; Loth. 1986. Virus-free clones of globe artichoke (*Cynara scolymus*): primary results. *Acta Hort.* 90:205-220
9. Dodds, JH; LORIN, WR. 1985. Experiments in plant tissue culture. 2 ed. New York, US., Cambridge University Press. 232 p.
10. Espinosa, N. *et al.* 1992. Cultivo de tejidos: micropropagación, conservación y exportación de papa. *Guía de investigación CIP* 12(1):12.
11. Fundamentos teórico-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. 1990. Ed. por CH. Rossel; VM. Villalobos. Roma,FAO. Producción y protección vegetal 105 p.
12. Hurtado, mD; Merino, mE. 1988. Cultivo de tejidos vegetales. México. Trillas. 232, 639-666.
13. Lauzer, D; Vieth, J. 1990. Micropropagation of seed-derived plants of *Cynara scolymus* L. cv. "Artichoke Globe". *Plant Cells Tiss. Organ Cult.* 21:237-244.

14. Océano, ES. 1999. Enciclopedia práctica de la agricultura y ganadería. Barcelona, España. 1,032 p.
15. Ortiz, L. 2001. Variedades de alcachofa. (entrevista). Guatemala, Agrosemillas. (agrosemillas@golg.guate.net).
16. Perea, M;Navarro, AW. 1988. Técnicas *in vitro*. Costa Rica, Universidad Nacional Costa Rica. 105 p.
17. Ruiz, D. 1985. Forma de preparación de medios de cultivo Murashige and Skoog. San Pedro Sula, Honduras, Fondo Hondureño de Investigación y Documentación. 14 p.
18. SIGMA, US. 1990. Catalogue plant cell culture. US. p. 91.
19. Shiide-Rentschler, L; Shmiediche, PE. 1984. El cultivo de tejidos, su pasado, presente y futuro. CIP, Circular 12(1):12.
20. Torres, AC; Texeira Ferreira, A; Campos de Araujo, M. 1996. Medio de cultivo. Brasilia, Centro Brasileiro Argentino de Biotecnología. 21 p.
21. Thorpe, TA. 1987. Plant tissue culture and applications in agriculture. New York, US, Academic Press. 177p.
22. Usui, K. *et al.* 1986. Principios básicos del cultivo de tejidos vegetales. Ed por RV. Pernillo; AE Ramírez. Guatemala, ICTA-JOCV. 166 p.
23. Walpole, RE; Myers, RH. 1989. Probabilidad y estadística para Ingenieros. Trad. Alfredo Mata y Dolores García. 3era Ed. México.McGraw-Hill. 721 p.

11. APENDICE

11.1 ANÀLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE NÚMERO DE BROTES

General Linear Models Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
MEDIO	3	1 2 3
VAR	4	1 2 3 4
REP	11	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

Number of observations in data set = 132

Dependent Variable: BRO

Source	DF	Sum of Squares	F Value	Pr > F
Model	21	121.50240230	1.92	0.0253
REP	10	33.81073563	1.12	0.3623
MEDIO	2	40.68821074	6.74	0.0022
VAR	3	24.99728917	2.76	0.0496
MEDIO*VAR	6	31.42224437	1.73	0.1279
Error	62	187.19997866		
Corrected Total	83	308.70238095		

R-Square	C.V.	BRO Mean
0.393591	71.20041	2.44047619

11.2 PRUEBA DE MEDIAS DE DUNCAN PARA LA VARIABLE NUMERO DE BROTES PARA MEDIOS DE CULTIVO.

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.1 df= 62 MSE= 3.019354
 WARNING: Cell sizes are not equal.
 Harmonic Mean of cell sizes= 27.67336

Number of Means 2 3
 Critical Range 0.780 0.824

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	MEDIO
A	3.417	24	3
B	2.419	31	1
B	1.655	29	2

11.3 PRUEBA DE MEDIAS DE DUNCAN PARA LA VARIABLE NUMERO DE BROTES PARA VARIEDADES

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.1 df= 62 MSE= 3.019354
 WARNING: Cell sizes are not equal.
 Harmonic Mean of cell sizes= 20.42269

Number of Means 2 3 4
 Critical Range 0.908 0.960 0.995

Duncan Grouping	Mean	N	VAR
A	2.750	20	2
A	2.650	20	3
A	2.630	27	4
B	1.529	17	1

Level of MEDIO	Level of VAR	N	Mean	SD
1	1	8	2.12500000	1.64208056
1	2	6	2.33333333	1.36626010
1	3	7	1.85714286	2.34012617
1	4	10	3.10000000	1.72884033
2	1	5	0.40000000	0.54772256
2	2	8	2.75000000	1.16496475
2	3	7	1.71428571	1.25356634
2	4	9	1.33333333	0.70710678
3	1	4	1.75000000	1.50000000
3	2	6	3.16666667	1.72240142
3	3	6	4.66666667	3.20416396
3	4	8	3.50000000	2.26778684

11.4 PRUEBA DE NORMALIDAD DE SHAPIRO-WILK

UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESID

Moments

N	84	Sum Wgts	84
Mean	0	Sum	0
Std Dev	1.501806	Variance	2.255421
Skewness	-0.21169	Kurtosis	-0.27919
USS	187.2	CSS	187.2
CV	.	Std Mean	0.16386
T:Mean=0	0	Prob> T	1.0000
Sgn Rank	52	Prob> S	0.8150
Num ^= 0	83		
W:Normal	0.980371	Prob<W	0.5963

UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESID

Quantiles(Def=5)

100% Max	3.343839	99%	3.343839
75% Q3	0.959238	95%	2.18545
50% Med	0.176486	90%	1.747692
25% Q1	-1.14451	10%	-1.97197
0% Min	-3.80376	5%	-2.39726
		1%	-3.80376
Range	7.147604		

Q3-Q1 2.103744
 Mode -3.80376

UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESID

Extremes

Lowest	Obs	Highest	Obs
-3.80376(59)	2.18545(23)
-3.18048(34)	2.291586(75)
-3.15019(120)	2.869636(15)
-2.77094(21)	3.03085(36)
-2.39726(72)	3.343839(47)

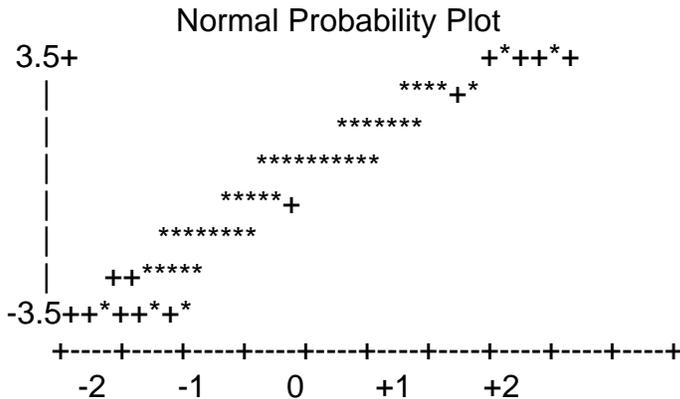
Missing Value .
 Count 48
 % Count/Nobs 36.36
 UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESID

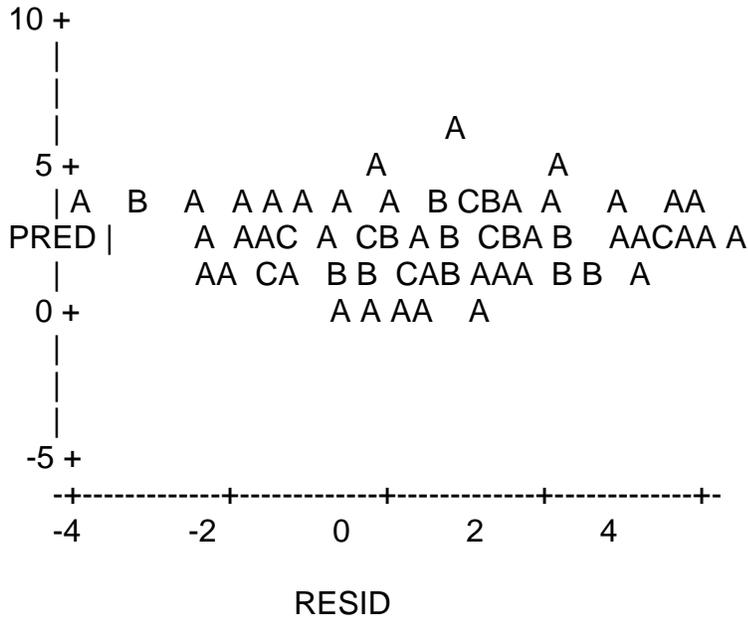
Stem Leaf	#	Boxplot
3 03		2
2 11239		5
1 03344456667779		14
0 001112223333445556666677799		27
-0 9997655533300		13
-1 9886533222211		13
-2 8422000		7
-3 822		3

UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESID



Plot of PRED*RESID. Legend: A = 1 obs, B = 2 obs, etc.
 (NOTE: 48 obs had missing values.)



11.5 ANÀLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE ALTURA DE BROTES

General Linear Models Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
MEDIO	3	1 2 3
VAR	4	1 2 3 4
REP	11	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

Number of observations in data set = 132

NOTE: Due to missing values, only 84 observations can be used in this analysis.

Dependent Variable: ALT

Source	DF	Sum of Squares	F Value	Pr > F
Model	21	33.83797603	1.22	0.2694
REP	10	15.19552248	1.15	0.3428
MEDIO	2	1.70191309	0.64	0.5292
VAR	3	9.12681369	2.30	0.0862
MEDIO*VAR	6	7.30469310	0.92	0.4870
Error	62	82.06836296		
Corrected Total	83	115.90633899		
	R-Square	C.V.	ALT Mean	
	0.291942	64.59891	1.78101190	

11.6 PRUEBA DE MEDIAS DE DUNCAN PARA LA VARIABLE ALTURA DE BROTES PARA MEDIOS DE CULTIVO

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.1 df= 62 MSE= 1.323683
 WARNING: Cell sizes are not equal.
 Harmonic Mean of cell sizes= 27.67336
 Number of Means 2 3
 Critical Range 0.517 0.546

Duncan Grouping	Mean	N	MEDIO
A	1.991	29	2
A	1.874	24	3
A	1.513	31	1

11.7 PRUEBA DE MEDIAS DE DUNCAN PARA LA VARIABLE ALTURA DE BROTES PARA VARIEDADES

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.1 df= 62 MSE= 1.323683
 WARNING: Cell sizes are not equal.
 Harmonic Mean of cell sizes= 20.42269

Number of Means 2 3 4
 Critical Range 0.601 0.635 0.659

Duncan Grouping		Mean	N	VAR
	A	2.082	20	2
	A	2.014	27	4
B	A	1.644	20	3
B		1.218	17	1
Level of	Level of	-----ALT-----		

MEDIO	VAR	N	Mean	SD
1	1	8	1.18250000	0.94446886
1	2	6	2.23000000	0.88543774
1	3	7	0.98857143	0.99787154
1	4	10	1.71400000	1.13362937
2	1	5	0.88000000	1.25578661
2	2	8	2.12875000	0.80278867
2	3	7	2.00000000	1.41745076
2	4	9	2.47777778	1.46460556
3	1	4	1.71250000	1.68042405
3	2	6	1.87083333	1.14895786
3	3	6	1.99166667	1.30334058
3	4	8	1.86875000	0.92264275

11.8 PRUEBA DE NORMALIDAD DE SHAPIRO-WILK

UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESID2

Moments

N	84	Sum Wgts	84
Mean	0	Sum	0
Std Dev	0.994372	Variance	0.988775
Skewness	-0.11898	Kurtosis	-0.09341
USS	82.06836	CSS	82.06836
CV	.	Std Mean	0.108495
T:Mean=0	0	Prob> T	1.0000
Sgn Rank	23	Prob> S	0.9176
Num ^= 0	83		
W:Normal	0.987402	Prob<W	0.8990

UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESID2

Quantiles(Def=5)

100% Max	2.295891	99%	2.295891
75% Q3	0.697911	95%	1.408944
50% Med	0.02157	90%	1.281914
25% Q1	-0.66353	10%	-1.24746
0% Min	-2.5739	5%	-1.67495
		1%	-2.5739
Range	4.869795		
Q3-Q1	1.361439		
Mode	-2.5739		

UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESID2

Extremes

Lowest	Obs	Highest	Obs
-2.5739(44)	1.408944(66)
-2.21801(21)	1.517037(38)
-1.91283(2)	1.972199(20)
-1.76286(120)	2.228693(19)
-1.67495(67)	2.295891(45)

Missing Value .
Count 48

% Count/Nobs 36.36

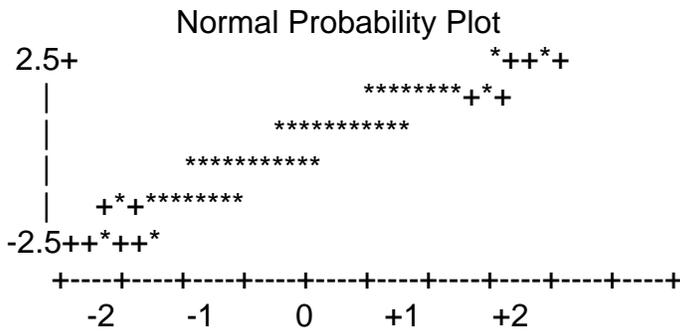
UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESID2

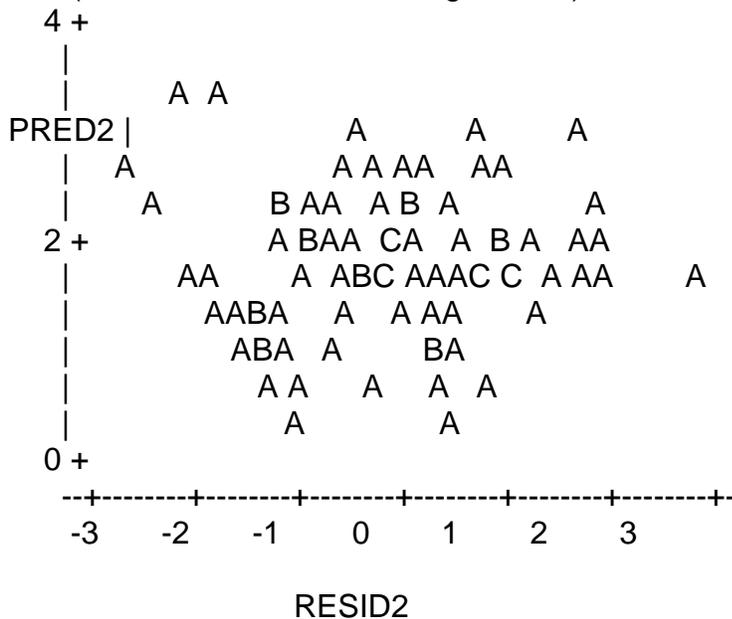
Stem Leaf	#	Boxplot
2 023	3	
1 00222333445	11	
0 00112222333444445556677778899	29	+---+---+
-0 998887776655554443222111110	27	+-----+
-1 987554222100	12	
-2 62	2	

-----+-----+-----+-----+-----
 UNIVARIATE PROCEDURE

Variable=RESID2



Plot of PRED2*RESID2. Legend: A = 1 obs, B = 2 obs, etc.
 (NOTE: 48 obs had missing values.)



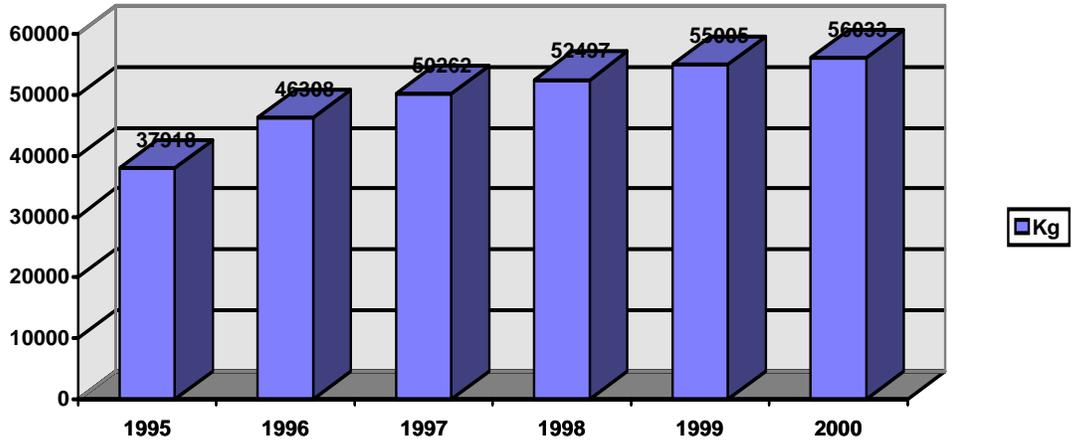


Figura 4 "A". Exportación de alcachofa