

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**  
**ÁREA INTEGRADA**



**TRABAJO DE GRADUACIÓN**  
**RECOMENDACIONES PARA MEJORAR EL CULTIVO DE ESPECIES AGRÍCOLAS Y**  
**FORESTALES EN LA FINCA Y CASERÍO PANIMACHABAC**  
**EN EL MUNICIPIO DE TECPÁN, CHIMALTENANGO**

**JAIRO DANIEL MONZÓN OSTORGA**

**Guatemala, Noviembre de 2005**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
ÁREA INTEGRADA**

**RECOMENDACIONES PARA MEJORAR EL CULTIVO DE ESPECIES AGRÍCOLAS Y  
FORESTALES EN LA FINCA Y CASERÍO PANIMACHABAC  
EN EL MUNICIPIO DE TECPÁN, CHIMALTENANGO**

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**POR**

**JAIRO DANIEL MONZÓN OSTORGA**

**EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**EN**

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

**Guatemala, Noviembre de 2005**

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RECTOR

Dr. M.V. LUIS ALFONSO LEAL MONTERROSO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

DECANO:	Dr. ARIEL ABDERRAMÁN ORTIZ LÓPEZ
VOCAL PRIMERO:	Ing. Agr. ALFREDO ITZEP MANUEL
VOCAL SEGUNDO:	Ing. Agr. WALTER ARNOLDO REYES SANABRIA
VOCAL TERCERO:	Ing. Agr. DANILO ERNESTO DARDÓN ÁVILA
VOCAL CUARTO:	MAESTRO ELMER ANTONIO ÁLVAREZ CASTILLO
VOCAL QUINTO:	PERITO M. & P. MIRIAM EUGENIA ESPINOZA PADILLA
SECRETARIO:	Ing. Agr. PEDRO PELÁEZ REYES

Guatemala, Noviembre de 2005

Guatemala, Noviembre de 2005

Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Honorables Miembros:

De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de graduación “Recomendaciones para mejorar el cultivo de especies agrícolas y forestales en la finca y el caserío Panimachabac en el municipio de Tecpán, departamento de Chimaltenango”, como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el mismo llene los requisitos necesarios para su comprobación, me es grato suscribirme,

Atentamente,

“ID Y ENSEDAD A TODOS”

Jairo Daniel Monzón Ostorga

## ACTO QUE DEDICO

A:

DIOS: Por ser mi guía en todo momento, brindarme fuerzas cuando las necesité y por llenarme de muchas bendiciones diarias, gracias por este triunfo.

MIS PADRES: Maria Antonia Ostorga Cruz y César Augusto Monzón Reyes (QEPD). Por su amor sin medida ni condición, gracias por ayudarme a ser el hombre que ahora soy.

MIS HERMANOS: César Humberto, Brenda Araceli, Sara Lucrecia, Guisela, Betsabé y Saúl. Por demostrarme su aprecio incondicional en todo momento, gracia por todo, los quiero.

MI NOVIA: Ruth Eunice Requena Rodas, por darme continuamente su amor y comprensión.

MIS TIOS: Elena Ostorga, por llevarme siempre en su corazón.

MIS PRIMOS: Yery Cecilia Y Elena.

MIS AMIGOS: Familia Estrada, grupo universitario (Mayra, Mario, Emilio, Luís, Aguire, Renato, y demás compañeros), Sandra y hermanos.

## TRABAJO DE GRADUACIÓN QUE DEDICO

A:

DIOS

MI PATRIA GUATEMALA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

MI FAMILIA EN GENERAL

## **AGRADECIMIENTOS**

Ing, Agr. Guillermo Méndez Beteta, por brindarme su apoyo desde el inicio del Ejercicio Profesional Supervisado, gracias.

Ing. Agr. Domingo Amador, por su asesoría en la elaboración de la investigación.

Especialmente al Ing. Agr. Ronald Estrada, por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de graduación en su finca, gracias por su amistad.

Ing. Agr. Mak Milan Cruz, por su asesoría en la parte práctica de la investigación.

A los trabajadores de la finca Panimachabac (Familia Lares).

## CONTENIDO GENERAL

	Página
<b>RESUMEN</b>	ii
<b>I. DIAGNÓSTICO</b> de la finca Panimachabac y el caserío Panimachabac, Tecpán, Chimaltenango.	1
<b>II. INVESTIGACIÓN</b> “propagación in vitro de pinabete ( <i>Abies guatemalensis</i> Rehder) por medio de la multiplicación de Ápices de brote.	13
<b>III. INFORME DE SERVICIOS</b> realizados en el caserío Panimachabac, Tecpán, Chimaltenango.	71

## RESUMEN

El presente trabajo de graduación contempla las actividades realizadas durante el desarrollo del Ejercicio Profesional Supervisado –EPSA- con sus respectivos resultados, como parte de la nueva metodología de graduación.

Inicialmente se elaboró el diagnóstico, como parte fundamental de inicio, para conocer, recabar e integrar información sobre los recursos existentes en la finca Panimachabac y el caserío con el mismo nombre. La finca Panimachabac es manejada con su respectivo plan de manejo a cargo del Ing. Agr. Ronald Estrada; destaca dentro de ella el rodal de Pinabete destinado para la obtención de árboles de navidad. En cuanto al caserío, sus habitantes están organizados no solo a nivel local sino con comunidades de los alrededores. Las condiciones ambientales del lugar limitan el desarrollo de cultivos, el único existente es prácticamente maíz y una poca cantidad de arveja china (cuando las condiciones lo permiten). En general se carece de diversificación de actividades productivas.

Como parte del trabajo mencionado, se realizó la investigación que lleva por nombre **Propagación in vitro de pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) por medio de la multiplicación de ápices de brote**. Esta se dividió en dos fases: en la primera fase se controló la contaminación y oxidación, así como también se determinó la época adecuada de colecta de ápices para su utilización en la investigación, los resultados positivos de esta fase se lograron a los 9 meses de iniciada la investigación, los cuales fueron: la época adecuada para la obtención de material vegetal es la etapa de latencia que va de octubre a marzo aproximadamente, el antioxidante que dio resultado en el control de la oxidación fue carbón activo a una concentración de 0.25%. En la segunda fase se llevó a cabo la evaluación de reguladores de crecimiento Ácido Naftalenacético (ANA) y Bencilaminopurina (BAP), obteniéndose como resultado la respuesta de los ápices en tres formas: formación de brotes, formación de callo y presencia de crecimiento o elongación. Las concentraciones son las siguientes, para brotes 3 mg/L Bencilaminopurina + 0.5 mg/L Ácido Naftalenacético, para callo 0.5 mg/L Bencilaminopurina + 1 mg/L Ácido Naftalenacético y para crecimiento 0.5 mg/L Bencilaminopurina + 0.5 mg/L Ácido Naftalenacético.

Los servicios se enfocaron al caserío y fueron los siguientes: Estudio de la condición actual de los suelos destinados para agricultura en el caserío Panimachabac, Tecpán, Chimaltenango y Capacitación en viveros forestales en la escuela de fomento del caserío Panimachabac Tecpán, Chimaltenango, ambos se realizaron satisfactoriamente y se requiere la ejecución de otro tipo de servicios para el desarrollo de la comunidad.



## INDICE

	Página
1. Introducción	3
2. Objetivos	4
2.1 Generales	4
2.2 Específico	4
3. Materiales y Métodos	4
3.1 Metodología	4
3.2 Recursos	4
4. Marco Referencial	5
4.1 Descripción Biofísica Del Área	5
4.1.1 Ubicación De La Finca	5
4.1.2 Suelos	5
4.1.3 Hidrológica	5
4.1.4 Clima	5
4.1.5 Zona De Vida	5
4.1.6 Vegetación	6
A. Especies Presentes	6
B. Tipos De Cubierta Forestal	6
4.1.7 Uso Actual Y Capacidad De Uso De La Tierra	6
A. De la Finca	6
B. Del Caserío	7
4.1.8 Conservación	7
A. De la Finca	7
B. Del caserío	7
4.2 Características socioeconómicas	7
4.2.1 Aspectos Demográficos	7
4.2.2 Historia	7
4.2.3 Características Culturales	8
4.2.4 Tenencia de la tierra	8
4.2.5 Organización Comunitaria	8
4.2.6 Infraestructura	8
4.3 Descripción de actividades productivas	9
4.3.1 De la finca	9
4.3.2 Del caserío	9
5. Resultados	10
6. Conclusiones	10
7. Recomendaciones	11
8. Bibliografía	12

## 1. INTRODUCCIÓN

El ejercicio profesional supervisado (EPSA) implementado por la Facultad de Agronomía de la Universidad De San Carlos de Guatemala, permite al estudiante poner en práctica de forma integral los conocimientos adquiridos durante el período de formación, en los lugares donde es oportuno aportar algún tipo de servicio en cualquier rama que sea necesario, para contribuir a solucionar las dificultades de desarrollo local.

El EPSA es una muy buena oportunidad, lejos de las aulas, en donde se pueden apreciar de forma real las condiciones sociales, políticas, culturales, alimentarias, económicas, etc. desde un punto de vista más crítico, y nos mueve a conocer la necesidad de plantear proyectos de beneficio para aquellas localidades con poca atención de parte de las autoridades locales y estatales.

Por otra parte, existe la necesidad de investigación como complemento del desarrollo no solo en el área local, en donde se pueden aprovechar sus resultados. Es necesario conocer todas las condiciones posibles para formar un estudio completo del lugar de interés, y mediante esta información, generar, proponer decidir y ejecutar proyectos, que en un futuro cercano fomenten desarrollo del lugar y en consecuencia desarrollo del país.

Con el presente trabajo se trató de visualizar paralelamente las condiciones actuales de la finca Panimachabac de propiedad privada y el caserío con el mismo nombre, con el propósito de conocer los recursos naturales, condiciones económicas, socioeconómicas y culturales, para realizar una integración, que deje como resultado aspectos que necesiten ser fortalecidos. El presente trabajo se realizó de enero a noviembre del 2004.

## **2. OBJETIVOS**

### **GENERAL**

Generar información descriptiva y diagnóstica de la finca y el caserío Panimachabac, Tecpán, Chimaltenango.

### **ESPECIFICO**

Describir las condiciones socioeconómicas, culturales y recursos naturales y su respectivo manejo en la finca y el caserío Panimachabac.

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1 METODOLOGIA**

- A.** Reconocimiento del área de estudio con el propietario de la finca y también del caserío del lugar.
- B.** Caminamientos y observaciones directas en el lugar para conocer los recursos con los que cuenta la finca y el caserío.
- C.** Entrevistas personales con el propietario de la finca y el administrador de la misma.
- D.** Asistencia a reuniones comunales para comprender de una mejor forma los problemas del caserío.
- E.** Consulta de fuentes secundarias, mapas, documentos relacionados.
- F.** Proponer posibles proyectos de acuerdo a las necesidades existentes.

### **3.2 RECURSOS**

Para la elaboración del presente diagnóstico se utilizaron los siguientes materiales:

- A.** Información necesaria tomada de mapas en versión electrónica publicada por el MAGA.
- B.** Información obtenida de planos de manejo forestal del área.
- C.** Computadora e impresora.
- D.** Libreta de campo

## **4. MARCO REFERENCIAL**

### **4.1 DESCRIPCON BIOFÍSICA DEL ÁREA**

#### **4.1.1 UBICACIÓN DE LA FINCA Y EL CASERÍO PANIMACHABAC**

La finca Panimachabac se encuentra en el municipio de Tecpán, del departamento de Chimaltenango. De la ciudad capital, conduciéndose a la finca Panimachabac, se llega por la carretera interamericana CA-1 en donde a la altura del kilómetro 93.5 se toma el desvío de carretera de terracería que conduce a las aldeas Chajalajjá, Panimachabac, Paquip y otras comunidades y caseríos. Latitud N 14° 50'16" y longitud O 90° 59'10".

#### **4.1.2 SUELOS**

Los suelos de esta región se clasifican como suelos de la serie Totonicapán en la Clasificación de Reconocimiento de los Suelos de la República de Guatemala de Simmons, Tarano y Pinto 1959 (4). Adecuado para la actividad forestal, no ha sufrido erosiones eólicas o hídricas. Los suelos pertenecen a la división fisiográfica, Tierras Altas Volcánicas.

#### **4.1.3 HIDROLOGÍA**

Dentro de la finca existen varios nacimientos de agua que forman riachuelos que por el relieve del lugar toman dirección hacia la vertiente del río Motagua. Es una zona donde prácticamente el agua es abundante como consecuencia de una adecuada recarga hídrica.

#### **4.1.4 CLIMA**

Por la elevación que va de los 2350 msnm a los 2800 msnm la temperatura predominante anual promedio es de 14 °C a 16 °C, con precipitaciones promedio anual que van de los 1700 mm a 2300 mm (3)

#### **4.1.5 ZONA DE VIDA**

Según Holdridge (2) la zona de vida es montano bajo muy húmedo (mbmh), la época lluviosa es del mes de mayo al mes de octubre y la época seca va del mes de noviembre al mes de abril. La aparición de heladas se da en los meses de noviembre a enero.

#### 4.1.6 VEGETACIÓN

##### A. ESPECIES PRESENTES

Entre las más comunes están: *Pisea jezoensis*, *Abies sachalinensis*, *Chamaecyparis pisifera*, *Trujopsis dolabrata*, *Sciadopitys verticillata*, *Cryptomeria japónica*, *Pinus densiflora*, *Abies firma*, *tsuga sieboldii*, *Quercus sp*, otras coníferas y latifoliadas.

##### B. TIPOS DE CUBIERTA FORESTAL

En general existen en la finca cinco tipos de cubierta forestal sujetas a manejo:

- a. Reforestaciones puras de coníferas en plantaciones por compromiso de aprovechamientos anteriores por medio de tala rasa menores de 11 años, plantados con pino (*P. pseudostrobus*) y con ciprés (*C. lusitánica*)
- b. Reforestación de ciprés y pino de 18 a 20 años por compromiso, en terreno de aprovechamientos en tala raza.
- c. Reforestación con ciprés, pino y pino blanco de 18 a 20 años en el bosque mixto original por compromiso de aprovechamiento por el método de corta selectiva.
- d. Área de protección de riachuelo. Rodal de especies nativas latifoliadas.
- e. Plantación de pinabete para producir árboles de navidad. Se mantienen podados y atendidos para el propósito de producción.

#### 4.1.7 USO ACTUAL Y CAPACIDAD DE USO DE LA TIERRA

##### A. DE LA FINCA

El uso del suelo de la finca Panimachabac es puramente forestal de conservación y de aprovechamiento. Existen 20 rodales distribuidos a conveniencia, dentro de los cuales destaca el rodal de producción de árboles de pinabete para navidad, que comprende un área de 3.6 has. Es una plantación establecida hace 30 años, con plantas provenientes de semilla, de recolecciones en regiones en donde se desarrolla bien esta planta (cerro María Tecún, Quiché, Cumbre del Aire, San Francisco el Alto y Momostenango, Sierra de los Cuchumatanes, Chancol, San Mateo Ixtatán, Huehuetenango, Volcán Zunil, Montañas del sur-este de Palestina de los altos, Quetzaltenango, Volcanes Tajumulco, Tacaná en San Marcos y región Serchil), González (1).

## **B. DEL CASERÍO**

Los pobladores del caserío poseen parcelas con un área promedio de 10,640 m<sup>2</sup>, área que se distribuye de la manera siguiente: un 65% del área total es forestal y el resto para agricultura con excedente, algunos tienen sistemas agroforestales tipo Taungya (coníferas con arveja china o maíz), regularmente.

### **4.1.8 CONSERVACIÓN**

#### **A. DE LA FINCA**

En la parte que le corresponde a las Mercedes existe un área de 1.5495 has. de bosque natural protegido. En la parte Panimachabac I, un área de 0.2395 has. Y en la parte de Panimachabac II, un área de 1.83792 has.

#### **B. DEL CASERÍO**

Como se mencionó anteriormente, de la cantidad de tierra que los miembros de la comunidad poseen, en promedio conservan el 65% de área con bosque, únicamente talan en circunstancias de crisis económica, de uno a tres árboles y posteriormente reforestan.

## **4.2 CARACTERIZACIÓN SOCIOECONÓMICA**

### **4.2.1 ASPECTOS DEMOGRÁFICOS**

Según el censo organizado y realizado por el comité del caserío, existen 49 familias; aproximadamente 200 personas incluyendo a niños.

### **4.2.2 HISTORIA**

El nombre proviene de la lengua Cakchiquel que significa lugar de los charcales, nombre que se lo da una parte pantanosa que pertenece a la finca las Mercedes Panimachabac. El caserío Panimachabac era parte de la comunidad Chajalajyá que hace aproximadamente 6 años migraron a donde hoy en día es el caserío. Al inicio eran escasas las personas que hablaban español y se carecía de escuela, fue al poco tiempo que el Ing. Ronald Estrada dono un predio, en donde se construyeron dos aulas de madera, que posteriormente pasaron a ser de estructura adecuada para tal fin tal fin.

### **4.2.3 CARACTERÍSTICAS CULTURALES**

El total de la población del caserío es indígena hablan los idiomas Cakchiquel y Español, poseen vestimenta indígena característica del lugar, aunque cabe mencionar que el 70% ya no lo usa.

### **4.2.4 TENENCIA DE LA TIERRA**

Las fincas Panimachabac I y Panimachabac II son propiedad del ingeniero Ronald E. Estrada H. Inscritas en el registro de la propiedad con los números 38416, folio 58, libro 278 de Chimaltenango y numero 38420 folio 62, libro 278 de Chimaltenango, respectivamente. La finca las Mercedes Panimachabac es propiedad de la Licenciada Rita Mireya Estrada Menéndez y del Ingeniero Rafael Enrique Estrada Menéndez, inscrita con el número 604, folio 197, libro 381 de Chimaltenango.

En el caserío Panimachabac, las personas que tienen registrada su propiedad son escasas, alrededor de un 5%, el resto únicamente poseen un escritura publica que es reconocida únicamente por la municipalidad de Tecpán.

### **4.2.5 ORGANIZACIÓN COMUNITARIA**

En el caserío existe un comité bien definido que vela por los intereses de sus habitantes, compuesto por un alcalde auxiliar nombrado por el caserío y sus respectivos asistentes. En la zona también se halla un comité formado por representantes de 26 comunidades que se encargan del buen estado en verano e invierno de la carretera de terracería.

### **4.2.6 INFRAESTRUCCTURA**

En la finca habita la familia del señor Alberto Lares quien es el que administra y cuida de los recursos, cuentan con una casa de alojamiento para la familia, una bodega en donde se tiene todo el equipo que se utilizada para el funcionamiento de la finca (sierras eléctricas, motosierras y otro tipo de maquinaria), también se tiene una pileta para tratar la madera después de descortezarla y un patio de secado.

#### **El caserío cuenta con:**

- A.** Escuela y salón comunal, el terreno fue donado y los fondos para construirla fueron aportados por el caserío, la municipalidad y la organización internacional (PAVA).
- B.** Existe también una blockera, instalada hace muy poco tiempo.

- C. Carretera de terracería en buen estado.
- D. Las casas están hechas, en la parte baja de block, la parte alta de madera y el techo de lámina.
- E. 2 tiendas.

### **4.3 DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES PRODUCTIVAS**

#### **4.3.1 DE LA FINCA**

Con anterioridad se mencionó que la finca en toda su extensión posee 20 rodales distribuidos a conveniencia, de aprovechamiento y de conservación.

#### **4.3.2 DEL CASERÍO**

Los habitantes del caserío cultivan maíz, arveja china y brócoli, regularmente a partir del mes de febrero en donde la probabilidad de que se presente una helada es baja (para el caso de hortalizas). Aunque cabe mencionar que el cultivo de hortalizas es una opción no muy aceptada debido al bajo desarrollo que presenta, debido a lo siguiente: factores naturales. Alta humedad relativa adecuada para la proliferación de hongos, pH ácido debido a que el suelo por mucho tiempo estuvo cubierto de bosque y la descomposición de toda esa cantidad de materia orgánica con el tiempo le dio esa característica y factores técnicos. En cuanto al desconocimiento de prácticas adecuadas para manejar de una mejor forma este tipo de cultivo. Por lo anterior mencionado la agricultura es funcional prácticamente solo para maíz, aunque este sea tardío, de 9 - 10 meses (abril – diciembre o enero); Obtenida la cosecha almacenan una cantidad para semilla, otra parte la venden y otra para consumo propio. Los agricultores se dedican también a actividades de manejo forestal en sus parcelas o cuando los emplean fincas vecinas.

## 5. RESULTADOS

La unidad que forman las tres fincas (Panimachabac I, Panimachabac II y las Mercedes Panimachabac) se encuentra totalmente forestada con diferentes manejos. El rodal de pinabete (*Abies guatemalensis*) manejado para árboles de navidad, comprende un área de 3.6 has, genética y fenotípicamente es heterogéneo.

En cuanto al caserío, cuando sus habitantes no están ocupados en el cuidado del maíz u otro cultivo, se dedican a la actividad forestal, o fincas vecinas los emplean para realizar talas, podas, reforestaciones masivas, etc. por tal razón el nivel de ingresos es bajo y se basa de la venta de la cosecha de maíz y de la venta de mano de obra en fincas vecinas.

La poca productividad de cultivos y factores naturales son componentes que impiden la diversificación de actividades económicas, problema que talvez se podría solucionar con asesoría técnica, ya que el lugar es de vocación puramente forestal.

El avance de la frontera agrícola en este caso es únicamente un tema que no tiene relevancia, ya que el caserío tiene conciencia de los beneficios a corto y largo plazo que tiene el conservar el bosque, por tal motivo, cuando por necesidad talan, siembran una cantidad equivalente de árboles.

## 6. CONCLUSIONES

Los 20 rodales de coníferas (pino y ciprés) y de conservación distribuidos a conveniencia en la finca Panimachabac son manejados adecuadamente con su respectivo plan de manejo actualizado.

Las principales actividades agrícolas del caserío Panimachabac son el cultivo del maíz y fríjol, el primero con excedente, que lo venden en el mercado de Tecpán o Chimaltenango y el segundo de subsistencia. Recientemente más personas están implementando el cultivo de brócoli en la temporada de invierno. Es relevante mencionar que algunas personas del caserío tienen un sistema agroforestal Taungya.

El pinabete como se sabe tiene grandes dificultades en cuanto a su propagación por semilla, presenta un 8% de germinación, motivo por el que propagarlo asexualmente seria un gran

logro y lejos de ser una especie en peligro de extinción puede ser una opción forestal para las comunidades ubicadas en las áreas en donde alcanza su ideal desarrollo

El caserío carece de diversificación de actividades productivas.

## **7. RECOMENDACIONES**

Si en el futuro ya no se desea aprovechar el rodal de pinabete de la finca Panimachabac, plantearlo ante las organizaciones correspondientes como un banco de germoplasma.

Diversificar las actividades productivas en el caserío Panimachabac a través de proyectos forestales, que permitan el uso de los subproductos provenientes del manejo forestal en la fabricación de artesanías.

En la época que las condiciones lo permitan (marzo a octubre) en cuanto a lo agrícola se refiere, implementar el cultivo de hortalizas, pero, no sin antes adquirir conocimientos mediante la capacitación de los campesinos en el tema, con el objetivo de mejorar las técnicas que actualmente implementan.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. González, JH. 1979. Caracterización ecológica de las comunidades de pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) en Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 79 p.
2. Holdridge, LR. 1977. Clasificación de zonas de vida y formaciones vegetales de Guatemala. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
3. IGN (Instituto Geográfico Nacional, GT). 1980. Diccionario geográfico nacional. Comp. Francis Gall. Guatemala. tomo 3.
4. Simmons, CS; Tarano, JM; Pinto, JH. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la republica de Guatemala. Guatemala, José de Pineda Ibarra. 1,000 p.



**CAPITULO II  
INVESTIGACIÓN**

**PROPAGACIÓN IN VITRO DE PINABETE (*Abies guatemalensis* Rehder) POR MEDIO DE  
LA MULTIPLICACIÓN DE ÁPICES DE BROTE  
IN VITRO PROPAGATION OF GUATEMALAN FIR (*Abies guatemalensis* Rehder)  
THROUGH THE MULTIPLICATION OF TERMINAL SHOOTS**

## INDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	18
2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	20
3. MARCO TEÓRICO	21
3.1. Marco Conceptual	21
3.1.1 Descripción de la especie	21
A. Descripción botánica de <i>Abies guatemalensis</i> Rehder	21
B. Clasificación taxonómica	24
C. Latencia	24
D. Distribución	25
E. Hábitat	25
3.1.2 Micropropagación	26
A. Ventajas y desventajas de la micropropagación	26
B. Etapas de la micropropagación	27
C. Factores que influyen en la micropropagación	28
a. Medio de cultivo	28
D. Oxidación	31
a. Antioxidantes	32
E. Desinfección de materiales vegetales	33
F. Condiciones de laboratorio	34
a. Temperatura	34
b. Iluminación	34
c. Aireación	34
d. Procesos defectuosos de laboratorio	34
e. Vetrificación	35
G. Reguladores de crecimiento	35
a. Auxinas	35
b. Citocininas	38
c. Giberelinas	42
H. Tipos de cultivos <i>in vitro</i>	43
a. Cultivo de plántulas	43
b. Cultivo de embriones	44
c. Cultivo de órganos	44
d. Cultivo de células	44
e. Cultivo de protoplasto	44
3.2. Marco referencial	45
3.2.1 Ubicación del experimento	45
A. Condiciones ambientales	45
3.2.2 Ubicación del área donde se recolecta el material vegetal	45
B. Localización	45
C. Zona de Vida	45
3.2.3 Estudios realizados	45
3.2.4 Estudios realizados en otras especies de Pinaceae	47
4. OBJETIVOS	48
4.1. General	48
4.2. Especifico	48
5. HIPOTESIS	49
6. METODOLOGIA	49
6.1. Preparación de medios de cultivo	49
6.1.1 Preparación de soluciones patrón	49

A.	Solución patrón de macronutrientes	49
B.	Solución patrón de micronutrientes	50
C.	Solución Patrón de hierro	50
D.	Solución patrón de vitaminas	51
E.	Solución patrón de inositol	51
6.1.2	Preparación de una solución de reguladores	51
6.1.3	Preparación de medio de cultivo	51
6.2.	Fase experimental	52
6.2.1	Fase I (Prevención de oxidación, contaminación por microorganismos y sobrevivencia de los tejidos)	52
A.	Colecta del material vegetal	53
B.	Desinfección del material vegetal	53
C.	Disección y extracción del explante	53
D.	Prueba de antioxidantes	53
E.	Análisis de la información	54
6.2.2	Fase II (Respuesta del tejido a la inducción de brotes, callo y crecimiento)	54
F.	Siembra	54
G.	Descripción del experimento	55
H.	Descripción de los tratamientos	55
6.3.	Variables respuesta	55
6.4.	Análisis de la información	56
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
7.1.	Respuesta de los explantes a la oxidación	58
7.2.	Respuesta de los explantes a la inducción de brotes	59
7.3.	Inducción de callo	61
7.4.	Respuesta al crecimiento (Elongación)	62
8.	CONCLUSIONES	66
9.	RECOMENDACIONES	67
10.	BIBLIOGRAFIA	68

## INDICE DE CUADROS

		Página
Cuadro 1	Tiempo mínimo requerido para la esterilización de diferentes volúmenes de medio de cultivo.	31
Cuadro 2	Desinfectantes comúnmente utilizados en cultivo de tejidos de plantas.	31
Cuadro 3	Macronutrientes necesarios para preparar una solución patrón.	49
Cuadro 4	Micronutrientes necesarios para preparar una solución patrón	50
Cuadro 5	Tratamientos para la prueba de antioxidantes.	54
Cuadro 6	Tratamientos para evaluar la inducción de brotes de pinabete.	55
Cuadro7	Respuesta de los explantes a la oxidación, 15 días después de la siembra.	58
Cuadro 8	Respuesta de los explantes a la oxidación, 30 días después de la siembra.	58
Cuadro 9	Respuesta de los explantes a la oxidación, 60 días después de la siembra.	59
Cuadro10	Respuesta de los explantes a la inducción de brotes.	60
Cuadro 11	Respuesta de los explantes a la inducción de callo.	61
Cuadro 12	Respuesta de los explantes al crecimiento	63

## INDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Hojas de <i>Abies guatemalensis</i> Rehder.	21
Figura 2	Estróbilo masculino de <i>Abies guatemalensis</i> Rehder.	22
Figura 3	Escamas del estróbilo femenino de <i>Abies guatemalensis</i> Rehder.	22
Figura 4	Estróbilos maduros de <i>Abies guatemalensis</i> Rehder.	23
Figura 5	Semillas aladas de <i>Abies guatemalensis</i> Rehder.	23
Figura 6	Árbol adulto de <i>Abies guatemalensis</i> Rehder.	24
Figura 7	Estructura molecular del ácido naftalenacético.	38
Figura 8	Estructura molecular del ácido diclorofenoxiacético.	38
Figura 9	Estructura molecular de la Adenina.	40
Figura 10	Estructura molecular de la Bencilaminopurina.	41
Figura 11	Estructura molecular de la 2-isopentenil-adenina.	41
Figura 12	Efecto de la interacción Auxina-citocinina en cultivo de tejidos.	41
Figura 13	Estructura molecular del ácido giberélico.	42
Figura 14	Respuesta a la inducción de brotes.	60
Figura 15	Respuesta a la inducción de callo.	62
Figura 16	Respuesta de los explantes al crecimiento (elongación).	63
Figura 17	Diferentes respuestas de los explantes	64

## 1. INTRODUCCIÓN

Guatemala es un país rico en recursos naturales, su geografía permite el desarrollo de una variedad muy amplia de especies, dentro de esa variedad se encuentran las especies forestales que constituyen un patrimonio ambiental, cultural y comercial, para la región y para el mundo.

El pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) es una de esas especies. Se desarrolla a altitudes entre 2700 a 3000 msnm y se localiza en el cerro María Tecún, Quiché; Cumbre del Aire, San Francisco el Alto y Momostenango; Sierra de los Cuchumatanes, Chancol, San Mateo Ixtatán, Huehuetenango; Volcán Zunil, Montañas del sur-este de Palestina, Quetzaltenango; Volcanes Tajumulco, Tacaná en San Marcos y región Serchil, según González 1979 (13).

*Abies guatemalensis* Rehder ha sido considerada una especie en peligro de extinción por la reducida viabilidad de la semilla, el aborto prematuro de embriones, por el mal desarrollo del endospermo y se sabe también que el género de insecto *Megastimus* spp., del orden Himenóptera y de la familia Chalcididae, ha sido reportado como devorador de semillas en *Abies* sp. Estos problemas que presenta la semilla de pinabete, entre otras características, es lo que ha provocado una baja regeneración natural en los bosques, Coulson (4).

Así mismo otro problema por el que atraviesa el pinabete es la creciente demanda de ramilla para armar árboles navideños principalmente en épocas reproductivas, lo cual reduce la producción de semilla y en consecuencia dificulta la regeneración natural de la especie.

Por lo anteriormente mencionado, en la presente investigación se evaluó la respuesta del pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) a su propagación *in vitro*, con el objetivo de desarrollar un procedimiento efectivo para su propagación asexual. Se partió de ápices de brote como tejido inicial. La investigación se dividió en dos fases: en la primera fase se evaluaron tres tipos de antioxidantes a tres concentraciones cada uno, lográndose establecer un antioxidante que controló efectivamente la oxidación. La segunda fase consistió en la evaluación de los reguladores de crecimiento, Bencilaminopurina (BAP) y Ácido Naftalenacético (ANA), ambos a tres concentraciones. En tal evaluación los explantes respondieron en tres formas diferentes. El medio utilizado fue WPM (Woody Plant Medium).

Para la realización de esta investigación se hizo uso de las instalaciones del laboratorio de cultivo de tejidos de la Subárea de Manejo y mejoramiento de Plantas, Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos y tuvo una duración de 13 meses (Marzo del 2004 - abril del 2005).

## 2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El pinabete (*Abies guatemalensis Rehder*) es una especie que presenta dificultades en su propagación por medio de semilla botánica, por registrar porcentajes muy bajos de germinación, como lo reporta El Banco De Semillas Forestales Del Instituto Nacional de Bosques -INAB- que es de 8% o menos.

La falta de métodos alternativos efectivos de propagación que permitan en la medida de lo posible incrementar el número de plantaciones, agrava aún más la situación y redonda en el peligro en el que se encuentra la especie. Por lo que es necesario explorar nuevos métodos de propagación. Un método es el cultivo de tejidos, el cual consiste en tomar una porción de tejido vegetal, colocarlo en un medio nutritivo adecuado con determinadas concentraciones de reguladores de crecimiento, bajo medidas estrictas de asepsia, para lograr su desarrollo y finalmente obtener una planta completa con características de interés.

### 3. MARCO TEORICO

#### 3.1 MARCO CONCEPTUAL

##### 3.1.1. DESCRIPCION DE LA ESPECIE

###### A. Descripción Botánica de (*Abies guatemalensis* Rehder)

Esta planta pertenece a la familia Pinaceae, la que posee hojas lineales dispuestas helicoidalmente y sus órganos femeninos se convierten en estróbilos leñosos. Estos árboles aciculifolios tienen sus hojas verdes todo el año y más o menos xeromorfas.

En el pinabete las hojas viven, según las circunstancias entre 5 y 9 años, raramente más. Se diferencian en dos porciones: base y lámina. Esta representa la “aguja” propiamente dicha, caediza; la base es concrecente con el eje y le reviste a modo de un “cojinete foliar”, bien visible, González 1979 (13).

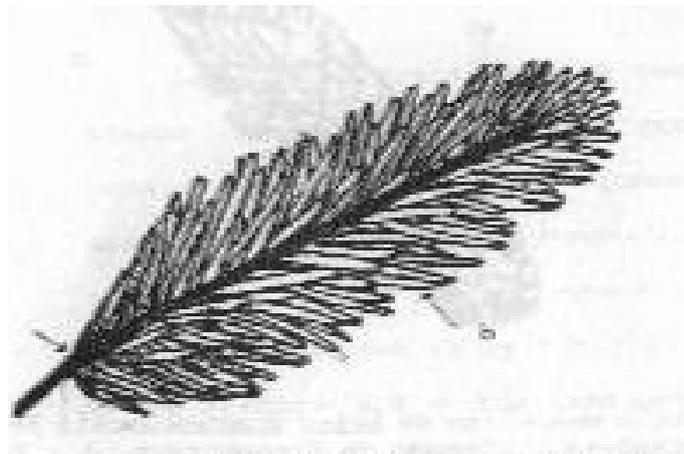


Figura 1. Hojas de *Abies guatemalensis* Rehder  
b = base, l = lámina. (Tomado de Strasburger,  
E.; Noll, F; Schimper, A. F. W. 1953, ref. 29)

En cuanto a su reproducción , está es básicamente sexual, por la cual estos árboles mantienen sus poblaciones, se adaptan a las condiciones cambiantes del medio ambiente y persisten de esta manera, cuando las células espermáticas masculinas y los óvulos femeninos se unen para formar un cigoto, Peñalonzo y Zanotti (23).

De acuerdo con Strasburger (29) los órganos sexuales del pinabete son estrobiláceos, los masculinos “tienen unas cuantas hojitas escuamiformes en su parte inferior a modo de perianto sencillo- y por encima numerosos estambres dispuestos helicoidalmente”

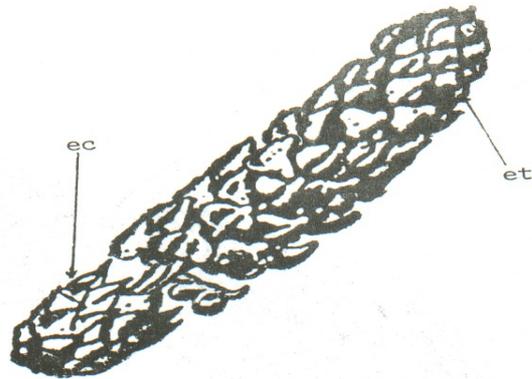


Figura 2. Estróbilo masculino de *Abies guatemalensis* Rehder  
(Tomado de Strasburger, E.; Noll, F; Schimper  
A. F. W. 1953, ref. 29 )

Los órganos femeninos “se parecen al principio a los masculinos, pues están constituidos por un brote corto rodeado en la base por algunas escamitas involucrables”. Se insertan en el eje, dispuestas helicoidalmente, numerosas escamas tectrices estériles, y de las axilas de cada una brota una escama fructífera donde se encuentra la semilla, González (13).

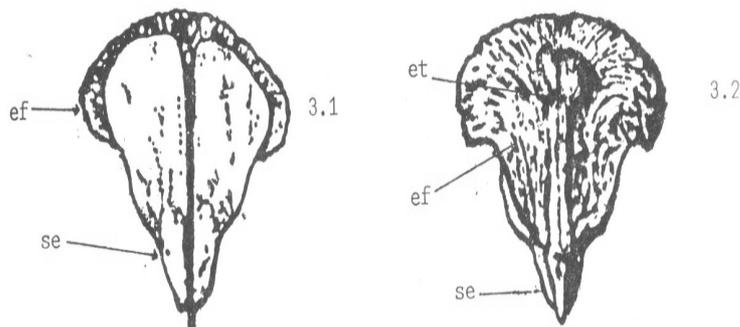


Figura 3. Escamas del estróbilo femenino de *Abies guatemalensis* Rehder.

et = escama tectriz, ef = escama fructífera, se = semillas, 3.1= vista por arriba, 3.2 = vista por abajo.

(Tomado de Strasburger, E.; Noll, F Schimper, A. F. W. 1953, ref. 29).

Las escamas fructíferas se desarrollan al mismo tiempo o después de las tectrices y crecen considerablemente al transformarse las partes sexuales en estróbilos, constituyendo las recias

escamas de la piña. Esta piña o cono mide en su madurez entre 8.5 y 11.5 centímetros de largo y entre 4.5 y 5.0 centímetros de diámetro, siendo cilíndrico y resinoso, González (13)

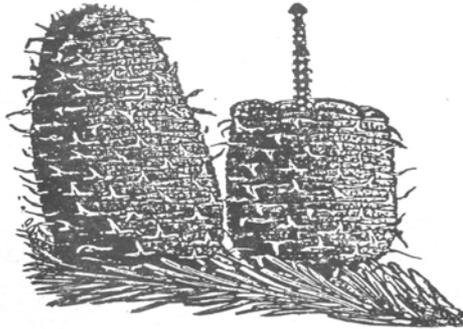


Figura 4. Estróbilos maduros de *Abies guatemalensis* Rehder. (Tomado de Strasburger, E. ; Noll, F; Schimper, A. F. W.1953, ref. 29)

Los órganos femeninos siempre se encuentran “orientados hacia lo alto cuando están a punto de ser polinizados”, esta posición la conservan hasta llegar a la madurez de los estróbilos, y entonces las escamas se desprenden aisladamente del raquis. Las semillas miden entre 8 y 10 milímetros de largo son de color castaño claro, están provistas de un ala abovada y membranosa como órgano de vuelo que mide hasta 15 milímetros de ancho. La época de producción de semillas en bosques del país es durante los meses de noviembre, diciembre y enero, González (13).

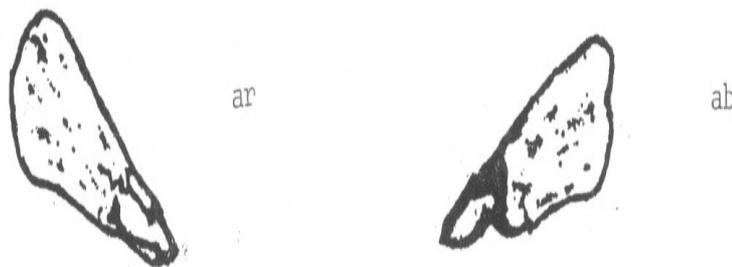


Figura 5. Semillas aladas de *Abies guatemalensis* Rehder. ar = vistas por arriba, ab = vistas por abajo. (Tomado de Strasburger, E.; Noll, F; Schimper, A. F. W.1953, ref. 29)

Esta especie tiene corteza ligeramente surcada y de color gris-moreno en árboles adultos, mientras que en los árboles jóvenes corteza lisa y color gris blanquecino. Las raíces crecen asociadas en forma congénita con determinadas especies de hongos que se encuentran en el suelo, la asociación de los tejidos de las raíces con el micelio del hongo se conoce como

micorriza. Estos árboles llegan a medir hasta 50 metros de altura, con diámetros a la altura del pecho -DAP- de 1.6 metros (13, 23).



Figura 6. Árbol adulto de *Abies guatemalensis* Rehder.  
(Tomado de Peñalonzo, R.; Zanotti, J.R. ref. 23)

## B. Clasificación Taxonómica según el sistema Cronquist (5)

REINO	Vegetal
SUBREINO	Embriobionta
DIVISIÓN	Pinophyta
CLASE	Pinopsida
ORDEN	Pinales
FAMILIA	Pinaceae
GENERO	Abies
ESPECIE	<i>A. guatemalensis</i> Rehder <i>A. guatemalensis</i> var. <i>Tacanensis</i> (Lundell) Martínez <i>A. guatemalensis</i> var. <i>Jaliscana</i> Mart.
NOMBRES COMUNES	Pashaque, pinabete abeto.

## C. Latencia

Solo unas plantas funcionan de manera activa cerca del punto de congelación, en general, tales plantas se vuelven latentes o quiescentes, condiciones en las que permanecen vivas pero presentan poca actividad metabólica. Tal fenómeno lo presentan las plantas que se desarrollan en latitudes altas. Las yemas y las hojas de muchas plantas siempre verdes presentan esta

reducción en la actividad durante el invierno y las perennes deciduas pierden sus hojas y forman yemas inactivas especiales.

Parece apropiado que la propia temperatura pueda tener un desempeño regulatorio en la supervivencia de plantas en regiones frías. La condición latente o quiescente de yemas y hojas siempre verdes con frecuencia da lugar a una respuesta a bajas temperaturas, y típicamente los días cortos acentúan los efectos de éstas. Después, el crecimiento subsecuente en primavera depende muchas veces de una exposición prolongada de las yemas del invierno al frío del invierno. Las yemas acumulan o suman los periodos de exposición al frío. Con ello miden la duración del invierno y anticipan la primavera, que es cuando se puede reiniciar con seguridad el crecimiento y perder cierta resistencia.

La retención de agua acelera con frecuencia el desarrollo de la latencia, tal como lo hace la restricción de nutrientes minerales, en particular el nitrógeno. Es probable que esto sea importante para especies que llegan a la latencia antes de que se presenten las temperaturas elevadas y las sequías en los trópicos o en climas secos. También se sabe de situaciones en las que la latencia se presenta en respuesta a una duración variable del día.

La verdadera latencia es precedida por una latencia parcial de la yema, y puede revertirse con facilidad mediante temperaturas moderadas y días largos. Sin embargo, los intentos por inducir un crecimiento continuo fracasan gradualmente y es entonces cuando la planta llega a latencia verdadera.

La morfología es importante en los fenómenos de latencia, en general, una yema latente tiene internudos muy reducidos y hojas especialmente modificadas conocidas como escamas de la yema. Estas escamas impiden la desecación, aíslan brevemente contra la pérdida de calor y restringen el movimiento del oxígeno al meristemo que está debajo.

En algunas especies se presenta la latencia a mitad del verano (en particular en especies siempre verdes), temporada en la cual los tallos cesan de alongarse durante cierto período. En general, esta latencia se rompe mediante una exposición a días más largos, Salisbury (25).

#### **D. Distribución**

El *Abies guatemalensis* Rehder. se encuentra distribuido desde el sur de México hasta Guatemala, El Salvador y honduras.

## E. Hábitat

En Guatemala las plantaciones de *Abies guatemalensis* Rehder, se encuentran en medios montañosos subtropicales templados húmedos, en alturas comprendidas entre 2700 a 3000 msnm, con precipitaciones de 1500 a 3000 mm anuales y un rango de temperatura de  $-12$  a  $14^{\circ}\text{C}$ . Se encuentra asociado a especies como *Pinus ayacahuite* Ehren, *Cupressus lusitánica* Miller. y *Pinus rudis* Ende, González (13).

Se localiza en el cerro María Tecún, Quiche, Cumbre del Aire, San Francisco el Alto y Momostenango, Sierra de los Cuchumatanes, Chancol, San Mateo Ixtatán, Huehuetenango, Volcán Zunil, Montañas del sur-este de Palestina de los Altos, Quetzaltenango, Volcanes Tajumulco y Tacaná, en San Marcos y Región Serchil.

### 3.1.2. MICROPROPAGACIÓN

La micropropagación es un medio de multiplicación en un medio artificial y aséptico que a partir de pequeñas porciones de planta tales como semillas, embriones, tallos, brotes de tallos y de raíces, células y polen, se produce una planta entera (31).

Según Hartmann y Kester (14) el éxito de la micropropagación varía según los explantes que se utilizan y la aplicación de hormonas apropiadas. Los explantes de punta de tallo se pueden tomar de segmentos de yemas laterales, que esencialmente son estacas de un solo nudo. Los explantes de un solo nudo se establecen mediante el alargamiento del meristemo terminal, acompañado por un desarrollo limitado de los meristemos axilares. Las fases de multiplicación resultan de la suspensión del meristemo terminal y de la estimulación de yemas axilares para que crezcan y se alarguen. La división respectiva y la transferencia de propágulos a un nuevo medio de cultivo conducen a un considerado incremento, pero la cantidad está limitada por el número de yemas axilares presentes en el explante. La producción de brotes axilares puede ir acompañada de la proliferación de yemas que se formen en el propágulo. En este caso se puede obtener tasas de multiplicación más elevadas ya que el incremento no depende del número de nudos. La propagación por punta de tallo se adapta para la propagación *in vitro* de casi cualquier especie de planta, si se conoce la secuencia y el requerimiento de cultivo apropiado. A menudo este método es más preferible que otros debido a que tiene menos probabilidad de producir cambios genéticos.

## **A. Ventajas y desventajas de la micropropagación**

Efferson (1987) (8) menciona que la micropropagación presenta las siguientes ventajas y desventajas:

### **a. Ventajas**

- i.** Propagación acelerada: Es posible teóricamente en un año a partir de una sola planta, un millón de clones de ella.
- ii.** Ahorro y ganancia de espacio: En espacio reducido es posible mantener cantidades considerables de clones que servirán de semilla en el campo, por área disponible. Permite hacer uso de área vertical, acumulando varios niveles para el efecto.
- iii.** Ausencia de infecciones y factores climáticos adversos: Debido a las condiciones asépticas en que se tienen los explantes están libres de contaminantes, por lo que se cuenta con material que tiene la capacidad de someterse a pruebas más rigurosas de cuarentena.
- iv.** Disponibilidad inmediata y permanente del material: Permite el acceso oportuno a la micropropagación en épocas en que las condiciones de campo no son las adecuadas.

### **b. Desventajas**

- i.** Altos costos de instalación y mantenimiento del laboratorio.
- ii.** Necesidad de mantener mano de obra calificada.
- iii.** Falta de presión de selección de los materiales con que se cuenta.
- iv.** Pérdida de variabilidad.

## **B. Etapas de la micropropagación**

La micropropagación se realiza en las siguientes etapas:

### **a. Fase de iniciación:**

Esta etapa consiste en aislar el ápice vegetativo, esterilizando en forma superficial y luego colocarlo en un medio de proliferación.

### **b. Fase de proliferación:**

En la fase de proliferación se estimula la formación y multiplicación de brotes. El medio de proliferación es comúnmente inorgánico de Murashige y Skoog (1962) con un balance de concentraciones de citocininas/auxinas.

La transferencia consiste en tomar el cultivo de brotes y cortarlo con un bisturí en brotes individuales e introducirlos en un nuevo medio de proliferación. Así se puede establecer ciclos de multiplicación cada 4 a 6 semanas. Este proceso se puede continuar más o menos por un año. La tasa de multiplicación varía de 2 a 8 dependiendo de la variedad. Cuando el número adquirido está alcanzando, se separa los brotes en forma individual para subcultivarlas en un medio apto para la formación de raíces, lo cual forma la segunda etapa, la de regeneración.

### **c. Fase de regeneración**

En esta etapa se usa un medio de regeneración. El mismo medio Murashige y Skoog (1962) con un balance de concentraciones de citocininas/auxinas específico para cada planta, el cual promueve la prolongación del tallo y la formación de raíces. Esta etapa tiene una duración de unos dos meses. En la última transferencia se puede bajar las concentraciones de nutrientes en el medio Murashige y Skoog y aplicar otra auxina para mejor formación de raíces.

### **d. Fase de aclimatación**

Las plantas sanas desde un tamaño de 7 cm. con raíces bien formadas y con por lo menos tres hojas verdes se pueden transferir al invernadero para climatizarlas a las condiciones fuera de laboratorio. Las primeras semanas se introducen las plantas debajo de plástico, manteniendo la humedad a un 90% y reduciéndola gradualmente hasta completar dos semanas, tiempo a partir del cual las plantas pueden ser transferidas a un vivero, con condiciones adecuadas de temperatura y humedad, finalmente las plantas están listas para ser sembradas en el campo después de dos meses (31).

## **C. Factores que influyen en la micropropagación**

### **a. Medio de cultivo**

#### **i. Agua**

Es el componente que se encuentra en mayor proporción en el medio de cultivo. El agua que se utilice debe de estar destilada y estéril.

#### **ii. Nutrición mineral**

La mayoría de medios de cultivo incluyen en su composición los elementos necesarios esenciales para las plantas: Nitrógeno (nitrato, nitrito o amonio), Fósforo (fosfato), Potasio (fosfato de potasio, nitrato de potasio o cloruro de potasio), Magnesio (sulfato de magnesio), Calcio (cloruro de calcio o nitrato de calcio), Hierro (quelato de hierro), Manganeso (sulfato de

manganeso), Zinc (sulfato de zinc), Cobre (sulfato de cobre), Cobalto (cloruro de cobalto) y Boro (ácido bórico).

### iii. Nutrición orgánica

**Vitaminas:** Son compuestos orgánicos que en bajas concentraciones desempeñan funciones reguladoras catalíticas el metabolismo celular. Las vitaminas comúnmente utilizadas en medio de cultivo son: tiamina (B1), Ácido Nicótico (B3) y piridoxina (B6), de estas solo la tiamina es indispensable en el medio.

los compuestos orgánicos son carbohidratos, sustancias reguladoras de crecimiento, vitaminas aminoácidos y amidas, ciertas purinas y pirimidinas y ácidos orgánicos.

### iv. Componentes naturales

Entre los más utilizados están: leche de coco, agua de coco y extractos de levaduras, pulpa de plátano, emulsión de pescado, jugo de naranja, hidrolizado proteico (caseína), jugo de tomate, etc. En varios casos, estos compuestos inducen a la diferenciación y la producción de células y tejidos eficazmente. Sin embargo, por ser productos complejos, no son estables ni homogéneos, es mejor evitar su uso sobre todo en trabajos de investigación.

### v. Otros componentes

**Fuentes de carbono y energía:** Al extraer parte de la planta y cultivarla in vitro las células no son fotosintéticamente activas y necesitan carbohidratos para su crecimiento y desarrollo, los azúcares además están involucradas en los procesos de diferenciación celular favoreciendo la formación de elementos vasculares y de la clorofila, tienen influencia también sobre la organogénesis.

Los carbohidratos más utilizados son: Sacarosa, glucosa y fructosa en los niveles de 2 al 55 % (p/v).

El azúcar es purificado con acetato, para precipitar impurezas y puede contener alto nivel de zinc que es tóxico para el tejido. La glucosa y la fructuosa deben de ser esterilizadas en frío, a través de filtro.

**vi. Agentes gelificantes para solidificar el medio de cultivo**

**Agar:** Como un gelificante del medio de cultivo, el agar se utiliza más que otros agentes. Sin embargo, no se puede usar uno de muy baja calidad como los que ofrece el mercado, ya que este es impuro y puede inhibir el crecimiento de las vitroplantas. Por consiguiente, se debe utilizar uno con alto grado de pureza. Normalmente, se adiciona entre 0.6 al 1 % al medio de cultivo

**vii. pH (potencial del ion Hidrógeno)**

El pH debe de ser el que no altere la función de las membranas celulares o el sistema buffer del citoplasma. Sus funciones en la regulación fisiológica importantes son: condiciona las sales que permanecen en forma soluble, influye en la asimilación de nutrientes del medio de cultivo y modifica la gelificación del agar. El crecimiento del tejido in vitro en medio líquido es positivo a pH 5.0. En medios gelificados con agar, el pH debe de ser ajustado a 5.8 con Hidróxido de sodio 1 ó 0.1 N. El pH varía conforme avanza el periodo de incubación.

**viii. Contaminación**

La contaminación provoca cuantiosas pérdidas en la micropropagación masiva y hace ineficiente económicamente algunos procesos. La contaminación en cultivo de tejidos puede originarse de dos fuentes: Externos o internos. Los primeros llamados exógenos, se encuentran en todas partes. Las esporas de estos organismos se mueven en las corrientes de aire, sobre partículas de polvo. Los microorganismos, sistémicos o endógenos, son los que se encuentran en el interior del tejido del explante, ya sea en espacios intercelulares o intracelulares.

**ix. Esterilización del medio de cultivo**

El medio de cultivo es generalmente esterilizado en el autoclave a 121°C y 1.05 kilogramos por centímetro cuadrado de presión. El tiempo requerido para la esterilización depende del volumen del medio en el recipiente. A continuación se presenta el tiempo mínimo de autoclavado de acuerdo al volumen de medio de cultivo (30).

**Cuadro 1.** Tiempo mínimo requerido para la esterilización de diferentes volúmenes de medio de cultivo.

<b>Volumen del medio por recipiente (ml)</b>	<b>Tiempo mínimo de autoclavado (min)</b>
25	20
50	25
100	28
250	31
500	35
1000	40
2000	48
4000	63

Fuente: Catalogue plant cell culture, SIGMA

La contaminación bacteriana y por hongo es detrimental en el cultivo de tejidos, los explantes son esterilizados en soluciones desinfectantes. Las concentraciones y tiempo para exposición de los desinfectantes utilizados se describe en el cuadro 2.

**Cuadro 2.** Desinfectantes comúnmente utilizados en cultivo de tejidos de plantas.

<b>Desinfectante</b>	<b>Concentración (%)</b>	<b>Tiempo de exposición (min.)</b>
Hipoclorito de calcio	9-10	5-30
Hipoclorito de sodio	0.55-5	-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: Catalogue plant cell culture, SIGMA

#### **D. Oxidación**

Según Muller L. & A. Krikorian (1385), citado por Cámara (1), La oxidación es una reacción originada por un grupo de sustancias aromáticas llamadas fenoles que son derivados del benceno, las cuales son muy frecuentes en el reino vegetal en forma de éteres y glucósidos, algunos son de olor agradable, pero otros al oxidarse provocan un fenómeno en el que forman frecuentemente compuestos oscuros con propiedades antisépticas que como consecuencia pueden impedir en el cultivo *in vitro* el desarrollo del explante.

La oxidación de los cultivos *in vitro* es causada por la liberación de fenoles al medio de cultivo, que reacciona con el oxígeno del frasco y producen coloraciones rojas, amarillas y en casos avanzados café oscuro. Éstos compuestos fenólicos son exudados por la herida del tejido dentro del medio, a la vez son atrapados por el agar y acumulados formando un área negra alrededor del explante, resultando la inhibición del crecimiento.

El fenómeno de oxidación se observa especialmente en explantes viejos después de cultivarlos por un largo tiempo, formándose materia orgánica alrededor del explante y el medio de cultivo se torna café oscuro. Algunas especies tienen tendencia de oxidación desde el inicio del cultivo, ocurriendo necrosis o inhibición del crecimiento. La toxicidad por oxidación se cree que ocurre a través de algún complejo químico de fenol orgánico metabólico.

#### **a. antioxidantes**

Muller L. & A. Krikorian (1385), citado por Cámara (1), indican que los antioxidantes son sustancias que se usan durante la preparación de los explantes o que se adicionan al medio para evitar o reducir la oxidación de ciertos compuestos, especialmente derivados de fenoles o polifenoles, que pueden afectar el desarrollo de los explantes.

Lee, citado por López Morales (17) hace las siguientes propuestas para impedir el ennegrecimiento de los explantes.

- Utilizar polivinilpirrolidona (PVP).
- Modificar el potencial redox, a través de agentes reductores o con menor disponibilidad de oxígeno.
- Inactivando las enzimas fenolasas.
- El control más efectivo, son los subcultivos frecuentes y la eliminación de tejidos que se encuentran casi muertos y por lo general se localizan en la base de los brotes.

Ken Okave (22), sugiere los siguientes pasos para evitar el fenómeno de oxidación.

#### **i. Aplicar absorbente de materia orgánica metabólica**

**Carbón activo:** Es común aplicar al medio porque el mismo no es tóxico. Teóricamente se le puede aplicar en cualquier cantidad. Esta sustancia tiene la capacidad de absorber cualquier compuesto químico pero inhibe el funcionamiento de las fitohormonas. Por esta razón normalmente se aplica dentro del rango de 0.6 a 10.0 g/l aplicándose antes de calibrar el pH, ya que lo aumenta.

**Pilivinylpirrolidona (PVP):** la absorción de esta sustancia química es mas limitada, debido a tanto complejo de fenol. La pilivinylpirrolidona tiene varios tamaños moleculares y se disuelve bien en alcohol etílico, sin embargo algunas veces inhibe el crecimiento. Además no se disuelve en el medio y no es común en el mercado. Generalmente se aplica en el rango de 0.1 a 1%.

## ii. Aplicar inhibidor de oxidación

**Ácido ascórbico (vitamina C):** Esta vitamina inhibe la oxidación. Actúa reduciendo el complejo fenólico. Generalmente se mezcla con varias vitaminas. Algunas veces reduce la velocidad de crecimiento por mayor funcionamiento de antioxidación. Normalmente se aplica en el rango de 0.2 a 10 mg/L.

**Hidroquinolina (8HQ hemisulfatado):** Este reactivo inhibe eficientemente la oxidación por fenoles. Tiene características establecidas y una toxicidad leve. Sin embargo, algunas veces reacciona con iones de metal y causa precipitaciones de complejos metálicos. Se aplica en rango de 10 a 100 mg/l.

**L-cisteina:** Es un aminoácido. En una solución neutral o poca básica o alcalina se oxida a cistina por medio del aire, con una solución ácida no se oxida tan fácilmente. Se disuelve en agua, ácido acético, es insoluble en éter, acetona, benceno, carbón bisulfito

Según Cambara (1) se pueden utilizar otros tipos de antioxidantes para prevenir la oxidación:

**Ácido cítrico:** Es un ácido tricarboxilo muy común en las plantas, especialmente frutos; es utilizado en la preparación de explantes y medios, es uno de los compuestos claves del ciclo de Krebs (ciclo de los ácidos).

**Reactivo de Cleland:** Es utilizado para retardar la oxidación, especialmente de grupos  $-SH$  reduce disulfidos cuantitativamente, es sinónimo de Citiotreitól o DTT, Merk Index (20), OKabe (22).

## E. Desinfección de materiales vegetales

Según Ken Okabe (22), algunos materiales están cubiertos alrededor del meristemo por resinas donde no es efectivo el desinfectante. En estos casos solo se puede aislar un meristemo hasta que se obtenga alguno que no este contaminado. Se puede modificar la forma de desinfección para que mejore la tasa de sobrevivencia, agregando por ejemplo:

Alcohol al 70% (30segundos) mas hipoclorito de sodio al 1% (10 minutos) ó hipoclorito de sodio al 3% más Tween 20 (5 minutos) y finalmente se enjuague tres veces con agua esterilizada durante 5 minutos cada vez, ó Alcohol al 70%/30 segundos, más 25 ppm de PCNB

(pentacloronitrobenzeno) más 500 ppm de penicilina G (30 minutos) luego hipoclorito de sodio al 3% más tween 20 (5 minutos) y por ultimo enjuague tres veces con agua esterilizada (5 minutos cada vez).

En lugar de hipoclorito de sodio al 3% se puede cambiar a hipoclorito de calcio al 7%. No es necesario utilizar siempre hipoclorito de sodio.

## F. Condiciones de laboratorio

- a. **Temperatura:** 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*.
- b. **Iluminación:** la luz es requerida para la fotosíntesis de los explantes verdes cultivados *in vitro*. Además la luz es indispensable para regular ciertos procesos morfológicos, considerándose tres factores de importancia:
  - i. **Fotoperíodo:** las plantas requieren un fotoperíodo constante según sus necesidades fisiológicas; por lo tanto, se debe mantener un tiempo apropiado para cada especie de planta normalmente, las vitoplantas se colocan por 123 horas bajo iluminación, y luego el mismo tiempo bajo oscuridad durante un día.
  - ii. **Intensidad lumínica:** bajo iluminación suficiente, las plantas crecen fuertes, con poca altura pero con hojas bien desarrolladas. Mientras tanto, con poca iluminación, crecen débiles, con hojas pequeñas y anormales. Sin embargo no se recomienda una iluminación excesiva, puesto que emite mucho calor, lo cual es negativo para el crecimiento de la plantas. Normalmente, lo mejor es una iluminación de 1000 a 3000 lux, según la especie vegetal.
  - iii. **Longitud de onda de luz:** influye en la división celular y en la diferenciación de órganos. En micropropagación la calidad del espectro de luz parece influenciar los procesos morfogénicos.
- c. **Aireación:** normalmente las plantas producen oxígeno a través de la asimilación de dióxido de carbono y realizan la fotosíntesis; las vitoplantas, debido a las condiciones en que se encuentran, no realizan eficientemente ese proceso. Además hay posibilidades de que se forme el gas etileno que inhibe la diferenciación y promueve la callosidad. Por consiguiente, es necesario que se mantenga oxígeno, lo cual se puede lograr sin cerrar herméticamente los recipientes de cultivo, Okabe (22).

**d. Procesos defectuosos en el laboratorio:** López (17), indica que si algún procedimiento es realizado defectuosamente es probable que incida en consecuencias negativas en el cultivo de tejidos, como puede ser el caso de:

- Fallas en la esterilización del medio de cultivo e instrumentos de disección.
- Fallas en la desinfección superficial aplicada al material vegetal a trabajar.
- Fallas en condiciones asépticas de la cámara de transferencia.
- Fallas de refrigeración y/o ventilación en el cuarto de incubación.

**e. Vitrificación:** la vitrificación es el fenómeno fisiológico que puede causar serios daños, en la fase de multiplicación, consiste en el aumento potencial hídrico de las células que causa el envejecimiento de los tejidos y los vuelve quebradizos. Este defecto, afecta la fotosíntesis y el intercambio de gases por las hojas y más tarde impide el establecimiento ex vitro de plantas micropropagadas.

## G. Reguladores de crecimiento

### a. Auxinas

#### Auxinas sintéticas empleadas

**El ácido indolacético (AIA):** es capaz de producir alargamiento celular y promueve la división celular.

**Ácido diclorofenoxiacético (2,4-D):** se utiliza sobre todo para la formación del callo. Presenta el inconveniente de producir cambios genéticos importantes.

**Ácido indol-3- butírico (AIB):** es uno de los reguladores más empleados. Se utiliza para la inducción de raíces. También se emplea en bajas concentraciones en la fase de multiplicación.

**Ácido naftalenacético (ANA):** regulador utilizado frecuentemente para promover la organogénesis celular.<sup>1</sup>

**Picloram:** este tipo de regulador es utilizado recientemente para la inducción de callo en lugar del 2,4-D.

Las auxinas difieren en su actividad fisiológica, en su desplazamiento dentro de los tejidos, en su metabolismo y en su conjugación.

La escogencia de una auxina y su concentración en el medio va depender de:

- Clase de crecimiento y desarrollo necesario.
- Niveles naturales dentro del explante.
- Capacidad de los tejidos de sintetizar auxina naturalmente.
- La interacción entre auxinas sintéticas y auxinas naturales endógenas.

### **i. Ácido indolacético (AIA)**

Es una auxina natural, que se utiliza para promover división celular y la diferenciación de las raíces su punto óptimo de aplicación es de 0.1ppm. a 1 ppm. La fórmula química de este regulador de crecimiento es  $C_{10}H_8KNO_2$ .

#### **Funcionamiento**

Las auxinas actúan en tres fenómenos: alargamiento celular, intercambio de la respiración y del metabolismo energético, cambio en el tipo de ARN. Las enzimas y proteínas son la base de muchos efectos auxínicos que son los más notables a primera vista y los más importantes en la agricultura. Las auxinas estimulan el crecimiento de tallos y hojas pero en concentraciones deferentes. En la raíz su efecto es inhibitorio a excepción de concentraciones muy bajas.

#### **Modo de acción**

Las auxinas parecen tener dos efectos en el proceso de alargamiento celular; aumenta la plasticidad de la pared celular y participa directa o indirectamente en las reacciones mediante las cuales se depositan nuevas moléculas de células dentro de las paredes; sin embargo el efecto de la auxinas en el desarrollo de la pared celular se considera en la actualidad no como un efecto directo sino como una posible reacción final de un proceso metabólico condicionado o regulado por la hormona.

#### **Efecto sobre los cultivos in vitro**

Las auxinas son necesarias para inducir la formación de callo. 2,4-D y el Picloram, son las auxinas utilizadas con más frecuencia, para este propósito.

Para la inducción de callo en dicotiledóneas se utilizan concentraciones entre 1 ppm. y 3 ppm.

En el caso de las monocotiledóneas las concentraciones son más altas 2 ppm. a 10 ppm.

Otros efectos producidos en los explantes son inhibir la formación de clorofila, inducir la formación de embriones y participar en la formación de tallos y raíces, no obstante en este último proceso es dependiente de la interacción auxina/citocinina. Durante la multiplicación de tallos, bajas concentraciones de auxina son usadas con altos niveles de citocininas. Las auxinas son también indispensables para promover el crecimiento inicial de meristemas y ápices.

#### **Fijación de auxinas**

Las auxinas agregadas en medios de cultivo pueden ser absorbidas por sitios de fijación en los tejidos y ser liberadas solo posteriormente, como por ejemplo se ha transferido explante a un

nuevo medio que no contiene auxina. Esto constituye un problema a la hora que se quiere reducir la auxina para inducir procesos morfogénéticos. El grado de fijación y liberación varía según el genotipo y la auxina utilizada.

### **Regulación de niveles endógenos**

La capacidad potencial de diferenciación, división y morfogénesis, depende no solo de la concentración de la auxina sino también del nivel endógeno del mismo en la planta y la interacción entre estas dos fuentes.

La regulación de niveles endógenos ocurre por la variación natural de su biosíntesis y su metabolismo. Los tejidos meristemáticos y tejidos juveniles presentan naturalmente altos niveles de inhibidores de la peroxidasa. Se ha observado que los fenoles y sus derivados son inhibidores de las enzimas oxidativas. Al agregar estos compuestos al medio, estimula el crecimiento de callo y la formación de raíces. Los compuestos más utilizados in vitro son el Phloroglucinol, el catechol y el ácido clorogénico.

### **Biosíntesis de la auxinas**

El aumento de la síntesis de AIA es consecuencia del enriquecimiento el medio con el aminoácido triptófano que se convierte en AIA. Las vías de síntesis de AIA se basan en la evidencia obtenida a partir de la presencia de intermediarios y su actividad biológica y el aislamiento de enzimas capaces de convertir in vitro estos intermediarios en AIA. Así se ha podido establecer cuatro vías de biosíntesis: vía el ácido indolpiruvico, vía de la triptamina, vía de la indolacetoxina y vía del triptofol.

### **Antiauxinas**

La primera molécula en que se detecto acción antiauxínica fue la de ácido fenilbutírico. Sin embargo la molécula, que más cerca esta del prototipo de antiauxina es el ácido 2,4 – Diclorofenoxi isobutírico.

### **Efecto toxico de las auxinas**

La aplicación de auxinas en concentraciones relativamente altas, producen como resultado la aparición de deformaciones de crecimiento las plantas, tales como distorsiones en las hojas, tallos, raíces, decoloración de las hojas, inhibición del alargamiento del tallo o las raíces y la apertura floral, así como la formación de tumores.

A continuación se presenta la estructura química de algunas auxinas que son utilizadas frecuentemente en el cultivo de tejidos *in vitro* con el fin de la inducción de desdiferenciación celular (6).

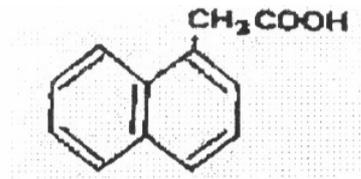


Figura 7. Estructura molecular del ácido naftalenacético.

(Tomado de Hurtado, DV.; Merino, ME.1387, ref. (16))

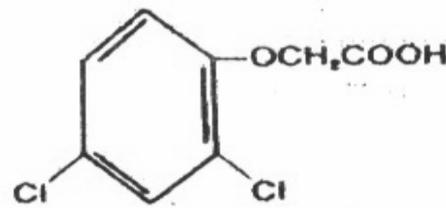


Figura 8. Estructura molecular del ácido diclorofenoxiacético.

(Tomado Hurtado, DV.; Merino, ME.1387, ref. (16))

### b. Citocininas

Las citocininas son derivadas de la adenina y tienen un papel fundamental en la diferenciación y regeneración de la plantas en la mayoría de las especies. Inducen la división celular, proliferación y morfogénesis de la parte aérea. Las citocininas mas utilizadas en el cultivo de tejidos son:

**Bencilaminopurina:** estimula proliferación de yemas axilares.

**Zeatina:** promueve el crecimiento del tallo.

**Cinetina:** en papa es la única sustancia que con un ácido giberélico inducen la proliferación de tallo.

## i. **Bencilaminopurina (BAP)**

La 6-bencilaminopurina es una aminopurina, derivada de la adenina. Su fórmula química es  $C_{12}H_{11}N_5$ . pertenece al grupo de las citocininas, las cuales estimulan la división celular y la citocinesis, su punto óptimo está alrededor de 0.03 ppm. a 30 ppm. La cinetina y zeatina son considerados termoestables, una vez que ningún producto de su descomposición fue observado después de ser autoclavadas a 120°C durante una hora.

### **Actividad biológica**

El efecto de las citocininas es más notable en cultivo de tejidos donde son usadas con auxinas, estimulando la división celular y controlando la morfogénesis. La primera citocinina descubierta fue la cinetina, la cromatografía de etanol soluble de fracción de extracto de levadura indicaron que esta sustancia fue una purina, otro origen de ocurrencia natural de purina fue examinado por la habilidad de promover continuos callos.

### **Modo de acción**

Su efecto es igual al de las condiciones normales naturales. Su acción ocurre durante la mitosis aumentando la cantidad de ADN y estimulando la síntesis de las proteínas. In vitro inhibe las auxinas-oxidadas. Esta también implicado en el metabolismo de los carbohidratos, en la actividad enzimática de las vías glucolíticas y oxidativa de las pentosas fosfato. Las citocininas están presentes en la transferencia molecular de ARN, pero todavía no se tiene certeza.

### **Especificidad de acción**

La acción de las citocininas es dependiente de la luz. El efecto citocinínico varía según el compuesto utilizado y el tipo de cultivo.

### **Efecto en cultivo de tejidos**

Las citocininas parecen ser necesarias en la división celular. En el medio donde la citocina es limitada, la división celular puede detenerse en un estado de ciclo celular. En subcultivos de tejidos dentro del medio que contiene citocinina, puede causar la división celular sincronizada después de un retrasado período. Los tejidos de callos en donde la división celular se produce fuera de la adición de citocininas, son capaces de producir sus propios reguladores de crecimiento natural.

La proliferación de callos en tejidos de plantas dicotiledóneas es usual, aunque requiere de la presencia de auxinas y citocininas en el medio. Las citocininas son muy efectivas para promover directa o indirectamente la iniciación de los brotes y al ser agregados al medio, forma brotes en una superficie meristemática y raíces producidas en callos. Un balance entre auxinas y citocininas, normalmente dan la más efectiva organogénesis.

La formación de brotes adventicios, es regulada por una interacción entre auxinas y citocininas. Las citocininas pueden promover el crecimiento de las raíces o la formación de raíces adventicias en ausencia de auxinas.

Las bajas concentraciones de citocininas (entre  $0.5\mu.m - 2.5\mu.m$ ) agregadas al medio induce la formación de callo embriogénico, especialmente en especies de hoja ancha. La presencia de citocininas endógenas, puede ser también responsable de la inhabilidad para obtener embriogénesis en algunos genotipos.

### **Biosíntesis de las citocininas**

Las citocininas se sintetizan comúnmente en los ápices radicales, la ruta de biosíntesis es desconocida hoy en día, sin embargo se tienen datos que indican que ésta se produce por la isopentenilación de la adenina monofosfato (AMP) o por la degradación de la molécula ARNt.

A continuación se presenta la estructura química de algunas citocininas sintéticas.

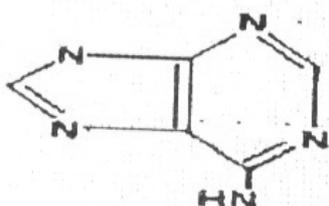


Figura 9. Estructura molecular de la Adenina  
(Tomado de Hurtado, DV.; Merino, ME.1387, ref. (16))

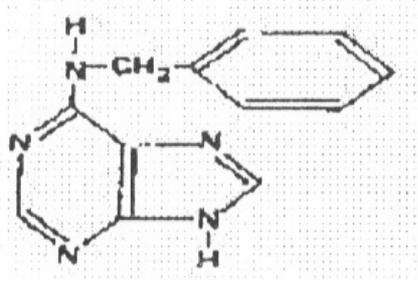


Figura 10. Estructura molecular de la Bencilaminopurina  
(Tomado de Hurtado, DV.; Merino, ME.1387, ref. (16))

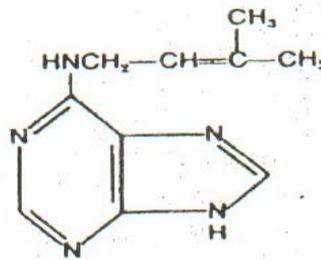


Figura 11. Estructura molecular de la 2-isopentenil-adenina  
(Tomado de Hurtado, DV.; Merino, ME.1987, ref. (16))

### Interacción auxina - citocinina

Muchos efectos de la diferenciación celular y órganogénesis son controlados por esta interacción como se ilustra a continuación.

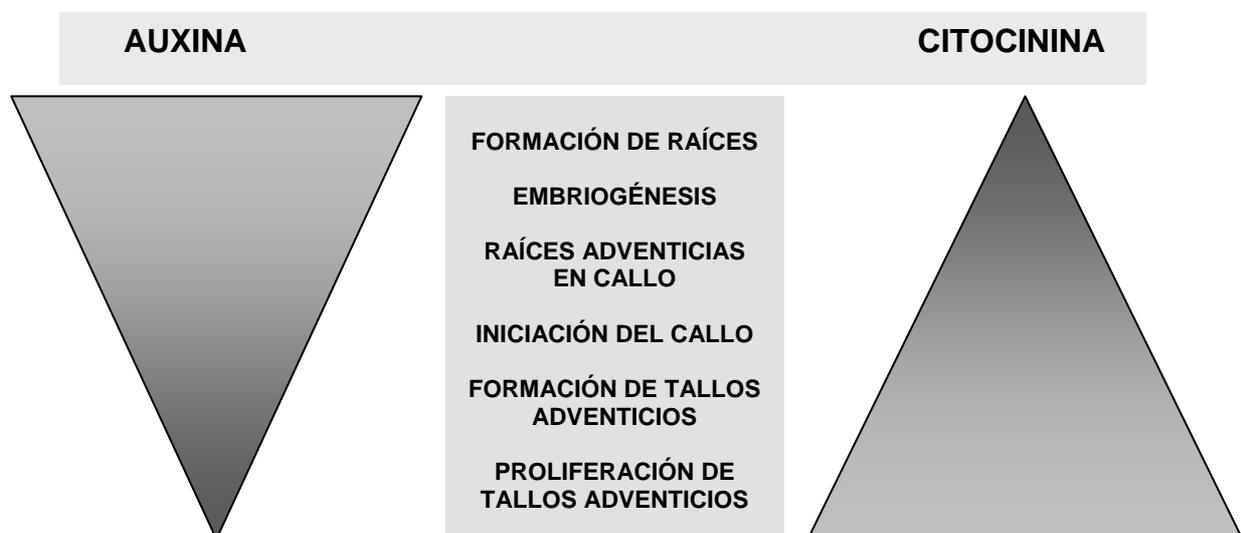


Figura 12. Efecto de la interacción Auxina-citocinina en cultivo de tejidos

Sin embargo no siempre se tienen los resultados. En las monocotiledóneas, el callo es inducido por altos niveles de auxinas sin necesidad de aportar citocinina. En estos callos la organogénesis es promovida al transferir los cultivos a un medio sin reguladores, no obstante en general es necesario un balance entre la auxinas y citocininas para la formación de tallos adventicios y meristemas radicales (6).

### c. Giberelinas

Son compuestos que estimulan la división y la prolongación celular. Existen más de 71 giberelinas hasta el momento y su número va en aumento, todas las giberelinas tienen la misma estructura química, el ent-gibereleno y diferenciándose unas de otras únicamente por las características de los grupos laterales (-CH<sub>3</sub>; -CH<sub>2</sub>OH;-CHO, etc.).

**i. Ácido giberélico:** las giberelinas son compuestos que tienen esqueleto gigante y estimulan la división celular o la prolongación de células o ambas. Las giberelinas pueden provocar un aumento sorprendente en la prolongación de los brotes de muchas especies vegetales, su actividad biológica es muy variada principalmente en el crecimiento, pues pueden producir una elongación extraordinaria o enanos genéticos. Las giberelinas aumentan incrementan la producción de auxinas, su punto óptimo está alrededor de 0.1 ppm a 1 ppm valores mayores de 1 ppm. producen toxicidad. La fórmula química de la giberelinas es C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>.

A continuación se presenta la estructura química de una giberelina.

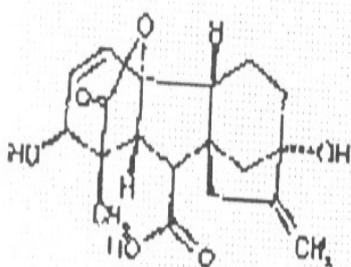


Figura 13. Estructura molecular del ácido giberélico  
(Tomado de Hurtado, DV.; Merino, ME.1987, ref. (16))

### Efectos fisiológicos de las giberelinas

Los efectos fisiológicos de las giberelinas son: alargamiento de entre nudos, en plantas enteras estimula la floración, el crecimiento de hojas, de frutos, la germinación y la brotación de yemas, sus efectos son debidos a la estimulación de enzimas específicas o a cambios en disponibilidad de auxina endógena.

## **Efecto en los cultivos in vitro**

Previene la inducción de tallos y raíces, esta inhibición no es irreversible, pero persiste por más de 2 a 3 subcultivos, inhibe la formación de somáticos, tiene poco o ningún efecto en la diferenciación de células, estimula el crecimiento y desarrollo en órganos preformados. Generalmente impide la formación de raíces. En el cultivo de ápices, estimula el crecimiento y su presencia es generalmente crítica para permitir la elongación de los tallos formados, curso de cultivo de tejidos (6).

## **H. Tipos de cultivo in vitro**

### **a. Cultivo de plántulas**

las plántulas son obtenidas a partir del cultivo de semillas.

### **b. Cultivo de embriones**

En un ambiente aséptico se extirpa el embrión de la semilla y se coloca en un medio estéril. En la medida que el embrión crece, sus requerimientos de alimentos se reducen. Eso quiere decir que el medio en el que se coloque el embrión será modificado durante el crecimiento. Los embriones se desarrollan en agar con relativo éxito, se llenan los tubos de ensayo hasta la mitad, se coloca el embrión en la superficie y se tapa el tubo. Debe de mantenerse cerrado y a temperatura ambiente con luz difusa. Una vez que las raíces y los brotes crecen, pueden trasplantarse.

### **c. Cultivo de órganos**

#### **i. Organogénesis directa**

Tallos, raíces son regenerados directamente del tejido puesto en cultivo, sin pasar por la formación previa de callo. Los tallos así formados pueden ser divididos y utilizados como fuente de explantes.

Polen, capullos de flor sin abrir son esterilizados. Luego se abre y se seccionan las anteras, estas son colocadas en un erlenmeyer conteniendo un medio inorgánico con vitamina A, B y C, además hierro.

Punta de brote. Este sistema es utilizado para obtener clones libres de agentes patógenos especialmente para aquellas plantas tan propensas al ataque de hongos, como por ejemplo el clavel, crisantemo, ajo, papa, frutilla, dalia, fresilla, gladiolos y orquídeas. Consiste en cortar el

meristemo apical y las dos primeras insinuaciones de hojas de los brotes y ubicarlos en un medio estéril de tal forma que les permita formar raíces. El meristemo no es capaz de formar raíces, al menos que haya una o dos formaciones inferiores que luego serían las hojas. Para extirpar el meristemo deben quitarse las hojas que lo cubren, luego se secciona con un escarpelo esterilizado haciendo un corte en forma de V. La parte seccionada debe tener aproximadamente 0.5 mm.

Agregando sales inorgánicas y azúcares se logran mejores resultados.

## **ii. Organogénesis indirecta**

Todas las partes de una planta son tejidos, pero en este caso se trata de tejido extirpado de una raíz o de la sección vascular de un tallo (epidermis o cambium).

La intensidad de luz y los estimuladores o retardadores de crecimiento que se utilicen. Las formas de efectuar las escisiones de tejido son las siguientes: de una raíz carnosa cortada longitudinalmente se cortan círculos transversales que serían plantados en una solución de agar.

De un tallo carnoso aún no leñoso se cortan en porciones de 15 cm. de largo, se remueven las hojas y se desinfecta con una solución de alcohol al 95%, luego se cortan estos trozos en secciones de 5 cm. y los cilindros del tallo interno son extirpados, cortados transversalmente en discos y plantados.

De las plantas leñosas pueden obtenerse micropropagación partiendo de tallos leñosos en secciones de 1 a 1.5 cm. que son sumergidos de 10 a 15 cm. en hipoclorito de sodio y luego enjuagados en agua esterilizada. Los extremos son eliminados y el segmento restante es cortado en discos y plantados. En el caso de tallos leñosos se puede cortar longitudinalmente en el lugar de discos y en ese caso la parte que tocará el medio será la no cortada.

## **d. Cultivo de células**

Se utiliza el mismo método de cultivo de tejidos, pero se parte de una misma célula que por división celular llega a formar una planta.

## **e. Cultivo de protoplastos**

Es el cultivo de células separadas de su pared celular, FAUSAC (31).

## **3.2. MARCO REFERENCIAL**

### **3.2.1. Ubicación del experimento**

La investigación se realizó en el Laboratorio de cultivo de tejidos de la Subárea de Manejo y mejoramiento de Plantas, Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos.

#### **Condiciones ambientales**

Las unidades experimentales se colocaron en la cámara de cultivo, en la cual existían las siguientes condiciones:

- a. 16 horas luz y 8 horas de oscuridad
- b. Temperatura 25°C, con una oscilación de 1°C
- c. Intensidad de luz 2000 Lux

### **3.2.2. Ubicación del área en donde se recolecto el material vegetal a utilizar**

#### **A. Localización**

La finca Panimachabac se encuentra en el municipio de Tecpán, del departamento de Chimaltenango. De la ciudad capital, conduciéndose a la finca Panimachabac, se llega por la carretera interamericana CA-1 en donde a la altura del kilómetro 93.5 se toma el desvío que conduce a las aldeas Chajalajjá, Panimachabac, paquip y otras comunidades y caseríos. Latitud N 14° 50'16" y longitud 90° 59'10".

#### **B. Clima, suelos y zona de vida**

Según Holdridge (15) la zona de vida es montano bajo muy húmedo (mbmh). Los suelos de esta región se clasifican como suelos de la serie Tonicapán en la clasificación de reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala de Simmons, Tarano y Pinto 1959 (27). Elevación que va de los 2300 msnm a los 2850 msnm. Precipitaciones promedio anual que van de los 1700 mm a 2200 mm. Temperatura predominante anual promedio es de 14°C a 16°C.

### **3.2.3. Estudios realizados**

- A. En mayo de 1,979, Juan Humberto González Martínez (13) realizó el trabajo de tesis titulado "Caracterización Ecológica de las Comunidades de Pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) en Guatemala". Los objetivos del estudio fueron analizar la composición vegetal y

estructura de diez bosques donde el pinabete es uno de los componentes, atendiendo las condiciones edafoclimáticas en donde se desarrolla y la dinámica de dichos bosques.

- B.** En Julio de 1989, La Dirección General de Bosques y Vida Silvestre (DIGEBOS) (7) publicó el documento denominado “El pinabete (*Abies guatemalensis*), su producción para árbol de navidad”. Preparado por el técnico Ramón Peñalongo y José Rolando Zanotti Técnico Forestal de AID; con el propósito de ilustrar en forma sencilla y clara las técnicas de producción y manejo de esta especie.
- C.** En agosto de 1,989, Guillermo Rene García Rodríguez (9) realizó el trabajo de tesis titulado “Respuesta de la semilla de tres especies forestales (*Abies guatemalensis* Rehder, *Tectona grandis* Linneo y *Junglans guatemalensis* Manning) a varios tratamientos pregerminativos”. El objetivo fue determinar el mejor tratamiento pregerminativo para inducir la germinación. El mejor resultado para el Pinabete fue el tratamiento de estratificación en arena húmeda a 4°C durante 30 días, secado por un día y estratificando nuevamente por 109 días.
- D.** En Mayo de 1993 Walter Estuardo García Tello (10) realizó el trabajo de Tesis “Estudio de la respuesta del Pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) a su reproducción vegetativa in vitro utilizando dos medios de cultivo, dos explantes y seis combinaciones hormonales” concluyendo que los mejores tratamientos para la formación de callos y brotes fueron: El explante yema terminal de ramilla, sembrado en el medio Murashige y Sook modificado, suplementado con 10mM. de ANA y 50 mM de BA.; El explante yema terminal de ramilla, sembrado en el medio Murashige y Skoog modificado suplementado con 105 mM. de ANA. y 50 mM de BAP.
- E.** Noviembre 1999 Silvia Patricia Valdez Orellana (32), realizó el trabajo de tesis “Efecto de la temperatura, radiación, sustratos y reguladores de crecimiento en la germinación de semillas de pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder). Concluyendo que la aplicación de la temperatura de 22°C en el día y 14°C por la noche, mostró el mayor efecto en el porcentaje de germinación y que las giberlinas aplicadas en 200 ppm aumentan el porcentaje de germinación. El sustrato y la radiación no mostraron efecto alguno.
- F.** En el 2001 Oswaldo E. Macz (18) en la Universidad Rafael Landivar realizó la siguiente investigación “Estudio del comportamiento del pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) a la

producción meristemática *in vitro*” concluyendo que el medio más apropiado para promover el establecimiento y crecimiento de explantes de pinabete es el medio Woody Plant Médium (WPM) modificado con 3 mg/L de GA<sub>3</sub>, 1mg/L de ANA y 1 mg/L de BA. El medio Murashige & Skoog modificado no dio resultados positivos en el presente estudio.

### 3.2.4. Estudios realizados de propagación *in vitro* en otras especies de la familia Pinaceae

- A.** George, EF.; Puttock, DJ.; George, HJ, (12) realizaron estudios en *Pinus palustris* obteniendo raíces y diferenciación de brotes en el medio de Sommer *et al.* (1975) a partir de embriones disectados, utilizando 20g/L de sacarosa, 7g/L de agar, pH 5.7-5.8, y una combinación hormonal de 2mg/L de NAA y 5mg/L de BAP, en otro de sus trabajos publicados obtuvieron iniciación directa de yemas de brote en el medio Renfroe y Berlyn (Ver cuadro 9A) utilizando como tejido inicial embriones cigóticos de *Pinus taeda*, utilizando 30g/L de sacarosa, 8g/L de agar, pH 5.6-5.7 y 3mg/L de BAP.
- B.** Monterrojo, E.; y colaboradores (21) realizaron el estudio titulado Regeneración *in vitro* de *Abies religiosa* (Kunth). & Cham utilizando embriones cigóticos recolectados en poblaciones naturales. Obteniendo en un amplio rango de tratamientos desarrollo de brotes, con el mayor porcentaje en el medio Woody Plant Médium (WPM) con Bencilaminopurina (3 a 5 mg/L) y 2, 4-D (0.1 a 1 mg/L).
- C.** Gebauer, M; y colaboradores (11) realizaron el estudio titulado Implementación de un Sistema de Regeneración de *Pinus radiata* a través del proceso de embriogénesis somática induciendo embriones cigóticos a formar masa embriogénica en medio Luza & Polito 1985 (LP) modificado; posteriormente indujeron en la masa embriogénica diferenciación a proembriones en medio Mohan Ram & Doré Swamy (MD) más 15 mg/L de ABA, y con la adición de ácido abscísico y glutamina lograron la germinación de embriones somáticos maduros.
- D.** Sánchez Espinosa, A. C.; y colaboradores (26) realizaron el estudio titulado Comparación de la respuesta morfogénica *in vitro* de cuatro diferentes poblaciones de *Picea abies*. Sembrando embriones maduros obtuvo brotes en el medio Schenk y Hildebrandt (SH) más Kinetina 5 mg/L y posteriormente logró enraizamiento de los brotes en el medio Root Induction Médium (RIM) más 1mg/L de ácido Naftalenacético.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 GENERAL

Establecer un procedimiento metodológico apropiado para la propagación *in vitro* de pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder).

### 4.2 ESPECÍFICOS

- A. Evaluar la respuesta de los ápices de brote del pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) a la utilización de tres tipos de antioxidantes.
- B. Evaluar la respuesta del pinabete a la inducción de brotes adventicios mediante el cultivo de ápices.
- C. Evaluar la respuesta del pinabete a la inducción de callo mediante el cultivo de ápices.
- D. Evaluar la respuesta del pinabete al crecimiento por alargamiento en los ápices.

## 5. HIPÓTESIS

- 5.1** El pinabete (*Abies guatemalensis Rehder.*) responde a la formación de brotes adventicios, en el proceso de reproducción vegetativa utilizando la técnica de cultivo de tejidos.
- 5.2** El pinabete (*Abies guatemalensis Rehder.*) responde a la formación callo, en el proceso de reproducción vegetativa utilizando la técnica de cultivo de tejidos.
- 5.3** El pinabete (*Abies guatemalensis Rehder.*) responde al crecimiento por elongación, en el proceso de reproducción vegetativa utilizando la técnica de cultivo de tejidos.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Preparación de medios de cultivo

#### 6.1.1 Preparación de las soluciones patrón

Se hicieron soluciones patrón para cada uno de los grupos que conforman el medio WPM, esto se realizó con la finalidad de ahorrarse pasos para la elaboración del medio mencionado.

#### A. Solución patrón de macronutrientes

Partiendo de la afinidad de componentes, se dividió en macronutrientes A y macronutrientes B. Se prepararon 100 ml de cada uno, para esto se llenó un beaker de 200 ml Se agregó 50 ml de agua destilada, luego se agregaron los componentes descritos en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Macronutrientes necesarios para preparar una solución patrón

Sustancia	WPM (mg/l)	Cant/vol. des.	Concentración
<b>Macronutrientes A</b>			
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	40	0.4g/100ml	100X
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	37	0.37 g/100ml	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	17	0.17 g/100ml	
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	99	0.99 g/100ml	
<b>Macronutrientes B</b>			
CaCl <sub>2</sub> . 2 H <sub>2</sub> O	9.6	0.96 g/100ml	100 x
Ca(NO <sub>3</sub> ).4H <sub>2</sub> O	55.6	0.556 g/100ml	

Ya agregados los componentes, se aforó con agua destilada hasta llegar al volumen deseado, luego se agitó la solución y se almacenó a una temperatura de 4°C, con su respectiva identificación.

### B. Solución patrón de micronutrientes

Al igual que en los macronutrientes en este caso también se dividió en micronutrientes A y micronutrientes B, la cantidad fue de 200 ml. y 1 L. respectivamente. Para esto se agregó 50 ml. de agua destilada en un erlenmeyer de 250 ml. luego, se agregaron los compuestos que se describen en el siguiente cuadro.

Cuadro 4. Micronutrientes necesarios para preparar una solución patrón.

Sustancia	WPM (mg/l)	Cant/vol. des.	Concentración
<b>Micronutrientes A</b>			
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.62	0.124 g/200ml	1000 X
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	2.23	0.446 g/200ml	
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.86	0.172 g/200ml	
<b>Micronutrientes B</b>			
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.0025	0.0125 g/l	5000 X
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.025	0.125g/l	

Ya agregados los componentes, el contenido se pasó a una probeta de 250 ml. y 1000 ml. Respectivamente, luego se aforó con agua destilada hasta llegar al volumen deseado, se agitó la solución y se almacenó a una temperatura de 4°C con su respectiva identificación.

### C. Solución patrón de hierro 1000X

Se preparó una solución de 200 ml de la siguiente forma:

- a. En 100 ml de agua destilada se agregó 0.556 gr. de FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O y se disolvió con la ayuda de un agitador magnético preparado para tal propósito.
- b. Separadamente se agregó 0.746gr de Na<sub>2</sub>EDTA.2H<sub>2</sub>O en otros 100 ml de agua destilada.
- c. Ya preparadas las dos soluciones se mezclaron, el contenido se pasó a una probeta en donde se aforó, luego se trasladó la solución a su envase definitivo. Esta solución se almacenó a una temperatura de 4°C.

#### **D. Solución patrón de vitaminas 1000X**

Se prepararon 500 ml. de esta solución con los siguientes componentes: Tiamina-HCl, Ácido Nicotínico, Piridoxina-HCl, y Glicina. Agregando 0.05 gr. del primero compuesto, 0.025 gr. del segundo compuesto, 0.025gr del tercer compuesto y del cuarto 0.01 gr. Se afora y se deposita en el recipiente para almacenar a temperatura de 4°C.

#### **E. Preparación de solución patrón Inositol**

Se preparó una solución de 500 ml para esto se llenó un beaker con 200 ml de agua destilada, se agregaron 0.05 gr. de inositol, ya disuelta la solución se pasó a una probeta para su aforó.

#### **6.1.2 Preparación de una Solución de Reguladores de crecimiento**

Los reguladores utilizados fueron: Bencilaminopurina (BAP) y Ácido Naftalenacético (ANA). Antes de ser agregados en la solución estos fueron diluidos en pequeños volúmenes de solventes o bases.

Para disminuir la cantidad de pasos necesarios para elaborar las diferentes concentraciones de reguladores, y para aumentar la precisión al momento de pesar, se usó una solución patrón, de la cual se partió para aplicar las diferentes concentraciones (tratamientos) a utilizar para la presente investigación.

#### **6.1.3 Preparación de 1800 ml de medio de cultivo**

En un beaker con capacidad de 2000 ml se agregó 1000 ml de agua destilada. Se introdujo al recipiente una barra magnética, ésta se colocó sobre el agitador-calentador magnético, el cual se puso en marcha.

Luego se agregaron los componentes del medio en el orden siguiente:

- a. 18 ml. de solución de macronutrientes "A".
- b. 18 ml de solución macronutrientes "B".
- c. 1.8 ml de solución patrón de microelementos "A"
- d. 360 microlitros de solución patrón de microelementos "B"
- e. 1.8 ml de solución de hierro 100X
- f. 1.8 ml de solución de Vitaminas 1000X
- g. Se agregó 1.8 ml de Myo-inositol
- h. Se agregaron los reguladores de crecimiento, en cantidad según las concentraciones evaluadas en el estudio

- i. Se agregó 54 gr. de Sucrosa
- j. Se aforó el recipiente a 1800 ml usando agua destilada.
- k. Se agregó 0.5 gr. de Carbón Activo por cada tratamiento.
- l. 10.8 gr. de Agar. 1.2 gr. por cada tratamiento.
- m. Se procedió a medir y corregir el pH por cada tratamiento, para llevarlo a de 5.6
- n. Luego se pasó la solución al horno de microondas hasta disolver el agar.
- o. La solución fue distribuida a los tubos de ensayo debidamente rotulados.
- p. Luego los tubos de ensayo se taparon con papel aluminio.
- q. Todos los tubos de ensayo se introdujeron al autoclave (para su esterilización) durante 20 minutos a una presión de  $1.05\text{Kg/cm}^2$  a una temperatura de  $120^\circ\text{C}$ .
- r. Los recipientes se colocaron en la cámara de cultivo, hasta que se solidificaron y se enfriaron.

## **6.2 Fase experimental**

Con el fin de darle un manejo adecuado a la investigación, el estudio se realizó en dos fases, las cuales fueron: La fase de iniciación o establecimiento de los explantes, básicamente consistió en adaptar el material vegetal al cultivo *in vitro*. En la fase de inducción se utilizaron todos los resultados provenientes de la fase anterior

### **6.2.1 FASE I (Prevención de oxidación, contaminación por microorganismos y sobrevivencia de los tejidos)**

En esta fase se realizó una serie de pruebas preliminares, con la finalidad de prevenir la oxidación, contaminación por microorganismos y sobrevivencia de los explantes: una de ellas consistió en evaluar antibióticos y antioxidantes previo al establecimiento de los explantes al cultivo de tejidos, utilizando una combinación de ácido cítrico (0.4%) y ácido ascórbico (0.2%), como antioxidantes y sulfato de estreptomicina y oxitetraciclina (Agrimicyn WP (16.5%) a 0.15%, methyl-1-(butylcarbamoil)-2-benzimidazolecarbamate (Benomyl WP (50%) a 0.1%, estos compuestos constituían la solución de transporte.

#### **A. Colecta del material vegetal**

Para la selección del material vegetal, se realizó un recorrido por el rodal de 25 años destinado para la producción de pinabete para árboles de navidad de la finca Panimachabac. Se recolectaron los materiales que presentaron un buen estado fisiológico. La parte de la planta que se empleó consistió en el ápice meristemático, para lo cual se cortaron brotes no mayores

de 5 cm de longitud, utilizándose una navaja debidamente desinfectada en una solución de methyl-1-(butylcarbamoil)-2-benzimidazolecarbamato (Benomyl WP (50%) a 0.1%, el material vegetal cortado se sumergió en una solución de transporte descrita en el párrafo anterior. Que luego se traslado al laboratorio de cultivo de tejidos, de la Facultad de Agronomía.

### **B. Desinfección del material vegetal**

Dentro del laboratorio los brotes permanecían un tiempo más en la solución de fungicida-bactericida y antioxidantes para eliminar la contaminación y prevenir la tempranamente el ennegrecimiento de los explantes, los cuales completaban un tiempo de 24 horas de exposición en la solución a una temperatura de 5°C.

Luego el material pasaba por una batería de desinfección compuesta por: alcohol etílico al 70% durante 2 minutos. Los brotes se transferían a una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante 5 minutos, en cada pasó se agitaba con una pinza esterilizada para uniformizar el proceso de desinfección, Se le realizaron 3 lavados al material vegetal con agua destilada estéril, luego el material vegetal se introdujo en una solución de ácido cítrico a 100 ppm esterilizado.

### **C. Disección y extracción del explante**

En cajas de petri esterilizadas, pinzas y bisturís y con 3-5 ml de ácido cítrico a 150 ppm, se procedió a la disección del explante, para lo cual se eliminaba todo tipo de envoltura que recubre y protege el ápice meristemático.

### **D. Prueba de antioxidantes**

para la prueba de antioxidantes se prepararon 1800 ml de medio de cultivo WPM. Posteriormente se procedió realizar cada tratamiento de antioxidantes (ver cuadro 5) que esta compuesto por 200 ml de medio de cultivo con concentraciones estándar de ANA y BAP, 0.5 mg/l y 1.5 mg/l respectivamente.

Cuadro 5. Tratamientos para la prueba de antioxidantes.

Tratamiento	Concentración	Cantidad gr./200ml
<b>Carbón Activo</b>		
<b>P1</b>	0.25 %	0.5
<b>P2</b>	0.5 %	1.0
<b>P3</b>	1.0 %	2.0
<b>Ácido Cítrico</b>		
<b>P4</b>	50 mg/l	0.01
<b>P5</b>	100 mg/l	0.02
<b>P6</b>	150 mg/l	0.03
<b>P.V.P</b>		
<b>P7</b>	0.2 %	0.4
<b>P8</b>	0.5 %	1.0
<b>P9</b>	0.8 %	1.6

### E. Análisis de la información

el análisis de la información proveniente de esta fase se realizó mediante comparaciones visuales, de donde se anotaron todas las observaciones posibles y se formularon porcentajes por tratamiento para comparar la respuesta de los ápices (explantes) ante el uso de antioxidantes para controlar la oxidación, se hizo uso de tablas y gráficas para una mejor comprensión de los resultados.

### 6.2.2 FASE II (Respuesta del tejido a la inducción de brotes, callo y crecimiento)

En esta fase se evaluó el efecto de los niveles de bencilaminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA). El antioxidante que obtuvo mejor resultado en la fase I se agregó en cantidad estándar para cada tratamiento.

#### A. Siembra

Para la inoculación de los explantes en esta fase, se utilizó el medio WPM con sus respectivos niveles de BAP y ANA, a la vez se utilizó el antioxidante proveniente de la fase I. Los cultivos fueron transferidos al cuarto de incubación, el cual cuenta con una temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y luz de gas neon color blanca controlada de 1000 lux aproximadamente. Fotoperíodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad.

## B. Descripción del experimento

La unidad experimental estuvo constituida por un tubo de ensayo de 150 mm por 25 mm, con 10 ml de medio de cultivo WPM, suplementado con carbón activo como antioxidante y los tratamientos a evaluar. En cada tubo de ensayo se sembró un ápice.

## C. Descripción de los tratamientos

Los tratamientos para la inducción de brotes, callo y respuesta la crecimiento, están determinados por las combinaciones de bencilaminopurina (BAP) en niveles de: 0 ppm, 0.5 ppm, 1.5 ppm y 3 ppm. y ácido naftalenacético (ANA) en los niveles de 0 ppm, 0.1 ppm, 0.5 ppm y 1 ppm. Para un total de 10 tratamientos con 10 repeticiones, haciendo un total de 100 unidades experimentales.

Cuadro 6. Tratamientos para evaluar la inducción de brotes de pinabete. (*Abies guatemalensis Rehder*)

Tratamiento	BAP (mg/l)	ANA (mg/l)
1 (testigo)	0	0
2	0.5	0.1
3	1.5	0.1
4	3	0.1
5	0.5	0.5
6	1.5	0.5
7	3	0.5
8	0.5	1
9	1.5	1
10	3	1

## 6.3 Variables respuesta

**6.3.1 Número de brotes por explante:** a los explantes que respondieron a la producción de brotes se les realizó un conteo del número de éstos y se calcularon porcentajes.

**6.3.2 Número de explantes con formación de callo:** se realizó un conteo de los explantes que respondieron a la inducción de callo, se calcularon porcentajes.

**6.3.3 Número de explantes con presencia de alargamiento:** se contaron los explantes que presentaron elongación, también de calcularon porcentajes.

#### **6.4 Análisis de la información**

Debido a las características de la investigación, se realizó un análisis descriptivo ya que no fue factible aplicar estadísticos paramétricos, solo porcentajes de las variables respuesta, para ello se detalló en forma precisa cada evento realizado en el proceso de respuesta a la inducción de brotes. Los resultados se presentaron a través de cuadros, gráficas y fotografías para facilitar su comprensión.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el proceso se presentaron factores que limitaron el avance normal de la investigación, uno de ellos fue la época del año para la obtención material vegetal. Según Salisbury y Ross 1982 (25) este tipo de plantas presenta dos etapas naturales por las que anualmente pasa, siendo estas: crecimiento y latencia. En la primera el árbol presenta un crecimiento que se caracteriza por sus estructuras poco lignificadas, y de coloraciones pálidas, razón por la que es muy susceptible a degradarse, el material proveniente de esta etapa se degradaba de 10 a 12 horas después de cortado en el campo y expuesto a la solución transporte descrita en la metodología. Se realizaron pruebas de reducción de tiempo de exposición en la solución transporte y concentraciones mas bajas de sus componentes, especialmente con el fungicida y el bactericida, pero surgió otra dificultad, lo que se lograba sembrar presentaba porcentajes altos de contaminación y oxidación (95% - 100%).

El árbol a finales de la estación de lluvia (octubre) se prepara para la etapa de latencia, los tejidos después de alcanzar su elongación máxima, empiezan a lignificarse o endurecerse, por lo que la probabilidad de sobrevivencia del tejido colectado es alta, resiste el tratamiento preventivo a su utilización en el laboratorio de cultivo de tejidos. Cuando se obtuvo material vegetal de esta etapa todas las variaciones realizadas a la solución transporte y a la batería de desinfección, regresaron a ser las propuestas en la metodología y los resultados fueron satisfactorios.

Los resultados definitivos se lograron aproximadamente 45 días después de entrada la etapa de latencia y fue hasta entonces que se generó información base para pasar a la II etapa de la investigación.

### 7.1. Respuesta de los explantes a la oxidación

De las lecturas obtenidas a los 15, 30 y 60 días después de la siembra se tiene los cuadros siguientes:

Cuadro 7. Respuesta de los explantes a la oxidación, 15 días después de la siembra

tratamiento		No. De explantes no oxidados	Sobrevivencia (%)
Carbón Activo	0.25%	10	100
	0.5%	10	100
	1.0%	9	90
Ácido Cítrico	50ml/L	8	80
	100ml/L	8	80
	150ml/L	9	90
P.V.P.	0.2%	10	100
	0.5%	8	80
	0.8%	8	80

Cuadro 8. Respuesta de los explantes a la oxidación, 30 días después de la siembra

tratamiento		No. De explantes no oxidados	Sobrevivencia (%)
Carbón Activo	0.25%	9	90
	0.5%	9	90
	1.0%	7	70
Ácido Cítrico	50ml/L	5	50
	100ml/L	4	40
	150ml/L	4	40
P.V.P.	0.2%	6	60
	0.5%	5	50
	0.8%	5	50

Cuadro 9. Respuesta de los explantes a la oxidación, 60 días después de la siembra

tratamiento		No. De explantes no oxidados	Sobrevivencia (%)
Carbón Activo	0.25%	8	80
	0.5%	8	80
	1.0%	6	60
Ácido Cítrico	50ml/L	1	10
	100ml/L	2	20
	150ml/L	1	10
P.V.P.	0.2%	4	40
	0.5%	2	20
	0.8%	1	10

A los 15 días después de la siembra se empezó a observar la respuesta, ya que algunos explantes de los tratamientos de ácido cítrico y PVP mostraban un cambio de coloración de verde a verde pálido que posteriormente, al mes, ya estaban totalmente de color café (oxidados).

En los cuadros 7, 8, y 9 se puede observar claramente que para las tres lecturas realizadas en sus tiempos respectivos, el antioxidante que mejor preserva los ápices en el medio de cultivo es el carbón activo. Los tratamientos con concentración de 0.25 % y 0.5 % respectivamente, presentaron un porcentaje de sobrevivencia bastante homogéneo, por lo que se utilizó para la fase II el tratamiento económicamente más rentable, siendo éste la concentración de 0.25 %. En el caso del ácido cítrico los porcentajes de sobrevivencia fueron bastante bajos y para PVP (pilivinylpirrolidona) el tratamiento con una concentración de 0.2 % fue el que presentó mayor porcentaje de sobrevivencia del explante.

## 7.2. Respuesta de los explantes a la inducción de brotes

En esta fase se presentaron tres tipos de respuesta como producto de las combinaciones hormonales. Se realizaron lecturas periódicas, pero la lectura definitiva para la toma de datos fue a los 45 días después de la siembra para cada réplica del experimento.

Cuadro 10. Respuesta de los explantes a la inducción de brotes

Tratamiento	Combinación de reguladores mg/L	No. De explantes con brotes	No. De brotes/expl	Explantes con brotes (%)
1 (testigo)	BAP 0 + ANA 0	0	0	0
2	BAP 0.5 + ANA 0.1	0	0	0
3	BAP 1.5 + ANA 0.1	1	2	10
4	BAP 3 + ANA 0.1	4	2	40
5	BAP 0.5 + ANA 0.5	0	0	0
6	BAP 1.5 + ANA 0.5	1	1	10
7	BAP 3 + ANA 0.5	6	4	60
8	BAP 0.5 + ANA 1	1	1	10
9	BAP 1.5 + ANA 1	1	2	10
10	BAP 3 + ANA 1	3	2	30

Respuesta a la inducción de brotes

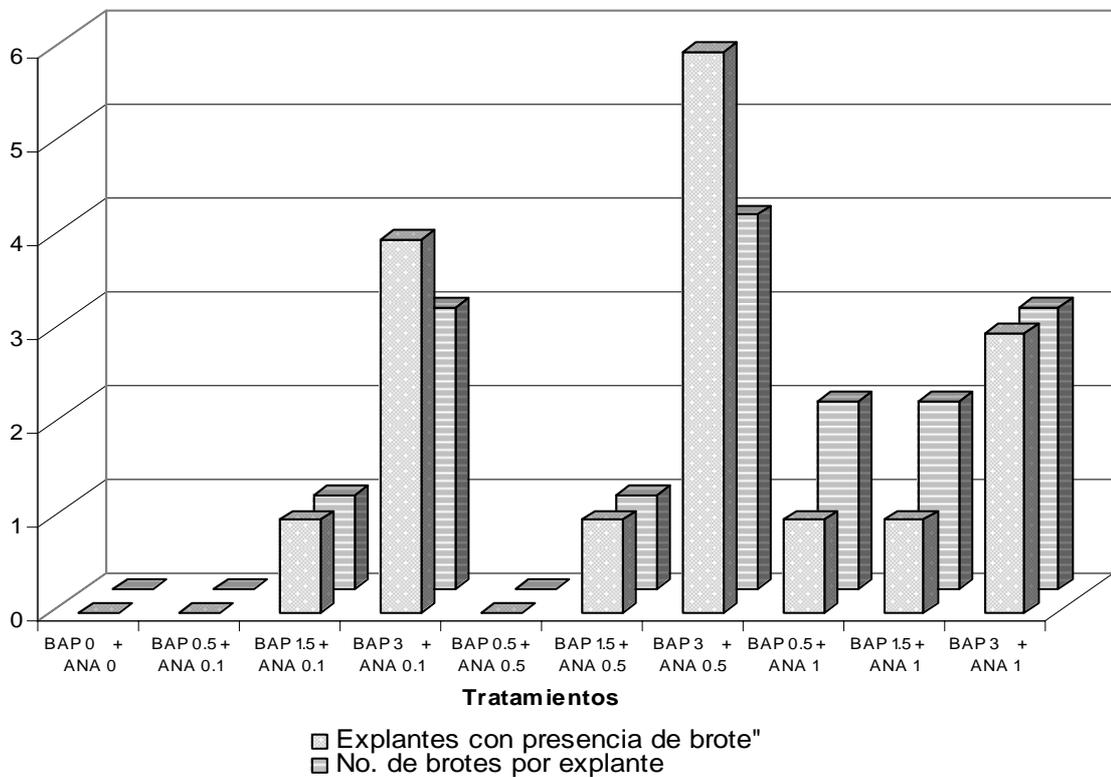


Figura 14. Respuesta a la inducción de brotes.

Como se refleja en el cuadro 10, los tratamientos en los que mejor respuesta se obtuvo fueron: (BAP 3 mg/L + ANA 0.1 mg/L) con 40%, (BAP 3 mg/L + ANA 0.5 mg/L) con 60% y (BAP 3 mg/L + ANA 1 mg/L) con un 30%. Con respecto a los brotes por explante que se lograron, el tratamiento (BAP 3 mg/L + ANA 0.5 mg/L) presentó un número promedio de 4 brotes por explante, siendo éste el mejor tratamiento en el que los explantes presentaron respuesta, no solo a la formación de brotes, sino al el número de éstos. La longitud promedio de los brotes fue de 1.5 mm.

Tal y como lo menciona Hurtado y Merino 1988 (16) que a una alta concentración de citocininas con respecto a las auxinas induce la formación de brotes. En los resultados descritos, se logra observar que los tratamientos en los que mejor respuesta existió, presentan este tipo de relación.

### 7.3. Inducción de callo

El callo que se formó fue de tipo compacto, con coloración blanquecina, consistencia blanda al tacto, no fácilmente deformable, con presencia de brillo y con textura lisa.

Cuadro 11. Respuesta de los explantes a la inducción de callo.

<b>Tratamiento</b>	<b>Combinación de reguladores mg/L</b>	<b>No. De explantes con formación de callo</b>	<b>Inducción de callo (%)</b>
1 (testigo)	BAP 0 + ANA 0	0	0
2	BAP 0.5 + ANA 0.1	5	50
3	BAP 1.5 + ANA 0.1	2	20
4	BAP 3 + ANA 0.1	3	30
5	BAP 0.5 + ANA 0.5	1	10
6	BAP 1.5 + ANA 0.5	3	30
7	BAP 3 + ANA 0.5	1	10
8	BAP 0.5 + ANA 1	6	60
9	BAP 1.5 + ANA 1	1	10
10	BAP 3 + ANA 1	0	0

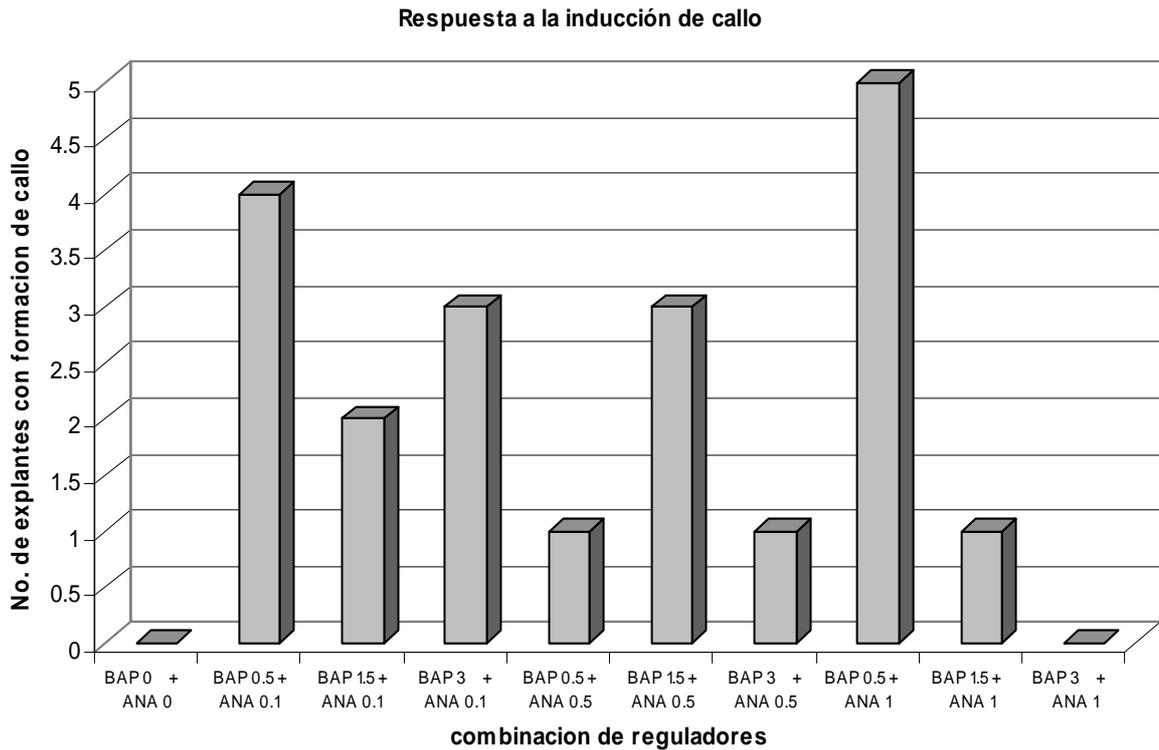


Figura 15. Respuesta a la inducción de callo.

Los tratamientos en los que se presencia mejor respuesta a la formación de callo fueron: (BAP 0.5 mg/L + ANA 0.1 mg/L) con 50% y (BAP 0.5 mg/L + ANA 1 mg/L) con 60%. Como se refleja en el cuadro 11.

#### 7.4. Respuesta al crecimiento (Elongación)

La tercera respuesta que se dio como producto de la combinación de los reguladores en estudio, fue la presencia de un crecimiento por alargamiento del explante. Los resultados se ven en cuadro 12 y los tratamientos que respondieron en mayor porcentaje fueron: (BAP 0.5 mg/L + ANA 0.5 mg/L) con 60% y (BAP 1.5 mg/L + ANA 0.1 mg/L) con 40%.

Cuadro 12. Respuesta de los explantes al crecimiento (elongación)

Tratamiento	Combinación de reguladores mg/L	No. De explantes que presentaron alargamiento	Alargamiento promedio (mm)	Explantes con crecimiento (%)
1 (testigo)	BAP 0 + ANA 0	0	0	0
2	BAP 0.5 + ANA 0.1	3	3	30
3	BAP 1.5 + ANA 0.1	4	2.5	40
4	BAP 3 + ANA 0.1	3	3	30
5	BAP 0.5 + ANA 0.5	6	3.5	60
6	BAP 1.5 + ANA 0.5	0	0	0
7	BAP 3 + ANA 0.5	1	3	10
8	BAP 0.5 + ANA 1	1	3	10
9	BAP 1.5 + ANA 1	2	2.5	20
10	BAP 3 + ANA 1	0	0	0

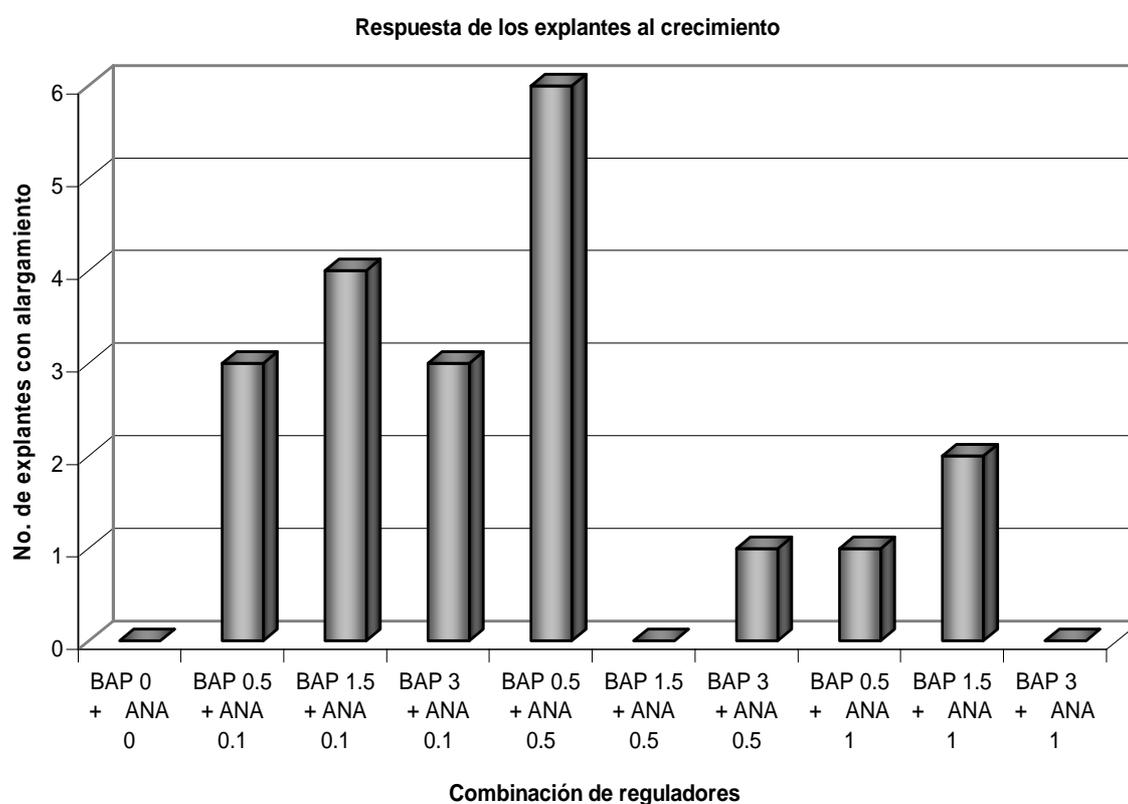
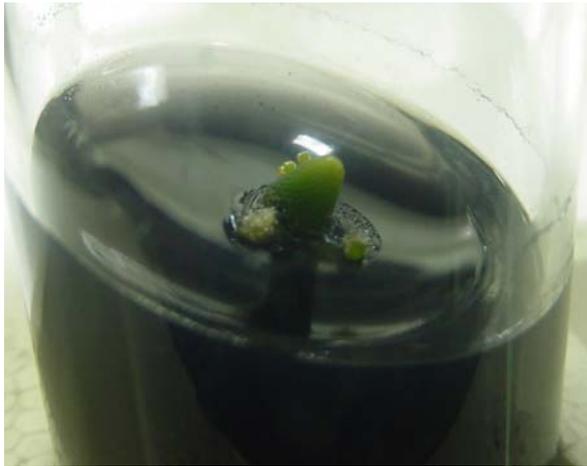


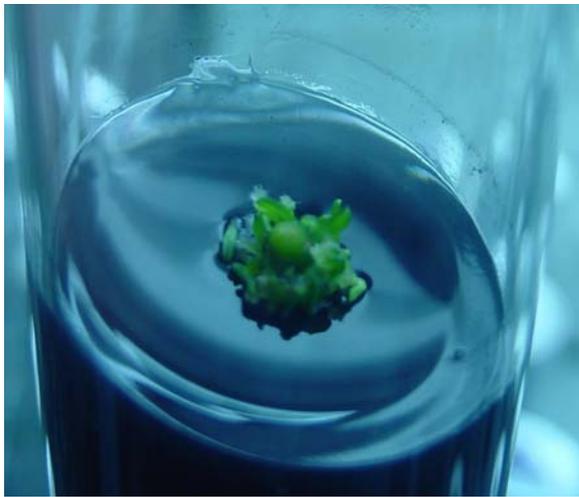
Figura 16. Respuesta de los explantes al crecimiento (elongación).



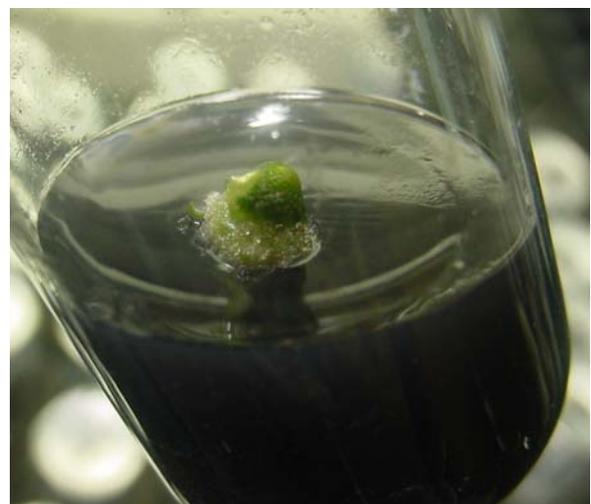
a.



c.



b.



d.

Figura 17. a. Respuesta de los ápices a la formación de brotes. b. Múltiples brotes a partir de un ápice. c y d. Formación de callo en la parte basal de los ápices

Es importante mencionar que el material que se recolectó, provenía de una plantación en donde solo existe *Abies guatemalensis* Rehder, y aunque se trate de una misma especie, existe diferencia visible de un individuo a otro; los denominados ecotipos, como los llama Salisbury y Ross (25), diferentes razas genéticas dentro de una misma especie, podría explicar la forma de responder de los explantes debido a que no fue uniforme, como lo hubiera sido si el material vegetal utilizado fuese de un solo individuo.

Macz (18) en su estudio realizado en el 2001, reporto que al igual que en el presente estudio, el medio en el se obtuvo los mejores resultados fue el WPM, en cuanto a los reguladores de crecimiento, reporta también que un equilibrio de estos BAP y ANA, 1 mg/L para ambos, mas 3 mg/L de GA<sub>3</sub>, promueve el crecimiento de los explantes. A diferencia de ese estudio, el

crecimiento de los explantes para esta investigación fue una de las tres respuestas que se observó y la combinación de reguladores en la que los resultados fueron sobresalientes estaba también equilibrada (BAP 0.5 mg/L + ANA 0.5 mg/l), como se puede observar en la figura 16, aunque en este caso no hubo interacción de GA<sub>3</sub>. Posiblemente a esta dosis exista antagonismo y se bloqueen entre si y la respuesta esté guiada únicamente por los niveles endógenos en cuanto a GA<sub>3</sub> del explante.

Las relaciones de reguladores se pueden describir de la siguiente manera: a concentraciones altas de BAP, tomando en cuenta el rango que se esté explorando con respecto a ANA, se espera inducir múltiples brotes adventicios, (ver figura 17a y 17b). A concentraciones altas de ANA tomando en cuenta el rango que se esté explorando, con respecto a BAP, se espera la formación de callo en la parte basal del explante.

## 8. CONCLUSIONES

Los ápices de brote de pinabete *Abies guatemalensis* Rehder utilizados como explantes responden al control de la oxidación, utilizando en el medio de cultivo Wody Plant Médium – WPM-, Carbón Activo a una concentración de 0.25%.

Los ápices de brote de pinabete *Abies guatemalensis* Rehder utilizados como explantes, manifestaron mayor porcentaje de formación de brotes adventicios en los tratamientos con la combinación de (3 mg/L Bencilaminopurina + 0.5 mg/L Ácido Naftalenacético) con 60% y (3 mg/L Bencilaminopurina + 0.1 mg/ Ácido Naftalenacético) con un 40%.

Los ápices de brote de pinabete *Abies guatemalensis* Rehder utilizados como explantes, manifestaron mayor porcentaje de formación de callo en los tratamientos (0.5 mg/L Bencilaminopurina + 1 mg/L Ácido Naftalenacético) con 60% y (0.5 mg/L Bencilaminopurina + 0.1 mg/L Ácido Naftalenacético) con 50%.

Los ápices de brote de pinabete *Abies guatemalensis* Rehder utilizados como explantes manifestaron mayor porcentaje de crecimiento (elongación), en los tratamientos (0.5 mg/L Bencilaminopurina + 0.5 mg/L Ácido Naftalenacético) con 60% y (1.5 mg/L Bencilaminopurina + 0.1 mg/ Ácido Naftalenacético) con 40 %.

## 9. RECOMENDACIONES

Para el desarrollo de un protocolo para la propagación *in vitro* de Pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) se propone usar como tejido inicial los ápices de brote obtenidos en plantaciones con características similares a las del presente estudio, como lo son: plantaciones destinadas para producir árboles de navidad, debido a que la poda es necesaria y a la vez se induce a que se formen nuevos brotes (múltiples) que se pueden aprovechar.

Considerar la etapa fisiológica por la que esté pasando el árbol cuando se quiera realizar otro estudio de esta naturaleza. Para la presente investigación los resultados positivos se alcanzaron cuando el árbol se encontraba en el período de latencia, época comprendida aproximadamente de octubre a marzo, ya que en esta etapa el árbol presenta estructuras lignificadas que resisten o que prolongan la vida de los explantes a lo largo de la metodología utilizada.

Utilizar carbón activo a una concentración de 0.25 % para controlar la oxidación de los ápices de brote ó explorar en el rango 0.25 % a 0.5 %.

Efectuar otras investigaciones evaluando la respuesta del callo a la diferenciación de brotes, realizando para ello una exploración en el rango de 1.5 – 3 mg/L Bencilaminopurina y 0.1 – 0.5 mg/L para Ácido Naftalenacético.

Identificar eco tipos de pinabete *Abies guatemalensis* Rehder con características de interés comercial para su propagación *in vitro*.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Cambara Vásquez, P. 1998. Evaluación de la respuesta de tres variedades de caña de azúcar (*Saccharum sp.*) a la propagación *in vitro*, utilizando explantes apicales y dos sustancias antioxidantes. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 45 p.
2. Coll, J *et al.* 1980. Fisiología vegetal. Madrid, España, Pirámide. 750 p.
3. Córdoba, CV. 1976. Fisiología vegetal. Madrid, España, Blume. 439 p.
4. Coulson, R; Witter, JA. 1990. Entomología forestal ecología y control. México, Noriega. 751 p.
5. Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plant. New York, US, Colombia University Press. 1262 p.
6. Curso de cultivo de tejidos (2., 1988, Guatemala). 1986. Cultivo de tejidos: memoria. Guatemala, IICA. 28 p.
7. DIGEBOS (Dirección General de Bosques y Vida Silvestre, GT). 1989. El pinabete (*Abies guatemalensis*), su producción para árbol de navidad. Guatemala. 25 p.
8. Efferson, NJ. 1987. Biotecnología de la nueva revolución verde. Agricultura de las Américas 36(2):20–25.
9. García Rodríguez, GR. 1989. Respuesta de la semilla de tres especies forestales (*Abies guatemalensis* Rehder, *Tectona grandis* Linneo y *Juglans guatemalensis* Manning) a varios tratamientos pregerminativos. Teésis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 80 p.
10. Garcia Tello, WE. 1993. Estudio de la respuesta del pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) a su reproducción vegetativa *in vitro*, utilizando dos medios de cultivo y seis combinaciones hormonales. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 55 p.
11. Gebauer, M; Aquea, F; Tichauer, J; Klein, A; Medina, C; Arce, J. 2001. Implementación de un sistema de regeneración de *Pinus radiata* (en línea). Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Consultado 12 ene 2004. Disponible en [www.redbio.org/portal/encuentros/en\\_2001/posters/pdf/01-038.pdf](http://www.redbio.org/portal/encuentros/en_2001/posters/pdf/01-038.pdf).
12. George, EF; Puttock, DJ; George, HJ. 1987. Plant culture media; formulations and uses. Great Britain, Eastern Press. v.1. 567 p.
13. Gonzáles, JH. 1979. Caracterización ecológica de la comunidades de pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) en Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 79 p.
14. Hartmann, HT; Kester, DE. 1987. Propagación de plantas, principios y prácticas. México, CECSA. p. 649-608.
15. Holdridge, LR. 1977. Clasificación de zonas de vida formaciones vegetales de Guatemala. Costa Rica, IICA. 42 p.
16. Hurtado, MD; Merino, ME. 1988. Cultivo de tejidos vegetales. México, Trillas. 232 p.

17. López Morales, C. 1999. Efecto de la bencilaminopurina (BA) y dos dos métodos de micropropagación sobre los cultivares de plátano (*Musa balbisiana* L.). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 75 p.
18. Macz, OE; Landaverde Coy, D; Gonzalez, IA. 2000. Estudio del comportamiento del pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) a la reproducción meristemática *in vitro*. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad Rafael Landivar, Instituto de Agricultura, Recursos Naturales y Ambiente. 23 p.
19. Mendez Salas, R. 1986. Propagación *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) como técnica de apoyo para el mejoramiento genético. Agricultura Técnica Mexicana 12(2):215-229.
20. Merk Index. 1996. Enciclopedia of chemical, and biological. New Jersey, US, Susan Whitehouse Station. 70 p.
21. Monterrojo, V; Mata Rosas, M; Rebolledo Camacho, V. 2001. Regeneración *in vitro* de *Abies religiosa* (Kunth) Schtdl.& Cham; restauración ecológica (en línea). México, Escuela Nacional de Estudios Profesionales, Iztacala, Unidad de Biología Tecnología y Prototipos. Consultado 12 ene 2004. Disponible en ([www.socbot.org.mx/disco/resume/re18.htm](http://www.socbot.org.mx/disco/resume/re18.htm)).
22. Okabe, K. 1997. Informe 1995-1997; region I. Barcenas, Villa Nueva, Guatemala, s.e. 80 p.
23. Peñalonzo, R; Zanotti, JR. 1989. El pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder), su producción para árbol de navidad. Guatemala, Dirección General de Bosques. 21 p.
24. Ruiz, D. 1996. Forma de preparación de medios de cultivo Murashige and Skoog. San Pedro Sula, Honduras, Fondo Hondureño de Investigación Agrícola. 25 p.
25. Salisbury, FB; Ross, CW. 1992. Fisiología vegetal. Trad. Virgilio Gonzáles Velásquez. México, Grupo Editorial Iberoamericano. p. 758.
26. Sánchez Espinosa, AC; Campos Ruiz, RS; Chávez Avila, VM. 2000. Comparación de la respuesta morfogénica *in vitro* de cuatro diferentes poblaciones de *Picea abies* Martínez, especie mexicana endémica en peligro de extinción (en línea). México, Sociedad Botánica de México, Escuela Nacional de Estudios Profesionales, Iztacala, Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos. Consultado 24 feb 2004. Disponible en [www.socbot.org.mx/disco/resume/re684.htm](http://www.socbot.org.mx/disco/resume/re684.htm).
27. Simmons, CS; Tarano, JM; Pinto, JH. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la republica de Guatemala. Guatemala, José de Pineda Ibarra. 1000 p.
28. Slowik, B; Villalobos Arambula, VM. 1985. Metodología de cultivo de meristemas. México, Universidad de Chanpingo. p. 181.
29. Strasburger, E; Noll, F; Schimper, AFW. 1953. Tratado de botánica. Trad. por Oriol de Blós. España, Universidad de Barcelona. p. 436-440.

30. Universidad de Agricultura de Praga, Instituto de Agricultura Tropical y Subtropical, CZ. 2000. Laboratorio de micropropagación y vivero para producción de plantas forestales nativas y frutales. Praga, Checoslovaquia. Consultado 8 marzo 2004. Disponible en <http://www.elhorticultor.com.ar/bulbosysemillasmicropropagacion1.html>.
31. USAC, Facultad de Agronomía, GT. 1998. Respuesta de explantes a la inducción de callo y regeneración de plantas *in vitro*. Guatemala. p.10.
32. Valdez Orellana, SP. 1999. Efecto de la temperatura, radiación, sustratos y reguladores de crecimiento en la germinación de semillas de pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 60 p.



## INDICE GENERAL

	Página
1. Introducción	73
2. Marco referencial	73
3. Objetivos	74
4. Plan de ejecución	74
4.1 Servicios prestados	74
4.1.1 Estudio de la condición actual de los suelos destinados para agricultura en el Caserío Panimachabac, Tecpán, Chimaltenango	74
A. Descripción de la problemática	74
B. Objetivo	74
C. Marco conceptual	74
a. Muestra compuesta	74
b. Toma de muestras	75
c. Método	75
D. Metodología	76
E. Resultados	76
F. Evaluación	77
4.1.2 Capacitación en viveros forestales en la Escuela de Fomento del Caserío Panimachabac, Tecpán, Chimaltenango.	78
A. Descripción de la problemática	78
B. Objetivos	78
C. Metodología	78
a. Especies a plantar	78
b. Obtención de semillas	78
c. Delimitación del área de trabajo	79
d. Trazo de bancales y tablonces	79
e. Desinfección de cajas germinadoras	79
f. Siembra del semillero	79
g. Actividades en el semillero	79
h. Preparación para el establecimiento del vivero	79
i. Preparación del sustrato para bolsas	79
j. Llenado y apilado de bolsas	80
k. Desinfección del material en bolsa	80
l. Trasplante de semillero a bolsa	80
m. Replanteo	80
n. Sombra	80
o. Riego	80
p. Control de malezas	80
D. Resultados	80
E. Evaluación	80
5. Bibliografía	81
6. Apéndice	82

## **1. INTRODUCCIÓN**

El contribuir a solucionar dificultades que estén afectando de alguna manera el desarrollo económico, o de cualquier otro tipo, de una localidad en particular o empresa, es el aporte que se espera de un estudiante de Ejercicio Profesional supervisado (EPSA) de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos, y más aún cuando se trata del área rural, que es un tema de actualidad y de constante debate, pero que realmente se hace poco por parte de las autoridades en combatir con firmeza y determinación este tipo de contrariedades. La falta de proyectos productivos que permitan la diversificación de actividades, son algunas de las causas que están vinculadas directamente y que impiden erradicar la pobreza en esas áreas de nuestro país.

Mediante estos proyectos de servicios propuestos se pretende atacar la parte de diversificación de actividades productivas, proponiendo y ejecutando algunas prácticas tecnificadas que garanticen el éxito de los mismos, de tal forma que no sean proyectos que queden varados al finalizar el período que comprende el EPSA, sino que puedan tener continuidad.

## **2. MARCO REFERENCIAL**

### **2.1 Localización**

La finca Panimachabac se encuentra en el municipio de Tecpán, del departamento de Chimaltenango. De la ciudad capital, conduciéndose a la finca Panimachabac, se llega por la carretera interamericana CA-1 en donde a la altura del kilómetro 93.5 se toma el desvío de carretera de terracería que conduce a las aldeas Chajalajjá, Panimachabac, Paquip y otras comunidades y caseríos. Latitud N 14° 50'16" y longitud O 90° 59'10".

### **2.2 Clima, suelos y zona de vida**

Según Holdridge (1) la zona de vida es montano bajo muy húmedo (mbmh), la época lluviosa es del mes de mayo al mes de octubre y la época seca va del mes de noviembre al mes de abril. La aparición de heladas se da en los meses de noviembre a enero. Por la elevación que va de los 2350 msnm a los 2800 msnm la temperatura predominante anual promedio es de 14 °C a 16 °C, con precipitaciones promedio anual que van de los 1700 mm a 2300 mm (2).

Los suelos de esta región se clasifican como suelos de la serie Totonicapán en la Clasificación de Reconocimiento de los Suelos de la República de Guatemala de Simmons, Tarano y Pinto 1959 (6). Adecuado para la actividad forestal, no ha sufrido erosiones eólicas o hídricas. Los suelos pertenecen a la división fisiográfica, Tierras Altas Volcánicas.

### **3. OBJETIVO GENERAL DE LOS SERVICIOS**

Contribuir mediante la prestación de servicios profesionales a la diversificación de actividades productivas que permita a los pobladores del caserío Panimachabac mejorar sus ingresos y como consecuencia sus condiciones de vida.

### **4. PLAN DE EJECUCIÓN**

#### **4.1 SERVICIOS PRESTADOS**

##### **4.1.1 ESTUDIO DE LA CONDICIÓN ACTUAL DE LOS SUELOS DESTINADOS PARA AGRICULTURA EN EL CASERÍO PANIMACHABAC, TECPÁN, CHIMALTENANGO**

###### **A. DESCRIPCIÓN DE LA PROBLEMÁTICA**

En el caserío Panimachabac con anterioridad se han realizado intentos en cuanto al cultivo de hortalizas, pero han dado pocos resultados, posiblemente sea por el desconocimiento del manejo adecuado que éstos necesitan para lograr su desarrollo normal y si a lo anterior le sumamos condiciones climáticas y de suelo no favorables, el fracaso es eminente, por lo que la única opción agrícola hasta el momento es el cultivo de maíz.

###### **B. OBJETIVO**

Analizar de forma global, la fertilidad de los suelos del caserío Panimachabac, con el fin de conocer sus características químicas y mejorar algunas prácticas agrícolas.

## **C. MARCO CONCEPTUAL**

### **a. Muestra compuesta de suelo**

Una muestra compuesta ideal deberá cumplir los requisitos siguientes:

- i. Cada una de las muestras originales deben ser del mismo volumen y representar la misma sección transversal del volumen total.
- ii. Será tomada al azar con respecto al volumen en estudio.
- iii. En número suficiente para que representen todo el volumen que se quiere analizar (de 10 a 30; usualmente, unas 12 por cada muestra compuesta).
- iv. El volumen total seleccionado para hacer de él una muestra compuesta debe de ser homogéneo para el objetivo que se persigue.

Este ultimo requisito es importante y nos obliga, por ejemplo, a subdividir el campo en varias parcelas si se observa heterogeneidad en topografía, color crecimiento de plantas, etc. en este caso se toman muestras compuestas de cada una de las parcelas por separado y se analizan independientemente, López (4).

### **b. Toma de muestras de suelos en campos experimentales y fincas**

Una parcela experimental debe tener un suelo homogéneo. Desgraciadamente eso es una utopía, y en la practica debe de contentarse con algo que se acerque a este ideal.

La localización, toma de muestra y análisis para decidir si un suelo es suficientemente homogéneo para establecer en él un campo de experimentación debe de realizarse con gran cuidado. La unidad de área más pequeña que debe elegirse para ensayar la uniformidad debe de ser la parcela que se piensa utilizar después de las experiencias. Se debe tomar una muestra compuesta en ella (12 submuestras) y a continuación otra igual repetida.

La diferencia entre ambas muestras compuestas permite calcular las variaciones de la propiedad del suelo en esa parcela. Debe tomar también una muestra compuesta de cada parcela y ver de este modo si las variaciones a la media de todo el campo son significativas. Esto puede ser de base para rechazar aquellas que den más variabilidad de la deseada, López (4).

### **c. Método**

Cada parcela se delimita con estacas en las esquinas y se cruza esta en zigzag, haciendo sondeos de unos 15 cm. de profundidad con el taladro a cada dos o cuatro metros, según sea el tamaño de la parcela. La muestra compuesta (10 a 30 sondeos en total) se coloca en una bolsa marcada para su posterior identificación. En algunos terrenos pedregosos es preferible utilizar el barreno.

Si en lugar de taladro se usa una pala recta, debe de ser plana, estrecha y de lados paralelos, con lo cual es más fácil obtener lonjas de tamaño uniforme, de unos 2 cm de grueso y 15 cm de profundidad. Asimismo podemos utilizar un pico en suelos pedregosos, pero es más laborista la toma de muestras.

La muestra compuesta en la bolsa se coloca junto con las demás en cajas de cartón para llevárselas al laboratorio (sin secar).

El número de muestra que se debe tomar viene dado por el número de repeticiones que tiene el tratamiento; generalmente, una muestra compuesta por cada parcela.

En el caso de las fincas, los aparatos y métodos a usar son los mismos, pero es conveniente hacer un croquis del terreno después de haberle recorrido y marcar los puntos donde se va a tomar las muestras, teniendo presente que se deben de hacer muestras compuestas por separado de aquellas partes que presenten características propias.

Por ejemplo, si la topografía es accidentada se recogerán por separado la calicatas tomadas del terreno en pendiente de las tomadas en la parte baja del mismo. Si se nota una parte del terreno más oscura que otra, se toman muestras completas por separado también. Lo mismo se hará si se aprecian diferencias de textura en el suelo o en nivel de fertilidad (indicado por el mayor o menor desarrollo de las plantas).

Deberá tenerse especial cuidado en no sondear cerca de edificios, caminos, etc., ni en lugares en los que se vea acumulación de fertilizantes (si éstos se aplicaron en bandas) o que puedan dar análisis no representativos por cualquier otro motivo, López (4).

### **D. METODOLOGÍA**

- a.** Se seleccionaron las parcelas a muestrear.
- b.** Muestreo de suelos. En general se obtuvieron 12 submuestras por muestra compuesta, en caminamiento zigzag, con sondeos de 15 - 25 cm, López (4).
- c.** Obtubo y se identifico la muestra compuesta de suelo.
- d.** Se transporto al laboratorio de suelos de la Facultad de Agronomía.

## E. RESULTADOS

Para la interpretación de los siguientes resultados se anexan algunos cuadros.  
(Cuadro 2A, 3A, 4A y 5A).

Cuadro 1. Resultados promedio de análisis de suelos.

IDEN	pH	Ppm		Meq/100 ml		Ppm				Meq/100 gr					%	
		P	K	Ca	Mg	Cu	Zn	Fe	Mn	CIC	Ca	Mg	Na	K	SB.	M.O.
RANGO MEDIO		12-16	120-150	6-8	1.5-2.5	2-4	4-6	10-15	10-15							
M-1	5.8	1.53	190	5.61	0.67	0.5	2.0	3.0	8.0	41.74	5.98	0.69	0.28	0.87	18.80	9.46

Cantidades disponibles por ha.

Fósforo (p)= Disponible 8 Kg

Potasio (K) = Disponible 988 Kg

Cobre (Cu) = Disponible 2.6 Kg

Zinc (Zn) = Disponible 8 Kg

Hierro (Fe) = Disponible 12 Kg

Manganeso (Mn) = Disponible 42 Kg

## F. EVALUACIÓN

Asistencia a las pláticas en donde se dieron a conocer los resultados y se recomendaron algunas prácticas agrícolas para hacer más eficiente el uso de abonos químicos y la razón de los orgánicos, con el fin de mejorar en el corto plazo el manejo de cultivos, en cuanto al tema de fertilización se trata.

#### **4.1.2 CAPACITACIÓN EN VIVEROS FORESTALES EN LA ESCUELA DE FOMENTO DEL CASERÍO PANIMACHABAC TECPÁN, CHIMALTENANGO**

##### **A. DESCRIPCIÓN DE LA PROBLEMÁTICA**

Las técnicas empleadas por las personas en el área rural, independientemente del tema que se trate, en su mayoría son empíricas, adquiridas por la experiencia pero con ninguna base científica que los respalde.

La deforestación por necesidad y la poca accesibilidad a técnicas para enmendar este tipo de problemas agravan la situación, de tal manera que en el futuro es muy probable que el bosque se vea reducido trayendo consigo consecuencias tales como, pérdida de suelos por erosión, disminución de fuentes de agua, etc. Es de esa forma como nace la necesidad de capacitar a los alumnos de la escuela del caserío en el tema de viveros forestales.

##### **B. OBJETIVOS**

- a. Capacitar a los alumnos de 4°, 5° y 6° grado de primaria en la elaboración de viveros forestales.
- b. Implementar un vivero experimental en la escuela.
- c. Propagar las especies del lugar.
- d. Crear conciencia ambiental en los jóvenes.

##### **C. METODOLOGÍA**

Para el establecimiento del vivero se siguió la siguiente metodología, Padilla (5).

###### **a. Determinación de las especies a plantar**

Es importante considerar el tipo de especies con lo que la población desea trabajar y las que son aptas para el lugar. Las especies que se utilizaron fueron (*Pinus pseudrostobus* y *Cupressus lusitánica*).

###### **b. Obtención de semillas**

La semilla se obtuvo en BANSEFOR (Banco de Semillas Forestales) del INAB.

**c. Delimitación del área de trabajo**

Se utilizó un área plana y cerca de la fuente de agua.

**d. Trazo de bancales y tablonés**

El ancho de cada bancal fue de 1 metro y 3 metros de largo, con calles de 0.75 metros.

**e. Desinfección de las cajas germinadoras**

En las cajas germinadoras, se llenaron con una mezcla de tierra utilizando el 50% de arcilla, 30% de arena blanca, y 20% de tierra fértil. La desinfección de las cajas se realizó mediante la aplicación de Captan.

**f. Siembra del semillero**

Las dimensiones de las cajas serán de 2 m de largo por 1 m de ancho, para facilitar las labores necesarias. La siembra se realizó en surcos que van a lo largo de las cajas germinadoras habiendo una distancia entre surcos de 2 cm. El método de siembra en los surcos se hizo al chorreo.

**g. Mantenimiento del semillero**

Estas actividades se realizaron desde la siembra de la semilla en las cajas germinadoras hasta cuando las plántulas llegaron a la etapa adecuada para su trasplante. En este caso las actividades que se realizaron fueron básicamente de mantenimiento como lo es el riego, control de enfermedades, limpia de malezas, etc.

**h. Preparación del área para el establecimiento del vivero**

Se procedió a limpiar el área de malezas que pudieran constituir una obstrucción o medio de contaminación y se niveló.

**i. Preparación del sustrato a utilizar para el llenado de bolsas**

La mezcla consistió en 50% de arcilla o tierra, 25% de arena y 25% de materia orgánica. Además, a tal sustrato se le añadió tierra de pinos recolectada en el lugar, con la finalidad de aportar micorrizas al sustrato. El sustrato se tamizó con cedazo de  $\frac{1}{4}$  de pulgada.

**j. Llenado y apilado de bolsas**

Las medidas de las bolsas utilizadas fueron de 4 X 8 pulgadas, éstas se apilaron en los bancales descritos con anterioridad. En un metro cuadrado de terreno caben un total de 225 bolsas.

**k. Desinfección del material en bolsa**

Se utilizó el mismo método que para cajas germinadoras.

**l. Trasplante del semillero a las bolsas**

El trasplante de las plántulas del semillero a las bolsas se realizó a raíz desnuda.

**m. Replanteo**

Es usual que por causas mecánicas, mala selección de la planta u otra causa de muerte, exista algún porcentaje de mortandad, por lo que es necesario llenar ese espacio.

**n. Sombra**

Ésta se instaló después del trasplante para evitar la marchitez de las plantas por el contacto directo del sol.

**o. Riego**

Los riegos se realizaron en el momento de la siembra así como después de la misma. Se estimó que los riegos se harían a razón de 3 veces por semana, no siendo esto definitivo, ya que se realizaron en función de la necesidad existente.

**p. Control de malezas, plagas y enfermedades**

El control de malezas se hizo manualmente, para plagas y enfermedades se realizaron monitoreos continuos para asegurar la sanidad de las plantas.

**D. RESULTADOS**

Se produjeron un número aproximado de 2,500 plantas de (*Cupressus lusitánica*) y se repartieron entre el número total de alumnos.

**E. EVALUACIÓN**

- a. Participación activa de alumnos y alumnas en el proceso del establecimiento del vivero forestal.
- b. Se realizó una prueba de conocimientos básicos del tema.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

1. Holdridge, LR. 1977. Clasificación de zonas de vida y formaciones vegetales de Guatemala. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
2. IGN (Instituto Geográfico Nacional, GT). 1980. Diccionario geográfico nacional. Comp. Francis Gall. Guatemala. tomo 3.
3. INAFOR (Instituto Nacional Forestal, GT). 1990. Modulo educativo extraescolar: viveros y reforestación. Guatemala, Junta Nacional de Educación Extraescolar, Secretaria de Coordinación. 42 p.
4. López Ritas, J; López Medila, J. 1985. El diagnostico de los suelos y plantas. Madrid, España, Mundi Pesa. 366 p.
5. Padilla, F. 1987. Manual practico de viveros forestales. Guatemala, Proyecto Madeleña / INAFOR-CATIE. 29 p.
6. Simmons, CS; Tarano, JM; Pinto, JH. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la republica de Guatemala. Guatemala, José de Pineda Ibarra. 1,000 p.

## 6. APENDICE

Cuadro 2 "A". pH del suelo (Jones y Wolf modificado 1984).

Categoría	Escala de pH
Muy ácido	< 5.5
<b>Ácido</b>	<b>5.6 – 6</b>
Ligeramente ácido	6.1 – 6.5
Neutro	6.6 – 7.3
Alcalino	7.4 – 8.3
Fuertemente alcalino	> 8.3

Cuadro 3 "A". Interpretación general del Fósforo aprovechable determinado por el método Olsen (Landon, 1984).

Demanda del cultivo	Ejemplos	Fósforo aprovechable (mg/kg)		
		Deficiente	Cuestionable	Adecuado
Baja	Pastos, cereales, soya y maíz	< 4	5 – 7	> 8
Moderada	Alfalfa, algodón, maíz dulce, tomate	< 7	8 – 13	> 14
Alto	Remolacha, papa, apio, cebollas	< 11	12 – 20	> 21

Cuadro 4 "A". Capacidad de intercambio catiónico (Cottenie, 1980).

Clase	CIC [meq/100 g o Cmol (+)/kg]
Muy baja	< 5
Baja	5 – 10
Media	15 – 20
Alta	20 – 40
Muy alta	> 40

Cuadro 5 "A". Clasificación de materia orgánica en suelos derivados de cenizas volcánicas (Fassbender y Bornemisza 1987).

Clase	C. Orgánico	% M. O.
Muy pobre	< 1.2	< 2
Pobre	1.2 – 2.9	2 – 5
Medio	2.9 – 4.6	5 – 8
Rico	4.6 – 8.7	8 – 15
Muy Rico	> 8.7	> 15