

**UNIVERSIDAD NACIONAL**  
**“SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO”**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**“EFECTO DEL ÁCIDO NAFTALENACETICO (ANA) Y EL ÁCIDO  
GIBERÉLICO (AG3) EN EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* Y  
ACLIMATACIÓN EN CONDICIONES DE INVERNADERO DE  
*Senecio calvus* Cuatr. (HUAMANRIPA) ”**

**TESIS**  
**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE**  
**INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTADO POR:**  
**Bach. JHONNY CUEVA LÓPEZ**

**HUARAZ - PERÚ**

**2015**



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado de Tesis que suscriben, reunidos para escuchar y evaluar la sustentación de Tesis presentado por el Bachiller en Ciencias Agronomía **JHONNY CUEVA LÓPEZ**, denominado: **“EFECTO DEL ÁCIDO NAFTALENACETICO (ANA) Y EL ÁCIDO GIBERÉLICO (AG<sub>3</sub>) EN EL ENRAIZAMIENTO IN VITRO Y ACLIMATACIÓN EN CONDICIONES DE INVERNADERO DE Senecio calvus Cuatr. (HUAMANRIPA)”**. Escuchada la sustentación y las respuestas a las preguntas y observaciones formuladas, la declaramos:

*A P R O B A D A*

CON EL CALIFICATIVO (\*) *M U Y B U E N O*

En consecuencia, queda en condición de ser calificado **APTO** por el Consejo de Facultad de Ciencias Agrarias y por el Consejo Universitario de la Universidad Nacional “Santiago Antúnez de Mayolo” y recibir el Título de **INGENIERO AGRÓNOMO** de conformidad con la Ley Universitaria y el Estatuto de la Universidad.

Huaraz, 11 de Diciembre del 2015.

Ing. M.s  
Sc. Nelly Pilar CAYCHO MEDRANO  
PRESIDENTE

Ing. M.s Sc. Neptali DÍAZ LEÓN  
SECRETARIO

Ing. Orestes Delfín ALVARADO CASTILLO  
VOCAL

Ing. Eusebio REYES HUAMÁN  
PATROCINADOR

Dra. Carmen Del Rosario TAMARIZ ANGELES  
CO-PATROCINADORA

(\*) De acuerdo con el Reglamento de Tesis, ésta debe ser calificada con términos de: SOBRESALIENTE, MUY BUENO, BUENO Y REGULAR.



## ACTA DE CONFORMIDAD DE TESIS

Los Miembros de Jurado de Tesis que suscriben, nombrados por Resolución N° 330-2014-UNASAM-FCA/D, se reunieron para revisar el informe de Tesis, presentado por el Bachiller en Ciencias Agronomía **JHONNY CUEVA LÓPEZ**, denominado: **“EFECTO DEL ÁCIDO NAFTALENACETICO (ANA) Y EL ÁCIDO GIBERÉLICO (AG<sub>3</sub>) EN EL ENRAIZAMIENTO IN VITRO Y ACLIMATACIÓN EN CONDICIONES DE INVERNADERO DE Senecio calvus Cuatr. (HUAMANRIPA)”**. y sustentada el día 11 de Diciembre del 2015, por Resolución Decanatural N° 601-2015-UNASAM-FCA/D., lo declaramos CONFORME.

En consecuencia queda en condiciones de ser publicada.

Huaraz, 11 de Diciembre del 2015.

Ing. M.s  
Sc. Nelly Pilar CAYCHO MEDRANO  
PRESIDENTE

Ing. M.s Sc. Neptalí DÍAZ LEÓN  
SECRETARIO

Ing. Orestes Delfín ALVARADO CASTILLO  
VOCAL

Ing. Eusebio REYES HUAMÁN  
PATROCINADOR

Dra. Carmen De Rosario TAMARIZ ANGELES  
CO-PATROCINADORA

## **DEDICATORIA**

Con inmensa gratitud a mis padres Víctor Cueva y Elsa López por ser los seres más especiales en mi vida por la paciencia que asumieron en toda mi etapa de formación académica, que con sus esfuerzos, sacrificios, apoyo y comprensión han hecho posible la culminación de mi carrera profesional

A mis hermanas Violeta, Doris y Gladys por su comprensión, quienes me brindaron su confianza, apoyo moral y espiritual.

## AGRADECIMIENTO

A Dios, considerando que mientras lo llevemos en nuestras vidas todo será posible, pilar fundamental para cumplir nuestros objetivos trazados.

A la Universidad Nacional “**SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO**”, Facultad de “**Ciencias Agrarias**”, Escuela Profesional de “**Agronomía**”, alma máter de mi formación profesional.

A los Señores Docentes de la Facultad de “**Ciencias Agrarias**”, Escuela Profesional de “**Agronomía**” por sus valiosas enseñanzas y orientaciones que condujeron al logro de mis objetivos.

A mis patrocinadores Ing. Reyes Huamán, Eusebio y Dra. Tamariz Angeles, Carmen, por sus apoyos brindados, que con sus conocimientos y experiencias contribuyeron para hacer posible la culminación del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Percy Olivera Gonzales, por su apoyo incondicional en la realización de la presente investigación.

Al Proyecto, “**Caracterización Fitoquímica, Biológica y Molecular de Plantas Alto-andinas Peruanas, con Potencial en la Industria Farmacológica**”, por brindarme las facilidades y los recursos para el presente trabajo de investigación.

A mis compañeros del Laboratorio de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional “**SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYO**”.

## INDICE

I.	INTRODUCCION.....	1
	OBJETIVO GENERAL.....	2
	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
II.	REVISION BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1.	ANTECEDENTES .....	3
2.2.	DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE.....	3
2.2.1.	Clasificación taxonómica de huamanripa <i>Senecio calvus</i> Cuatr. ....	3
2.2.2.	Morfología .....	4
2.2.3.	Distribución .....	4
2.2.4.	Usos y potencialidades. ....	4
2.3.	CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES.....	5
2.3.1.	FASES DEL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES.....	5
2.4.	CARACTERÍSTICAS DE UNA VITROPLANTA .....	7
2.4.1.	Cutícula.....	8
2.4.2.	Las hojas .....	8
2.4.3.	Células. ....	8
2.4.4.	Las estomas .....	8
2.4.5.	Las raíces .....	8
2.4.6.	Libre de contaminantes.....	8
2.4.7.	Fotosíntesis .....	9
2.5.	TÉCNICAS PARA LA ACLIMATACION .....	9
2.5.1.	En la etapa <i>in vitro</i> .....	9
2.5.2.	En la etapa <i>ex vitro</i> . ....	10
2.6.	FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MICROPROPAGACION.....	10
2.6.1.	La cámara del cultivo. ....	10
2.6.2.	Factores genéticos.....	11
2.6.3.	Factores ambientales.....	11
2.6.4.	Medio de cultivo .....	11
2.6.5.	Reguladores de crecimiento .....	12
2.7.	FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ETAPA DE ACLIMATACION.....	13
2.7.1.	Temperatura:.....	13
2.7.2.	Humedad relativa e Intensidad de luz .....	13

2.7.3. Sustrato:.....	14
III. MATERIALES Y METODOS.....	16
3.1. MATERIALES .....	16
3.1.1. Ubicación.....	16
3.1.2. Materiales de laboratorio.....	16
3.2. MÉTODO. ....	18
3.2.1. Tipo de investigación. ....	18
3.2.2. Diseño experimental.....	18
3.2.3. Procesamiento estadístico.....	21
3.2.4. Universo o población.....	22
3.2.5. Unidad de análisis y muestra.....	22
3.2.6. Parámetros o variables evaluadas.....	22
3.3. PROCEDIMIENTO.....	23
3.3.1. Enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>Senecio calvus</i> Cuatr.....	23
3.3.2. Aclimatación de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., en condiciones de invernadero.....	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1. Tratamiento hormonal con el ácido naftalenacético ANA en la etapa de enraizamiento de <i>Senecio calvus</i> Cuatr. ....	26
4.2. Tratamiento hormonal del ácido giberélico AG <sub>3</sub> en la etapa de enraizamiento de <i>Senecio calvus</i> Cuatr.....	26
4.2.1. Altura de planta (mm) de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., evaluados a 15, 30 y 45 días. 27 .....	29
4.2.2. Número de brotes de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., evaluados a 15, 30 y 45 días... 30	
4.2.3. Número de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., evaluados a 15, 30 y 45 días. 33	
4.2.4. Longitud de raíces adventicias (mm) de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., evaluados a 15, 30 y 45 días. ....	37
4.3. Fase de aclimatación de vitriplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr.....	40
V. CONCLUSIONES.....	42
VI. RECOMENDACIONES. ....	43
VII. BIBLIOGRAFIA.....	44
VIII. ANEXOS. ....	49

## INDICE DE CUADROS

<b>CUADRO 1:</b> Tratamientos utilizados para el enraizamiento de <i>Senecio calvus</i> Cuatr.....	18
<b>CUADRO 2:</b> Randomizacion en el Diseño Completamente al Azar .....	19
<b>CUADRO 3:</b> Distribución de los tratamientos para el enraizamiento de huamanripa ( <i>Senecio calvus</i> Cuatr.) para los tratamientos por cada hormona.....	20
<b>CUADRO 4:</b> Esquema de análisis de varianza (ANVA) para un Diseño Completamente al Azar. ....	21
<b>CUADRO 5:</b> Dosis hormonal de ácido naftalenacetico y ácido giberélico para 250ml. ...	24
<b>CUADRO 6:</b> porcentaje de enraizado de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., con los tratamientos: T0 = 0 mg.L <sup>-1</sup> ; T1 = 1 mg.L <sup>-1</sup> ; T2 = 1,50 mg.L <sup>-1</sup> ; T3 = 2 mg.L <sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L <sup>-1</sup> . de ANA.....	26
<b>CUADRO 7:</b> porcentaje de enraizado de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., con los tratamientos: T0 = 0 mg.L <sup>-1</sup> ; T1 = 1 mg.L <sup>-1</sup> ; T2 = 1,50 mg.L <sup>-1</sup> ; T3 = 2 mg.L <sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L <sup>-1</sup> . de AG <sub>3</sub> .....	26
<b>CUADRO 8:</b> Análisis de varianza (ANVA) para altura de planta de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15 días. ....	27
<b>CUADRO 9:</b> Análisis de varianza (ANVA) para altura de planta de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 30 días. ....	27
<b>CUADRO 10:</b> Análisis de varianza (ANVA) para altura de planta de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 45 días. ....	28
<b>CUADRO 11:</b> Prueba de comparación de tukey para altura de planta <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15, 30 y 45 días. ....	28
<b>CUADRO 12:</b> Análisis de varianza (ANVA) para número de brotes de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15 días. ....	30
<b>CUADRO 13:</b> Análisis de varianza (ANVA) para número de brotes de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 30 días. ....	30
<b>CUADRO 14:</b> Análisis de varianza (ANVA) para número de brotes de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 45 días. ....	31
<b>CUADRO 15:</b> Prueba de comparación de tukey para número de brotes de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15, 30 y 45 días. ....	31
<b>CUADRO 16:</b> Análisis de varianza (ANVA) para número de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15 días. ....	33
<b>CUADRO 17:</b> Análisis de varianza (ANVA) para número de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 30 días. ....	34
<b>CUADRO 18:</b> Análisis de varianza (ANVA) para número de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 45 días. ....	34
<b>CUADRO 19:</b> Prueba de comparación de tukey para número de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15, 30 y 45 días.....	35
<b>CUADRO 20:</b> Análisis de varianza (ANVA) para longitud de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15 días.....	37
<b>CUADRO 21:</b> Análisis de varianza (ANVA) para longitud de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 30 días.....	37
<b>CUADRO 22:</b> Análisis de varianza (ANVA) para longitud de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 45 días.....	38
<b>CUADRO 23:</b> Prueba de comparación de tukey para longitud promedio de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15, 30 y 45 días.....	38



<b>CUADRO 24:</b> Porcentaje de sobrevivencia de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., en dos sustratos evaluados a 07 y 30 días. ....	40
<b>CUADRO 25:</b> Datos reales de número de raíces adventicias de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> .....	49
<b>CUADRO 26:</b> Datos reales de longitud promedio de raíces adventicias de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> . ....	50
<b>CUADRO 27</b> Datos reales de tamaño de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> .....	51
<b>CUADRO 28:</b> Datos reales de número de brotes de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 15 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> .....	52
<b>CUADRO 29:</b> Datos reales de número de raíces adventicias de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 30 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> .....	53
<b>CUADRO 30:</b> Datos reales de longitud promedio de raíces adventicias de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 30 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> . ....	54
<b>CUADRO 31:</b> Datos reales de tamaño de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 30 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> . ....	55
<b>CUADRO 32:</b> Datos reales de número de brotes de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 30 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> . ....	56
<b>CUADRO 33:</b> Datos reales de número de raíces adventicias de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 45 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> .....	57
<b>CUADRO 34:</b> Datos reales de longitud promedio de raíces adventicias de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 45 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> . ....	58
<b>CUADRO 35:</b> Datos reales de tamaño de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 45 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> .....	59
<b>CUADRO 36:</b> Datos reales de número de brotes de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 45 días del trasplante en los tratamientos de AG <sub>3</sub> . ....	60

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1:</b> Promedio de altura de planta de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., de los tratamientos: T0 = 0 mg.L <sup>-1</sup> ; T1 = 1 mg.L <sup>-1</sup> ; T2 = 1,50 mg.L <sup>-1</sup> ; T3 = 2 mg.L <sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L <sup>-1</sup> de ácido giberélico. ....	29
<b>FIGURA 2:</b> Promedio de número de brotes de <i>senecio calvus</i> Cuatr., de los tratamientos: T0 = 0 mg.L <sup>-1</sup> ; T1 = 1 mg.L <sup>-1</sup> ; T2 = 1,50 mg.L <sup>-1</sup> ; T3 = 2 mg.L <sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L <sup>-1</sup> de ácido giberélico. ....	33
<b>FIGURA 3:</b> Número en promedio de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., de los tratamientos: T0 = 0 mg.L <sup>-1</sup> ; T1 = 1 mg.L <sup>-1</sup> ; T2 = 1,50 mg.L <sup>-1</sup> ; T3 = 2 mg.L <sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L <sup>-1</sup> de ácido giberélico. ....	36
<b>FIGURA 4:</b> Longitud promedio de raíces adventicias de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., de los tratamientos: T0 = 0 mg.L <sup>-1</sup> ; T1 = 1 mg.L <sup>-1</sup> ; T2 = 1,50 mg.L <sup>-1</sup> ; T3 = 2 mg.L <sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L <sup>-1</sup> de ácido giberélico. ....	40
<b>FIGURA 5:</b> Plantas silvestres de <i>Senecio calvus</i> Cuatr. ....	61
<b>FIGURA 6:</b> Preparación del medio de cultivo con y sin hormona: (A). Pesado de los insumos. (B). Preparación de la hormona. (C). medición del pH del medio de cultivo. (D). Licuado del medio. ....	62
<b>FIGURA 7:</b> Selección de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., para transferir a los tratamientos ....	63
<b>FIGURA 8:</b> Trasplante de vitroplantas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los tratamientos respectivos. ....	63
<b>FIGURA 9:</b> Incubación en la fase de enraizado con los tratamientos de ácido giberélico y ácido naftalenacético. ....	64
<b>FIGURA 10:</b> Vitroplantas con formación de callos de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., con diferentes dosis de ANA: T0 (0 mg.L <sup>-1</sup> ANA); T1 (1 mg.L <sup>-1</sup> ANA); T2 (1,50 mg.L <sup>-1</sup> ANA); T3 (2 mg.L <sup>-1</sup> ANA) y T4 (2.50 mg.L <sup>-1</sup> ANA). ....	64
<b>FIGURA 11:</b> Vitroplantas enraizada de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., con diferentes dosis de AG3: T0 (0,00 mg.L <sup>-1</sup> AG3); T1 (1 mg.L <sup>-1</sup> AG3); T2 (1.5 mg.L <sup>-1</sup> AG3); T3 (2 mg.L <sup>-1</sup> AG3) y T4 (2.5 mg.L <sup>-1</sup> AG3). ....	65
<b>FIGURA 12:</b> Acondicionamiento para dar las condiciones de invernadero a las plantas con la finalidad de controlar la humedad. ....	65
<b>FIGURA 13:</b> Plántulas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 30 días. (A). sustrato musgo + tierra agrícola. (B). musgo + arena. ....	66
<b>FIGURA 14:</b> Plántulas de <i>Senecio calvus</i> Cuatr., a los 60 días. ....	66

## RESUMEN

Huamanripa (*Senecio calvus* Cuatr.) es una de las especies medicinales de uso frecuente por el poblador andino gracias a su propiedad antitusígena; sin embargo, los estudios para su preservación son muy escasas. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de cuatro dosis de ácido naftalenacético (ANA) y ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) en el enraizamiento *in vitro* y aclimatación en condiciones de invernadero. Se diseñaron dos ensayos, en el primero de ellos, el enraizamiento *in vitro*, se realizó en medio basal MS (Murashige y Skoog, 1962) a mitad de sales suplementado con 1; 1.5; 2 y 2.5mg/L de ácido naftalenacético (ANA) y ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) con las mismas dosis, para ello se empleó el diseño completamente al azar con cinco tratamientos incluyendo el testigo y veinte repeticiones, para la aclimatación en invernadero se utilizaron las plántulas procedentes del enraizamiento transfiriéndolos a dos tipos de sustratos (arena + musgo 1:1 y tierra agrícola + musgo 1:1) las que fueron llevados a condiciones de invernadero donde fueron evaluados en términos porcentuales. Dentro de los parámetros evaluados a los 45 días, en la etapa de enraizamiento, se obtuvieron mejores resultados en cuanto a número y longitud de raíces adventicias con el T1 del AG<sub>3</sub> (1mg/L) 3.9 y 31.38mm respectivamente y en la etapa de aclimatación se obtuvo mejores resultados con la combinación de tierra agrícola + musgo 1:1 con 88.5 % de sobrevivencia y mejor desarrollo evaluados a 30 días. Palabras clave: huamanripa, *in vitro*, antitusígena, aclimatación, invernadero. *Senecio calvus*.

## I. INTRODUCCION.

Desde tiempos remotos muchas especies vegetales son utilizadas por el hombre, como una alternativa para aliviar diferentes malestares, por ello desde las primeras culturas en su afán de bienestar y prosperidad empezaron a adquirir conocimientos empíricos sobre la utilización de las plantas. Con el desarrollo de las primeras civilizaciones y del lenguaje estos conocimientos empezaron a transmitirse de generación en generación que a la actualidad muchas de las especies medicinales aún son utilizados por el hombre andino, como es el caso de la huamanripa *Senecio calvus* Cuatr., (Vision, 1996): La huamanripa *Senecio calvus* Cuatr., es una planta herbácea de la familia de las Compositae que crece en forma silvestre en las zonas alto andinas del Perú, que es utilizado por el hombre andino para aliviar los malestares como la tos gracias a sus principios antitusígenos (Tamariz, 2001), además es considerada como una especie endémica; sin embargo a pesar de tener propiedades medicinales, no se ha fomentado estudios como la micro propagación para su reposición y conservación.

La técnica del cultivo de tejidos vegetales *in vitro* ha sido utilizada para la micropropagación de muchas especies alimenticias (Arribas, 1999). Sin embargo, su aplicación en una nueva especie requiere del establecimiento de una metodología específica para cada etapa de la micropropagación, en algunos países la propagación *in vitro* se utiliza para la conservación de las especies endémicas, plantas en peligro de extinción (Izquierdo 2006, Cristea et al. 2010) y para la propagación de plantas medicinales (Tripathi y Tripathi 2003). La importancia de este trabajo de investigación radica en la necesidad de implementar técnicas de propagación *in vitro* que permita la preservación, regeneración y/o multiplicación de *Senecio calvus* Cuatr., al ser una especie endémica alto andina y de interés medicinal que actualmente su distribución se ve cada vez más reducida debido a diferentes factores como la degradación, fragmentación y pérdida de ecosistemas, el cambio climático y otros, la técnica de cultivo *in vitro*, nos brinda la oportunidad de producir éstas especies a gran escala, evitando así, la pérdida parcial o total de este recurso medicinal valiéndose de los reguladores de crecimiento (auxinas, citoquininas, giberelinas). Por lo que este trabajo está orientado al uso de Ácido Naftalenacético (ANA) Y Acido Giberélico (AG<sub>3</sub>) en el proceso de enraizamiento y aclimatación como una contribución para su conservación de la huamanripa como una especie medicinal altoandina.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de cuatro dosis de ácido naftalenacético (ANA) y ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) en el enraizamiento *in vitro* y aclimatación en condiciones de invernadero de *senecio calvus* Cuatr. (huamanripa)

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- ✓ Comparar el comportamiento del enraizado de *Senecio calvus* Cuatr. con diferentes concentraciones de Ácido Naftalenacético (ANA) y Ácido Giberélico (AG<sub>3</sub>).
- ✓ Evaluar la dosis de Ácido Naftalenacético (ANA) Y Acido Giberélico (AG<sub>3</sub>) que presenta mayor enraizamiento de *Senecio calvus* Cuatr.
- ✓ Realizar las actividades adecuadas en el proceso de aclimatación *ex vitro* de plántulas obtenidas en el proceso experimental *in vitro*.
- ✓ Evaluar la aclimatación de *ex vitro* de las plántulas en términos porcentuales en dos tipos de sustratos.

## II. REVISION BIBLIOGRÁFICA.

### 2.1. ANTECEDENTES

Olivera (2011), menciona que en la validación de una metodología específica para la propagación *in vitro* de *Perezia coerulescens* especie medicinal alto andina, determinó que la dosis adecuada en el enraizamiento de ésta especie herbácea es con medio Murashige & Skoog a la mitad de sales, suplementado con 1 mg/L de ácido giberélico, 3% de sacarosa y 0.7 % de agar con una semana de exposición a la hormona.

Laguna (2013), menciona que en la desinfección y multiplicación *in vitro* de *Senecio calvus* Cuatrec. (humanripa), planta medicinal alto andina en medio Murashige y Skoog, 2,2 g/L (a mitad de la concentración), suplementado con sacarosa 2,0 % y Phytigel 0,3 % con pH 5,67 donde concluye que es necesario añadir la hormona bencipaminopurina BAP al medio de cultivo para evitar la muerte de los explantes.

### 2.2. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE.

#### 2.2.1. Clasificación taxonómica de humanripa *Senecio calvus* Cuatr.

Según Brands (2012),

<b>Reino</b>	: Plantae.
<b>Subreino</b>	: Viridaeplantae.
<b>Phylum</b>	: Traqueófitas.
<b>Clase</b>	: Magnoliopsida.
<b>Superorden</b>	: Campanulanae.
<b>Orden</b>	: Asterales.
<b>Familia</b>	: Asteraceae (Compositae).
<b>Subfamilia</b>	: Asteroideae.
<b>Tribu</b>	: Senecioneae.
<b>Género</b>	: <i>Senecio</i> .
<b>Epíteto específico</b>	: <i>calvus</i> – Cuatrec.
<b>Nombre científico</b>	: <i>Senecio calvus</i> Cuatrec.

### **2.2.2. Morfología**

Florian (2014) y Vision (1996), coinciden en que *Senecio calvus* Cuatr., es una planta de la familia de las asteráceas (Compositae), hierbas perennes rizomatosas. La especie *Senecio calvus* Cuatr ha sido descrita hasta la fecha solamente en Perú.

#### **Tallo**

Los tallos floríferos son erectos y violáceos con altura media de aproximadamente 32 cm. con numerosos foliolos y capitulecencia escaposa.

#### **Hoja**

Las hojas basales lanceoladas lineales con láminas enteras o tenuemente dentadas, de 20-22cm. de largo (incluyendo el peciolo) x 1.5-2.5cm de ancho, vena central pronunciada por el envés y con filotaxia alterna.

#### **Flor.**

Las flores son amarillas agrupadas en inflorescencias tipo capitulo, las flores del disco varían desde estrechamente tubulares con pequeña diferenciación entre el tubo y la garganta hasta una garganta campanulada o urceolada, las corolas son dimórficas con las flores pistiladas marginales y las flores centrales o del disco con corolas tubulares y sus lobulos mucho más cortos, las anteras con collar anterico balusteriforme.

### **2.2.3. Distribución**

Cuatrecasas (1953), manifiesta que *Senecio calvus* está distribuida en los departamentos de Ancash y Junín, a altitudes mayores a los 4000 m.s.n.m.

### **2.2.4. Usos y potencialidades.**

Florian (2014), manifiesta que su uso está relacionado principalmente como planta medicinal antitusígena y para procesos respiratorios en forma de infusión, en general las plantas de este género son utilizadas también como antiinflamatorios, antimicrobianos y analgésicos.

Tamariz y otros (2001), mencionan que *Senecio calvus* es una planta endémica empleada para aliviar la tos. Un extracto hidroalcohólico de esta especie muestra actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*.

## 2.3. CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

Berrior y Berthouly (1987), hacen referencia de que el cultivo de tejidos vegetales abarca un grupo de técnicas que consisten en aislar y cultivar ciertas partes de la planta (explante) como células, tejidos y órganos, en condiciones físicas y químicas artificiales para que expresen su capacidad morfo-métrica. Es necesario también considerar el cultivo y manipulación del explante, bajo condiciones de asepsia, que eviten la contaminación microbiana. La característica de la totipotencia de las células vegetales, es decir, la capacidad de desarrollar una nueva planta completa, es el principio de la multiplicación *in vitro*, aunque de manera más eficiente, ya que se le proporciona un ambiente artificial favorable para el desarrollo de la planta.

Hartman & Kester (1995), manifiestan que la aplicación de técnicas de cultivo de tejidos a la regeneración y propagación comercial de plantas enteras es un proceso que se ha convertido en una alternativa importante de los métodos convencionales de propagación en una amplia gama de especies vegetales.

### 2.3.1. FASES DEL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES.

Poirot (1991), menciona que el cultivo de tejidos incluye cinco fases que son:

**a) Fase I. Preparación de la planta madre:** para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantes con un nivel nutricional y un grado de desarrollo adecuado. Para obtener estos explantes es recomendable mantener a las plantas madre entre unas semanas o varios meses, en un invernadero, en condiciones sanitarias óptimas y con un control de la nutrición, del fotoperiodo y de la radiación recibida.



**b) Fase II. Establecimiento del cultivo en condiciones de asepsia:** una vez escogida la planta madre, se extraen los fragmentos a partir de los cuales se obtendrán los explantes, previamente se desinfectará estos fragmentos para eliminar los contaminantes externos. Una vez desinfectado el material vegetal, se debe mantener en condiciones de asepsia (trabajados en cámara de flujo laminar).

**c) Fase III. Multiplicación de los brotes:** durante esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron de la Fase II originen brotes (de procedencia axilar o adventicia) con varios entrenudos. Periódicamente estos nuevos brotes se deben subcultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones se realizan en la cámara de flujo laminar.

**d) Fase IV. Enraizamiento:**

**1. Enraizamiento *in vitro*:** se transfieren los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación a un medio libre de reguladores de crecimiento o que sólo contenga auxinas. Esta operación se realiza en la cámara de flujo laminar. Este método permite ser más flexible a la hora de escoger los brotes, ya que éstos obtienen del medio la fuente de energía para enraizar, y por lo tanto no es necesario que tengan las hojas muy bien desarrolladas para realizar la fotosíntesis.

**2. Enraizamiento *ex vitro*:** los explantes se deben transferir a un sustrato limpio, aunque no necesariamente estéril. Con este método es necesario que el medio de enraizamiento esté libre de organismos patógenos y que los brotes tengan las hojas bien desarrolladas, ya que deben realizar fotosíntesis para que la planta tenga una fuente de energía para enraizar y desarrollarse.

**e) Fase V. Aclimatación:**

Los explantes recién enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales, de manera que el éxito o el fracaso de todo el proceso dependen de la aclimatación. Tanto si los explantes fueron enraizados *in vitro* como *ex vitro*,

en el momento en que se extraen los explantes de los recipientes de enraizamiento están poco adaptados a crecer en un invernadero, ya que éstos han enraizado y crecido en ambientes con una humedad relativa muy elevada y generalmente tienen estomas adaptados a ese ambiente y les dificulta adaptarse al descenso de la humedad relativa.

Según, Hartman & Kester (1984), la etapa de trasplante abarca la transferencia de la plantita del medio aséptico de cultivo al ambiente de vida natural en el invernadero y luego en su sitio final. Al principio de esta etapa la plantita puede estar enraizada o no. En cualquiera de los casos, para que puedan sobrevivir, la plantita o el propágulo deben pasar por un periodo de aclimatación.

Además, Estrada y Devies, (2003), reportan que el principal problema de este proceso es la muy baja tasa de sobrevivencia, en la micropropagación comercial se puede llegar a perder del 10 al 40% de las plantas; pero Tadesse (2000), Bazaldúa (2008), consideran a este proceso como exitoso una vez que la planta se vuelve foto-autotrófica, menos variable y con características más estables, con hojas capaces de desarrollar las funciones fisiológicas de fotosíntesis y transpiración; así como un aparato estomatal funcional con forma y densidad adecuada capaz de realizar la apertura y cierre en condiciones de luz y oscuridad respectivamente.

#### **2.4. CARACTERÍSTICAS DE UNA VITROPLANTA**

Thomas (1998), manifiesta que la aclimatación de las plantas *in vitro* es a menudo difícil porque ellas poseen tallos y hojas suculentas, debido a la alta humedad dentro del vaso de cultivo, y el agua libre en el medio.

Según Pierik (1990), una planta que se ha originado *in vitro*, difiere en muchos aspectos de las que se originan *in vivo*:

#### **2.4.1. Cutícula**

La cutícula (capa de cera) es escasamente desarrollada, debido a la alta humedad relativa 90-100%, que se da *in vitro*, como consecuencia cuando se transfiere la planta al suelo, se produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en las condiciones *in vivo* es más baja.

#### **2.4.2. Las hojas**

Las hojas de una planta producida *in vitro* son frecuentemente finas, blandas y fotosintéticamente poco activas, y en consecuencia mal adaptadas a las condiciones que se pueden encontrar *in vivo*.

#### **2.4.3. Células.**

Las plantas procedentes de tubos de ensayo tienen las células empalizadas, que son las que deben utilizar la luz, más pequeñas y en menor cantidad.

#### **2.4.4. Las estomas**

Los estomas de las plantas *in vitro* pueden no ser suficientemente operativos, y al permanecer abiertos, cuando la planta es pasada al suelo, pueden ser el origen de un importante estrés hídrico.

#### **2.4.5. Las raíces**

Las raíces que se han originado *in vitro* son vulnerables y no funcionan de la forma adecuada *in vivo* (no tienen o tienen pocos pelos radicales); por lo que mueren rápidamente debiendo ser sustituidas por nuevas raíces subterráneas. El desarrollo de pelos radiculares *in vitro* puede a veces ser estimulado al desarrollar las raíces en medio líquido.

#### **2.4.6. Libre de contaminantes**

Las plantas que en condiciones normales viven simbióticamente con hongos (micorrizas), o con bacterias (*Rhizobium* de las leguminosas), carecen de estos organismos cuando son transferidas desde tubos de ensayo al suelo.

### **2.4.7. Fotosíntesis**

Las plantas han sido criadas bajo un ambiente heterotrófico, por lo cual, la energía y carbohidratos necesarios son obtenidos inicialmente a través de la sacarosa presente en el medio de cultivo. Eventualmente, esa energía y carbohidratos necesarios deben ser producidos mediante la fotosíntesis. Luego de aproximadamente diez días posteriores al trasplante, los plantines van iniciando normalmente sus procesos fotosintéticos

## **2.5. TÉCNICAS PARA LA ACLIMATACION**

### **2.5.1. En la etapa *in vitro*.**

#### **Regulación de la humedad y la disponibilidad de dióxido de carbono CO<sub>2</sub>**

Fila et al. (1998), señalan que la aclimatación puede ser mejorada modificando el microambiente durante el desarrollo *in vitro*, por ejemplo reduciendo la humedad relativa que causa un endurecimiento de la planta, mejorando los resultados durante el trasplante. También con el aumento de la tasa de CO<sub>2</sub> en los tubos de cultivo o aumentando las intensidades de luz, para producir el establecimiento autotrófico *in vitro*.

Wardle, Dobbs y Short (1983), señalan que la reducción en el nivel de humedad de la atmósfera dentro del tubo de cultivo, puede obviar la necesidad de un período de aclimatación. Algunas especies de plantas crecidas por métodos *in vitro*, pueden ser aclimatadas con niveles reducidos de humedad relativa dentro de cinco días, esto sería beneficioso en la producción a gran escala de plantas, para eliminar el tiempo de consumo y la labor intensiva de la fase de aclimatación.

Pierik (1990), manifiesta que cuando sea posible facilitar las condiciones que permiten el desarrollo de las raíces *in vitro* (por ejemplo en medios líquidos), que luego serán funcionales en el suelo.

### **2.5.2. En la etapa *ex vitro*.**

Thomas (1998), utilizó sachets plásticos en la aclimatación, como barrera para el aire reduciendo así el efecto de la deshidratación, así como la pérdida de agua en la planta y en el medio. Concluyó que tres semanas con el sachet cerrado y una con el sachet abierto, era suficiente para completar la aclimatación de plantas de vid *in vitro* con una humedad de 68-75%.

Según Pierik (1990), la aclimatación puede realizarse permitiendo a las plantas *in vitro* habituarse de forma gradual a la humedad relativa más baja, como la que encontrarán *in vivo*.

#### **Uso de micro invernaderos y micro túneles.**

Son armazones contruidos con tiras de madera que forman un rectángulo de 2.0 m. de largo por 1.2 m. de ancho y 0.5 m. de altura. Estas cámaras están cubiertas de plástico transparente en todas sus caras.

Poirot (1991), menciona que los explantes deben plantarse en contenedores cubiertos por un plástico, para mantener la humedad relativa elevada, y hacerlos enraizar en el laboratorio o ponerlos dentro de un invernadero en un área sombreada.

## **2.6. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MICROPROPAGACION**

### **2.6.1. La cámara del cultivo.**

Según, Pierik (1990), es necesario disponer de una cámara de cultivo, en la que se puedan controlar la luz, la temperatura y otros factores que podrían afectar el proceso.

### **2.6.2. Factores genéticos**

Según Cortina et al. (2006), muchas de las características relacionadas con el crecimiento y la adaptación de las especies están sujetos a control genético, y se ha de tener en cuenta para un uso correcto de los materiales de reproducción. Mientras que Radice (2010), manifiesta que el genotipo es un proceso determinante en todos los procesos morfogénicos (entiéndase por morfogénesis como la capacidad de regenerar órganos y tejidos a partir de un explanto inicial), desde la capacidad del explante para su establecimiento en condiciones *in vitro* a la proliferación de callo, o la diferenciación y crecimiento de nuevos órganos. Por esta causa no es posible generalizar metodologías o protocolos de trabajo.

### **2.6.3. Factores ambientales.**

Mroginski et al. (2010), manifiesta que los cultivos deben ser incubados a temperatura constante de 25-28 °C. La temperatura comúnmente utilizada para enraizamiento es cercana a 25 °C, aunque en ciertos casos ha sido favorable una temperatura más alta (35 °C).

Radice (2010), afirma que la humedad dependerá del sello o cobertura del envase empleado, si este cierre es hermético, la humedad interior será del 100 %, si en cambio existe la posibilidad de un intercambio gaseoso, la humedad puede descender a niveles cercanos al 50 %, este importante descenso de humedad puede provocar variación en la concentración de sus compuestos hasta llegar a niveles tóxicos.

### **2.6.4. Medio de cultivo**

Mroginski et al (2010), manifiestan que prácticamente todos los cultivos *in vitro* son heterótrofos, por ende necesitan del suministro de una fuente de carbono. La sacarosa, en concentraciones de 2 al 5 %, es el azúcar más utilizado.

Olmos (2010), menciona que los medios basales más usados para angiospermas son el MS (Murashige y Skoog) y el WPM (woody plant medium, esto es medio para plantas leñosas).

### **2.6.5. Reguladores de crecimiento**

Los reguladores de crecimiento, también llamados hormonas, según, Pierik (1990), son por definición, compuestos orgánicos sintetizados por las plantas superiores que influyen sobre el crecimiento y desarrollo, actúan generalmente en lugar diferente a donde son producidas y se encuentran presentes y activas en pequeñas cantidades. Aparte de estos productos naturales se han desarrollado también otro tipo sintético que pueden tener una actividad semejante a la de los primeros. Al conjunto de estos productos sintéticos, junto con las hormonas se denomina reguladores, y son los responsables en primer lugar de la distribución de los compuestos que la planta biosintetiza. También determinan el crecimiento relativo de todos los órganos de la planta.

Taiz y Zeiger (2006), mencionan que la relación auxina/citoquinina regula la morfogénesis en cultivos de tejidos de la siguiente manera: relaciones altas de auxina/citoquinina estimulan la formación de raíces, valores bajos de la relación auxina/citoquinina dan lugar a la formación de callos; a niveles intermedios el tejido crece como un callo indiferenciado.

Berthouly & Berrior (1987), señalan que en algunos casos se obtienen en los cultivos *in vitro* las respuestas deseadas mediante el empleo de Medio Basal sin reguladores de crecimiento. Muchas veces es necesario agregar estos reguladores generalmente de tipo auxinas o las citocininas.

#### **A. Ácido giberelico AG<sub>3</sub>. (giberelinas).**

Pierik (1990), considera que en la mayoría de los casos son sustancias no esenciales en el cultivo *in vitro*. El AG<sub>3</sub> es la más usada, pero debe tenerse en cuenta que es muy sensible al calor porque pierde el 90% de su actividad biológica después del autoclaveado. En general las giberelinas inducen la

elongación de los entrenudos y el crecimiento de los meristemos o yemas *in vitro*.

Según, Gray & Estelle, (1998), las giberelinas constituyen una familia de compuestos químicos tetracíclicos diterpenoides que regulan varios procesos del crecimiento y desarrollo como la germinación de semillas, la elongación de tallos, el desarrollo de raíces y la floración

#### **B. Ácido naftalenaético ANA (auxina).**

Pierik (1990) y Evans (1983), señalan que deben añadirse frecuentemente en concentraciones de 0.001-10mg/L para producir: elongación celular y expansión de los tejidos, división celular (formación de callos) y la formación de raíces adventicias. En bajas concentraciones predomina la formación de raíces adventicias, mientras que con altas concentraciones de auxina tiene lugar la formación de callos. Además (Devlin, 1980), menciona de que la adición de auxina al medio conduce generalmente a la inducción y proliferación del callo, dependiendo del comportamiento de la concentración y la naturaleza de la auxina empleada.

### **2.7. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ETAPA DE ACLIMATACION.**

Según, Castillo (2007) y Rojas et al. (2004), los factores ambientales a tomar en cuenta en la etapa de aclimatación son: temperatura, humedad relativa, intensidad de luz y sustrato.

#### **2.7.1. Temperatura:**

Para la mayoría de los cultivos en invernadero está entre los 20 a 25 °C.

#### **2.7.2. Humedad relativa e Intensidad de luz**

En un invernadero bajo condiciones de humedad constante y baja radiación solar. Se requiere durante los tres primeros días de un ambiente cercano al 95 % de humedad relativa y 40 % de exposición a la luz.



### 2.7.3. Sustrato:

Castellanos y Vargas (2003), definen que el sustrato es cualquier medio que se utilice para cultivar plantas en contenedores, este medio es un sustituto del suelo en el que normalmente se realiza la producción vegetal, o todo material sólido distinto del suelo natural, de síntesis residual, mineral u orgánico, que de manera pura o en mezcla permite el anclaje del sistema radicular desempeñando un papel de soporte a la planta.

Los sustratos están formados por tres fases y cada una de ellas cumple una importante función:

- Fase sólida, que es la responsable del anclaje de la raíz y por lo tanto, asegura la integridad de la planta.
- Fase líquida, que es muy importante en el suministro del agua y nutrientes a la planta.
- Fase gaseosa, que es la responsable del transporte del dióxido de carbono y oxígeno entre la raíz y el medio externo.

Según, Azmi (2000), Mohammed y Vidaver, (1988), la práctica más común para la aclimatación de las plántulas *in vitro*, es transferirlas a invernadero y establecerlas en macetas. El sustrato para aclimatación de vitro plantas debe tener apropiada densidad aparente, pH, retención de agua, y aireación que generalmente se obtienen con la mezcla de diversos materiales, mientras que para el abastecimiento de nutrientes se agregan soluciones nutritivas. Además De Rezende *et al.*, (2000), manifiesta que los sustratos ejercen una influencia significativa en la arquitectura radical de las vitro-plantas, influyen al estado nutricional y la traslocación de agua en el sistema suelo-planta-atmósfera.

#### **A. Suelo agrícola.**

Según, Alvarado (2002), los suelos clasificados como franco arenoso o franco son ingredientes buenos para la preparación de mezclas con suelo. Los francos tienen las características físicas deseables de las arcillas y las arenas sin mostrar las propiedades indeseables de soltura extrema, baja fertilidad, baja retención de humedad por un lado, adherencia, compactación, drenaje y

movimiento lento del aire por el otro. Puesto que los problemas que envuelven el drenaje y la aireación son acentuados cuando el suelo es colocado en un recipiente franco o franco arenosos son preferidos.

### **B. Musgo**

Condori et al. (2012), Mencionan que hasta el momento se han reportado para el Perú cuatro especies, siendo la de mayor abundancia la especie *Sphagnum maguellanicum*, que crece en las zonas altoandinas, con altos índices de humedad; el cual es cosechado y secado por las comunidades de Junín para luego ser exportado a bajo precio, principalmente como sustrato para el cultivo de orquídeas.

Según, Alvarado (2002), el musgo es la forma de materia orgánica más popular para la preparación de sustratos para potes. Satisface más el criterio para la selección de ingredientes de sustratos que cualquier otra forma de materia orgánica disponible para la industria en invernadero. Está disponible lista, es baja en sales solubles fácil de mezclar con otros componentes y de larga duración en un sustrato. El drenaje y la aireación son muy mejorados, la acidez de esta turba varía con su origen, pero generalmente es bastante ácida, tienen la mayor capacidad de retención de humedad (60% del volumen) que cualquier otro tipo de materia orgánica.

### **C. Arena**

Según, Alvarado (2002), el tamaño de partícula de la arena es un factor crítico en la selección de este componente. Las arenas finas contribuyen muy poco en mejorar las condiciones del sustrato; mientras su uso puede resultar en una reducción del drenaje y aireación. Es preferible una arena limpia con tamaños de partícula de 0.5 a 2mm de diámetro, de otro modo la adición de arena puede producir un cemento, junto con las partículas del suelo, y provocar una compactación mayor que la deseada. La arena es el agregado grueso más económico pero a la vez el más pesado, es baja en nutrientes y la capacidad de retención de la humedad y es química y biológicamente inerte.

### **III. MATERIALES Y METODOS.**

#### **3.1.MATERIALES**

##### **3.1.1. Ubicación.**

Este trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional “Santiago Antúnez de Mayolo”.

##### **• Ubicación política:**

- Departamento : Ancash
- Provincia : Huaraz
- Distrito : Independencia
- Lugar : Ciudad Universitaria UNASAM– Shancayán

##### **3.1.2. Materiales de laboratorio.**

- Placas Petri de 150 x 15 mm
- Pipetas de 5 mL
- Pipetas de 10 mL
- Matraces Erlenmeyer de 250 mL y 500 mL
- Beakers de 500 mL
- Probetas de 500 mL y 100mL
- Termómetro ambiental
- Mechero de alcohol
- Tubos de ensayo de 25 x150 mm
- Caps (tapas) para tubos de 25 x 150 mm
- Mango de bisturí N° 3
- Hoja de bisturí N° 11
- Pinza de 20 cm de largo.
- Tijera metálica.
- Espátula
- Microespátula
- Gradillas de plástico y metal
- Frascos para aclimatación.

- Papel toalla
- Plumón marcador
- Pisceta
- Fluorescentes
- Fósforo
- Gorros
- Mascarillas
- Guardapolvo
- Algodón

### **3.1.3. Equipos de laboratorio:**

- Balanza analítica marca. ADAM
- Autoclave Horizontal. Phoenix
- Refrigeradora. LG
- pH-metro. Thermo Scientific Orion 4 Star.
- Agitador magnético. IKA- CMAG HS7
- Micropipeta. Axygen de 20 – 200 uL
- Cámara fotográfica. Canon 12.1 mp
- Luxómetro
- Cámara de flujo laminar

### **3.1.4. Insumos y material vegetal:**

- Vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr.
- Hormonas Ácido Naftalenacetico (ANA) Y Acido Giberélico (AG<sub>3</sub>)
- Medio basal Murashige – Skoog (SIGMA)
- Sacarosa. (Scharlau)
- Fitagel. (SIGMA)
- Modificadores de pH (HCl, NaOH o KOH)
- Alcohol de 70° y 96°
- Agua destilada.
- Sustratos (musgo, arena y tierra).

### 3.2.MÉTODO.

#### 3.2.1. Tipo de investigación.

Se trata de una investigación aplicada porque los resultados del ensayo nos permitirán dar recomendaciones sobre enraizamiento y aclimatación huamanripa (*Senecio calvus* Cuatr.).

#### 3.2.2. Diseño experimental.

Para organizar la recolección y análisis de datos se utilizó el Diseño Completamente al Azar DCA con 4 tratamientos más 1 testigo y 20 repeticiones.

##### a. Tratamiento en estudio.

**CUADRO 1:** Tratamientos utilizados para el enraizamiento de *Senecio calvus* Cuatr.

Tratamientos	Dosis de ANA o AG <sub>3</sub> (mg/L)
T <sub>0</sub>	0
T <sub>1</sub>	1
T <sub>2</sub>	1.5
T <sub>3</sub>	2
T <sub>4</sub>	2.5
Con 5 Tratamientos (incluye el testigo) cada uno, con 20 repeticiones.	

**b. Randomización**

**CUADRO 2:** Randomización en el Diseño Completamente al Azar

<b>Variable independiente X</b>		<b>CONCENTRACIONES HORMONALES (T<sub>n</sub>)</b>				
		<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>3</sub></b>	<b>T<sub>4</sub></b>
<b>Variable dependiente Y</b>						
<b>Componente de la planta</b>	<b>P<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>0</sub>P<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>1</sub>P<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>2</sub> P<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>3</sub>P<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>4</sub> P<sub>1</sub></b>

**Para el Ácido Naftalenacético (ANA)**

Dónde:

P<sub>n</sub>: Explante de *Senecio calvus* Cuatr., subcultivado de la etapa de multiplicación (Etapa II).

T<sub>n</sub>: Concentración final de Ácido Naftalenacético - ANA (mg.L<sup>-1</sup>): T<sub>0</sub> = 0 mg.L<sup>-1</sup>; T<sub>1</sub> = 1 mg.L<sup>-1</sup>; T<sub>2</sub> = 1,50 mg.L<sup>-1</sup>; T<sub>3</sub> = 2 mg.L<sup>-1</sup> y T<sub>4</sub> = 2.5 mg.L<sup>-1</sup>.

**Para el Ácido Giberélico (AG<sub>3</sub>)**

Dónde:

P<sub>n</sub>: Explante de *Senecio calvus* Cuatr., subcultivado de la etapa de multiplicación y (etapa II).

T<sub>n</sub>: Concentración final de Ácido Giberélico - AG<sub>3</sub> (mg.L<sup>-1</sup>): T<sub>0</sub> = 0 mg.L<sup>-1</sup>; T<sub>1</sub> = 1 mg.L<sup>-1</sup>; T<sub>2</sub> = 1,50 mg.L<sup>-1</sup>; T<sub>3</sub> = 2 mg.L<sup>-1</sup> y T<sub>4</sub> = 2.5 mg.L<sup>-1</sup>.

c. Esquema experimental.

**CUADRO 3:** Distribución de los tratamientos para el enraizamiento de huamanripa (*Senecio calvus* Cuatr.) para los tratamientos por cada hormona.

ALEATORIZACION CON ANA				
T <sub>0</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>1</sub>
T <sub>4</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>2</sub>
T <sub>1</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>3</sub>
T <sub>2</sub> R <sub>4</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>4</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>4</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>4</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>4</sub>
T <sub>3</sub> R <sub>5</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>5</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>5</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>5</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>5</sub>
T <sub>4</sub> R <sub>6</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>6</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>6</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>6</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>6</sub>
T <sub>0</sub> R <sub>7</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>7</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>7</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>7</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>7</sub>
T <sub>1</sub> R <sub>8</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>8</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>8</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>8</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>8</sub>
T <sub>2</sub> R <sub>9</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>9</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>9</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>9</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>9</sub>
T <sub>3</sub> R <sub>10</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>10</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>10</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>10</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>10</sub>
T <sub>4</sub> R <sub>11</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>11</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>11</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>11</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>11</sub>
T <sub>0</sub> R <sub>12</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>12</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>12</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>12</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>12</sub>
T <sub>1</sub> R <sub>13</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>13</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>13</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>13</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>13</sub>
T <sub>2</sub> R <sub>14</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>14</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>14</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>14</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>14</sub>
T <sub>3</sub> R <sub>15</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>15</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>15</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>15</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>15</sub>
T <sub>4</sub> R <sub>16</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>16</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>16</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>16</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>16</sub>
T <sub>0</sub> R <sub>17</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>17</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>17</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>17</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>17</sub>
T <sub>1</sub> R <sub>18</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>18</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>18</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>18</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>18</sub>
T <sub>2</sub> R <sub>19</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>19</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>19</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>19</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>19</sub>
T <sub>3</sub> R <sub>20</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>20</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>20</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>20</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>20</sub>

ALEATORIZACION DEL AG <sub>3</sub>				
T <sub>4</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>1</sub>
T <sub>3</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>2</sub>
T <sub>2</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>3</sub>
T <sub>1</sub> R <sub>4</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>4</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>4</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>4</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>4</sub>
T <sub>0</sub> R <sub>5</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>5</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>5</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>5</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>5</sub>
T <sub>4</sub> R <sub>6</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>6</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>6</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>6</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>6</sub>
T <sub>3</sub> R <sub>7</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>7</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>7</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>7</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>7</sub>
T <sub>2</sub> R <sub>8</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>8</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>8</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>8</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>8</sub>
T <sub>1</sub> R <sub>9</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>9</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>9</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>9</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>9</sub>
T <sub>0</sub> R <sub>10</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>10</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>10</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>10</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>10</sub>
T <sub>4</sub> R <sub>11</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>11</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>11</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>11</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>11</sub>
T <sub>3</sub> R <sub>12</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>12</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>12</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>12</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>12</sub>
T <sub>2</sub> R <sub>13</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>13</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>13</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>13</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>13</sub>
T <sub>1</sub> R <sub>14</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>14</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>14</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>14</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>14</sub>
T <sub>0</sub> R <sub>15</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>15</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>15</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>15</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>15</sub>
T <sub>4</sub> R <sub>16</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>16</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>16</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>16</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>16</sub>
T <sub>3</sub> R <sub>17</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>17</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>17</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>17</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>17</sub>
T <sub>2</sub> R <sub>18</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>18</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>18</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>18</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>18</sub>
T <sub>1</sub> R <sub>19</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>19</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>19</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>19</sub>	T <sub>0</sub> R <sub>19</sub>
T <sub>0</sub> R <sub>20</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>20</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>20</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>20</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>20</sub>

Donde:

T<sub>n</sub>. es el número de tratamiento

R<sub>n</sub>. es el número de repetición.

Hormona: Ácido Naftalenacético (ANA)

Hormona Ácido Giberélico (AG<sub>3</sub>)

### 3.2.3. Procesamiento estadístico.

Para los datos cuantitativos se realizó el análisis de varianza (ANVA) para un Diseño Completamente al Azar (D.C.A.) con un nivel de significación  $\alpha = 0,05$ ; además para establecer las diferencias entre los tratamientos se utilizó la prueba de comparación de medias Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

**CUADRO 4:** Esquema de análisis de varianza (ANVA) para un Diseño Completamente al Azar.

Fuentes de variación	G.L.	S.C	C.M.	F.Cal
<b>Tratamiento</b>	$t - 1$	$\sum x^2_i / n - T_c$	$SCT / (t - 1)$	$CMT / Cme$
<b>Error</b>	$t(n - 1)$	Diferencia	$Sce / t(n - 1)$	
<b>Total</b>	$tn - 1$	$\sum x^2_{ij} - T_c$		

Modelo aditivo lineal para D.C.A.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

**Dónde:**

$Y_{ij}$  : Observación del enraizado de *Senecio calvus* Cuatr., del i-ésimo dosis de ANA o AG<sub>3</sub>. j-ésima repetición.

$\mu$  : Efecto de la media general.

$T_i$  : Efecto del i-ésimo tratamiento hormonal con NAA o AG<sub>3</sub>.

$E_{ij}$  : Efecto del error experimental con el i-ésimo dosis de NAA o AG<sub>3</sub>. Y en la j-ésima repetición.



#### **3.2.4. Universo o población.**

El universo corresponde a todas las plantas de *Senecio calvus* Cuatr. “Huamanripa” obtenidas en el proceso de multiplicación en el laboratorio de Biología de la Facultad de Ciencias de la UNASAM.

#### **3.2.5. Unidad de análisis y muestra.**

La unidad de análisis corresponde a una planta de *Senecio calvus* Cuatr. “Huamanripa” y la muestra para las variables evaluadas fueron 200 explantos de huamanripa seleccionadas para el trabajo.

#### **3.2.6. Parámetros o variables evaluadas.**

##### **A. En el enraizamiento**

- a. **Altura de planta:** esta evaluación se realizó a cada una de las plantas cada 15 días, se midió desde el cuello de la planta hasta el ápice terminal.
- b. **Número de raíces adventicias:** esta evaluación se realizó cada 15 días contando el número de raíces a cada una de las plantas.
- c. **Longitud de raíces:** esta evaluación se realizó cada 15 días, midiendo desde el cuello de la raíz hasta el ápice de la raíz a cada una de las raíces.
- d. **Número de brotes:** esta evaluación se realizó a cada una de las plantas cada 15 días.

##### **B. En la aclimatación.**

- a. **Porcentaje de supervivencia:** las vitroplantas enraizadas de *Senecio calvus* Cuatr., fueron tomadas al azar y sembradas en dos tipos de sustratos en condiciones de invernadero, la evaluación se realizó descriptivamente durante un mes en función al desarrollo y sobrevivencia siendo evaluadas porcentualmente.

### 3.3. PROCEDIMIENTO

#### 3.3.1. Enraizamiento *in vitro* de *Senecio calvus* Cuatr.

##### a. Selección de plántulas.

Las plantas para someter al proceso de enraizado fueron seleccionadas a partir de vitroplantas del tratamiento cero ( $T_0$ ), las cuales se encontraban libres de hormonas artificiales, tomando en cuenta el tamaño de las vitroplantas con el fin de disminuir la variabilidad en el enraizamiento.

##### b. Preparación de medios.

Los medios fueron preparados como se detalla a continuación:

###### • Preparación de hormona

Calculo de cantidad de hormona

$$\begin{array}{ccc} 2\text{mg} & \longrightarrow & 1\text{ml} \\ X & \longleftarrow & 5\text{ml} \end{array}$$

$$= 10\text{mg} \equiv 0.01\text{gr de AG}_3 \text{ o ANA}$$

Luego de pesar la hormona se disolvió con 200 $\mu$ L de NaOH (1N)

Después se le añadió 4800 $\mu$ L. de agua destilada y se uniformizó la solución.

###### • Preparación del medio.

Se tomó como base la preparación de medio semisólido Murashige y Skoog. Sacarosa extra pura 2,0 g/100 ml, más el medio Murashige y Skoog 2,2 g/1000 ml (a mitad de la concentración indicada de 4,4 g/1000 ml) y Phytigel 0,3 g/100 ml.

Previo cálculo de los insumos se procedió a preparar los medios para cada tratamiento como se detalla a continuación:

Se determinó la cantidad de medio para cada tratamiento (250ml), posteriormente se midió el agua y se echó 250ml de agua destilada en c/u en 10 matraces de 500mL, al cual se añadió 5gr de sacarosa (2%), 0.55gr

de M&S (1/2) previamente pesados en la balanza analítica; se agitó hasta tener una solución homogénea y se le añadió las hormonas en las dosis según el cuadro N° 05

**CUADRO 5:** Dosis hormonal de ácido naftalenacetico y ácido giberélico para 250ml.

tratamientos	Dosis de ANA o AG <sub>3</sub> ( $\mu$ L/250ml.)
T <sub>0</sub>	0 = 0.
T <sub>1</sub>	1 = 125.
T <sub>2</sub>	1.5 = 185.5
T <sub>3</sub>	2 = 250
T <sub>4</sub>	2.5 = 312.5

El pH se estabilizó en 5.67 añadiendo NaOH (1,0 N) para subir el pH, y HCl (1,0 N) para disminuir el pH. Se añadió 0,75gr de phytigel (0.3%) para gelatinizar el medio. Se disolvió en calor y el medio se dispensó en un volumen de 10 ml por tubo de ensayo de 25x150mm. Los mangos de bisturí, pinzas, así como también el medio de cultivo fueron esterilizados en el autoclave a una presión de 1.5 kg/cm<sup>2</sup>, temperatura de 121°C y un periodo de tiempo de 15 minutos.

**c. Siembra *in vitro* de *Senecio calvus* Cuatr. (huamanripa) para el enraizamiento.**

El proceso de trasplante para el enraizado de doscientos vitroplantas seleccionadas, se llevó a cabo en una cámara de flujo laminar con la ayuda de pinza y bisturí en condiciones de asepsia utilizando una vitroplanta por tubo.

#### **d. Incubación *in vitro* de *Senecio calvus* Cuatr.**

Se incubaron los explantos sembrados en tubo de ensayo durante 45 días con un fotoperiodo 16 horas luz / 8 horas oscuridad, una intensidad lumínica de 1300 lux y una temperatura constante a  $20 \pm 2$  °C, durante el cual se evaluó las variables de interés cada 15 días.

### **3.3.2. Aclimatación de *Senecio calvus* Cuatr., en condiciones de invernadero.**

#### **a. Preparación de los sustratos y aclimatación.**

Se prepararon dos tipos de sustratos: sustrato A (arena + musgo 1:1) y sustrato B (tierra agrícola + musgo 1:1), luego fueron esterilizados en el autoclave: a una presión de  $1.5 \text{ kg/cm}^2$ , temperatura de  $121^\circ\text{C}$  y un tiempo de 15 minutos.

Los sustratos fríos fueron distribuidos en envases de plástico (8 x 10 cm.) previamente esterilizados.

#### **b. Transferencia de vitroplantas a la fase de aclimatación.**

Las plántulas obtenidas con el mejor tratamiento en la fase de enraizamiento *in vitro* fueron seleccionadas al azar, los que fueron retiradas de los tubos con la ayuda de una pinza, las raíces fueron lavadas hasta quitar los restos del medio de cultivo, luego fueron trasplantadas en los sustratos previamente preparados y se llevó a un ambiente a condiciones de invernadero donde fueron cubiertos con vasos descartables con la finalidad de mantener la humedad en niveles altos. El riego se realizó con una frecuencia de 48 horas la primera semana, durante las siguientes semanas viendo el requerimiento hídrico. Siendo evaluado a 7 y 30 días posteriores al trasplantado.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

##### 4.1. Tratamiento hormonal con el ácido naftalenacético ANA en la etapa de enraizamiento de *Senecio calvus* Cuatr.

**CUADRO 6:** porcentaje de enraizado de *Senecio calvus* Cuatr., con los tratamientos: T0 = 0 mg.L<sup>-1</sup>; T1 = 1 mg.L<sup>-1</sup>; T2 = 1,50 mg.L<sup>-1</sup>; T3 = 2 mg.L<sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L<sup>-1</sup>. de ANA

tratamiento	Concentración hormonal (mg/L)	Porcentaje de enraizado (%)	Formación de callos (%)
T0	0	100	0
T1	1	0	100
T2	1.5	0	100
T3	2	0	100
T4	2.5	0	100

La composición del medio de cultivo y más aún la concentración de los reguladores del crecimiento son factores determinantes para la formación de callos y la regeneración de plantas en el cultivo *in vitro*, se observó la formación de callos, con las concentraciones de ácido Naftalenacético ANA (1; 1.5; 2 y 2.5mg.L<sup>-1</sup>) lo que es congruente con Pierik (1990), quien sugiere que las auxinas en altas cantidades promueven la división celular, además se debe tomar en cuenta el contenido auxínico propio de la planta que desencadena aún más la formación de callos.

##### 4.2. Tratamiento hormonal del ácido giberélico AG<sub>3</sub> en la etapa de enraizamiento de *Senecio calvus* Cuatr.

**CUADRO 7:** porcentaje de enraizado de *Senecio calvus* Cuatr., con los tratamientos: T0 = 0 mg.L<sup>-1</sup>; T1 = 1 mg.L<sup>-1</sup>; T2 = 1,50 mg.L<sup>-1</sup>; T3 = 2 mg.L<sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L<sup>-1</sup>. de AG<sub>3</sub>

Tratamiento	Concentración hormonal (mg/L)	Porcentaje de enraizado (%)	Formación de callos (%)
T0	0	100	0
T1	1	100	0
T2	1.5	100	0
T3	2	100	0
T4	2.5	100	0

La formación de raíces se observa mejor con la adición del ácido giberélico en las concentraciones de 1; 1.5; 2 y 2.5mg.L<sup>-1</sup>, esto se debe a una posible acción indirecta de la hormona al incentivar el mayor desarrollo del área foliar, como indica Hartmann y Kester (1984), quien manifiesta que las hojas y yemas son grades productores de auxinas debido a que esta hormona se transporta en forma basipétala dentro de la planta, o una reafirmación a lo que indica Gray & Estelle (1998), de que las giberelinas regulan varios procesos del crecimiento y desarrollo como la germinación, la elongación de tallos, el desarrollo de raíces y la floración.

**4.2.1. Altura de planta (mm) de *Senecio calvus* Cuatr., evaluados a 15, 30 y 45 días.**

**CUADRO 8:** Análisis de varianza (ANVA) para altura de planta de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15 días.

F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F	
<b>TRATAMIENTO</b>	4	306,7	76,67	9,95	*
<b>E.E.</b>	95	732,05	7,70		
<b>TOTAL</b>	99	1038,75			
<b>CV. (%)</b>	19,61				

En el cuadro 8, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, lo que significa que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a altura de vitroplantas.

**CUADRO 9:** Análisis de varianza (ANVA) para altura de planta de *Senecio calvus* Cuatr., a los 30 días.

F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F.	
<b>TRATAMIENTO</b>	4,00	453,50	113,38	11,16	*
<b>E.E.</b>	95,00	965,25	10,16		
<b>TOTAL</b>	99,00	1418,75			
<b>C.V. (%)</b>	20,11				

En el cuadro 09, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, lo que significa que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a altura de planta a los 30 días.

**CUADRO 10:** Análisis de varianza (ANVA) para altura de planta de *Senecio calvus* Cuatr., a los 45 días.

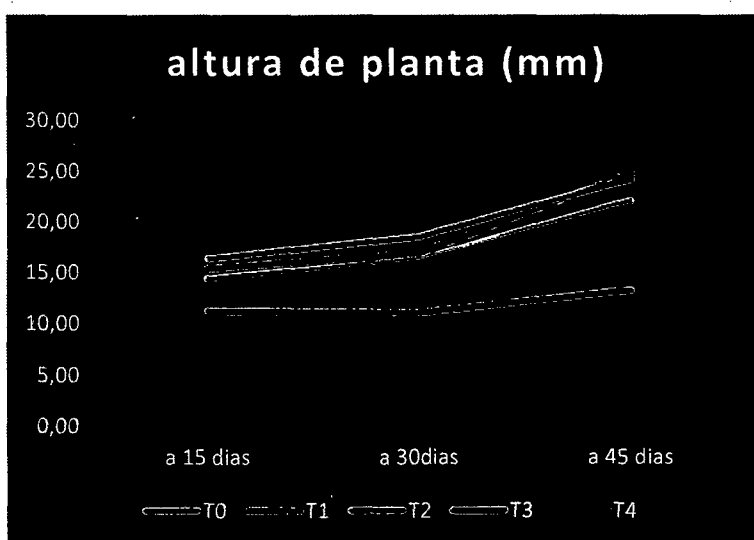
F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F.
<b>TRATAMIENTO</b>	4	1704,76	426,19	11,15 *
<b>E.E.</b>	95	3631,75	38,23	
<b>TOTAL</b>	99	5336,51		
<b>C.V. (%)</b>	29,34			

En el cuadro 10, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, el cual indica que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a altura de vitropiantas a los 45 días.

**CUADRO 11:** Prueba de comparación de tukey para altura de planta *Senecio calvus* Cuatr., a los 15, 30 y 45 días.

	Tratamiento	Promedio de altura de planta (mm.)	rango
<b>A 15 DIAS</b>	T2	16,30	A
	T1	15,35	A B
	T3	14,30	A B
	T4	13,65	B
	T0	11,15	C
	<b>A 30 DIAS</b>	T2	18,45
T1		16,85	A
T3		16,15	A
T4		15,80	A
T0		12,00	B
<b>A 45 DIAS</b>		T2	24,10
	T1	24,70	A
	T3	22,00	A
	T4	21,35	A
	T0	13,20	B

La prueba de comparación de medias de tukey al 5% para altura de planta a los 15 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T2, T1 Y T3 sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre el T0 que alcanzó 11.15mm de altura de planta en promedio, el cual nos reafirma a la literatura de que, según Pierik (1990), las giberelinas inducen la elongación de los entrenudos y el crecimiento de los meristemos o yemas. A los 30 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T1, T2, T3 Y T4; sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre el T0 con el resto de los tratamientos que alcanzó 12 mm de altura de planta en promedio, donde se puede afirmar de que la adición de ácido giberélico tal como mencionan Gray & Estelle (1998), las giberelinas regulan varios procesos del crecimiento y desarrollo como la germinación de semillas, la elongación de tallos. De la misma manera a los 45 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T1, T2, T3 Y T4; sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre el T0 con el resto de los tratamientos que alcanzó 13.20mm de altura de planta en promedio, por lo que estos resultados se asemejan con Solís (2011), quien con la adición del AG<sub>3</sub>, a los 35 días obtuvo plántulas de papaya más grandes, y Thorpe (1981), afirma que el ácido giberélico participa en el alargamiento de tejidos vegetales.



**FIGURA 1:** Promedio de altura de planta de *Senecio calvus* Cuatr., de los tratamientos: T0 = 0 mg.L<sup>-1</sup>; T1 = 1 mg.L<sup>-1</sup>; T2 = 1,50 mg.L<sup>-1</sup>; T3 = 2 mg.L<sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L<sup>-1</sup> de ácido giberélico.



Donde se observa que las vitroplantas de los T1 y T2 presentan mejores resultados en cuanto a altura de planta.

**4.2.2. Número de brotes de *Senecio calvus* Cuatr., evaluados a 15, 30 y 45 días.**

**CUADRO 12:** Análisis de varianza (ANVA) para número de brotes de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15 días.

F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F.
<b>TRATAMIENTO</b>	4	12,24	3,06	8,77 *
<b>E.E.</b>	95	33,15	0,35	
<b>TOTAL</b>	99	45,39		
<b>C.V. (%)</b>	34,95			

En el cuadro 12, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, significa que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a número de brotes de vitroplantas a los 15 días.

**CUADRO 13:** Análisis de varianza (ANVA) para número de brotes de *Senecio calvus* Cuatr., a los 30 días.

F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F.
<b>TRATAMIENTO</b>	4	21,40	5,35	20,05 *
<b>E.E.</b>	95	25,35	0,27	
<b>TOTAL</b>	99	46,75		
<b>C.V. (%)</b>	27,92			

En el cuadro 13, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, lo que significa que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a número de brotes a los 30 días.

**CUADRO 14:** Análisis de varianza (ANVA) para número de brotes de *Senecio calvus* Cuatr., a los 45 días.

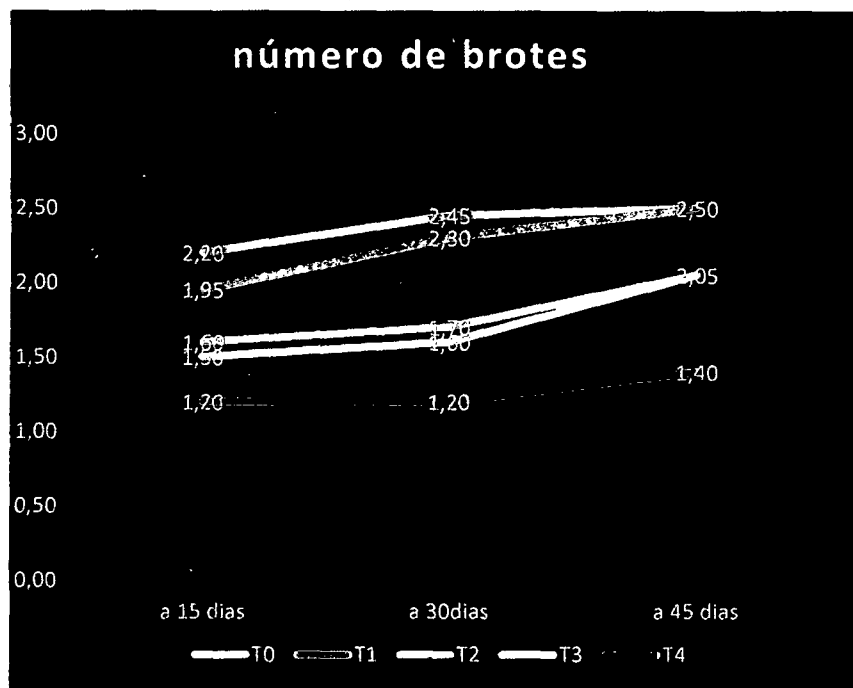
F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F.
<b>TRATAMIENTO</b>	4	16,30	4,08	10,00 *
<b>E.E.</b>	95	38,70	0,41	
<b>TOTAL</b>	99	55,00		
<b>C.V. (%)</b>	30,39			

En el cuadro 14, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos; por ende significa que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a número de brotes a los 45 días.

**CUADRO 15:** Prueba de comparación de tukey para número de brotes de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15, 30 y 45 días.

	Tratamientos	Promedio de número de brotes	rango
<b>A 15 DIAS</b>	T0	2,2	A
	T1	1,95	A B
	T2	1,6	B
	T3	1,5	B
	T4	1,2	C
<b>A 30 DIAS</b>	T0	2,45	A
	T1	2,3	A
	T2	1,7	B
	T3	1,6	B C
	T4	1,2	C
<b>A 45 DIAS</b>	T0	2,5	A
	T1	2,5	A
	T2	2,05	A
	T3	2,05	A
	T4	1,4	B

La prueba de comparación de medias de tukey al 5% para número de brotes a los 15 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T0 y T1, los que alcanzaron número de brotes en promedio de 2.2 y 1.95 respectivamente por lo que concuerda con Pierik (1990), quien sostiene de que las giberelinas en la mayor parte de los casos son sustancias no esenciales en el cultivo *in vitro*; sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas con T2, T3 y T4. De la misma manera a los 30 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T0 y T1, , de la misma manera no existen diferencias estadísticas significativas entre T2 Y T3; sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre T0, T2 Y T4, los mismos que pertenecen a diferentes agrupamientos de acuerdo a los resultados de la prueba, cuyos resultados nos indican que la adición del ácido giberélico en la formación de brotes se va reduciendo conforme aumenta la concentración hormonal lo que asemeja a los resultados de Solís (2011), quien obtuvo mejores resultados en cuanto a número de brotes en vitroplantas de papaya a los 35 días con una concentración hormonal de 0,3mg.L<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub>. Asimismo a los 45 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T0, T1, T2 Y T3, cuyos resultados se asemejan a las afirmaciones de Khan et al., (2006); Cerna & Tafur (2009); Izquierdo (2006); Kabir et al. (2006); severín et al., (2008), quienes sostienen que existen casos en las cuales no es necesario la adición de fitohormonas al medio de cultivo, existiendo especies como *Kalanchoe tomentosa*, *Scorpija dulcis*, *Baccharis trimer*, *Darwiniothamnus alternifolius* y *Scalesia affinis*, en éstas, la máxima proliferación de brotes se obtuvo en medio MS libre de hormonas. Sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre el T4 que alcanzó número de brotes en promedio de 1.4 con el resto de los tratamientos; coincidiendo con Paredes (2009), quien manifiesta que la adición de AG<sub>3</sub> puede reducir la formación de brotes *in vitro* si se aplica a cultivos de tejido vegetal en la etapa de iniciación.



**FIGURA 2:** Promedio de número de brotes de *senecio calvus* Cuatr., de los tratamientos: T0 = 0 mg.L<sup>-1</sup>; T1 = 1 mg.L<sup>-1</sup>; T2 = 1,50 mg.L<sup>-1</sup>; T3 = 2 mg.L<sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L<sup>-1</sup> de ácido giberélico.

#### 4.2.3. Número de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., evaluados a 15, 30 y 45 días.

**CUADRO 16:** Análisis de varianza (ANVA) para número de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15 días.

F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F.
<b>TRATAMIENTO</b>	4	49,96	12,49	97,66 *
<b>E.E.</b>	95	12,15	0,13	
<b>TOTAL</b>	99	62,11		
<b>C.V. (%)</b>	26,89			

En el cuadro 16, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos; lo que indica que al menos con uno de los tratamientos se obtienen resultados diferentes en cuanto a número de raíces adventicias a los 15 días.

**CUADRO 17:** Análisis de varianza (ANVA) para número de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., a los 30 días.

F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F.
<b>TRATAMIENTO</b>	4	129,86	32,47	57,27 *
<b>E.E.</b>	95	53,85	0,57	
<b>TOTAL</b>	99	183,71		
<b>C.V. (%)</b>	27,18			

En el cuadro 17, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, lo que significa que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a número de raíces a los 30 días.

**CUADRO 18:** Análisis de varianza (ANVA) para número de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., a los 45 días.

F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F.
<b>TRATAMIENTO</b>	4	122,00	30,50	59,44 *
<b>E.E.</b>	95	48,75	0,51	
<b>TOTAL</b>	99	170,75		
<b>C.V. (%)</b>	23,49			

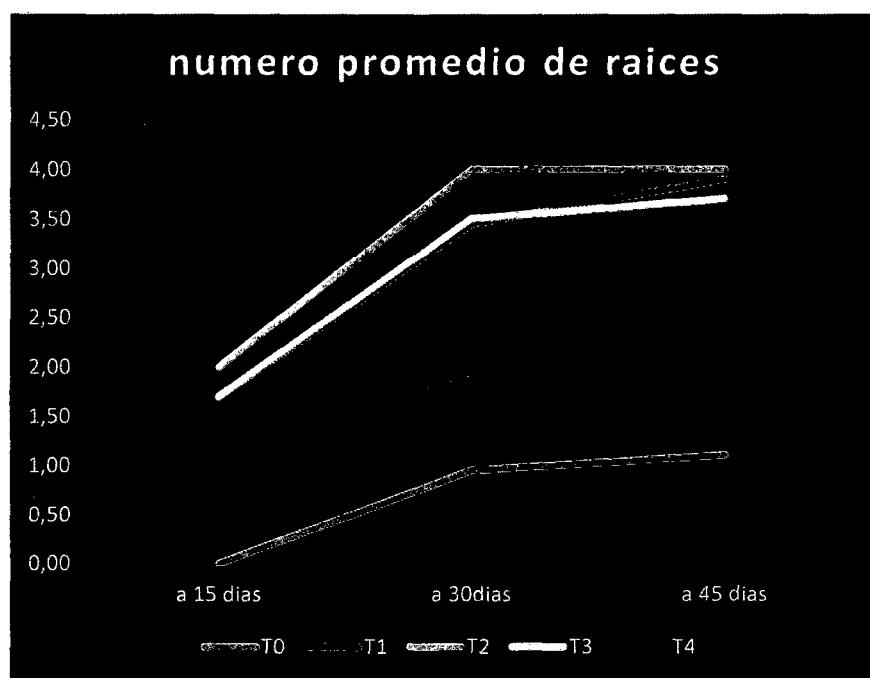
En el cuadro 18, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos; es decir significa que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a número de raíces a los 45 días.

**CUADRO 19:** Prueba de comparación de tukey para número de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15, 30 y 45 días.

	Tratamientos	Promedio de numero de raíces	rango
<b>A 15 DIAS</b>	T2	2,00	A
	T1	1,70	A
	T3	1,70	A
	T4	1,25	B
	T0	0,00	C
<b>A 30 DIAS</b>	T2	4,00	A
	T3	3,50	A
	T1	3,45	A
	T4	1,95	B
	T0	0,95	C
<b>A 45 DIAS</b>	T2	4,00	A
	T3	3,70	A
	T1	3,90	A
	T4	2,55	B
	T0	1,10	C

La prueba de comparación de medias de tukey al 5% para número de raíces adventicias a los 15 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T2, T1 Y T3, sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas con T4 y T0 que alcanzaron número de raíces en promedio de 1.25 y 0.00 respectivamente con el resto de los tratamientos, por lo que los resultados coinciden con Olmos (2004), quien manifiesta que para las etapas de multiplicación y enraizamiento, muchos de los explantes requieren una inducción exógena hormonal por lo que los tipos de reguladores, sus combinaciones y rangos de concentración deben ser optimizados para cada especie, genotipo y etapa de multiplicación determinada. De la misma manera a los 30 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T2, T1 Y T3, cuyos resultados se asemejan a Olivera (2011), quien obtuvo mejores resultados en el enraizamiento de *Perezia coerulescens*, con una concentración hormonal de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub>; sin embargo se

observa que existen diferencias estadísticas significativas de T4 y T0 que alcanzaron número de raíces en promedio de 1.95 y 0.95 respectivamente, con el resto de los tratamientos. Asimismo a los 45 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T2, T1 Y T3; sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas con T4 y T0 que alcanzaron número de raíces en promedio de 2.55 y 1.10 respectivamente con el resto de los tratamientos, cuyos resultados pueden asemejarse a Olmos (2004), quien manifiesta que la formación de raíces adventicias en las plantas herbáceas es relativamente fácil, mientras que en especies leñosas es complicado por su limitada capacidad rizogémica, esto se puede explicar la razón de la formación de raíces de *Senecio calvus* en un medio sin hormona sintética; sin embargo ésta fue mejorada con la adición de AG<sub>3</sub> siendo el mejor tratamiento T2 (1.5 mg.L<sup>-1</sup>).



**FIGURA 3:** Número en promedio de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., de los tratamientos: T0 = 0 mg.L<sup>-1</sup>; T1 = 1 mg.L<sup>-1</sup>; T2 = 1,50 mg.L<sup>-1</sup>; T3 = 2 mg.L<sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L<sup>-1</sup> de ácido giberélico.

4.2.4. Longitud de raíces adventicias (mm) de *Senecio calvus* Cuatr., evaluados a 15, 30 y 45 días.

**CUADRO 20:** Análisis de varianza (ANVA) para longitud de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15 días.

F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F. cal	Sig.
<b>TRATAMIENTO</b>	4,00	399,94	99,98	100,84	*
<b>E.E.</b>	95,00	94,19	0,99		
<b>TOTAL</b>	99,00	494,13			
<b>C.V. (%)</b>	26,93				

En el cuadro 20, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, lo que significa que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a longitud de raíces adventicias a los 15 días.

**CUADRO 21:** Análisis de varianza (ANVA) para longitud de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., a los 30 días.

F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F.
<b>TRATAMIENTO</b>	4	1714,82	428,71	55,53 *
<b>E.E.</b>	95	733,36	7,72	
<b>TOTAL</b>	99	2448,18		
<b>CV. (%)</b>	17,53			

En el cuadro 21, se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, el cual significa que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a longitud de raíces a los 30 días.



**CUADRO 22:** Análisis de varianza (ANVA) para longitud de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., a los 45 días.

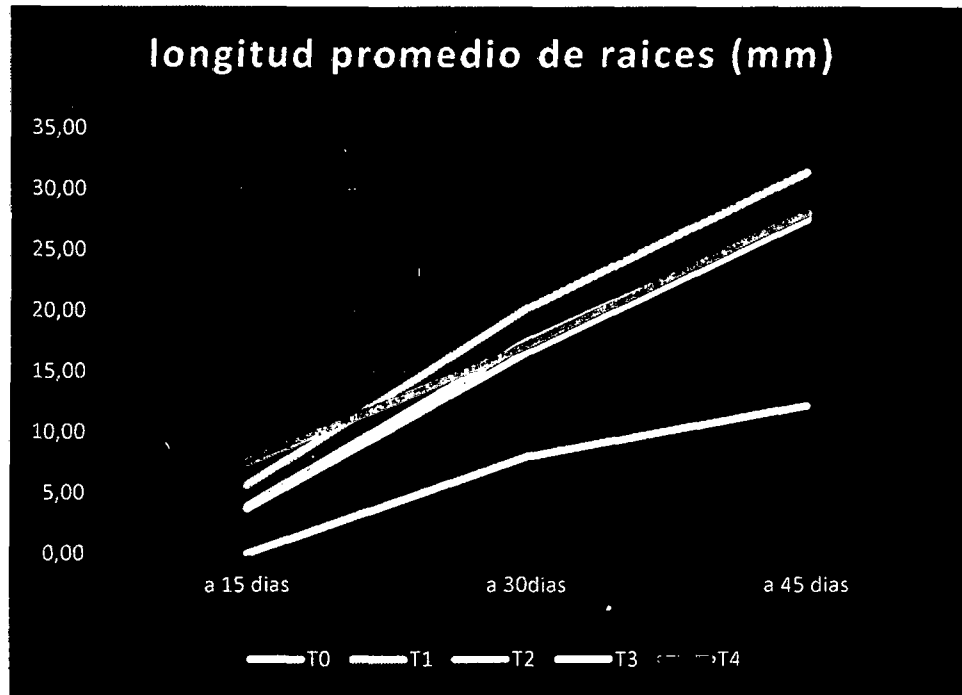
F. de V.	g. de L.	S.C.	C.M.	F.
<b>TRATAMIENTO</b>	4,00	4370,08	1092,52	27,09 *
<b>E.E.</b>	95,00	3831,86	40,34	
<b>TOTAL</b>	99,00	8201,93		
<b>C.V. (%)</b>	25,60			

En el cuadro 22, se observa que existen diferencias estadísticas significativas en longitud de raíces entre los tratamientos, lo que significa que al menos con uno de los tratamientos se obtiene resultados diferentes en cuanto a longitud de raíces adventicias a los 45 días.

**CUADRO 23:** Prueba de comparación de tukey para longitud promedio de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15, 30 y 45 días.

	Tratamientos	Longitud promedio de raíces adventicias (mm)	Rango
<b>A 15 DIAS</b>	T1	5,67	A
	T4	5,25	A
	T2	3,89	B
	T3	3,68	B
	T0	0,00	C
<b>A 30 DIAS</b>	T1	20,18	A
	T2	17,45	B
	T4	17,08	B
	T3	16,57	B
	T0	07,95	C
<b>A 45 DIAS</b>	T1	31,38	A
	T2	27,65	A B
	T3	27,47	A B
	T4	25,38	B
	T0	12,17	C

La prueba de comparación de medias de tukey al 5% para longitud promedio de raíces adventicias a los 15 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T1 y T4, , de la misma manera no existen diferencias estadísticas significativas entre T2 Y T3; sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre T0, T2 Y T1 los mismos que pertenecen a diferentes agrupamientos de acuerdo a resultados de la prueba, por ello se puede afirmar a Gray & Estelle (1998), quienes sostienen que las giberelinas regulan varios procesos del crecimiento y desarrollo como la germinación de semillas, la elongación de tallos, el desarrollo de raíces y la floración. Asimismo a los 30 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T2, T4 y T3; sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre T0, T2 Y T1 los mismos que pertenecen a diferentes agrupamientos de acuerdo a esta prueba, lo que indica que el ácido giberélico también es utilizado como un agente enraizador, utilizadas por Rodriguez (2002) en especies como *Ipomoea batatas*, quien obtuvo resultados favorables de enraizado en medio MS suplementado con 10 mg/L de ácido giberélico AG<sub>3</sub>. De la misma manera a los 45 días, indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre T1, T2 y T3; sin embargo se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre T1, T4 Y T0, los mismos que pertenecen a diferentes agrupamientos de acuerdo a esta prueba. Los resultados de enraizado, obtenidos con las diferentes concentraciones de AG<sub>3</sub> concuerdan con los resultados de otros trabajos donde han utilizado AG<sub>3</sub> como agente enraizador; tal es el caso que Olivera (2011), obtuvo resultados favorables sobre la elongación y enraizamiento de brotes de *Perezia coerulescens* en medio MS a mitad de sales suplementado con 1mg/L de ácido giberélico; asimismo Castillo y Tapia (1998), recomiendan para el enraizamiento de los esquejes de tubérculos andinos se recomienda aplicar ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) líquido o en polvo, donde al cabo de unos días los esquejes inician la formación de abundantes raíces adventicias.



**FIGURA 4:** Longitud promedio de raíces adventicias de *Senecio calvus* Cuatr., de los tratamientos: T0 = 0 mg.L<sup>-1</sup>; T1 = 1 mg.L<sup>-1</sup>; T2 = 1,50 mg.L<sup>-1</sup>; T3 = 2 mg.L<sup>-1</sup> y T4= 2.5 mg.L<sup>-1</sup> de ácido giberélico.

#### 4.3. Fase de aclimatación de vitriplantas de *Senecio calvus* Cuatr.

**CUADRO 24:** Porcentaje de sobrevivencia de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., en dos sustratos evaluados a 07 y 30 días.

sustrato	% de sobrevivencia	
	a 07 días	a 30 días
arena + musgo	92.3%	57.6%
tierra + musgo	100%	88.5%

En la aclimatación, los sustratos investigados demostraron tener diferentes cualidades nutricionales y condiciones físicas para el desarrollo de las raíces, desarrollo foliar y porcentaje de sobrevivencia, del cual se puede concluir que los sustratos propuestas tienen una gran aceptabilidad debido a que los resultados se encuentran dentro del rango referido por Estrada & Devies (2003), quienes manifiestan que en el proceso de micro propagación

comercial se puede llegar a perder del 10 al 40% de las plantas. Para esta etapa del cultivo se obtuvo mejor respuesta con el sustrato de tierra + musgo en cuanto al desarrollo aéreo y porcentaje de supervivencia debido a las propiedades de nutrimentos del sustrato, a su porosidad y alta retención de humedad, coincidente con Alvarado (2002), quien manifiesta que el musgo tiene una buena aireación, buen drenaje y una mayor capacidad de retención de humedad, los resultado con el sustrato arena + musgo pueden deberse a la falta de nutrientes del sustrato tal como manifiesta Alvarado (2002) que las arenas finas contribuyen muy poco en mejorar las condiciones del sustrato y es baja en nutrientes y capacidad de retención de humedad. Parte del éxito de establecimiento fue las condiciones de humedad relativa en el ambiente del invernadero, debido a la sensibilidad al marchitamiento conforme lo sostiene Fila et al (1998), lo cual se fue reduciendo de poco a poco gracias a la ayuda de vasos con agujeros.

## V. CONCLUSIONES.

- En la etapa de enraizado de *Senecio calvus* Cuatr. con el uso de Ácido Giberélico (AG<sub>3</sub>), se obtuvieron resultados esperados siendo a los 45 días los T2 (1.5mg/L<sup>-1</sup> AG<sub>3</sub>) y T1 (1 mg/L<sup>-1</sup> AG<sub>3</sub>), los de mayor número de raíces adventicias en promedio 4 y 3.9 respectivamente.
- En la etapa de enraizado de *Senecio calvus* Cuatr., bajo las dosis de Ácido Naftalenacetico (ANA), no se obtuvieron resultados esperados, obteniendo sólo la formación de callos por lo que se concluye que ésta hormona en esta especie no facilita en enraizado.
- En cuanto a longitud de raíces adventicias fue mayor con T1 (1 mg/L<sup>-1</sup>), con un promedio de 31.38mm en longitud de raíz adventicia en *Senecio calvus* Cuatr., concluyendo que el mejor tratamiento para el enraizado es el T1 1mg/L de AG<sub>3</sub>. por los resultados obtenidos.
- En cuanto a altura de plántula fue mayor con los tratamientos T2 (1.5mg/L<sup>-1</sup> AG<sub>3</sub>) y T1 (1 mg/L<sup>-1</sup> AG<sub>3</sub>), obteniendo a los 45 días alturas en promedio de 24.7mm y 24.1mm respectivamente.
- El mejor sustrato en la aclimatación de *Senecio calvus* Cuatr., es la combinación de tierra agrícola y musgo en proporción 1:1, obteniendo 88.5% de sobrevivencia y mejor desarrollo de plántulas, frente al sustrato arena y musgo en proporción 1:1, con 57.6%.

## VI. RECOMENDACIONES.

- El material vegetal obtenido en el desarrollo de esta investigación se encuentran en diferentes etapas de propagación, por lo cual es necesario dar continuidad al proceso realizando los sub-cultivos y transferencia de plantas a los medios específicos según corresponda a crecimiento y desarrollo, a proliferación y desarrollo de brotes axilares o enraizamiento.
- Hacer seguimiento en campo definitivo del comportamiento de las plántulas de *Senecio calvus* Cuatr., obtenidas en cultivo *in vitro*.
- En la fase de aclimatación es importante manejar de forma adecuada la humedad y la iluminación ya que éstos son los factores importantes en la sobrevivencia de la plántula.
- Seguir con las investigaciones y darle valor a muchas especies endémicas de los andes con el propósito de difundir su uso sin afectar su disponibilidad ya que muchas de estas especies se ven cada vez más afectados por el cambio climático y el uso indiscriminado.

## VII. BIBLIOGRAFIA.

- Alvarado v. Marco y Solano s. Jorge. 2002. Producción de sustratos para viveros- Proyecto regional de Fortalecimiento de la Vigilancia fitosanitaria en cultivos de exportación no tradicional-VIFINEX. Costa Rica. 50pags.
- Arribas U. C. 1999. La ingeniería genética aplicada a la alimentación y el caso del Dr. Arpad Pusztai: información científica y debate público. In: Actes III Jornades de la Curie, AEFIQ-CURIE. Pp. 51-57.
- Azmi, a. R., Mohamed, Z. A. 2000. *In vitro* and posttransplant performance of banana cv. Berangan as affected by triadimefon in: *proceedings of the First National Banana Seminar at Awana Getting and Country resort*. Department of Agronomy and horticulture, University Putra Malaysia: serdang, Selangor, Malaysia. Pp 179-185.
- Bazaldúa C., Ventura, E., Salcedo, G. 2008. Densidad estomatal y potencial hídrico en plantas de tomate (*Physalis ixocarpa* Brot), propagada por cultivo de meristemos. Revista chapingo serie horticultura. 14(2):147-150.
- Brands, S. 2012. *Senecio calvus*. [http://zipcodezoo.com/plants/s/Senecio\\_calvus/](http://zipcodezoo.com/plants/s/Senecio_calvus/)
- Berthouly, M. & Berrior, A. 1987. Tecnología del cultivo de tejidos de café: medios y métodos de cultivos *in vitro*. s.n.t. 37 p. (Manual 2).
- Castellanos, J. Z., Vargas, T. P. 2003. El uso de sustratos en la horticultura protegida. Manual de producción hortícola en invernadero. Mexico. Pp 130-156.
- Castillo, A. 2007. Propagación de plantas por cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Las Brujas, Uruguay.
- Castillo, R & M. Tapia. 1998. Ulluco/melloco (*Ullucus tuberosus* Caldas). Quito: Instituto Nacional Autónoma de Investigaciones Agropecuarias.
- Cerna, M. & V. Tafur. 2009. Cultivo *in vitro* de *Scoparia dulcis* L. (Scrophulariaceae). La Granja 9(1): 44-51.

- Condori, D., Piñatelli, M., Elías, R. Y Rojas, R. 2012. Análisis proximal, características fisicoquímicas y actividad antimicrobiana del musgo blanco (*Sphagnum maguellanicum* Brid.) proveniente de Junín, Perú. Revista de la Sociedad Química del Perú, 78(1), pp. 37-42.
- Cotrina, J., Peñuelas, J., Puertolas, J., SAVÉ, R. Y Villagrosa, A. 2006. Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos. Madrid, España. Estado actual de conocimientos. Editores. Serie Forestal. Ministerio de Medio Ambiente. ISBN-13, pp. 978-84.
- Cristea, Victoria. Alexandra-Timea Brummer, Liliana Jarda and Mihai Miclaus. 2010. "In vitro culture initiation and phytohormonal influence on *Dianthus henteri* – a Romanian endemic species". Romanian Biotechnological Letters. pp. 25-33.
- Cuatrecasas, J. 1953. Senecionaea andinae novae. Collect. Bot. (Barcelona) 3(3): 261-307 consultado el 3 de mayo del 2015. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/2707636?projectid=5&langid=66>
- De Rezende, A. L., Da Silva, A. B., Pasqual, M. 2000. Aclimatacao de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl) obtidas in vitro: efeitos do substrato. Ciencia e agrotecnologia 24pgs.
- Durbin, R.D. ed 1979 *Nicotiana*, procedures for experimental use. Technical bulletin 1586. U.S. department of agriculture, Beltsville, Maryland, E.U.
- Estrada A. A., Davies J., Fred T. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi influence water relations, gas exchange, abscisic acid and growth of micropropagated chile ancho pepper (*Capsicum annuum*) plantlets during acclimatization and post-acclimatization. J. plant Physiol. 160pg.
- Evans, D. A., Sharp, W. R., Ammirato, P. V. Y Yamada, Y. 1983. Handbook of plant cell culture; 1: techniques and applications. MacMillan publishing, Nueva York.
- Fila, G., Ghashghaie, J., Hoarau, J. and Cornic, G. 1998. Fotosíntesis, conductancia de hoja y las relaciones de agua de rizoma de vid in vitro cultivada en relación con aclimatación. Physiologia Plantarum. 102 (3): 411-418.



- Florian, C. J. 2014. "Evaluación de los principios activos de *Senecio calvus* en la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*". Tesis para optar el Grado de Magister en Microbiología. Universidad Nacional de San Marcos. Lima-Perú. 70 pp.
- George, E. 1996. Plant propagation by tissue culture. 2 ed. Londres, Exegetics. 1333 p.
- Hartmann, H. & Kester, D. 1984. Propagación de plantas: principios y prácticas. México, CECSA. P.639-636.
- Hurtado, M; Merino, M. 1988. Cultivo de tejidos vegetales. México, Trillas. 232 p.
- Kabir, M., P. Roy & Golam Ahmed. 2006. *In vitro* propagation of *Thuja occidentalis* through apical shoot culture. Plant Tissue Culture 16 (1): 5-9.
- Khan, Saifullah., Sheeba Naz, Kashif Ali and Samreen Zaidi. 2006. Direct organogenesis of *Kalanchoe tomentosa* (Crassulaceae) from shoot-tips. Pakistan Journal of Botany 38(4): 977-981.
- Izquierdo, Pablo. 2006. "Development of micropropagation protocols for two species critically endangered Asteraceae endemic of the Galapagos Island".Lyonia.
- Mohammed G. H. & W. E. Vidaver 1988. Root production and plant development in tissue-cultured conifers. Plant cell, tissue and organ culture 14 pp. 137-160.
- Mroginski, L., Sansberro, P. Y Flaschland, E. 2010. Establecimiento de Cultivos de Tejidos Vegetales. En: Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. Eds. Gabriela Levitus, Viviana Echenique, Ciara Rubinstein, Esteban Hopp y Luis Mroginski, pp. 17-23. Buenos Aires: Ediciones INTA.
- Laguna, Y. 2013, Desinfección y multiplicación *in vitro* de *Senecio calvus* cuatrec. (huamanripa), planta medicinal alto andina –Huaraz Perú. Tesis para optar el Título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional "Santiago Antúnez De Mayolo" Huaraz- Perú.

- Olivera, P. 2011. Validación de una Metodología Especifica para la Propagación *In vitro* de *Perezia coeruleascens*, Especie Medicinal Altoandina, Huaraz, Perú Tesis para optar el Grado de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 86 pp.
- Olmos, S., G. Luciani & E. Gandeano. 2004. Métodos de propagación y conservación de germoplasma. En: Biotecnología y mejoramiento vegetal, eds. Viviana Echenique, Clara Rubinstein y Luis Mroginski, pp. 161-172. Buenos Aires: Ediciones INTA.
- Paredes, I. 2009. Utilización de Giberelinas en explantes vegetales. Seminario de crecimiento y desarrollo. Universidad de América. Santiago de Chile. Consultado el 10/03/15: [www.es.scribd.com/doc/35592184/Giberelinas](http://www.es.scribd.com/doc/35592184/Giberelinas)
- Pierik, R.L.M. 1990. Cultivo in vitro de las plantas superiores. EDICIONES MUNDI PRENSA. Madrid. 326 pag.
- Poirot, P. 1991. Factores que influyen en la micropropagación del Arándano ojo de conejo (*Vaccinium ashei* read). Memoria Ing. Agr. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 90 p.
- Roca, William. 2004. "Tendencias en el desarrollo de capacidades biotecnológicas e institucionales para el aprovechamiento de la biodiversidad en los países de la Comunidad Andina". Lima. <http://www.caf.com/attach/9/default/Tendencias-desarrollo-capacidadesbiotecnol%C3%B3gicas-institucionales-aprovechamiento-biodiversidad-ComunidadAndina.pdf>.
- Rodríguez, A. J., Pérez, O. Y Marrero, N. 2002. Influencia del genotipo, el explante y la concentración de agar en la micropropagación de boniato (*I. batatas*). En: Congreso Científico INCA (13: 2002, Nov. 12-15, La Habana). Memorias CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 2002. ISBN 959-7023-22-9.
- Severin, C., O. Di Sapio, A. Scandizzi, L. Taleb, G. Giubileo & S. Gattuso. 2008. Efecto de algunos fitorreguladores y estudio histológico sobre la regeneración *in*

- in vitro* de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas 7(1): 18-24.
- Solís, R. Olivera J & LA RosA R. 2011. Propagación *In vitro* de *Carica papaya* var. PTM-331 a partir de meristemos apicales. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. Rev. Peru biol. 18(3):343-347.
- Tamariz, C., Infantas, D., Moreno P. 2001. Pruebas fotoquímicas y biológicas de algunas especies de *Senecio* del parque nacional Huascarán (Ancash-Perú). [http://tumi.lamolina.edu.pe/resumen/anales/2001\\_123.pdf](http://tumi.lamolina.edu.pe/resumen/anales/2001_123.pdf).
- Taiz, L. Y Zeiger, E. 2006. Fisiología Vegetal. Valencia, España: Universitat Jaume I, 2(1), pp. 1129-1130.
- Thomas, P. 1998. El período de incubación húmedo y envejecen la aclimatación de influencia y el establecimiento de uvas micropropagadas. *In vitro cell.*34:52-56.
- Tripathi, Leena Y Jaindra Tripathi. 2003. "Role of biotechnology in medicinal plants". *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*.
- Villalobos, V; Thorpe, T. 1991. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. In *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones*. Roca, W y Mroginski, L (eds.). Cali, Colombia. p. 127-141.
- Vision T. J. & Dillon M. O. 1 996. Sinopsos de *Senecio* L. (*Senecioneae*, *Asteraceae*) para el Perú. *Arnaldoa* 5(2): 159-170.
- Wardle, K., Dobbs, E. and Short, K. 1983. Aclimatación *in vitro* de plantlets aseptically cultivado a humedad. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108 (3): 386 – 389.
- Zhou, L. 2006. Desarrollo y aplicación de medicamentos cultivos de tejidos vegetales para la producción de drogas y productos medicinales a base de plantas en China. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17003910>

## VIII. ANEXOS.

**CUADRO 25:** Datos reales de número de raíces adventicias de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15 días del trasplante en los tratamientos de AG<sub>3</sub>.

Repetición	TRATAMIENTOS				
	T0	T1	T2	T3	T4
1	0,00	2,00	2,00	1,00	1,00
2	0,00	2,00	2,00	2,00	1,00
3	0,00	2,00	2,00	1,00	1,00
4	0,00	1,00	2,00	1,00	1,00
5	0,00	1,00	2,00	2,00	1,00
6	0,00	2,00	2,00	2,00	1,00
7	0,00	1,00	2,00	2,00	2,00
8	0,00	1,00	2,00	1,00	1,00
9	0,00	2,00	2,00	2,00	2,00
10	0,00	1,00	2,00	2,00	1,00
11	0,00	2,00	2,00	2,00	2,00
12	0,00	2,00	2,00	2,00	1,00
13	0,00	2,00	2,00	1,00	1,00
14	0,00	2,00	2,00	2,00	1,00
15	0,00	2,00	2,00	2,00	1,00
16	0,00	2,00	2,00	2,00	1,00
17	0,00	2,00	2,00	2,00	2,00
18	0,00	1,00	2,00	2,00	1,00
19	0,00	2,00	2,00	2,00	1,00
20	0,00	2,00	2,00	1,00	2,00

**CUADRO 26:** Datos reales de longitud promedio de raíces adventicias de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15 días del trasplante en los tratamientos de AG<sub>3</sub>.

Repetición	T0	T1	T2	T3	T4
1	0,00	7,00	3,00	3,00	4,00
2	0,00	6,67	3,00	4,50	5,00
3	0,00	5,00	4,00	2,00	4,00
4	0,00	5,00	3,00	5,00	5,00
5	0,00	5,00	3,00	3,00	7,00
6	0,00	5,00	3,67	3,00	6,00
7	0,00	7,00	6,00	5,00	7,00
8	0,00	5,00	5,00	3,00	6,00
9	0,00	5,00	3,75	4,50	5,00
10	0,00	7,00	3,00	2,00	4,00
11	0,00	5,00	3,00	5,00	4,00
12	0,00	7,50	2,00	4,00	4,00
13	0,00	5,00	3,00	3,00	5,00
14	0,00	5,00	4,50	4,00	6,00
15	0,00	6,00	3,86	6,00	5,00
16	0,00	5,00	6,00	2,60	7,00
17	0,00	6,50	3,00	3,00	6,00
18	0,00	5,00	6,00	4,00	4,00
19	0,00	5,67	3,00	3,00	4,00
20	0,00	5,00	6,00	4,00	7,00

**CUADRO 27** Datos reales de tamaño de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15 días del trasplante en los tratamientos de AG3.

<b>Repetición</b>	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
1	12,00	17,00	20,00	16,00	9,00
2	10,00	14,00	16,00	14,00	9,00
3	10,00	18,00	18,00	18,00	9,00
4	10,00	18,00	15,00	12,00	17,00
5	12,00	18,00	17,00	12,00	12,00
6	11,00	18,00	20,00	12,00	10,00
7	10,00	13,00	20,00	15,00	10,00
8	12,00	20,00	15,00	12,00	17,00
9	12,00	13,00	14,00	13,00	20,00
10	11,00	13,00	13,00	12,00	16,00
11	11,00	19,00	14,00	12,00	20,00
12	10,00	12,00	19,00	14,00	15,00
13	10,00	13,00	13,00	18,00	10,00
14	13,00	14,00	14,00	19,00	20,00
15	12,00	18,00	18,00	16,00	17,00
16	10,00	12,00	17,00	12,00	11,00
17	12,00	13,00	16,00	12,00	18,00
18	10,00	12,00	20,00	18,00	13,00
19	13,00	15,00	14,00	13,00	9,00
20	12,00	17,00	13,00	16,00	11,00

**CUADRO 28:** Datos reales de número de brotes de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 15 días del trasplante en los tratamientos de AG<sub>3</sub>.

Repetición	T0	T1	T2	T3	T4
1	3,00	3,00	1,00	1,00	2,00
2	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00
3	2,00	3,00	1,00	1,00	1,00
4	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00
5	3,00	2,00	1,00	1,00	1,00
6	2,00	3,00	1,00	2,00	1,00
7	1,00	1,00	1,00	2,00	2,00
8	1,00	1,00	1,00	1,00	2,00
9	2,00	2,00	2,00	1,00	1,00
10	2,00	1,00	2,00	1,00	1,00
11	2,00	1,00	2,00	2,00	1,00
12	2,00	3,00	2,00	2,00	1,00
13	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00
14	3,00	1,00	2,00	1,00	1,00
15	2,00	3,00	2,00	1,00	1,00
16	2,00	1,00	2,00	2,00	1,00
17	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00
18	3,00	3,00	2,00	2,00	1,00
19	3,00	1,00	2,00	2,00	2,00
20	3,00	2,00	2,00	2,00	1,00

**CUADRO 29:** Datos reales de número de raíces adventicias de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 30 días del trasplante en los tratamientos de AG<sub>3</sub>.

Repetición	T0	T1	T2	T3	T4
1	2,00	3,00	3,00	4,00	2,00
2	0,00	3,00	4,00	3,00	2,00
3	0,00	5,00	3,00	4,00	2,00
4	0,00	3,00	5,00	4,00	2,00
5	0,00	5,00	3,00	4,00	2,00
6	1,00	5,00	5,00	3,00	2,00
7	0,00	3,00	5,00	3,00	2,00
8	1,00	3,00	5,00	3,00	2,00
9	1,00	3,00	5,00	3,00	2,00
10	1,00	3,00	3,00	3,00	2,00
11	1,00	4,00	3,00	3,00	2,00
12	2,00	3,00	5,00	4,00	2,00
13	0,00	4,00	3,00	4,00	2,00
14	2,00	3,00	3,00	4,00	2,00
15	2,00	5,00	5,00	3,00	2,00
16	2,00	2,00	5,00	4,00	2,00
17	2,00	3,00	5,00	3,00	2,00
18	0,00	3,00	4,00	4,00	2,00
19	2,00	3,00	3,00	4,00	2,00
20	0,00	3,00	3,00	3,00	1,00



**CUADRO 30:** Datos reales de longitud promedio de raíces adventicias de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 30 días del trasplante en los tratamientos de AG<sub>3</sub>.

Repetición	T0	T1	T2	T3	T4
1	10,00	20,00	20,00	17,00	15,00
2	6,00	21,00	14,00	19,00	15,50
3	7,00	20,00	21,00	12,00	19,50
4	6,00	21,00	14,83	16,25	14,00
5	7,00	18,00	12,50	12,00	20,00
6	6,00	22,00	18,83	12,00	15,00
7	7,00	21,00	13,29	20,67	18,00
8	6,00	18,00	17,17	12,00	19,00
9	6,00	22,00	17,86	21,00	19,00
10	7,00	21,00	21,00	12,00	15,00
11	6,00	20,00	14,00	19,33	16,67
12	9,00	21,00	21,00	20,40	14,00
13	7,00	22,75	15,00	13,29	19,00
14	12,00	20,33	22,00	17,00	19,00
15	11,00	22,50	17,78	20,00	18,00
16	11,00	18,00	21,00	20,00	18,00
17	11,00	22,00	15,00	12,00	18,00
18	7,00	18,00	20,00	20,00	17,00
19	11,00	18,00	12,67	12,00	18,00
20	6,00	17,00	20,00	23,50	14,00

**CUADRO 31:** Datos reales de tamaño de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 30 días del trasplante en los tratamientos de AG<sub>3</sub>.

Repetición	T0	T1	T2	T3	T4
1	13,00	20,00	20,00	18,00	12,00
2	13,00	14,00	14,00	17,00	13,00
3	10,00	20,00	20,00	19,00	12,00
4	13,00	20,00	18,00	12,00	21,00
5	11,00	20,00	21,00	13,00	12,00
6	10,00	16,00	22,00	12,00	18,00
7	12,00	18,00	24,00	15,00	12,00
8	13,00	20,00	19,00	13,00	21,00
9	12,00	14,00	15,00	12,00	12,00
10	12,00	14,00	19,00	12,00	12,00
11	12,00	18,00	14,00	12,00	20,00
12	11,00	14,00	21,00	23,00	17,00
13	13,00	15,00	14,00	24,00	14,00
14	13,00	15,00	14,00	20,00	23,00
15	12,00	18,00	25,00	15,00	21,00
16	12,00	15,00	20,00	17,00	14,00
17	12,00	16,00	20,00	12,00	18,00
18	11,00	15,00	21,00	22,00	18,00
19	12,00	15,00	14,00	17,00	12,00
20	13,00	20,00	14,00	18,00	14,00

**CUADRO 32:** Datos reales de número de brotes de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 30 días del trasplante en los tratamientos de AG3.

<b>Repetición</b>	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
1	3,00	3,00	1,00	1,00	2,00
2	3,00	1,00	1,00	1,00	1,00
3	2,00	3,00	1,00	2,00	1,00
4	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
5	2,00	2,00	2,00	1,00	1,00
6	2,00	3,00	2,00	2,00	1,00
7	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00
8	3,00	2,00	2,00	2,00	2,00
9	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
10	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00
11	2,00	2,00	1,00	2,00	1,00
12	2,00	3,00	2,00	1,00	1,00
13	3,00	3,00	2,00	2,00	1,00
14	3,00	2,00	2,00	2,00	1,00
15	2,00	3,00	2,00	1,00	1,00
16	3,00	2,00	2,00	2,00	1,00
17	3,00	3,00	2,00	1,00	1,00
18	2,00	3,00	2,00	1,00	1,00
19	3,00	2,00	2,00	2,00	2,00
20	3,00	2,00	1,00	2,00	1,00

**CUADRO 33:** Datos reales de número de raíces adventicias de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 45 días del trasplante en los tratamientos de AG<sub>3</sub>.

<b>Repetición</b>	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
1	2,00	4,00	4,00	4,00	2,00
2	1,00	4,00	3,00	4,00	3,00
3	1,00	5,00	3,00	4,00	3,00
4	1,00	5,00	4,00	4,00	2,00
5	1,00	5,00	3,00	4,00	2,00
6	1,00	6,00	5,00	4,00	3,00
7	1,00	3,00	4,00	4,00	3,00
8	0,00	3,00	5,00	3,00	3,00
9	1,00	3,00	5,00	3,00	3,00
10	0,00	3,00	3,00	3,00	3,00
11	0,00	3,00	3,00	3,00	3,00
12	2,00	4,00	4,00	5,00	2,00
13	0,00	4,00	5,00	4,00	3,00
14	2,00	3,00	4,00	4,00	2,00
15	2,00	4,00	4,00	4,00	2,00
16	2,00	5,00	4,00	4,00	3,00
17	2,00	4,00	5,00	3,00	2,00
18	1,00	3,00	4,00	3,00	3,00
19	1,00	3,00	3,00	4,00	2,00
20	1,00	4,00	5,00	3,00	2,00

**CUADRO 34:** Datos reales de longitud promedio de raíces adventicias de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 45 días del trasplante en los tratamientos de AG<sub>3</sub>.

Repetición	T0	T1	T2	T3	T4
1	24,00	30,50	18,75	31,00	26,00
2	6,00	22,75	33,00	32,20	24,33
3	6,00	26,22	25,67	31,00	23,00
4	6,00	29,67	32,40	32,00	28,00
5	6,00	25,00	23,67	15,00	27,00
6	6,00	39,67	32,20	14,00	26,00
7	13,00	40,00	22,83	32,50	28,00
8	6,00	23,33	32,00	22,67	25,33
9	8,00	32,33	34,00	31,00	26,00
10	6,00	36,00	34,00	31,00	27,00
11	6,00	38,00	14,00	28,67	16,00
12	24,00	30,50	21,20	26,17	31,00
13	6,00	32,50	18,00	29,86	28,00
14	24,00	39,50	32,33	32,00	28,00
15	23,33	34,67	34,00	30,50	28,00
16	24,00	26,00	34,00	31,00	27,00
17	24,00	36,00	34,00	17,00	27,00
18	6,00	29,00	34,33	31,00	28,00
19	7,00	28,00	15,00	19,75	17,00
20	12,00	28,00	27,67	31,00	17,00

**CUADRO 35:** Datos reales de tamaño de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 45 días del trasplante en los tratamientos de AG<sub>3</sub>.

<b>Repetición</b>	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
1	15,00	34,00	34,00	27,00	15,00
2	11,00	16,00	19,00	21,00	18,00
3	10,00	31,00	30,00	28,00	15,00
4	10,00	26,00	26,00	16,00	17,00
5	11,00	36,00	28,00	22,00	20,00
6	11,00	27,00	34,00	18,00	22,00
7	16,00	20,00	34,00	22,00	21,00
8	11,00	34,00	30,00	16,00	30,00
9	16,00	21,00	22,00	16,00	14,00
10	12,00	16,00	18,00	20,00	30,00
11	10,00	30,00	11,00	16,00	29,00
12	14,00	16,00	25,00	16,00	26,00
13	16,00	16,00	11,00	30,00	18,00
14	16,00	21,00	17,00	28,00	26,00
15	16,00	32,00	34,00	21,00	25,00
16	13,00	25,00	28,00	22,00	15,00
17	17,00	22,00	25,00	16,00	29,00
18	13,00	16,00	34,00	29,00	23,00
19	15,00	20,00	11,00	27,00	14,00
20	11,00	35,00	11,00	29,00	20,00

**CUADRO 36:** Datos reales de número de brotes de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 45 días del trasplante en los tratamientos de AG3.

<b>Repetición</b>	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
1	3,00	3,00	1,00	2,00	2,00
2	2,00	2,00	1,00	2,00	2,00
3	3,00	3,00	1,00	2,00	1,00
4	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00
5	3,00	2,00	1,00	2,00	1,00
6	2,00	3,00	2,00	3,00	2,00
7	2,00	2,00	1,00	3,00	2,00
8	3,00	2,00	2,00	2,00	2,00
9	2,00	2,00	3,00	1,00	1,00
10	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00
11	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00
12	3,00	3,00	3,00	1,00	1,00
13	3,00	3,00	3,00	3,00	1,00
14	3,00	2,00	2,00	2,00	1,00
15	2,00	4,00	2,00	1,00	1,00
16	3,00	2,00	3,00	3,00	1,00
17	2,00	3,00	3,00	2,00	1,00
18	2,00	4,00	2,00	1,00	2,00
19	3,00	2,00	3,00	3,00	2,00
20	3,00	2,00	2,00	2,00	2,00

FOTOGRAFIAS



FIGURA 5: Plantas silvestres de *Senecio calvus* Cuatr.





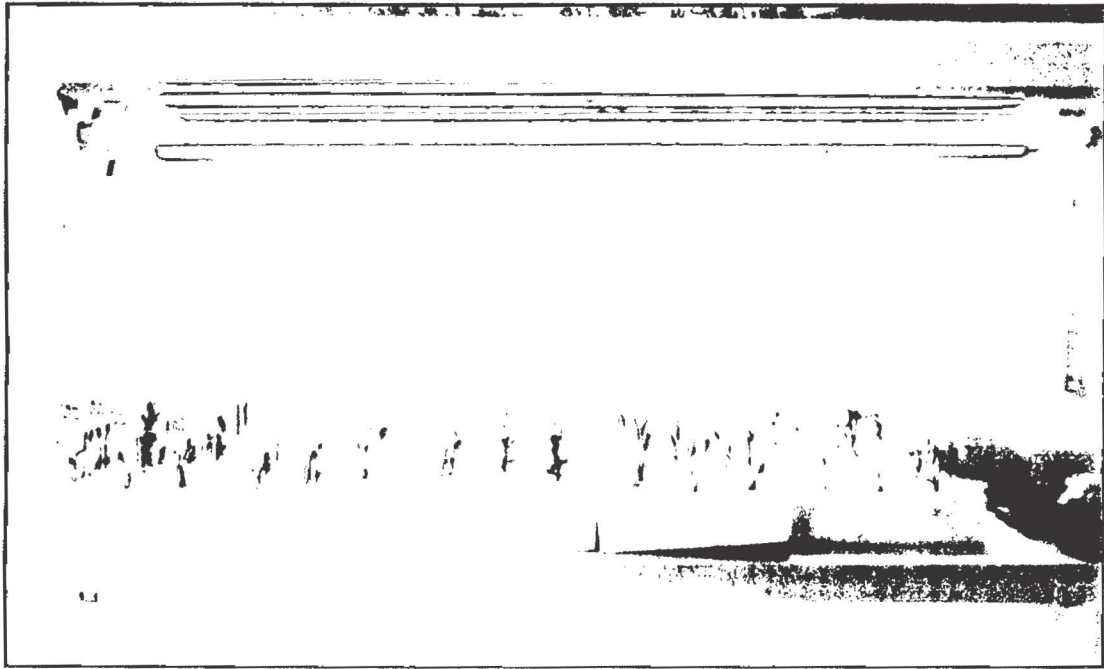
**FIGURA 6:** Preparación del medio de cultivo con y sin hormona: (A). Pesado de los insumos. (B). Preparación de la hormona. (C). medición del pH del medio de cultivo. (D). Licuado del medio.



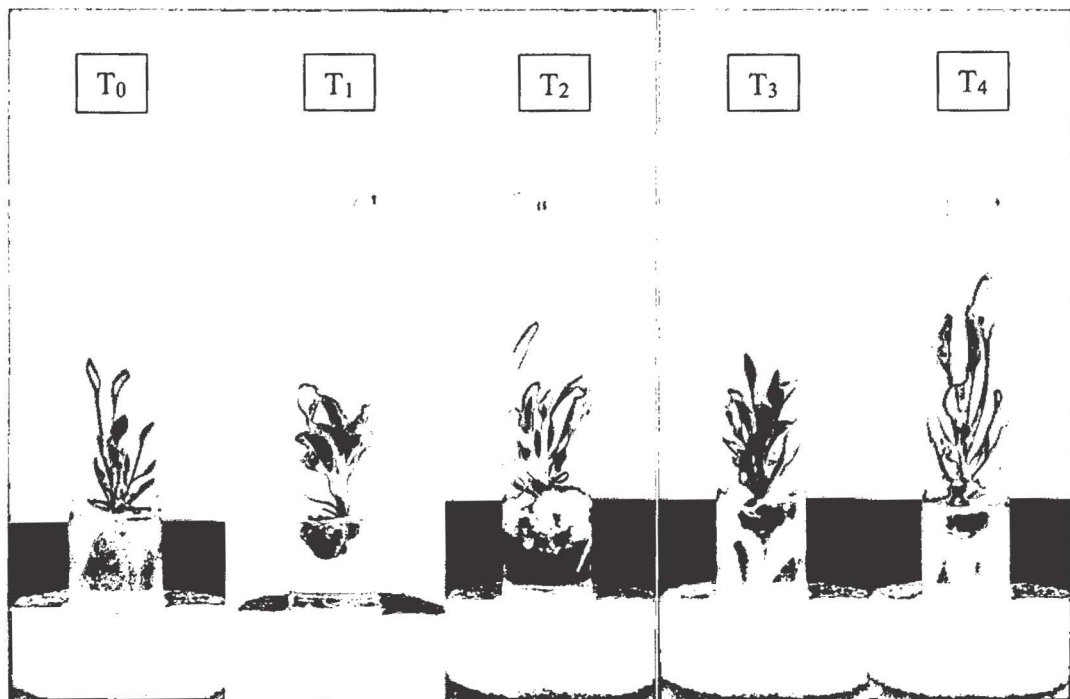
**FIGURA 7:** Selección de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., para transferir a los tratamientos



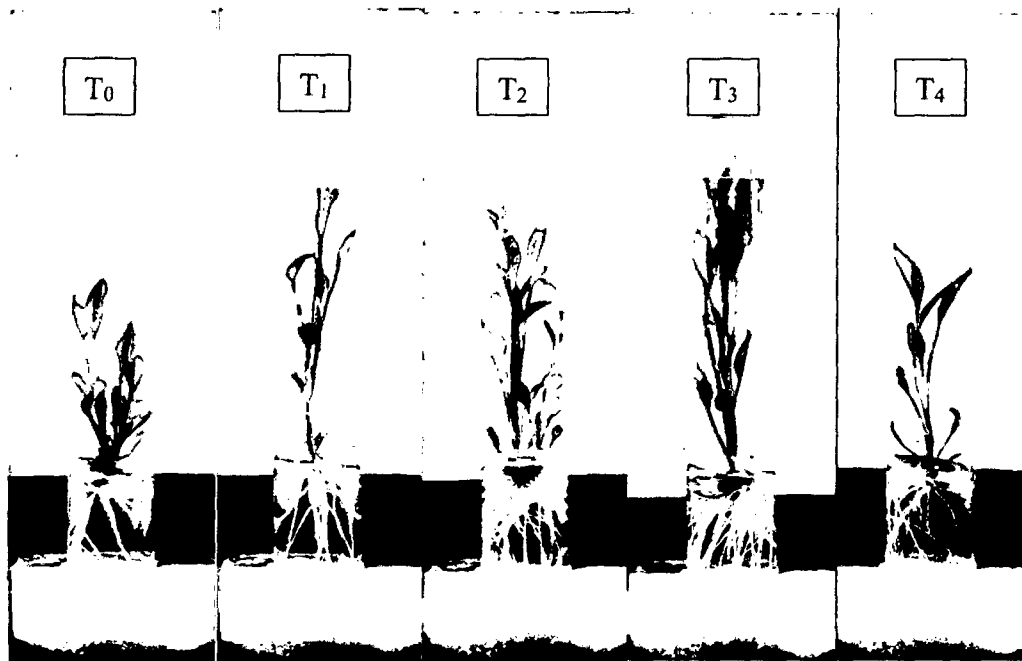
**FIGURA 8:** Trasplante de vitroplantas de *Senecio calvus* Cuatr., a los tratamientos respectivos.



**FIGURA 9:** Incubación en la fase de enraizado con los tratamientos de ácido giberélico y ácido naftalenacético.



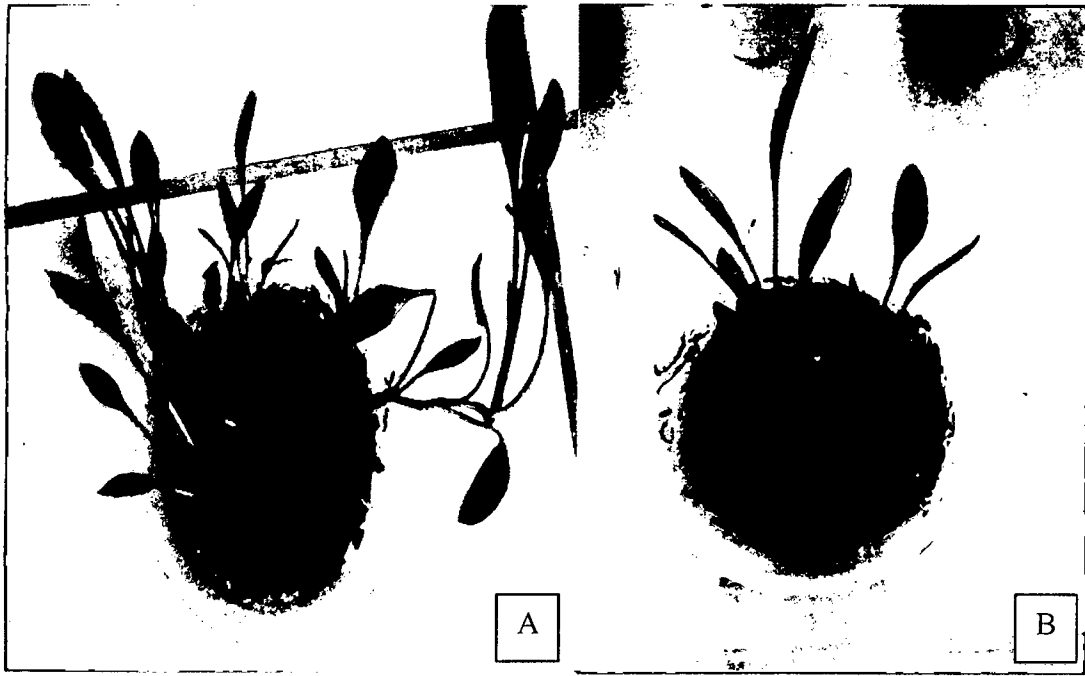
**FIGURA 10:** Vitroplantas con formación de callos de *Senecio calvus* Cuatr., con diferentes dosis de ANA: T0 (0 mg.L<sup>-1</sup> ANA); T1 (1 mg.L<sup>-1</sup> ANA); T2 (1,50 mg.L<sup>-1</sup> ANA); T3 (2 mg.L<sup>-1</sup> ANA) y T4 (2.50 mg.L<sup>-1</sup> ANA).



**FIGURA 11:** Vitroplantas enraizada de *Senecio calvus* Cuatr., con diferentes dosis de AG3: T0 (0,00 mg.L<sup>-1</sup> AG3); T1 (1 mg.L<sup>-1</sup> AG3); T2 (1.5 mg.L<sup>-1</sup> AG3); T3 (2 mg.L<sup>-1</sup> AG3) y T4 (2.5 mg.L<sup>-1</sup> AG3).



**FIGURA 12:** Acondicionamiento para dar las condiciones de invernadero a las plantas con la finalidad de controlar la humedad.



**FIGURA 13:** Plántulas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 30 días. (A). sustrato musgo + tierra agrícola. (B). musgo + arena.



**FIGURA 14:** Plántulas de *Senecio calvus* Cuatr., a los 60 días.