

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS  
BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



Micropropagación de camote de cerro  
(*Dioscorea spp.*) por medio de yemas axilares

TESIS

QUÉ PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**INGENIERO AGRÓNOMO**

PRESENTA

JUAN CARLOS ASTORGA GONZÁLEZ

ZAPOPAN, JALISCO, JULIO DE 2008



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS**  
**BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS**  
**CARRERA DE INGENIERO AGRÓNOMO**  
**COMITE DE TITULACIÓN**

**DR. SALVADOR MENA MUNGUÍA**  
**DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**PRESENTE**

Con toda atención nos permitimos hacer de su conocimiento, que habiendo sido aprobada la modalidad de titulación TESIS E INFORMES, opción, TESIS, con el título:

**"MICROPROPAGACIÓN DE CAMOTE DE CERRO (Dioscorea spp) POR MEDIO DE YEMAS AXILARES"**

El cual fue presentado por él (los) pasante(s):

**JUAN CARLOS ASTORGA GONZÁLEZ**

El Comité de Titulación, designó como director y asesores, respectivamente, a los profesores:

<b>DR. FERNANDO SANTACRUZ RUVALCABA</b>	<b>DIRECTOR</b>
<b>M.C. MARTHA ISABEL TORRES MORAN</b>	<b>ASESOR</b>
<b>DRA. MARÍA LUISA GARCÍA SAHAGÚN</b>	<b>ASESOR</b>

Una vez concluido el trabajo de titulación, el Comité de Titulación designó como sinodales a los profesores:

<b>DR. LUIS ALBERTO RENDÓN SALCIDO</b>	<b>PRESIDENTE</b>
<b>M.C. GUSTAVO ENCISO CABRAL</b>	<b>SECRETARIO</b>
<b>M.C. ANTONIO MORA SANTACRUZ</b>	<b>VOCAL</b>

Se hace constar que se han cumplido los requisitos que establece la Ley Orgánica de la Universidad de Guadalajara, en lo referente a la titulación, así como el Reglamento del Comité de Titulación.



**ATENTAMENTE**  
**"PIENCA Y TRABAJO"**

Las Agujas, Zapopan, Jalisco, de julio de 2008.

*Gonzalez Luna*

M.C. SALVADOR GONZÁLEZ LUNA  
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

*Maria Luisa Garcia Sahagun*

DRA. MARÍA LUISA GARCÍA SAHAGÚN  
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	ii
RESUMEN.....	iv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	4
2.1 Hipótesis.....	4
2.2 Objetivo General.....	4
2.2.1 Objetivos particulares.....	4
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
3.1 Descripción Botánica.....	5
3.2 Generalidades del género <i>Dioscorea</i> .....	6
3.3 Distribución en México del género <i>Dioscorea</i> .....	8
3.4 Distribución en Jalisco del género <i>Dioscorea</i> .....	10
3.5 Aprovechamiento del género <i>Dioscorea</i> .....	11
3.6 Micropropagación de plantas.....	14
3.7 Reguladores de crecimiento.....	17
3.8 Cultivo <i>in vitro</i> de <i>Dioscorea</i> en el mundo.....	18
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
4.1 Multiplicación del material.....	20
4.1.1 Selección del material.....	20
4.2 Experimento de propagación masiva <i>in vitro</i> en <i>Dioscorea spp.</i> .....	21
4.2.1 Propagación de <i>Dioscorea spp.</i> por medio de yemas axilares...21	
4.3 Diseño experimental.....	23
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	24
5.1. Proliferación de yemas axilares en <i>Dioscorea spp.</i> .....	24
5.1.1 Resultados a los 15 días.....	24
5.1.2 Resultados a los 30 días.....	25
5.1.3 Resultados a los 45 días.....	26
5.1.4 Resultados a los 60 días.....	27
5.2 Proliferación de raíces en <i>Dioscorea spp.</i> .....	29

5.2.1 Resultados a los 15 días.....	29
5.2.2 Resultados a los 45 días.....	30
5.2.3 Resultados a los 60 días.....	32
5.3 Estimulación de microtubérculos en <i>Dioscorea spp</i> .....	33
5.3.1 Resultados a los 45 días.....	33
5.3.2 Resultados a los 60 días.....	34
VI. CONCLUSIONES.....	36
VII. LITERATURA CITADA.....	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Área de incubación del Laboratorio de Cultivo de Tejidos	21
Figura 2. Transferencia de brotes	22
Figura 3. Experimentos con la variable "Sin luz"	22
Figura 4. Proliferación de yemas axilares en <i>Dioscorea spp.</i> a los 30 días	26
Figura 5. Proliferación de yemas axilares en <i>Dioscorea spp.</i> a los 60 días, accesión 93	28
Figura 6. Número de yemas estimuladas de <i>Dioscorea spp.</i> con las accesiones 93 y 175 en evaluación a los 15,30, 45 y 60 días	29
Figura 7. Raíces desarrolladas de <i>Dioscorea spp.</i> a los 45 días	31
Figura 8. Formación de microtubérculos en <i>Dioscorea spp.</i>	35

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Distribución por regiones de <i>Dioscorea</i> en el mundo (Malaurie y col., 1998)	8
Cuadro 2. Especies del genero <i>Dioscorea</i> con esteroides (sapogeninas) y ubicación geográfica.	14
Cuadro 3. Comparación múltiple de medias utilizando la prueba DMS (Diferencias Mínimas Significativas) para el número de yemas axilares estimuladas a los 15 días para el factor Sacarosa en <i>Dioscorea spp.</i>	24
Cuadro 4. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para el número de yemas axilares estimuladas a los 30 días para el factor Genotipo en <i>Dioscorea spp.</i>	25
Cuadro 5. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para el número de yemas axilares estimuladas a los 30 días para el factor Sacarosa en <i>Dioscorea spp.</i>	25
Cuadro 6. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para el número de yemas axilares estimuladas a los 45 días para el factor Genotipo en <i>Dioscorea spp.</i>	27
Cuadro 7. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para el número de yemas axilares estimuladas a los 45 días para el factor Sacarosa en <i>Dioscorea spp.</i>	27
Cuadro 8. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para el número de yemas axilares estimuladas a los 60 días para el factor Genotipo en <i>Dioscorea spp.</i>	28

Cuadro 9. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 15 días para el factor Genotipo en <i>Dioscorea spp.</i>	30
Cuadro 10. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 15 días para el factor Iluminación en <i>Dioscorea spp.</i>	30
Cuadro 11. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 45 días para el factor Genotipo en <i>Dioscorea spp.</i>	31
Cuadro 12. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 45 días para el factor Sacarosa en <i>Dioscorea spp.</i>	31
Cuadro 13. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 60 días para el factor Genotipo en <i>Dioscorea spp.</i>	32
Cuadro 14. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 60 días para el factor Sacarosa en <i>Dioscorea spp.</i>	33
Cuadro 15. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para microtubérculos a los 45 días para el factor Cinetina en <i>Dioscorea spp.</i>	33
Cuadro 16. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para microtubérculos a los 60 días para el factor Cinetina en <i>Dioscorea spp.</i>	34

## RESUMEN

El hombre ha utilizado al tubérculo del Camote de Cerro alrededor del mundo por sus diferentes propiedades como lo son: alimenticias, medicinales, esteroideas y por su valor estético en algunas de ellas.

En el presente trabajo se tuvo como objetivo desarrollar una metodología para la micropropagación de camote de cerro (*Dioscorea spp.*) por medio de yemas axilares, evaluando el efecto de la citocinina cinetina en tres diferentes concentraciones y el testigo (0, 0.5, 1 y 2 mg/L); la sacarosa en dos concentraciones (30 y 60 g/L); la iluminación, con dos diferentes intensidades lumínicas (0 y 1500 luxes), y dos accesiones de camote de cerro (175 y 93). Se empleó un diseño completamente al azar, con 4 repeticiones cada una. Las variables consideradas a evaluar fueron, la producción de yemas axilares, la producción de raíces y la microtuberización. Los resultados indicaron que la sacarosa en concentraciones de 30 g/L generan mayor producción de yemas axilares independientemente de la accesión y que en concentraciones de 60 g/L producen una mayor cantidad de raíces; La accesión 93 registró mayores valores en la producción de raíces y yemas axilares; la iluminación no fue un factor que determinó la inducción de microtubérculos.

## I. INTRODUCCIÓN

La especialización de la producción agrícola en las naciones así como la internacionalización de productos agropecuarios han propiciado un cambio en muchas regiones del mundo, el cual nos muestra la oportunidad de explorar especies alternativas productivas para sus aplicaciones alimenticias e industriales y de los cuales se obtengan una calidad, sustentabilidad y producción óptima de su aprovechamiento.

En países tropicales de América Central, África, Asia donde las condiciones agroclimáticas no permiten las grandes producciones de tubérculos de clima frío, como la papa, o las estrategias comerciales lo impiden, un cultivo que se ha utilizado poco y que tiene un gran potencial por su gran contenido de proteínas y carbohidratos es el llamado camote de cerro o ñame (*Dioscorea spp.*)

Un estudio de propagación de esta especie puede ser de gran importancia botánica, económica y cultural para México, por el gran reto al que se enfrenta debido al Tratado de Libre Comercio celebrado entre Estados Unidos, México y Canadá, ya que la producción extensiva de esta especie en nuestro país puede verse proyectada en divisas, en primer término por que puede ser considerado como un cultivo exótico a los demás países y después por los productos y subproductos que puedan ser extraídos o transformados de ella; tal caso es la diosgenina ya que es el precursor de la saponina en la síntesis de la progesterona, utilizada en el ciclo menstrual femenino. Este producto podría servir para cubrir la demanda interna de esteroides naturales en México y después para su exportación a los países que no la producen.

Para que México adquiriera ciertas ventajas sobre sus contendientes comerciales, se deben crear, apoyar y concretar programas de investigación y producción hacia las especies alternativas que nuestro país puede aprovechar.

La forma de aprovechamiento del camote de cerro o ñame (*Dioscorea spp.*) que se ha realizado por muchos años y que aun persiste actualmente en muchas regiones de la República Mexicana, es la recolección silvestre para su venta informal, esto se realiza sin ninguna planeación, lo cual obstaculiza la protección de la especie.

En regiones donde los sistemas agrícolas son cada vez más modernos, el cultivo del ñame comienza a crear serios problemas para el desarrollo agrícola. En efecto, especies de *Dioscorea* constituyen el alimento de base en las regiones del Caribe sobre todo: es un cultivo seguro, cuyos rendimientos son estables y relativamente poco sensibles a los azares climáticos, pero es difícil integrarlo en un sistema de producción modernizado, principalmente por su exigencia elevada de mano de obra (IICA, 1989).

Un método que ayuda a estudiar, conservar y proteger muchas especies de importancia, es la propagación *in vitro* la cual permite utilizar algunas ventajas biotecnológicas sobre el cultivo tradicional; de las cuales destacan; el vigor, la uniformidad del vegetal, la velocidad de propagación, la preservación y asepsia del material.

Para el manejo de cualquier organismo ya sea planta, tejido o célula dentro de un laboratorio es necesario conocer su ciclo de vida y el medio que lo sustente y a este le proporcione los nutrimentos necesarios para mantenerlo y promover procesos morfogénicos, los cuales son controlados por reguladores de crecimiento.

Normalmente, las plantas absorben nutrientes del suelo. En el cultivo *in vitro*, un medio de cultivo básico esta compuesto por macro y

micronutrientes, vitaminas, fuentes de carbono y un agente gelificante (George, 1993).

Se le considera micropropagación a la obtención de nuevas plantas a partir de semillas o estructuras meristematicas preexistentes bajo condiciones *in vitro*. El cultivo de yemas axilares es la técnica de propagación masiva *in vitro* que presenta la mayor estabilidad genética a sus clones.

## II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 2.1 Hipótesis

El método de micropropagación de yemas axilares propicia la multiplicación masiva de camote de cerro *Dioscorea spp.*

### 2.2 Objetivo General

Desarrollar una metodología de micropropagación por medio de yemas axilares para el camote de cerro (*Dioscorea spp.*)

#### **2.2.1 Objetivos particulares**

2.2.1.1 Evaluar el efecto de la Cinetina, la Iluminación y la Sacarosa en la emisión de yemas axilares de *Dioscorea spp.*

2.2.1.2 Evaluar el efecto de la Cinetina, la Iluminación y la Sacarosa en la emisión de raíces de *Dioscorea spp.*

2.2.1.3 Evaluar el efecto de la Cinetina, la Iluminación y la Sacarosa en la emisión de microtubérculos de *Dioscorea spp.*

2.2.1.4 Conocer el comportamiento de 2 accesiones de *Dioscorea spp.* en la generación de yemas, raíces y microtubérculos.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 Descripción Botánica

Se ha reportado que el género *Dioscorea* posee alrededor de 600 especies, comerciales y silvestres, la descripción botánica del camote de cerro es la siguiente:

Orden: Liliales

Familia: *Dioscoreaceas* (número de géneros: 10; Número de especies 630 a 650 ó más).

Género: *Dioscorea*.

Especies: *remotiflora*, *nelsonni*, *dugesii*, entre otras en México.

Nombre común: ñame (Caribe y Centroamérica), Yam (África), camote de cerro (Occidente de México), Barbasco (Veracruz, Tabasco y Chiapas).

(Ramírez, 1990).

El camote de cerro (*Dioscorea spp.*) es clasificada como monocotiledónea, pero esta muy relacionada con las dicotiledóneas ya que cuenta con un segundo cotiledón el cual se encuentra sin desarrollar en el embrión, reportado por Lawton y Lawton (1967) citado por Shewry (2003).

El ñame es una planta herbácea de tallo voluble, con tubérculos solitarios o en haces digitados de color pardo, cuya pulpa es de color blanco, amarillo o rojizo. Su peso varía entre tres y cinco kilogramos en las especies *D. cayennensis* Link y *D. alata* (menos para *D. trifida* y *D. esculenta*) (IICA, 1989). El fruto es una cápsula sésil, aplanada o circular que es verde al formarse y café al madurar, los rizomas pueden ser solitarios o en grupo, conforme con Poot-Matu y Mijangos (2000).

Para el IICA (1989) el género *Dioscorea* comprende varias especies las que se diferencian por sus características botánicas (tallos, flores y frutos), por la presencia o ausencia de bulbillos en la axila de las hojas y por la orientación del enroscamiento de los tallos. En el origen de cada especie, las variedades se distinguen por el aspecto de las raíces, el color de su pulpa (blanca o amarilla), las características del almidón y la adaptación ecológica.

Algunos subgéneros de *Dioscorea* han sido tradicionalmente definidos con base a las características de las semillas. Todas las especies pertenecientes a cualquier subgénero, en los óvulos están juntos o cerca de la mitad del ovario y las semillas maduras parecen emerger más o menos del centro.

El género *Dioscorea* es complicado de clasificar para los taxónomos debido a que las especies son similares en apariencia y el diagnóstico de caracteres de las especies, la mayoría de las veces debido a que las flores son muy pequeñas, las flores unisexuales, que son muy parecidas en general en forma y tamaño, difieren entre si mismas en el número de estambres, número de estaminoides acompañantes (en flores de ambos sexos), la unión de estos entre los estilos, y unos cuantos en otras formas. La parte subterránea (tubérculo) de las *Dioscorea* es frecuentemente llamada camote de cerro como referencia a la parte larga, fresca y órgano de reserva de la planta según Mc Vaugh (1989).

### 3.2 Generalidades del género *Dioscorea*

Este género obtuvo una amplia dispersión a fines del cretáceo (hace 65 millones de años) pero luego ocurrió una evolución con cursos posteriores diferentes en el viejo y en el nuevo continente, y se originaron distintos desarrollos en los dos hemisferios. La separación de las formas ancestrales asiáticas y africanas ocurrió en el mioceno (hace 5 millones de años), aportado por González (2003).

La familia *Dioscoreaceae* emergió de las proto-lileales como una hierba tropofítica perenne con un rizoma y hojas amplias y con flores hermafroditas. Se atribuye el inicio del camote de cerro a los pescadores primitivos, ya que estos cubrían sus requerimientos energéticos con los carbohidratos de los tubérculos y los requerimientos de proteína con el pescado (Pérez, 1999).

El género *Dioscorea* es muy amplio y se encuentra principalmente representado por especies de importancia económica, en las regiones lluviosas de los trópicos; otras penetran en las regiones subtropicales y aún en templadas (Montaldo, 1972).

Dentro de este género, las especies comestibles y con valor comercial son: *Dioscórrea alata*, *D. rotundata*, *D. esculenta*, *D. bulbífera* y *D. cayenensis*, las cuales son cultivadas principalmente en África (González, 2003).

León (2000) menciona que *D. alata* obtiene su origen en el este de la India y Nueva Guinea y en ella cabe destacar qué pudo haber sido domesticado en más de un lugar, como lo sugieren las concentraciones de los cultivares en varias regiones. Desde Asia se expandió a la costa oriental de África donde vino con el comercio de esclavos a América, es actualmente la especie mas difundida desde las costas de Honduras hasta Brasil.

La domesticación del camote de cerro o ñame ha ocurrido independientemente en Asia, África y América. Existen tres fuentes de origen para las seis especies principales de ñame comestibles: *D. trifida* de la cuenca amazónica en América del Sur; el complejo *D. cayenensis-rotundata* y *D. dumetorum* en África Occidental; *D. alata* y *D. esculenta* en el Sureste de Asia y *D. bulbífera* en África Occidental y/o Sureste de Asia según Malaurie (1998).

Por lo general el ñame es un cultivo producido en pequeñas cantidades por agricultores de escasos recursos y carecen de un plan de rotación adecuado (Montaldo, 1972).

El camote de cerro es cultivado principalmente en África Occidental ya que el 90 % de la producción mundial proviene de Nigeria, Costa de Marfil, Ghana, Dhomey y Togo (Tabla 1).

Cuadro 1. Distribución por regiones de *Dioscorea* en el mundo (Maurie, 1998)

Europa	Caribe	América	Pacífico	Asia	África
Francia	Barbados	Brasil	Islas Cook	Bengladesh	Bénin
Reino Unido	Cuba	Colombia	Fiji	India	Burkina Faso
	Guadalupe	Costa Rica	Islas Niue	Indonesia	Camerún
	Jamaica	Guatemala	Nueva Caledonia	Japón	Ivory Coast
	Santo Domingo	México	Papua Nueva Guinea	Malasia	Ghana
	Trinidad-Tobago	Panamá	Islas Salomón	Nepal	Nigeria
		EUA	Tonga	Filipinas	África del Sur
			Vanuatu	Sri Lanka	Togo
			Samoa	Tailandia	Uganda
				Vietnam	

### 3.3 Distribución en México del género *Dioscorea*

#### A) *D. remotiflora*

De acuerdo con Ramírez (1990), la distribución de esta especie es amplia, pues es posible encontrarla desde el centro de México en el estado de Morelos y más al norte aun en el Estado de Sonora. Se encuentra en cañadas húmedas, pendientes de bosques, algunas veces en hábitat perturbados, al pie de las colinas o bosque subdeciduo en asociación con los

géneros *Brosimum*, *Hura* y *Bursera*. Se le ha localizado entre los 10-2000 msnm. Florece entre julio y agosto, fructificando para los meses de septiembre y octubre; se ha reportado su distribución en algunos de los siguientes estados: San Luis Potosí (Río Verde), Jalisco (Guadalajara, Ameca, Talpa, Mascota, Ciudad Guzmán, Tecolotlan, Chapala, entre otros.) Guanajuato, Michoacán (Morelia, Esparza y Uruapan), Colima Oaxaca, Sonora, Chihuahua, Sinaloa, Nayarit, Guerrero, Hidalgo y Zacatecas.

B) *D. nelsonii*

Esta especie se encuentra en las laderas de las montañas y algunas veces en hábitat con disturbio; principalmente bosque tropical caducifolio con *Ficus*, *Hura*, *Bursera*, *Enterolobium*, *Stemmadenia* e *Ipomea* arborescente; al pie de las colinas en la Vertiente del Pacífico y en los valles bajos del Río Santiago. Se ha reportado entre 300 - 1100 msnm, florece y fructifica de julio a octubre. Los estados en los que se le ha reportado son: Nayarit, Jalisco, Guerrero y Chiapas (Ramírez, 1990).

C) *D. floribunda*

Su nombre común Barbasco amarillo, se encuentra presente en el municipio de Coxquihui, dentro del estado de Veracruz y es utilizado para tratar las reumas (Asseleih, 1997), Mellado y Zolla (1994), comentan que esta especie también es encontrada en el estado de Quintana Roo y es conocida como Joy Keep Makal Cancer.

D) *D. composita*

Encontrada en las siguientes regiones del estado de Veracruz, Agua Dulce, Adolfo Ruiz Cortinez, Arroyo Grande, Arroyo Verde, Belisario Domínguez, Cazuelas, Cerro del Carbón, Chote, El Carrizal, El Cidral, El Cedro, El Palmar, El Palmito, Emiliano Zapata, Joloapan, Morgadal,

Papantla, San Pablo, Sombrerete, Totomoxtle, Unión y Progreso y Vista Hermosa de Juárez.

E) *Dioscorea spp.*

Mellado y Zolla (1994) mencionan que la localización geográfica de esta especie se encuentra en el municipio de Huehuetlán, en el sureste del estado de San Luis Potosí, en la región conocida como la Huasteca.

### 3.4 Distribución en Jalisco del género *Dioscorea*

Especies presentes dentro del interior del estado de Jalisco, *Dioscorea galeottiana* Kunth (Sánchez, 1990), *Dioscorea ulinei* Greenm Ex R. Knuth y *Dioscorea dugesii* Robinson (Ramírez y Téllez, 1992), *Dioscorea chamela* Mc Vaugh y *Dioscorea berenicea* Mc Vaugh (Mc Vaugh, 1989), *Dioscorea liebmannii* Uline y *Dioscorea orizabensis* Uline Ex R. (Sosa y col., 1987) citados por Castillo (2007).

A) *Dioscorea remotiflora*

Reportada en las regiones de Sierra de Tecuán, San Juan Cosala, Cerro de la Cruz y en el municipio de Jocotepec (Mc Vaugh, 1989)

B) *Dioscorea convolvulacea*

Según Ramírez y Téllez (1992) y Mc Vaugh, (1989); esta especie se encuentra presente en Chamela al suroeste de Autlán, Chapala, Barranca de Huentitan (Guadalajara).

C) *Dioscorea jaliscana*

Esta especie puede ser encontrada entre Mascota y San Sebastián del Oeste, en el municipio de Talpa, al Suroeste de Autlán, en Tecalitán y en el bosque de La Primavera (Mc Vaugh, 1989)

D) *Dioscorea nelsonii*

Mc Vaugh (1989) nos comenta que esta planta se encuentra ampliamente dispersa en la parte suroeste del municipio de Autlán

E) *Dioscorea sparsiflora*

Esta especie fue encontrada en los municipios de San Martín de Bolaños, Talpa, Jocotepec, Poncitlán, también en las regiones entre el Chante y la Sierra de Manantlán, El Molino a 40 km al Suroeste de Guadalajara y en la Barranca de Huentitán, Guadalajara (Mc Vaugh, 1989).

F) *Dioscorea militaris*

Encontrada en los municipios de Tlajomulco de Zuñiga y Tamazula y en la Barranca de Huentitán, entre Huejuquilla y Mezquitic (Cosatti, 1981).

### 3.5 Aprovechamiento del género *Dioscorea*

Las aplicaciones de las propiedades del tubérculo del camote de cerro alrededor del mundo han sido varias, como en el tratamiento de úlceras, abscesos, anticonceptivo, tratamiento de la menopausia y algunos desórdenes fisiológicos femeninos. También ha sido sugerido por la etnobotánica para aliviar síntomas como fatiga, estrés, espasmos, inflamación y para deficiencias del sistema inmunológico. En la cáscara están reportados compuestos que tienen propiedades anticancerígenas y antimicóticas (Olayemi y Ajaiyeoba, 2007).

Se consumen hervidos, tostados o freídos y en asociación con salsas ricas en proteínas. El género *Dioscorea* también puede ser procesado en harina y reconstituidas en la masa fufu, generalmente contienen menos azúcar y tienen una duración más amplia, que asegura la disponibilidad en los períodos de escasez (Raemackers, 2001 citado por Udensi y col., 2008).

En la comunidad étnica de Tanleab en la Huasteca Potosina, México, es usada para aliviar el dolor de muelas. El modo de preparación consiste en moler el tubérculo de la planta y mezclarlo con el aceite esencial del eucalipto ó con una pastilla de paracetamol de 500 mg y aplicarlo con un algodón en el molar afectado (Mellado y Zolla, 1994).

Trèche y Agbor-Egbe (1996) concluyeron que los cultivares de *D. rotundata* cv. Oshei y *D. dumertorum* cv. Jakiri, pueden proveer los requerimientos dietéticos para ser empleados en la alimentación humana, al analizar los cambios bioquímicos que estas especies sufren durante su crecimiento y almacenamiento. Los análisis promedio de los tubérculos muestran alrededor de 71% de agua, 3% de proteínas, 23% carbohidratos (principalmente almidón) y 1% de cenizas. Los contenidos de calcio fósforo y hierro son más altos que los de una papa, pero los ñames son un poco más bajos en contenidos vitamínicos (Litzenberger, 1974).

Shewry (2003) reportó que un grupo de proteínas representaban alrededor del 85 % de contenido proteínico del tubérculo *D. rotundata*, y concluyeron que corresponden al mayor almacenaje proteínico del tubérculo. Ellos también demostraron la presencia de depósitos de proteína dentro de las vacuolas como “agregados citoplásmicos proteínicos” pero no establecieron la identidad de estos.

Otra de las formas de aprovechamiento que se descubrieron a principios de los años 40 fueron las propiedades esteroideas de la familia *Dioscoreacea*, el Dr. Marker E. Russell quien fuera el primero en aislar la diosgenina, exploró vastas regiones del sur de Estados Unidos, México y

Centroamérica, encontrando rizomas de el género *Dioscorea*, las cuales en el sureste mexicano eran usados en forma de suspensión por los indígenas en la pesca (Miramontes, 2002)

La posibilidad de convertir a las sapogeninas esteroidales en esteroides útiles fueron conocidas hasta que el Dr. Russell logró descubrir el procedimiento para degradar la cadena lateral. Por este procedimiento transformó sarsasapogenina en acetato de pregnenolona, el producto así obtenido, la pregnadierona se convirtió en progesterona, sustancia que fue idéntica a la hormona del embarazo. Los derivados obtenidos del pregnano por este método de degradación también pueden ser transformados en corticoides y en otros compuestos útiles (Romo de Vivar, 1985).

México después de la segunda guerra mundial se colocó dentro de los principales productores de esteroides en el mundo gracias al descubrimiento de la especie conocida como “cabeza de negro” (*Dioscorea macrostaycha*), lo que además permitió que pasara al escenario de la industria hormonal (Miramontes, 2002).

Hernández (1975), propuso las especies de *Dioscorea* que contienen sapogeninas y su ubicación geográfica (Cuadro 2).

Cuadro 2. Especies del genero *Dioscorea* con esteroides (sapogeninas) y fuente geográfica.

Especie	Ubicación geográfica	Porcentaje de sapogenina
<i>D. composita</i>	México	13.0
<i>D. floribunda</i>	América Central	10.0
<i>D. deltoides</i>	India	8.0
<i>D. sylvatica</i>	África del sur	6.0
<i>D. spiculiflora</i>	México	15.0
<i>D. prazerl</i>	India	4.5
<i>D. friendrichsth</i>	Costa Rica	4.0
<i>D. belizensis</i>	Honduras	3.0

La diosgenina obtenida a partir del camote de cerro ha sido utilizada por cientos de años para el tratamiento de la artritis y reumas (Olayemi y Ajaiyeoba, 2007).

### 3.6 Micropropagación de plantas

Una forma de experimentar diferentes factores sobre células y tejidos vegetales es, aislarlos de los organismos vivos en que se encuentran y colocarlos en donde puedan desarrollarse. El cultivo de plantas *in vitro* puede realizarse de tejidos o bien de uno o mas tipos celulares previamente aislados, de esa forma se pueden cultivar por separado y ser estudiadas para determinar sus propiedades (Paniagua y col., 2003).

Desde hace aproximadamente 100 años, en las investigaciones de Fisiología Vegetal se ha utilizado la técnica de cultivo de tejidos, mostrando variantes en los tipos de explantes que van desde los ápices de raíz y tallo, primordios de hoja, primordios o partes inmaduras de flores o frutos, embriones y órganos aislados de acuerdo con Street (1976).

En la propagación masiva *in vitro* se repiten eventos que se dan de manera natural, como lo son la producción de embriones. En la regeneración de las plantas, es importante considerar que en ellas se pueden presentar un fenómeno llamado totipotencia celular; que es la capacidad de cualquier célula vegetal de producir un organismo completo (Walden y Wingender, 1995; Portillo y Santacruz-Ruvalcaba, 2004; citados por Iturbe, 2007). Así, las células somáticas de cualquier tejido podrían formar tallos, raíces o embriones somáticos de acuerdo con la competencia que posean y al estímulo que reciban (Olmos y col., 2004)

La propagación de clones *in vitro* es comúnmente llamada micropropagación. La palabra "clon" fue por primera vez usada por Webber por cultivar plantas que estaban propagadas vegetativamente (Chawla, 2002).

La técnica de cultivo de tejidos se ha incrementado como una alternativa para la propagación vegetativa de plantas. El cultivo de tejido de plantas envuelve métodos asexuales de propagación y la principal meta es la mejora de cultivos. Una ventaja significativa ofrecida por el método aséptico de propagación clonal (micropropagación) sobre el método convencional es que en un corto tiempo y espacio, un gran número de plantas pueden ser propagadas comenzando de un solo individuo (Chawla, 2002)

Para Arizaga y Ezcurra (1995) las yemas axilares son ramificaciones de meristemas axilares ubicados en la base de la planta, dan origen a nuevas plantas que emergen de la periferia de la planta madre y producen raíces adventicias que le permiten desarrollarse de forma independiente.

El cultivo de yemas (el cual contiene el meristemo apical) puede ser realizado *in vitro*, produciendo un cúmulo de brotes apicales y/o brotes adventicios, según Slater y col. (2003)

De acuerdo con Olmos y col. (2004) la regeneración de plantas *in vitro* presenta 5 etapas principales:

- 1) Preparación de los explantes para el establecimiento: se debe emplear explantes con niveles bajos de patógenos ó libres de ellos.
- 2) Establecimiento del cultivo: Los materiales que demuestran tener una gran capacidad regenerativa son adquiridos de tejidos meristemáticos jóvenes, sean yemas axilares o adventicias, embriones o semillas en plantas herbáceas y aquellos tejidos meristemáticos que determinan el crecimiento en grosor, como el cambium en las plantas leñosas, los principales procesos a controlar son la selección, el aislamiento y la esterilización de los materiales.
- 3) Desarrollo y multiplicación de los nuevos organismos: en esta etapa mantener y aumentar la cantidad de brotes para los nuevos ciclos de multiplicación deben ser sucesivos, así como los medios de cultivo, los reguladores de crecimiento desempeñan un papel crítico en la micropropagación.
- 4) Enraizamiento: un punto específico para considerar la rizogénesis es la cantidad de fitohormonas a agregar, ya que un mal planeamiento del protocolo del experimento puede ocasionar la formación de callos y/o raíces débiles, el enraizamiento se puede realizar *in vitro* y *ex vitro*.
- 5) Aclimatación: para la aceptación de las nuevas plántulas a las condiciones óptimas a las que las llevemos, es necesario conocer o crear un protocolo para cada especie ya que sus necesidades específicas varían. La aclimatación usualmente se realiza *ex vitro*.

### 3.7 Reguladores de crecimiento

Entre los años 1940 y 1950, el investigador Folke Skoog y colaboradores de la Universidad de Wisconsin probaron muchas sustancias para hacer la proliferación de los tejidos del cultivo del tabaco. Observaron que la adenina del ácido nucleico tenía un efecto que promovía el crecimiento entre células. Ellos también probaron que posiblemente esos ácidos nucleicos podrían estimular la división celular en ese tejido, después de mucho trabajo se identificó una pequeña molécula la cual fue llamada cinetina (Taiz y Zeiger, 2006).

La primera citocinina natural encontrada en plantas es la zeatina, eso paso cuando aislaron semillas inmaduras de maíz por Lethan en 1963, (Shina, 2004). La citocininas rompen el efecto de la dominancia apical, promueven la síntesis de proteínas, en altas concentraciones inducen la formación de callo y pueden inhibir la formación de raíces.

Kamara (2001) reportó que los reguladores de crecimiento vegetales incrementan en forma directa los niveles endógenos de giberelina, auxina y citocinina lo cual genera cambios en los procesos fisiológicos gobernados por estas fitohormonas; mismos que repercuten en una mayor floración, fructificación, tuberización y rebrote de hojas principalmente.

La citocinina como regulador de crecimiento incrementa la tasa y la velocidad de acumulación de los ácidos nucleicos en el primordio de las yemas lo cual activa el ácido desoxirribonucleico (ADN); influye en su división en fragmentos, en el crecimiento de estos fragmentos así como en la división celular. Esto se traduce en la velocidad, porcentaje de brotación así como el vigor de los brotes lo cual favorece el flujo de las reservas de los tejidos hacia los brotes (Kamara, 2001).

### 3.8 Cultivo *in vitro* de *Dioscorea* en el mundo

La conservación de ñame mediante el empleo de segmentos nodales se llevó a cabo por primera vez en el Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) de Nigeria a las temperaturas de 18–22°C con una frecuencia de subcultivos de 1,5 a 2 años, según Ng y Hahn (1985).

Quintero y col. (2000) comprobaron que el regulador de crecimiento ácido naftalenacético (ANA) y el genotipo de 3 diferentes explantes del género *Dioscorea* tuvieron relevancia en la evaluación del número de raíces, grosor de raíces, producción de callo y oxidación del medio y que la interacción de los dos factores fue importante para la producción de callo y oxidación del medio. El efecto de la auxina sobre el grosor de las raíces indicó que al aumentar la dosis se incrementó el grosor de las raíces.

Para tratar de evitar que algunos géneros de *Dioscorea* medicinales se encuentren en vías de extinción, Mandal y Dixit-Sharma (2007) desarrollaron un método de criopreservación *in vitro* con el cual los brotes apicales de *D. deltoidea* Wall se trataron con técnicas de vitrificación y encapsulación-deshidratación, y demostraron que se mantiene la viabilidad y la capacidad de regeneración a un máximo de un año en almacenamiento con nitrógeno líquido.

Mbanaso y col. (2007) comprobaron que al existir una situación de estrés para *Dioscorea rotundata* poir, cv. Obiaoturugo, en el medio de cultivo (reguladores de crecimiento, sales, sacarosa y vitaminas), la planta comienza a desarrollar un mayor número de raíces y tubérculos a partir de los nudos del explante.

Poornima y Ravishankar (2007) identificaron que utilizando diferentes concentraciones de la citocinina, benzilaminopurina (BAP), y las auxinas ácido naftalenacético (ANA), ácido indol 3 butírico (AIB), o con combinaciones de las mismas se incrementa o disminuye la frecuencia de

multiplicación de los brotes en 2 variedades de *Dioscorea* (*D. oppositifolia* y *D. pentaphylla*) tanto *in vitro* como *ex vitro*.

El efecto de la citocinina benciladenina (BA) en el porcentaje de formación de brotes para *D. nipponica* fue mayor que la observada en la auxina ANA para explantes cultivados *in vitro* durante 28 días en sus diferentes concentraciones, siendo la mejor concentración 1.0 mg/l de ANA (Feng-Quin y col., 2006)

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Multiplicación del material

Con la finalidad de incrementar el número de explantes, en la fase de multiplicación, se tomó material vegetal de *Dioscorea spp.* colectado en el municipio de Tomatlan (accesión 93) e Ixtlahuacan del Rió (accesión 175), en el estado de Jalisco, México, estos fueron lavados y desinfectados, establecidos *in vitro* e incubados a una temperatura constante de  $27 \pm 2$  °C en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara (UDG).

#### **4.1.1 Selección del material**

Para la propagación del material se llevó a cabo una selección visual dentro del incubador del Laboratorio de cultivo de tejidos para las accesiones 175 y 93, la selección consistió en escoger las plantas que tuvieran el mayor número de brotes posibles para poder desprender y de color verde intenso con el fin de multiplicar plantas vigorosas.

El medio basal seleccionado para la multiplicación de brotes fue el Murashige y Skoog (MS) (1962) con el agente gelificante agar 8 g/L; también se añadió cinetina a la concentración de 2 mg/L como regulador de crecimiento. El medio basal fue esterilizado en una autoclave Evar® modelo EV-30 a de 121 °C con una presión de 18 lb/pulg<sup>2</sup> durante 15 minutos. Los tejidos fueron incubados en un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, a una intensidad de 1500 luxes con lámparas de luz fría Phillips® de 75 watts durante aproximadamente 30 días hasta obtener

brotos nuevos de 3 a 4 hojas o 3 segmentos nodales (Figura 1), se descartaron los cultivos con contaminación microbiana.

El medio de cultivo fue disuelto en un horno de microondas Panasonic® modelo NN-963 hasta alcanzar un tono cristalino transparente, el pH del medio fue regulado por HCl y NaOH en el rango  $5.80 \pm 0.05$  con un potenciómetro Termo Orion® modelo 420A



Figura 1. Área de incubación del Laboratorio de Cultivo de Tejidos

#### 4.2 Experimento de propagación masiva *in vitro* en *Dioscorea spp.*

##### **4.2.1 Propagación de *Dioscorea spp.* por medio de yemas axilares**

4.2.1.1 Selección y establecimiento de brotes. La transferencia de los brotes a cada tratamiento consistió en cortar fragmentos vegetales de 3 a 4 cm de largo y llevando por lo menos un nudo y una hoja en cada explante (Figura 2), que fueron introducidos de forma vertical tratando de sumergir el explante en el medio de cultivo, el cual contenía 25 ml del tratamiento asignado, la cantidad de explantes sembrados por frasco fue de dos, realizado dentro de una campana de flujo laminar marca Novatech® y con cajas petri, pinzas y bisturí estériles. Cada frasco fue cerrado con tapas de plástico transparente, etiquetado con el número de repetición y de la accesión colocado dentro del incubador de cultivos de tejidos del mismo laboratorio.

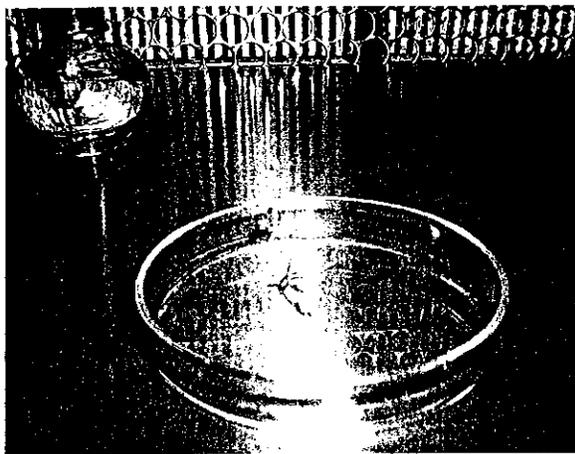


Figura 2. Transferencia de brotes

4.2.1.2 Incubación del experimento. Todos tratamientos con la variable Iluminación se incubaron a temperatura ambiente de 27 °C, en fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad e intensidad lumínica de 1500 luxes.

Los tratamientos con la variable ausencia de luz, se acomodaron verticalmente dentro de una caja de cartón completamente cerrada y envuelta con una bolsa de plástico negra y se incubaron a 27 °C, con 24 horas de oscuridad total (Figura 3).

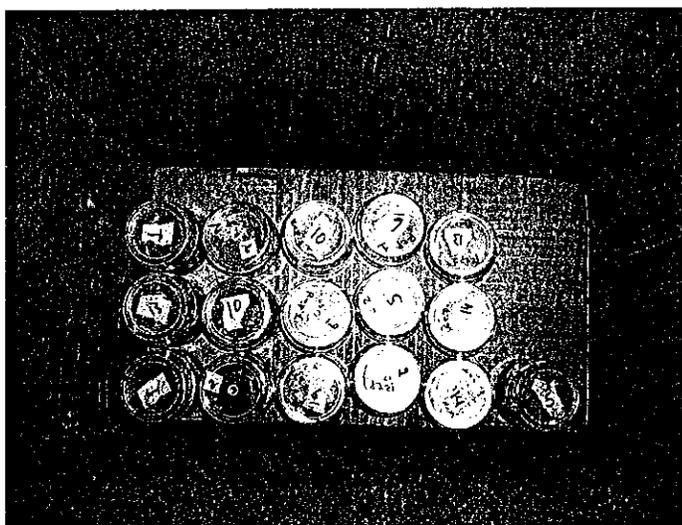


Figura 3. Experimento con la variable "Sin luz"

Durante la incubación, desarrollo y evaluación del experimento fueron desechados los materiales que se contaminaron con microorganismos.

4.2.1.3 Evaluación del experimento. El experimento se evaluó a partir de los 15 días después de la transferencia a los tratamientos con intervalos de 15 días hasta completar 60 días en total; se contabilizaron la cantidad de yemas axilares estimuladas, el número de raíces producidas y la presencia de microtubérculos.

El procedimiento para la evaluación fue el siguiente, se tomó cada frasco con la mano y se observó a contraluz por la parte de abajo del frasco haciendo un conteo homogéneo de las raíces y de la presencia de microtubérculos y para el conteo de yemas axilares, se observó de frente al frasco dando un giro de 360° a cada uno.

#### 4.3 Diseño experimental

El presente trabajo se estableció en un diseño completamente al azar con cuatro factores (4 x 2 x 2 x 2), el primer factor fue la dosis de la citocinina Cinetina, con 3 niveles del regulador de crecimiento y el testigo: 0, 0.5, 1 y 2 mg/L; el segundo factor fue la Sacarosa en dos niveles 30 g/L (cantidad normal del medio MS) y 60 g/L; el tercer factor fue la Iluminación que constó de dos intensidades lumínicas, 0 y 1500 luxes; el cuarto factor fue el Genotipo, compuesto de dos diferentes accesiones de *Dioscorea* (175 y 93). Cada tratamiento constó de 4 repeticiones.

Para evaluar los datos se realizaron Análisis de Varianza (ANVA) y pruebas de Diferencias Medias Significativas (DMS) ( $p \leq 0.05$ ) empleando el programa de computo Statgraphics 4.0

## V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 5.1. Proliferación de yemas axilares en *Dioscorea spp.*

#### 5.1.1 Resultados a los 15 días

Los resultados del análisis de varianza para la proliferación de yemas mostraron que el factor Sacarosa obtuvo durante los primeros 15 días una alta significancia ( $p = 0.0023$ ) (Cuadro 1A, Anexo). En la evaluación de los factores Cinetina, Iluminación y Genotipo no hubo diferencia significativa.

Con la concentración de 30 g/L de Sacarosa se observó mayor proliferación de yemas axilares (Cuadro 3), mostrando un color blanquecino en las yemas axilares nuevas, coincidiendo con lo mencionado por Vasil (1994), la Sacarosa es un factor que determina el desarrollo de nuevos brotes *in vitro*, por lo tanto si se proporciona una cantidad adecuada de sacarosa en las etapas tempranas del cultivo se puede obtener un incremento en el follaje.

Cuadro 3. Comparación múltiple de medias utilizando la prueba DMS (Diferencias Mínimas Significativas) para el número de yemas axilares estimuladas a los 15 días para el factor Sacarosa en *Dioscorea spp.*

Sacarosa g/L	Media/Error estándar (yemas/brotes)	Observaciones	Grupos homogéneos
60	1.070 ± 0.089	64	A
30	1.975 ± 0.093	60	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$

### 5.1.2 Resultados a los 30 días

A los 30 días se observó significancia estadística en el número de yemas axilares debido al factor Genotipo ( $p = 0.0001$ ) y a la Sacarosa ( $p = 0.0028$ ) (Cuadro 2A).

La prueba DMS indica que la accesión 93 forma mayor proporción de brotes en relación con la accesión 175 (Cuadro 4), esta misma prueba indica que la concentración de 30 g/L de Sacarosa es la que produce más yemas axilares (Cuadro 5) confirmando con lo observado por Cura y col. (2004) en sus experimentos con *Liliaceae in vitro*, la proliferación de brotes se desarrolla mejor con sacarosa y el medio basal MS.

Cuadro 4. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para el número de yemas axilares estimuladas a los 30 días para el factor Genotipo en *Dioscorea spp.*

Genotipo	Media/Error estándar (yemas/brotes)	Observaciones	Grupos homogéneos
175	1.070 ± 0.159	64	A
93	1.975 ± 0.165	60	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$

Las nuevas yemas axilares estimuladas mostraron un color blanquecino y un ligero etiolamiento (Figura 4).

Cuadro 5. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para el número de yemas axilares estimuladas a los 30 días para el factor Sacarosa en *Dioscorea spp.*

Sacarosa g/L	Media /Error estándar (yemas/brotes)	Observaciones	Grupos homogéneos
60	1.170 ± 0.165	60	A
30	1.875 ± 0.159	64	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$



Figura 4. Proliferación de yemas axilares en *Dioscorea spp.* a los 30 días con ligero etiolamiento y blanquecinos

### 5.1.3 Resultados a los 45 días

Al realizarse la evaluación a los 45 días se observó al factor Genotipo con una alta significancia ( $p = 0.0000$ ) y a la Sacarosa con significancia ( $p = 0.0262$ ) (Cuadro 3A) en la producción de yemas axilares.

Con respecto a los factores Cinetina e Iluminación no mostraron resultados significativos.

En la comparación múltiple de medias la accesión 93 manifestó la mayor cantidad de yemas desarrolladas a los 45 días (Cuadro 6). Aquí se empieza a notar la capacidad de cada accesión para producir nuevos brotes con los mismos estímulos. Ya que la expresión de los genes esta relacionada con la cantidad y tipo de regulador de crecimiento aplicado, la mayoría de los estímulos son recibidos por proteínas receptoras ubicadas en la membrana celular y transportados por proteínas hacia el núcleo de las células en el proceso de transducción (Pimienta y col., 2006).

Cuadro 6. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para el número de yemas axilares estimuladas a los 45 días para el factor Genotipo en *Dioscorea spp.*

Genotipo	Media/Error estándar (yemas/brotes)	Observaciones	Grupos homogéneos
175	1.671 ± 0.209	64	A
93	3.180 ± 0.216	60	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$

El mejor resultado para producción de yemas axilares estimuladas a los 45 días fue con la concentración de Sacarosa a 30 g/L (Cuadro 7), la cual produjo un incremento de 25% de yemas axilares en relación a la concentración de 60 g/L, la mayoría del tejido vegetal necesita una fuente de carbono para crear biomasa ya que la reorganización de las células interfiere con el intercambio de CO<sub>2</sub> y con la sustracción de carbono por la planta (<sup>1</sup>R. Soltero, com. pers.).

Cuadro 7. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para el número de yemas axilares estimuladas a los 45 días para el factor Sacarosa en *Dioscorea spp.*

Sacarosa g/L	Media/Error estándar (yemas/brotes)	Observaciones	Grupos homogéneos
60	2.086 ± 0.216	60	A
30	2.765 ± 0.209	64	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$

#### 5.1.4 Resultados a los 60 días

En este punto del experimento, el Genotipo obtiene una alta significancia ( $p = 0.0000$ ) convirtiéndose en el factor que muestra una mayor formación de yemas axilares (Figura 5). Por otro lado la cinetina, la iluminación y la sacarosa no muestran significancia alguna (Cuadro 4A). En contraste con Cabrera y col., (2003) en *Dioscorea spp.* quienes encontraron que con el regulador de crecimiento cinetina se ve favorecida una mayor cantidad de brotes a partir de los 60 días.

<sup>1</sup> R. Soltero, catedrático de la Universidad de Guadalajara, materia Biotecnología Vegetal.

En la comparación múltiple de medias para la accesión 93 se muestra por arriba del doble de yemas axilares formadas en relación con la accesión 175 (Cuadro 8).

Cuadro 8. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para el número de yemas axilares estimuladas a los 60 días para el factor Genotipo en *Dioscorea spp.*

Genotipo	Media/Error estándar (yemas/brotos)	Observaciones	Grupos homogéneos
175	2.148 ± 0.273	64	A
93	4.371 ± 0.288	58	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha= 0.05$

El comportamiento de los Genotipos en relación a la proliferación de yemas axilares durante los 60 días de experimento, presentó a la accesión 93 con un notorio desarrollo a partir de los 30 días con una producción de brotes de casi el doble en relación a la accesión 175 al llegar a los 60 días (Figura 6).



Figura 5. Proliferación de yemas axilares en *Dioscorea spp.* a los 60 días, accesión 93

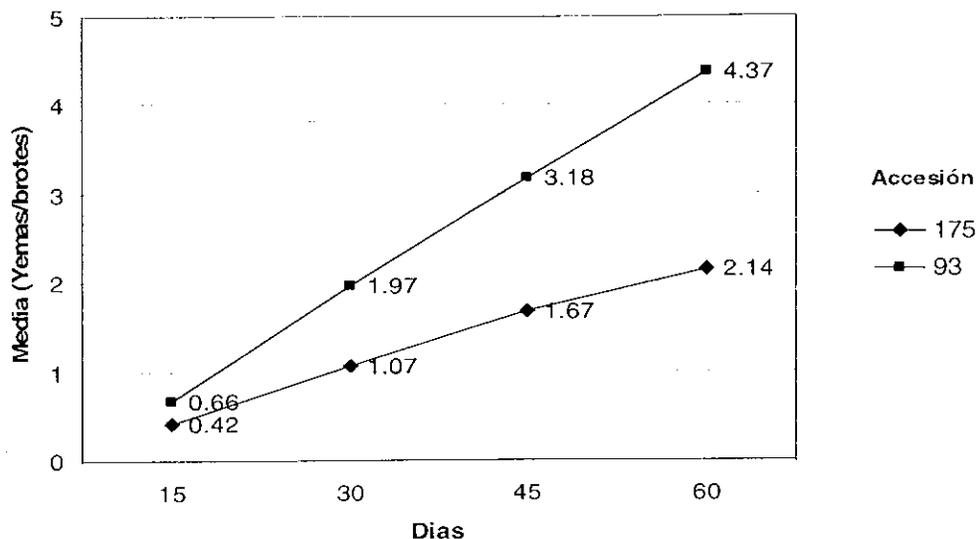


Figura 6. Número de yemas estimuladas de *Dioscorea spp.* con las accesiones 93 y 175 en evaluación a 15, 30, 45 y 60 días.

## 5.2 Proliferación de raíces en *Dioscorea spp.*

### 5.2.1 Resultados a los 15 días

Los resultados en la proliferación de raíces durante los primeros 15 días para el factor Iluminación ( $p = 0.0019$ ) y el Genotipo ( $p = 0.0003$ ) se observó que obtuvieron alta significancia en ambos casos (Cuadro 5A).

En el caso del Genotipo la accesión 175 fue la que mostró una cantidad superior para el desarrollo de raíces a los 15 días (Cuadro 9). En el análisis estadístico no se encontró que la Cinetina ni la Sacarosa tuvieran relevancia en la formación de raíces en este experimento.

Cuadro 9. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 15 días para el factor Genotipo en *Dioscorea spp.*

Genotipo	Media/Error estándar (raíces)	Observaciones	Grupos homogéneos
93	0.054 ± 0.085	60	A
175	0.492 ± 0.082	64	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$

El resultado obtenido con la variable "Sin luz" produjo la mayor cantidad de raíces formadas durante los primeros 15 días (Cuadro 10). Por lo que un ambiente sin iluminación en etapas tempranas del cultivo *in vitro* provee el estímulo necesario para el crecimiento de raíces, las cuales proporcionan a la planta, soporte, respiración y absorción de nutrimentos.

Cuadro 10. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 15 días para el factor Iluminación en *Dioscorea spp.*

Iluminación	Media/Error estándar (raíces)	Observaciones	Grupos homogéneos
Luz	0.085 ± 0.085	60	A
Sin luz	0.460 ± 0.082	64	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$

### 5.2.2 Resultados a los 45 días

Los resultados arrojados por el análisis de varianza demuestran que a los 45 días existió una alta significancia para las variables Genotipo ( $p = 0.0005$ ) y Sacarosa ( $p = 0.0005$ ) (Cuadro 6A).

En la prueba de comparación múltiple de medias a los 45 días, la accesión 93 mostró mayor formación de raíces en comparación con la accesión 175 (Cuadro 11) (Figura 7).

La concentración de Cinetina y la Iluminación no fueron factores que indujeran la formación de raíces a los 45 días de iniciado el experimento.

Cuadro 11. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 45 días para el factor Genotipo en *Dioscorea spp.*

Genotipo	Media/Error estándar (raíces)	Observaciones	Grupos homogéneos
175	1.789 ± 0.259	64	A
93	3.135 ± 0.273	58	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha= 0.05$

La concentración de Sacarosa demuestra que si al aumentar, se incrementa proporcionalmente la cantidad de raíces (Cuadro 12).

Cuadro 12. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 45 días para el factor Sacarosa en *Dioscorea spp.*

Sacarosa (g/L)	Media/Error estándar (raíces)	Observaciones	Grupos homogéneos
30	1.784 ± 0.263	62	A
60	3.139 ± 0.268	60	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha= 0.05$



Figura 7. Raíces desarrolladas de *Dioscorea spp.* a los 45 días

### 5.2.3 Resultados a los 60 días

Los resultados del análisis de varianza muestra al Genotipo ( $p = 0.0018$ ) y a la Sacarosa ( $p = 0.0004$ ) como los factores con mayor influencia en la producción de raíces, en la evaluación ocurrida a los 60 días de iniciado el experimento (Cuadro 7A), coincidiendo con los resultados de Quintero y col. (2000) en sus experimentos con *Dioscorea spp.*, el tipo de accesión es un factor relevante en la evaluación del número y grosor de raíces, por lo tanto una identificación oportuna de la accesión y una concentración alta de sacarosa, promoverán enraizamiento.

La Cinetina e Iluminación no resultaron influyentes en la proliferación de raíces, ya que la Cinetina en altas concentraciones puede inhibir el desarrollo de raíces laterales. (<sup>2</sup>R. Soltero, com. pers.).

Los resultados de la prueba de comparación múltiple de medias muestra que la accesión 93 estadísticamente produjo una mayor cantidad de raíces (Cuadro 13) que la accesión 175. Los inductores internos (hormonas, luz y el desarrollo mismo) pueden desempeñar una regulación genética del proceso de desarrollo de la planta, el cual se puede notar en la velocidad de propagación y asimilación de los estímulos (Pimienta, 2006).

Cuadro 13. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 60 días para el factor Genotipo en *Dioscorea spp.*

Genotipo	Media/Error estándar (raíces)	Observaciones	Grupos homogéneos
175	2.406 ± 0.304	64	A
93	3.818 ± 0.320	58	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$

La concentración de 60 g/L de Sacarosa favoreció la producción de raíces (Cuadro 14), los requerimientos de carbono son mayores al avanzar el desarrollo de la planta.

<sup>2</sup> R. Soltero, catedrático de la Universidad de Guadalajara, materia Biotecnología Vegetal.

Cuadro 14. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para proliferación de raíces estimuladas a los 60 días para el factor Sacarosa en *Dioscorea spp.*

Sacarosa (g/L)	Media/Error estándar (raíces)	Observaciones	Grupos homogéneos
30	2.303 ± 0.309	62	A
60	3.920 ± 0.315	60	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$

### 5.3 Estimulación de microtubérculos en *Dioscorea spp.*

#### 5.3.1 Resultados a los 45 días

En las evaluaciones a los 15 y 30 días no se observó significancia en ningún factor.

Para la formación de microtubérculos, el regulador de crecimiento Cinetina mostró que después de los 45 días existían diferencias significativas en las concentraciones utilizadas ( $p = 0.0226$ ) (Cuadro 8A), siendo la dosis de 0.5 mg/L la que presento mejor resultado (Cuadro 15). De acuerdo con Lugo (1997) las citocininas promueven la tuberización *in vitro* en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en un periodo de 40 días, ya que las citocininas se producen en las raíces de la plantas, estimulando la división celular y el crecimiento.

Cuadro 15. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para microtubérculos a los 45 días para el factor Cinetina en *Dioscorea spp.*

Cinetina (mg/L)	Media/Error estándar (microtubérculos)	Observaciones	Grupos homogéneos
0	0.015 ± 0.063	32	A
2	0.078 ± 0.063	32	A
1	0.170 ± 0.065	30	A B
0.5	0.287 ± 0.065	30	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$

### 5.3.2 Resultados a los 60 días

En esta etapa del experimento se encontró que la Cinetina produce diferencias altamente significativa ( $p = 0.0016$ ), coincidiendo con Feng Qing (2007) quien trabajo con *Dioscorea nipponica* Makino menciona, que en presencia de citocininas se observa un efecto en la inducción de la microtuberización, para esta especie se observa estímulo, pero la cantidad de microtubérculos todavía es baja.

El Genotipo se mostró como significativo ( $p = 0.0135$ ) (Cuadro 9A). La Iluminación y la Sacarosa no presentaron influencia estadística en la estimulación de microtubérculos.

La mejor dosis de Cinetina para la formación de microtubérculos fue de 0.5 mg/L (Cuadro 16) (Figura 8), de acuerdo con Ng (1988) citado por Vasil (1994) menciona que en casi cualquier medio de cultivo, cinetina y días de larga duración (12 a 16 horas luz) es suficiente para generar microtubérculos en pocas semanas.

Cuadro 16. Comparación múltiple de medias mediante la prueba DMS para microtubérculos a los 60 días para el factor Cinetina en *Dioscorea spp.*

Cinetina (mg/L)	Media/Error estándar (microtubérculos)	Observaciones	Grupos homogéneos
0	0.015 ± 0.062	32	A
2	0.028 ± 0.064	30	A
1	0.270 ± 0.064	30	B
0.5	0.287 ± 0.064	30	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes  $\alpha = 0.05$

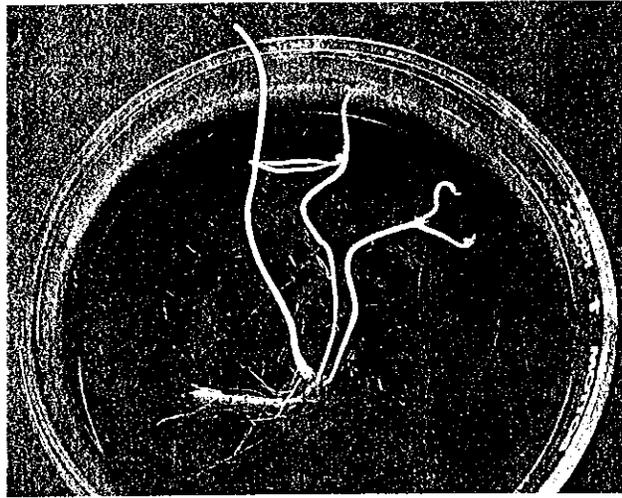


Figura 8. Formación de microtubérculos en *Dioscorea* spp.

## VI. CONCLUSIONES

1. La presencia de Cinetina no indujo la proliferación de yemas axilares en *Dioscorea spp.*
2. El regulador de crecimiento Cinetina en concentración de 0.5 mg/L promovió la formación de microtubérculos en *Dioscorea spp.*
3. El Genotipo es un factor importante que afecta la formación de microtubérculos de *Dioscorea spp.*
4. La accesión 93 produjo un desarrollo mayor de raíces en *Dioscorea spp.*
5. La accesión 93 mostró mayor producción de yemas axilares en *Dioscorea spp.*
6. La Iluminación no es un factor determinante en la inducción de microtubérculos de *Dioscorea spp.*
7. La Sacarosa en concentraciones de 30 g/L generó mayor proliferación de yemas axilares de *Dioscorea spp.* independientemente de la accesión
8. La Sacarosa en concentraciones de 60 g/L produjo una mayor producción de raíces a partir de lo 30 días

## VII. LITERATURA CITADA

- Arizaga, S. y E. Ezcurra. 1995. Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macroacantha* flowering stalks. *Oecologia* 101:329-334.
- Asseleih L. C. M. 1997. Flora Medicinal de Veracruz. Universidad de Veracruz, México. Primera edición. 143, 144 pp.
- Cabrera, M., Y. Torres, A. Santos, M. Basail, A. Rayas, V. Medero, A. Robaina, J. López, G. M. García, J. Ventura, E. Espinosa, V. Gutiérrez, E. Otero, M. Berta, y M. Álvarez. 2003. Establecimiento y multiplicación *in vitro* del clon de ñame blanco de guinea (*Dioscorea rotundata* Poir). Instituto de investigaciones en Viandas Tropicales, INIVIT, Villa Clara, Cuba. 7 p.
- Castillo C. 2007. Colecta y caracterización morfológica de camote de cerro (*Dioscorea spp.*) en el estado de Jalisco. Tesis de maestría. Universidad de Guadalajara. 9-19 pp.
- Chawla H. S. 2002. Introduction to plant biotechnology. Enfield, New Hampshire. Science Publishers. 39-56 pp.
- Cosatti C. 1981. Flora taxonómica mexicana II (plantas vasculares), I.P.N. Centro Nacional de Enseñanza Técnica Industrial. México. 206.210 pp.
- Cura A., R. Hebe y Mroginski L. 2004. Cultivo *in vitro* de tejidos para la regeneración de plantas de *Aloe vera* L. (*Liliaceae*). Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones científicas y tecnológicas. Argentina

- Feng-Qing C., W. Yang Fu, De-Li, G. Xiang y Wang L. 2006. The Effect of Plant Growth Regulators and Sucrose on the Micropropagation and Microtuberization of *Dioscorea nipponica* Makino. Journal of Plant Growth Regulation. Republic of China. 26:38-45.
- George E.F. 1993. Plant propagation by tissue culture, Part 2. Exegetics Limited. Gran Bretaña
- González M. C. 2003. Caracterización morfológica y molecular de genotipos de *Dioscorea alata* y *D. trifida* del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, IDIAP y CATIE, Costa Rica. 20 p.
- Hernández S. A. 1975. Introducción al cultivo del Barbasco (*Dioscorea composita* heml) en la región de Chontalpa Tabasco. Tesis de licenciatura. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. 7 p.
- IICA. 1989. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura Compendio de agronomía tropical. Ministerio de Asuntos Extranjeros de Francia. 136-142 pp.
- Iturbe S. I. 2007. Métodos de propagación para camote de cerro (*Dioscorea spp.*) colectado en el estado de Jalisco. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. 38 p.
- Kamara A. 2001. Nutrición, Regulación del Crecimiento y Desarrollo Vegetal. Buenavista, Coahuila. Intrakam S.A de C.V. 8-9 pp.
- León, J. 2000. Botánica de los cultivos tropicales. 3ª ed. Rev. y aum. San José, Costa Rica. IICA, Colección de libros y materiales educativos. 255 p.
- Litzenberger S. C. 1974. Guide for Field Crops in the Tropics and the Subtropics. Washington, Unides States. 236-241 pp.

- Lugo J. G. 1997. Tuberización *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L. s.p. andigena var. andinita) utilizando diferentes niveles de sacarosa y benziladenina. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. 32 p.
- Malaurie B. 1998. In vitro storage and safe international exchange of yam (*Dioscorea spp.*) germplasm <http://www.scielo.cl/fbpe/img/ejb/v1n3/2/bip/#25#25>. 27/07/2008
- Mandal B.B. y S. Dixit-Sharma. 2007. Cryopreservation of in vitro shoot tips of *Dioscorea deltoidea* Wall., an endangered medicinal plant: Effect of cryogenic procedure and storage duration. Natl Bur Plant Genet Resources, Tissue Culture & Cryopreservat Unit, New Delhi, India. Vol. 28, 461-470.
- Mbanaso E. N., L. Chukwu y M. Opara. 2007. *In vitro* basal and nodal microtuberization in yam shoot cultures (*Dioscorea rotundata* Poir, cv. Obiaoturugo) under nutritional stress conditions. Abia State, Nigeria. African Journal of Biotechnology Vol. 6 (21), 2444-2446.
- Mc Vaugh R. 1989. *Dioscoreaceae* en: Flora Novo-Galiciana, a descriptive account of the vascular plants of western Mexico, *Bromelaceae* to *Dioscoreaceae*. The University of Michigan Herbarium Ann, 15:355-380.
- Mellado V. y C. Zolla. 1994. Flora Medicinal Indígena de México tomo II. Instituto Nacional Indigenista. México DF.
- Miramontes C. E. 2002. La industria de esteroides en México y un descubrimiento que cambiaría al mundo. Ingenierías, Vol. 5, N° 17. 20-24.
- Montaldo A. 1972. Cultivo de Raíces y Tubérculos tropicales. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Lima, Perú.

Murashige T. y L. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology* 15: 473-497.

Ng S. Y. y S. K. Hahn. 1985. Application of tissue culture to tuber crops at IITA. In: IRRI (ed) *Biotechnology in International Agricultural Research, Proceedings of the Inter-Centre Seminar on International Agricultural Research Centres (IARCs) and Biotechnology*. IRRI, Manila, Philippines. 29-40.

Olayemi J. O. y E. O. Ajaiyeoba. 2007. Anti-inflammatory studies of yam (*Dioscorea esculenta*) extract on wistar rats. Department of Pharmacognosy, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria. *African Journal of Biotechnology* Vol. 6 (16), 1913-1915.

Olmos S., G. Luciani Y E. Galdeano. 2004. *Biología y Mejoramiento Vegetal. Parte V, Métodos de propagación y conservación de germoplasma*. Ediciones INTA. 161-172.

Paniagua G. R., M. Martín, Sesma M., Alvarez-Uría M., Anadón R., Fraile B. y Sáez F. 2003. *Biología Celular. Segunda Edición*. Mc Graw-Hill, Interamericana. Madrid, España. 381 p.

Pérez L. J. 1999. *Tendencias Evolutivas en la Variación Cromosómica y morfofisiológica de Dioscorea remotiflora Kunth y D. remotiflora var. Maculata Uline (Dioscoreaceae) bajo selección artificial*. Universidad de Colima. Tesis de doctorado. 68 pp.

Pimienta E., A. Muñoz, Ramírez B. y Méndez L. 2006. Control genético y transducción de señales. *Desarrollo Vegetal*. Universidad de Guadalajara, México. 119-141.

- Poornima G. N. Y V. Ravishankar Rai. 2007. *In vitro* propagation of wild yams, *Dioscorea oppositifolia* (Linn) and *Dioscorea pentaphylla* (Linn). Department of Studies in Applied Botany and Biotechnology, University of Mysore. India. African Journal of Biotechnology Vol. 6 (20), 2348-2352.
- Poot-Matu, J.E y M.A, Mijangos Cortés. 2000. Serie Técnica de raíces y tubérculos N° 3, 5 y 6. Tabasco, México.
- Quintero I., J. Polo, A. Jarma y Espitia A. 2000. Enraizamiento *in vitro* de *Dioscorea spp.* Universidad de Córdoba. Revista Colombiana de Biotecnología Vol. 5, No 2, 51-56.
- Ramírez R. y O. Téllez. 1992. Las Dioscorea (*Dioscoreaceas*) del Estado de Morelos, México serie Botánica. 63(1): 67-99.
- Ramírez, R. 1990. Las dioscóreas (*Dioscoreaceae*) del Estado de Morelos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México. 38-39.
- Romo de Vivar A. 1985. Productos Naturales de la Flora de mexicana. Ed. Limusa. México. 84 p.
- Sánchez C. S. 1990. *Dioscoreacea*. En: Flora Fenerogámica del Valle de México. Volumen III. Monocotyledoneae. J Rzedowski y G.A. de Rzedowsky. Instituto de Ecología, Centro Regional de Bajío. Pátzcuaro, Michoacán. México. 321-323.
- Shewry R.P. 2003. Tuber Storage Proteins. Department of Agricultural Sciences. University of Bristol. Long Ashton. United Kingdom. Annals of Botany 91: 755-769
- Shina R.K. 2004. Modern Plant Physiology. Ed. Alpha Science. Pangbourne, England.

Slater A., S. Nigel y F. Mark. 2003. Plant Biotechnology : The genetic manipulation of plants. New York, University Press. 35-45 pp.

Street, H. E. 1976. Cell Cultures: a tool in plant biology. In Cell Genetics in Higher Plants. Ed. Akademiai Kiado, Budapest, 7-38 pp.

Taiz L. y E. Zeiger 2006. Plant Physiology. Fourth Edition. Ed Sinauer. 21: 545-547.

Trèche S. y T. Agbor-Egbe. 1996. Biochemical changes occurring during growth and storage of two yam species. Centre Orstom, Montpellier, France. International journal of food sciences and nutrition, 47 (2):93-102

Udensi E. A., H. Caelebe y Iweala O. 2008. The Investigation of Chemical Composition and Functional Properties of Water Yam (*Dioscorea alata*): Effect of Varietal Differences. Department of Food Science and Technology, Abia State University, Uturu, Nigeria. Pakistan Journal of Nutrition 7 (2): 342-344

Vasil K. I. y T. Thorpe. 1994. Plant cell and tissue culture. Ed. Kluwer Academic Publishers. 37-70 pp.

Anexo

Cuadro 1A. Análisis de varianza de los tratamientos para el número de yemas axilares estimuladas a los 15 días de *Dioscorea spp.* utilizando como factores la Cinetina, Genotipo, Iluminación y Sacarosa.

Fuente	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob>F
Cinetina	3	1.903	0.634	1.23	0.3028
Genotipo	1	1.737	1.737	3.36	0.0693
Iluminación	1	0.585	0.585	1.13	0.2894
Sacarosa	1	5.020	5.020	9.72	0.0023**
Residual	117	60.455	0.516		
Total	123	69.909			

\*\*Altamente significativo

Cuadro 2A. Análisis de varianza de los tratamientos para el número de yemas axilares estimuladas a los 30 días de *Dioscorea spp.* utilizando como factores la Cinetina, Genotipo, Iluminación y Sacarosa.

Fuente	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob>F
Cinetina	3	1.901	0.633	0.39	0.7627
Genotipo	1	25.277	25.277	15.43	0.0001**
Iluminación	1	0.071	0.071	0.04	0.8352
Sacarosa	1	15.305	15.305	9.34	0.0028**
Residual	117	191.667	1.638		
Total	123	235.700			

\*\*Altamente significativo

Cuadro 3A. Análisis de varianza de los tratamientos para el número de yemas axilares estimuladas a los 45 días de *Dioscorea spp.* utilizando como factores la Cinetina, Genotipo, Iluminación y Sacarosa.

Fuente	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob>F
Cinetina	3	13.816	4.605	1.64	0.1834
Genotipo	1	70.234	70.234	25.05	0.0000**
Iluminación	1	0.015	0.015	0.01	0.9404
Sacarosa	1	14.218	14.218	5.07	0.0262*
Residual	117	328.086	2.804		
Total	123	427.839			

\*\*Altamente significativo \*Significativo

Cuadro 4A. Análisis de varianza de los tratamientos para el número de yemas axilares estimuladas a los 60 días de *Dioscorea spp.* utilizando como factores la Cinetina, Genotipo, Iluminación y Sacarosa.

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob >F
Cinetina	3	14.830	4.943	1.03	0.3802
Genotipo	1	149.788	149.788	31.34	0.0000**
Iluminación	1	1.962	1.962	0.41	0.5230
Sacarosa	1	17.534	17.534	3.67	0.0579
Residual	115	549.592	2.804		
Total	121	734.830			

\*\*Altamente significativo

Cuadro 5A. Análisis de varianza de los tratamientos para la proliferación de raíces a los 15 días en *Dioscorea spp.* utilizando como factores la Cinetina, el Genotipo, la Iluminación y la Sacarosa.

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob >F
Cinetina	3	1.642	0.547	1.27	0.2891
Genotipo	1	5.921	5.921	13.70	0.0003**
Iluminación	1	4.352	4.352	10.07	0.0019**
Sacarosa	1	0.365	0.365	0.84	0.3599
Residual	117	50.581	0.432		
Total	123	62.586			

\*\*Altamente significativo

Cuadro 6A. Análisis de varianza de los tratamientos para la proliferación de raíces a los 45 días en *Dioscorea spp.* utilizando como factores la Cinetina, Genotipo, Iluminación y Sacarosa.

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob >F
Cinetina	3	9.656	3.218	0.75	0.5260
Genotipo	1	54.926	54.926	12.75	0.0005**
Iluminación	1	0.492	0.492	0.11	0.7358
Sacarosa	1	55.762	55.762	12.95	0.0005**
Residual	115	495.231	4.306		
Total	121	611.346			

\*\*Altamente significativo

Cuadro 7A. Análisis de varianza de los tratamientos para la proliferación de raíces a los 60 días en *Dioscorea spp.* utilizando como factores Cinetina, Genotipo, Iluminación y Sacarosa.

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob>F
Cinetina	3	31.099	10.366	1.75	0.1604
Genotipo	1	60.410	60.410	10.21	0.0018**
Iluminación	1	7.747	7.747	1.31	0.2549
Sacarosa	1	79.378	79.378	13.41	0.0004**
Residual	115	680.577	5.918		
Total	121	849.705			

\*\*Altamente significativo

Cuadro 8A. Análisis de varianza de los tratamientos para microtubérculos a los 45 días en *Dioscorea spp.* utilizando como factores la Cinetina, Genotipo, Iluminación y Sacarosa.

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob>F
Cinetina	3	1.292	0.430	3.31	0.0226*
Genotipo	1	0.565	0.565	4.35	0.0393*
Iluminación	1	0.000	0.000	0.01	0.9362
Sacarosa	1	0.000	0.000	0.01	0.9362
Residual	117	15.233	0.130		
Total	123	17.054			

\* Significativo

Cuadro 9A. Análisis de varianza de los tratamientos para microtubérculos a los 60 días en *Dioscorea spp.* utilizando como factores la Cinetina, Genotipo, Iluminación y Sacarosa.

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob>F
Cinetina	3	2.017	0.672	5.41	0.0016**
Genotipo	1	0.782	0.782	6.30	0.0135*
Iluminación	1	0.206	0.206	1.66	0.1997
Sacarosa	1	0.422	0.422	3.40	0.0676
Residual	115	14.288	0.124		
Total	121	17.739			

\* Significativo \*\* Altamente significativo

BIBLIOTECA CUCBA