

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

**EFFECTOS DE ÁCIDO NAFTALEN ACÉTICO (ANA) Y ÁCIDO
GIBERÉLICO (AG₃) EN EL ENRAIZAMIENTO DE
MICROESTACAS DE *Morinda citrifolia* L. “noni” A PARTIR DE
PLÁNTULAS ESTABLECIDAS *in vitro*. IQUITOS-PERÚ**

TESIS

Requisito para optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

AUTORES:

HUNTER MICKEY ZAVALA BURGA

HELEN ESCOBAR KERRY

IQUITOS – PERÚ

2012

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR DE TESIS:

.....

Blgo. Manuel Flores Arévalo Dr.

PRESIDENTE

.....

Blgo. Alberto García Ruiz MSc.

MIEMBRO

.....

Blgo. Richard J. Huaranca Acostupa MSc.

MIEMBRO

.....
Blga. Felicia Díaz Jarama MSc.

ASESORA

~ v ~

DEDICATORIA

- A Dios por darme la oportunidad de tenerme en esta vida tan maravillosa e iluminarme el camino para ser una persona de bien.
- A mis padres y hermanos por todo el apoyo que me han dado, por ser mi ejemplo de superación y no dejarme caer en los momentos difíciles.
- El reconocimiento especial a Rodolfo Camacho (Esposo) por amor y su apoyo incondicional.

Helen Escobar Kerry

DEDICATORIA

- A Dios por darme la vida, salud, una familia unida, sabiduría, paciencia y fuerza de voluntad a lo largo de mi vida.

- Con mucho amor a mis queridos padres: **Hillman y Nelfa**, porque este trabajo es el resultado del gran esfuerzo y amor que me brindaron durante toda mi vida personal y formación profesional.

- A mi hermano **Skylab**, por sus consejos y apoyo para seguir adelante en la vida como ser humano y profesional y a mi sobrina **Lizzie**, la traviesa del hogar.

- A mi amor **Felicia** por su valioso apoyo y a mi adorable hija **Aizy Krissel**; y a todas las personas que estuvieron a mi lado, ansiosas y pendientes a que la finalización de este documento fuera todo un éxito.

Hunter Mickey Zavaleta Burga

AGRADECIMIENTOS

Esta Tesis no hubiera podido ser posible sin la ayuda y soporte de muchas personas.

- A Dios que gracias a él fue posible la ejecución y realización de este trabajo de investigación.
- A la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana por la formación Académica otorgada.
- A la Facultad de Ciencias Biológicas por los conocimientos científicos confiados.
- Al Laboratorio de Micropropagación Vegetal. Proyecto “Micropropagación *in vitro* de algunas especies de interés para la Amazonia Peruana”, por el financiamiento para la ejecución de esta investigación.
- A la Blga. Felicia Díaz Jarama, por la oportunidad de realizar la tesis bajo su asesoramiento.
- A todas las personas que de una u otra manera contribuyeron a la ejecución y culminación de este trabajo.

RESÚMEN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana y tuvo como objetivo: Evaluar el efecto de las concentraciones de Ácido Naftalen Acético (ANA) y Ácido Giberélico (AG₃) en el enraizamiento de microestacas de *Morinda citrifolia* L. “noni” provenientes de plántulas establecidas *in vitro*. El diseño estadístico empleado fue con un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial de 4 X 3 con 12 tratamientos y 15 repeticiones, que fueron evaluados durante un periodo de 14 semanas. Para el análisis de los resultados se empleó el software SPSS Versión 18.

Se utilizó el medio de cultivo M&S ½ de su concentración y las fitohormonas ANA (0, 0.5, 1.0 y 1.5 ppm) y AG₃ (0, 0.2 y 0.3 ppm). La técnica utilizada fue cortando los esquejes de la plántulas *in vitro* con 4 nudos eliminando las hojas grandes. Luego, con la ayuda de un bisturí se hizo cortes de 1 cm. en la parte del entrenudo obteniendo así las microestacas que luego se colocaron dentro de cada tubo de ensayo por tratamiento.

Los resultados obtenidos a la 14^{va} semana nos mostraron que los mayores efectos de ANA se obtuvieron a una concentración de 1.5 ppm y de AG₃, a una concentración de 0.3 ppm. En el caso de las interacciones entre ambas fitohormonas, los mayores efectos se obtuvieron a una concentración de 1.5 ppm (ANA) y 0.2 ppm (AG₃) en las variables formación de brotes (93.3%), formación de raíces (86.6%) y longitud de raíz (1.89cm). Siendo estas las concentraciones adecuadas para el enraizamiento *in vitro* de microestacas de *M. citrifolia* L. “noni”.

Por lo que, se determinó que el efecto de las concentraciones de ANA y AG₃, fueron notables, existiendo un efecto significativo en el incremento de sus concentraciones, es decir, a medida que se aumentaron las dosis en ambas, se obtuvo un mayor enraizamiento; puesto que a concentraciones mucho más elevadas producen la inhibición en el enraizamiento *in vitro*.

Por lo tanto, para obtener el enraizamiento *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. “noni”, es necesario la aplicación de ambas fitohormonas (ANA y AG₃) a concentraciones de 1.5 ppm (ANA) con 0.2 ppm (AG₃) y el medio de cultivo M&S a la mitad de su concentración (50%).

TABLA DE CONTENIDOS

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR DE TESIS	II
ASESORA	V
ACTA DE SUSTENTACION	IVIII
DEDICATORIA	V
AGRADECIMIENTOS	VIIII
RESÚMEN	VIII
LISTA DE CUADROS	XII
LISTA DE GRÁFICOS	XIVV
LISTA DE ANEXOS	XVV
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	4
2.1. Cultivo de Tejidos Vegetales	4
2.2. Medio de Cultivo (Murashige & Skoog, 1962)	4
2.3. Características Generales de la Planta	5
2.4. Reguladores de Crecimiento	6
2.5. Enraizamiento	8
III. METODOLOGÍA	10
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN.	10
3.2. MATERIAL VEGETAL	10
3.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE	10
3.3.1. Clasificación Taxonómica	10
3.4. ESTERILIZACIÓN DE LOS MATERIALES	11
3.5. PREPARACIÓN DE LOS FITOREGULADORES (Soluciones Madres)	11
3.5.1. Acido Naftaleno Acético (ANA 250 ppm)	11
3.5.2. Ácido Giberélico (AG ₃ 200 ppm)	11
3.6. PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MURASHIGE & SKOOG, (1962)	12
3.7. SIEMBRA DEL MATERIAL VEGETAL	12
3.8. DISEÑO ESTADÍSTICO EMPLEADO	13
3.8.1. Factores Estudiados	13
3.8.2. Factores Constantes:	13
3.8.3. Planteamiento de los tratamientos	14

3.9. EVALUACIONES	14
3.9.1. Factores evaluados	14
IV. RESULTADOS	16
4.1. CONTAMINACIÓN	16
4.2. OXIDACIÓN	16
4.3. FORMACIÓN DE BROTES	17
4.4. FORMACIÓN DE RAÍZ	20
4.5. LONGITUD DEL BROTE	23
4.6. NÚMERO DE BROTES	26
4.7. DIAMETRO DE LA PLANTA	29
4.8. LONGITUD DE LA RAÍZ	32
4.9. NUMERO DE HOJAS POR BROTE	35
4.10. FORMACIÓN DE CALLOS	38
4.11. TAMAÑO DE LA PLÁNTULA	41
V. DISCUSIÓN	44
5.1. Efectos de Concentración del Ácido Naftalen Acético (ANA)	44
5.2. Efectos de Concentración del Ácido Giberélico (AG3)	46
5.3. Efectos de las Interacciones entre el Ácido Naftalen Acético (ANA) y Ácido Giberélico (AG3).	47
VI. CONCLUSIONES	48
VII. RECOMENDACIONES	49
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
IX. ANEXOS	57
Anexo N° 1. Composición del Medio Murashige & Skoog (1962)	58
Anexo N° 2. Composición de las soluciones Stock (mg/L)	59
Anexo N° 3. Glosario	62
Anexo N° 3. Ficha de Evaluación	62
Anexo N° 5. Abreviaturas empleadas	63
Anexo N° 6. Lista de Fotografías	64

LISTA DE CUADROS

- Cuadro N° 1. Análisis de Varianza de la variable Formación de Brotes en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 17
- Cuadro N° 2. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Formación de Brotes en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 18
- Cuadro N° 3. Análisis de Varianza de la variable Formación de Raíz en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 20
- Cuadro N° 4. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Formación de Raíz en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 21
- Cuadro N° 5. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG₃ en la variable Formación de Raíz en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 21
- Cuadro N° 6. Análisis de Varianza de la variable Longitud del Brote en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 23
- Cuadro N° 7. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Longitud del Brote en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 24
- Cuadro N° 8. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG₃ en la variable Longitud del Brote en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 24
- Cuadro N° 9. Análisis de Varianza de la variable Número de Brotes en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 26
- Cuadro N° 10. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Número de Brotes en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 27
- Cuadro N° 11. Análisis de Varianza de la variable Diámetro de la Planta en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 29

Cuadro N° 12. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Diámetro de la Planta en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	30
Cuadro N° 13. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG3 en la variable Diámetro de la Planta en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	30
Cuadro N° 14. Análisis de Varianza de la variable Longitud de la Raíz en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	32
Cuadro N° 15. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Longitud de la Raíz en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	33
Cuadro N° 16. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG3 en la variable Longitud de la Raíz en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	33
Cuadro N° 17. Análisis de Varianza de la variable Número de Hojas por Brote en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	35
Cuadro N° 18. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Número de Hojas por Brote en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	36
Cuadro N° 19. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG3 en la variable Número de Hojas por Brote en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	36
Cuadro N° 20. Análisis de Varianza de la variable Formación de Callos en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	38
Cuadro N° 21. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Formación de Callos en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	39
Cuadro N° 22. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG3 en la variable Formación de Callos en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	39

- Cuadro N° 23. Análisis de Varianza de la variable Tamaño de la Plántula en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 41
- Cuadro N° 24. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Tamaño de la Plántula en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 42
- Cuadro N° 25. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG3 en la variable Tamaño de la Plántula en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* a la 14^{va} semana de evaluación. 42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1 Porcentaje de contaminación de microestacas de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	16
Gráfico N° 2. Porcentaje de la Variable Formación de Brotes en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	19
Gráfico N° 3. Porcentaje de la Variable Formación de Raíz en microestacas sembradas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	22
Gráfico N° 4. Crecimiento (cm) en longitud de la Variable Longitud del Brote en microestacas de <i>Morinda citrifolia</i> sembradas <i>in vitro</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	25
Gráfico N° 5. Formación en Número de la Variable Número de Brotes en microestacas de <i>Morinda citrifolia</i> sembradas <i>in vitro</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	28
Gráfico N° 6. Crecimiento en centímetro de la Variable Diámetro de la planta en microestacas de <i>Morinda citrifolia</i> sembradas <i>in vitro</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	31
Gráfico N° 7. Crecimiento en centímetro de la Variable Longitud de la Raíz en microestacas de <i>Morinda citrifolia</i> sembradas <i>in vitro</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	34
Gráfico N° 8. Formación en número de la Variable Numero de hojas por brote en microestacas de <i>Morinda citrifolia</i> sembradas <i>in vitro</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	37
Gráfico N° 9. Porcentaje de la Variable Formación de Callos en microestacas de <i>Morinda citrifolia</i> sembradas <i>in vitro</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	40
Gráfico N° 10. Tamaño de la plántula en microestacas de <i>Morinda citrifolia</i> sembradas <i>in vitro</i> a la 14 ^{va} semana de evaluación.	43

LISTA DE ANEXOS

Anexo N° 1: Composición del Medio de Cultivo Murashige & Skoog (1962)	58
Anexo N° 2: Composición de las Soluciones Stock (mg/L).	59
Anexo N° 3. Glosario	60
Anexo N° 4. Ficha de Evaluación	62
Anexo N° 5. Abreviaturas empleadas	63
Anexo N° 6. Lista de Fotografías	64
Foto N° 1. Plántulas establecidas <i>in vitro</i> de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”	64
Foto N° 2. Plántula selecta de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”	64
Foto N° 3: Limpieza de plántula de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”	65
Foto N° 4: Segmentos de microestacas de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”	65
Foto N° 5: Preparación del medio de cultivo M&S con las fitohormonas ANA y AG3	66
Foto N° 6: Microestacas sembradas de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”	67

I. INTRODUCCIÓN

El Perú está considerado entre los países más ricos del mundo en formas de vida con 83.2% del total y cerca de 1109 especies aprovechables para fines diversos como productoras de alimento, aceites esenciales, estimulantes medicamentos, etc. **(Pinedo, 1998)**. Al igual que por su ubicación geográfica y condiciones ecológicas especiales cuenta con variables climas y microclimas, situándose entre los primeros países del mundo con gran diversidad biológica **(Imán, 1996)**.

La región amazónica abarca extensas áreas de nuestro continente y cuenta con gran diversidad de recursos naturales de potencial productivo **(Gómez y Huaranca, 1997)**. La alta biodiversidad de flora en la Amazonía peruana se constituye en una de las mayores reservas de recursos fitoterapéuticos, donde hace miles de años varias especies de plantas nativas y exóticas fueron utilizadas por diferentes tribus y etnias amazónicas como medicina tradicional. Desde esos lejanos años a nuestros días numerosas especies de plantas, aún no han sido estudiadas por completo **(Mejía y Rengifo, 2000)**; siendo una de ellas el “noni” *Morinda citrifolia* L.

Morinda citrifolia L. “noni”, es una planta arbórea o arbustiva, perteneciente a la familia de las Rubiáceas, que desde 1999 se cultiva en nuestro país, siendo su habitat natural el clima tropical, razón por la cual lo tenemos en los departamentos de Ucayali, Amazonas y últimamente en la región Loreto **(Palacios, 2005)**. La fruta madura del “noni” es de aproximadamente el mismo tamaño que una “papa”, y tiene un color amarillo que se transforma en blanco al madurar. Tiene un sabor amargo y no huele muy bien. **(Wikipedia, 2007)**.

En las plantas también existen sustancias reguladoras del crecimiento (fitohormonas) que desempeñan un papel muy importante en el crecimiento y desarrollo de los vegetales, entre estas hormonas están: auxinas, giberilinas, citocininas, etc. Una de las principales funciones de las auxinas es promover el enraizamiento en estacas de diferentes plantas **(Devlin, 1980)**. En las giberelinas, el papel primordial es la germinación, aumenta el crecimiento y la

elongación, rompe la dormición, revierte planta adulta en juvenil, floración, maduración, etc. (www.agroweb.blogspot.com, 2009).

Esta especie “noni”, representa una opción de potencial reproductivo en los sistemas agrícolas de producción en la Amazonía peruana, y que su aprovechamiento comercial requiere un uso adecuado para las plantaciones utilizando el material genético seleccionado (Dávila, 2000).

Por tal motivo, es necesario determinar una manera adecuada para la conservación y multiplicación de este recurso por su alto valor agroindustrial tanto nacional como extranjero, y de este modo asegurar su futuro solucionando algunos problemas básicos de esta especie.

Por lo que, se plantearon el siguiente problema: ¿Cuál es el efecto de las fitohormonas ANA y AG₃ en el enraizamiento de microestacas de *M. citrifolia* L. “noni”? y la hipótesis: ¿Existe un aumento significativo en los efectos de ANA y AG₃ en el enraizamiento de microestacas de *M. citrifolia* L. “noni”?

Actualmente, existe una escasa información y poco conocimiento en investigaciones de micropropagación vegetativa de “noni”, por eso es urgente generar conocimientos respecto a esta especie haciendo uso de la aplicación de técnicas biotecnológicas como es el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales y estimulantes vegetales (fitohormonas) para así favorecer de una manera rápida su crecimiento y desarrollo. Con esta finalidad, en el presente estudio se planteó como objetivo general:

- Evaluar los efectos del Ácido Naftalen Acético (ANA) y Ácido Giberélico (AG₃) en el enraizamiento de microestacas de *Morinda citrifolia* L. “noni” a partir de plántulas establecidas *in vitro*.

En consecuencia, los objetivos específicos fueron:

- Determinar el efecto de los niveles de concentración del Ácido Naftalen Acético (ANA) (0, 0.5, 1.0, 1.5 ppm) en el enraizamiento de microestacas de *Morinda citrifolia* L. “noni” a partir de plántulas establecidas *in vitro*.

- Determinar el efecto de los niveles de concentración del Ácido Giberélico (AG₃) (0, 0.2, 0.3 ppm) en el enraizamiento de microestacas de *Morinda citrifolia* L. “noni” a partir de plántulas establecidas *in vitro*.

- Analizar los efectos de las interacciones de los fitorreguladores a diferentes niveles de concentración del Ácido Naftalen Acético (ANA) y Ácido Giberélico (AG₃) en el enraizamiento de microestacas de *Morinda citrifolia* L. “noni” a partir de plántulas establecidas *in vitro*.

- Determinar la concentración adecuada de Ácido Naftalen Acético (ANA) y Ácido Giberélico (AG₃) en el enraizamiento de microestacas de *Morinda citrifolia* L. “noni” a partir de plántulas establecidas *in vitro*.

II. ANTECEDENTES

2.1. Cultivo de Tejidos Vegetales

El cultivo de tejidos vegetales *in vitro* ha venido enfrentando el reto de reducir la duración del ciclo del cultivo y el mejoramiento de las especies vegetales. Asimismo, indica que el cultivo *in vitro* ha pasado por un acelerado proceso evolutivo que permite en la actualidad procesos estandarizados para la multiplicación clonal, en el menor tiempo posible de especies vegetales de interés económico, lo que permitiría dar una respuesta a la amenaza que se cierne sobre los recursos genéticos de la región. **(Alasei, 1988).**

La técnica del cultivo de tejidos, órganos y células vegetales, consiste en cultivar en medios nutritivos adecuados y en forma aséptica ápices de raíz y tallo, embriones maduros e inmaduros, segmentos de órganos de tallos y hoja, algunas veces óvulos, anteras y polen. **(Pierik, 1990).**

2.2. Medio de Cultivo (Murashige & Skoog, 1962)

Afirma que las variantes en el medio de cultivo y en la concentración de reguladores de crecimiento son determinantes para obtener un protocolo eficiente de regeneración *in vitro*. **(Galleti, 2003).**

Un medio de cultivo básico, es el conjunto de macro elementos y micro elementos necesarios para el desarrollo de una plántula. Los medios específicos son variaciones de los medios básicos de acuerdo a las necesidades de una determinada especie. Los medios básicos más usados para cultivo de especies perennes y herbáceas es el medio Murashige & Skoog (1962) más conocido como M&S. **(Medina, 2005 y Fonturbel, 2001).**

El primer objetivo en la preparación de medio de cultivo es suministrar los nutrimentos minerales en concentraciones adecuadas se debe

incluir los macroelementos (C, H, O, P, K, N, S, Ca, y Mg) y los microelementos (B, Zn, Mn, Cu, Mo, Fe, Cl). Las principales diferencias entre los medios de cultivo se relacionan con los diferentes compuestos utilizados para estimular la división celular para esto se emplea generalmente las fitohormonas como: ANA (Ácido Naftalen Acético), AIA (ácido indol acético), AC (agua de coco) o también 2,4, D ó solo en combinación con AC. **(Roca & Mroginski, 1999).**

El papel primordial del medio de cultivo M&S, es de proveer las condiciones óptimas para el crecimiento del “explante”, las cuales están determinadas por factores físicos, como la concentración de los nutrientes, reguladores de crecimiento, pH, estado del medio (líquido o semisólido) y la temperatura; además que existe un medio de cultivo universal. Cada género, especie a cultivar e inclusive cada segmento que proviene de diferentes partes de la planta, tienen distintos requerimientos para alcanzar un buen crecimiento y desarrollo. **(Zegarra, 2008).**

2.3. Características Generales de la Planta

La *Morinda citrifolia* L. “noni” tiene su origen y distribución geográfica en Panamá, principalmente en las provincias de Bocas de toro, Colón y San Blas. Fuera de Panamá; Antillas, Asia, América Central, Oceanía y crece mejor en tierras vírgenes. **(Govaerts, 2011).**

El “noni se ha usado más de 2000 años en la china, India y Polinesia, tradicionalmente y en otros lugares del mundo, como en las Islas del Pacífico Sur: Tahití, Hawaii, Fiji, Samoa, Tonga, etc. En Malasia, Indonesia, Taiwán, Filipinas, África, países europeos: Francia, España, desde, 1999 se cultiva en nuestro Perú siendo su habitat natural clima tropical, razón por la cual tenemos en los Departamentos de Ucayali y Amazonas. **(Palacios, 2005).**

Además, la planta del “noni” crece libremente en terrenos bien drenados, tolerando la salinidad y las sequías; se encuentran en estado silvestre en una gran variedad de ambientes, desde bosques semiáridos hasta terrenos volcánicos, costa arenosa y saliente rocosa **(Wikipedia, 2007)**.

Son arboles o arbustos perennes siempre son de color verde de hasta 6 m. de altura, con la corteza pálida y lisa. Ramas nudosas y rígidas que dan hojas ovaladas, opuestas, agudas o acuminadas de color verde brillante, con estipulas grandes de estrecha a anchamente elípticas. Flores aromáticas, pequeñas y blancas, dispuestas en cabezuelas globosas densas, toleran en racimos que llevan un fruto de masa casi esférica, verdosa, de 2,5 a 3,5 cm. de diámetro, con la superficie cubierta de pequeñas protuberancias, cada una de las cuales representa una flor y contienen una semilla. La fruta es carnosa y cuando está madura tiene una consistencia igual a la gelatina. La pulpa de la fruta es de característica amarga y cuando madura completamente se vuelve amarillo y luego blanco produciendo un olor rancio muy distintivo. El fruto maduro del “noni” tiene aproximadamente el tamaño de un tomate, con un gran número de semillas de color rojo marrón parecidas a las de la manzana o pera. Fructifica todo el año. Además están recubiertas por un saco de protección que les permite flotar en el agua durante días e incluso después de ser digeridas por animales, y al ser depuestas, tienen la capacidad de generar nuevos brotes. **(Loayza, 2003)**.

2.4. Reguladores de Crecimiento

Las auxinas, son sustancias de crecimiento que afecta al alargamiento celular sus actividades incluyen tanto estimulación, principalmente alargamiento celular, como inhibición del crecimiento y la misma célula o estructura puede exhibir respuestas opuestas dependiendo de la concentración. **(Bidwell, 2000)**.

Para el establecimiento de segmentos nodales se estudió ocho reguladores de crecimiento del medio de cultivo. Citocinina: Bencil Amino Purina (BAP), Kinetina (KIN), **auxinas:** Acido Naftalen acético (ANA), **giberilina:** Acido Giberélico (AG₃) (**Takahashi, 1986**).

Los reguladores de crecimiento de plantas, hormonas de plantas o conocidas también como fitohormonas, han sido clasificadas en tres categorías; *auxinas*, *citoquininas* y *giberelinas*. Las *auxinas* promueven el alargamiento celular y el inicio del crecimiento radicular; la *giberelina* estimula el alargamiento celular. El desarrollo normal de una planta depende de la interacción de factores externos (luz, nutrientes, agua, temperatura) e internos (hormonas). (**Mejía, 1994**).

Los reguladores y sus combinaciones empleadas también se exploran para obtener la regeneración de plantas a partir de segmentos de hoja, la promoción de callos, así como el enraizamiento de brotes (**Rodríguez de la O, et al.; 2009**).

Es necesario además adoptar procedimientos de asepsia para mantener los cultivos libres de contaminación microbiana. Trabajando con *Manihot sculenta* "yuca" indujo crecimiento armónico de meristemo en medio de cultivo suplementado con ANA, BAP y una concentración mínima de AG₃ (0.05 mg/l). (**Roca & Mroginski, 1991**).

La auxina promueve la diferenciación celular. Cuando un callo se pone a crecer en un medio nutritivo, con una concentración apropiada de auxina se forman raíces. Una proporción elevada de auxina favorece la formación de raíces. (**www.forest.ula.ve. 2009**).

Se sabe que las auxinas son un factor esencial en la proporción del crecimiento de las raíces, debido a que, en general, el ANA puede incrementar significativamente la elongación de segmentos aislados de raíces, tanto *in vitro*, además de que incrementa su crecimiento.

También es conocido que las raíces a las que se les ha inhibido el crecimiento por medio de la aplicación de inhibidores sintéticos o naturales pueden reanudarlo si se les aplica auxinas **(Hurtado y Merino, 1994)**.

El Ácido Giberélico (**AG₃**) no es el único inductor de alargamiento que se puede aplicar en leñosas. La **auxina**, más usada es el Acido Naftalen Acético (**ANA**), que pueden incorporarse o no, pero en el caso de ser utilizados no deben exceder las concentraciones de 0.5 mg/l debido a que, concentraciones más altas inhiben la proliferación de brotes, inducen a un exagerado enraizamiento y estimula la formación de callo. **(Manzanera y Pardos, 1990)**,

El efecto de AG3 sobre la proliferación de los brotes varía en función de la interacción con otros reguladores de crecimiento, dependiendo de la especie micropropagada **(Melo-Farias et al. 1998)**.

2.5. Enraizamiento

Para enraizar los explantes se utilizan principalmente plantones individuales de un tamaño aproximado de 2 centímetros. Los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación se transfieren a un medio libre de reguladores de crecimiento o que sólo contenga hormonas del tipo auxinas. Algunas especies de plantas no necesitan pasar por esta etapa y emiten sus raíces en el mismo medio de cultivo donde desarrollan yemas nuevas, por lo tanto el proceso de multiplicación y enraizamiento transcurren en forma simultánea **(Castillo, 2007)**.

Experimentos realizados en tres etapas: fase de iniciación, multiplicación y formación de raíces, indican que en la última etapa, el enraizamiento se logró eliminando las citocininas del medio adicionando auxinas. De las dos auxinas (AIB y ANA) probadas, el AIB fue superior al ANA **(Mogollón y Gil, 2008)**.

El proceso de enraizamiento, requiere cambiar el balance hormonal, esto es, disminuir las citocininas y aumentar las auxinas exógenas. **Thorpe, 1980** (citado por **Roca y Mroginski. 1991**).

La práctica de enraizamiento de los brotes propagados *in vitro* reviste gran importancia debido a que tiene como objetivo producir plantas con buenas características fisiológicas y morfológicas que puedan sobrevivir en las condiciones del trasplante al suelo. La formación del sistema radical y el crecimiento de las raíces son fundamentales para lograr la transferencia de las vitroplantas a condiciones de invernadero (**Somoya et al., 2000**).

Para obtener buenos resultados en el carácter longitud de raíz es necesario utilizar el fitorregulador ANA a concentraciones de 0.5 ppm. Además utilizar como medio de cultivo M&S al 50% de su concentración (**Díaz, 2010**).

III. METODOLOGÍA

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN.

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana situado en el AA. HH. Marginal "Anita Cabrera", Pasaje San Lorenzo N° 220, Distrito de San Juan Bautista, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto.

3.2. MATERIAL VEGETAL

El material vegetal empleado fueron las microestacas de *Morinda citrifolia* L. "noni" obtenidas de plántulas de tres meses de edad aproximadamente establecidas *in vitro* en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Iquitos, Perú.

3.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE

3.3.1. Clasificación Taxonómica

Judd *et. al.* (2002) (Según el APG II). Para Género y Especie:
(<http://www.es.wikipedia.org/wiki/Morinda-citrifolia>)

División	:	Angiospermae (Magnoliophyta)
Grupo	:	Informal: Euasterids I
Orden	:	Gentianales
Familia	:	Rubiaceae
Género	:	Morinda
Especie	:	<i>Morinda citrifolia</i> L.

3.4. ESTERILIZACIÓN DE LOS MATERIALES

- **Materiales:** Los tubos de ensayo (25x150mm) fueron lavados con detergente y lejía para su desinfección y luego guardados en la estufa para evitar que se exponga a patógenos ambientales. En cuanto a las pinzas y bisturís también fueron esterilizados en el autoclave por media hora a 121°C para luego ser guardados en la estufa hasta su uso durante la siembra.
- **Cámara de flujo laminar:** Fue desinfectada un día anterior con lejía a una concentración de 5.25% al igual que al ambiente que lo sitúa y el mismo día de la siembra con lejía al 3 % con tres repeticiones para luego aplicar alcohol de 70° sobre la superficie de la cámara hasta su empleo para la siembra.

3.5. PREPARACIÓN DE LOS FITOREGULADORES (Soluciones Madres)

3.5.1. Ácido Naftaleno Acético (ANA 250 ppm)

Se pesó 10 mg de ANA (0.010 g), y en un vaso precipitado de 50 ml se agregó la hormona y se añadió de 5 a 8 gotas de HCl y se calentó y constantemente se agitó y se enrasó a 40 ml. Luego, se colocó en un recipiente de vidrio color ámbar con tapa rosca, donde se guardó en la refrigeradora hasta su uso.

3.5.2. Ácido Giberélico (AG₃ 200 ppm)

Se pesó 20 mg de Ácido Giberélico y se añadió de 5-8 gotas de HCl (se mezcló con una espátula) y se calentó, constantemente (no hervido), luego se enrasó a 10 ml. Finalmente, se colocó en un recipiente de vidrio color ámbar con tapa rosca, y se guardó en refrigeración hasta su uso.

3.6. PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MURASHIGE & SKOOG, (1962)

Sólo se utilizó el medio de cultivo de Murashige & Skoog (1962) (**Ver Anexo N° 1**) a media concentración (MS ½) en las que se emplearon soluciones stocks concentrados: solución A, B, C, y D en sus respectivas composiciones (**Ver Anexo N° 2**).

Se preparó MS ½ en un matr az de 200 ml de capacidad con 100 ml de agua destilada, luego se colocó sobre un agitador magnético a la que se añadió por medio de pipetas de diferentes medidas, las siguientes concentraciones de solución stock: A (10ml), B (2ml), C y D (1ml). Posteriormente se agregó las fitohormonas ANA y AG3 mencionados en los factores a estudiar. Luego, se enraz o a 200 ml con agua destilada ajustando el pH del medio entre 5.7 – 5.8 durante la agitación se utilizó NaOH para subir y HCL para bajar la concentración de pH.

Finalmente, los medios se calentaron y fueron dispensados a volumen de 10 ml en cada tubo de ensayo para luego ser cerrados con papel aluminio, y luego se esterilizó en el autoclave a 121  C de 15 lb de presión por 15 min, transcurrido este tiempo se dejó enfriar y luego se conservaron en el refrigerador hasta su uso para la siembra.

3.7. SIEMBRA DEL MATERIAL VEGETAL

Se tomaron plántulas de “noni” establecidas en el laboratorio (**Ver Anexo N° 6. Foto N° 1**) y frente a un mechero éstos fueron extraídos con la ayuda de pinzas y colocadas sobre el papel estéril (**Ver Anexo N° 6. Foto N° 2**). La técnica utilizada fue cortando los esquejes de la plántulas *in vitro* con 4 nudos y eliminando las hojas (**Ver Anexo N° 6. Foto N° 3**). Luego, con la ayuda de un bisturí se hizo un corte de más o menos 1 cm. en la parte del entrenudo sujetando de un lado con la pinza obteniéndose los segmentos de microestacas (**Ver Anexo N° 6. Foto N°**

4). Luego, éstas se colocaron dentro de cada tubo de ensayo por tratamiento.

Finalmente, cada tubo fue sellado con papel aluminio y recubierto con parafilm para luego ser colocados en la Cámara de Incubación a una temperatura de 24° C con luz constante.

3.8. DISEÑO ESTADÍSTICO EMPLEADO

En el presente trabajo de investigación se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con un arreglo factorial de 4x3 con un total de 12 tratamientos y 15 repeticiones por tratamiento (**Tabla Nº 1**). El análisis de los resultados se realizó utilizando el software SPSS versión 18.

3.8.1. Factores Estudiados

Factor A: Concentraciones de Ácido Naftalen Acético (ANA)

A1	:	0 ppm
A2	:	0.5 ppm
A3	:	1 ppm
A4	:	1.5 ppm

Factor B: Concentración de Ácido Giberélico (AG₃):

B1	:	0 ppm
B2	:	0.2 ppm
B3	:	0.3 ppm

3.8.2. Factores Constantes:

- Medio de cultivo : Murashige & Skoog (1962) (MS/2)
- Microestacas : *Morinda citrifolia* L.
- pH del medio : 5.7 – 5.8
- Sacarosa : 30 g/L
- Tubos de ensayo : 25 x 150 mm
- Phytigel : 2g/L

3.8.3. Planteamiento de los tratamientos

- Número de tratamientos (t) = 12
- Número de repeticiones (r) = 15 por tratamientos

3.9. EVALUACIONES

Las evaluaciones se realizaron 1 vez por semana, utilizando una ficha de evaluación (**Anexo N° 4**).

3.9.1. Factores evaluados

- Contaminación: variable cualitativa
 - 0 : No Contaminó
 - 1 : Contaminó
- Oxidación: variable cualitativa
 - 0 : No oxidó
 - 1 : Oxidó
- Formación de brote: variable cualitativa
 - 0 : No formó brote
 - 1 : Brotó
- Formación de Raíz: Variable Cualitativa
 - 0 : No Enraizó
 - 1 : Enraizó
- Formación de callo: Variable Cualitativa
 - 0 : No formó callo
 - 1 : Formó callo
- Longitud de brote: Variable Cuantitativa
- Longitud de Raíz: Variable Cuantitativa
- Número de brotes: Variable Cuantitativa
- Diámetro de planta: Variable Cuantitativa
- Número de hojas por brote: Variable Cuantitativa
- Tamaño de la planta: Variable Cuantitativa

Tabla N° 01: Tratamientos en el cultivo de microestacas de *Morinda citrifolia* L. “noni” a partir de plántulas cultivados *in vitro*.

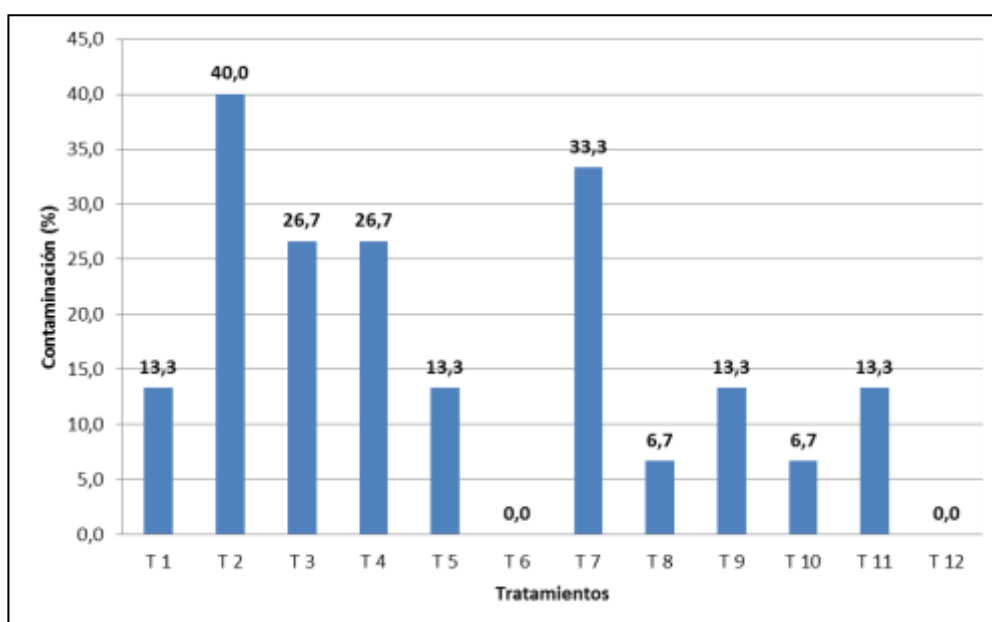
Tratamiento	Factores	Componentes
T1	A1B1	0ppm ANA + 0 ppm AG ₃
T2	A1B2	0 ppm ANA + 0.2 ppm AG ₃
T3	A1B3	0 ppm ANA + 0.3 ppm AG ₃
T4	A2B1	0.5 ppm ANA + 0 ppm AG ₃
T5	A2B2	0.5 ppm ANA + 0.2 ppm AG ₃
T6	A2B3	0.5 ppm ANA + 0.3 ppm AG ₃
T7	A3B1	1ppm ANA + 0 ppm AG ₃
T8	A3B2	1ppm ANA + 0.2 ppm AG ₃
T9	A3B3	1ppm ANA + 0.3 ppm AG ₃
T10	A4B1	1.5 ppm ANA + 0 ppm AG ₃
T11	A4B2	1.5 ppm ANA + 0.2 ppm AG ₃
T12	A4B3	1.5 ppm ANA + 0.3 ppm AG ₃

IV. RESULTADOS

4.1. CONTAMINACIÓN

Como se puede apreciar en el Gráfico N° 1, el porcentaje de contaminación fue muy bajo llegando a 0% en los tratamientos T6 y T12 y alcanzando el 40% en el tratamiento T2 y 33.3% en el tratamiento T7.

Gráfico N° 1. Porcentaje de contaminación de microestacas de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.



4.2. OXIDACIÓN

La variable oxidación fue evaluada hasta la 14^{va} semana, durante ese tiempo las microestacas de *Morinda citrifolia* L. no sufrieron alteración por efectos de la oxidación.

4.3. FORMACIÓN DE BROTES

Cuadro N° 1. Análisis de Varianza de la variable Formación de Brotes en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	2,017 ^a	11	,183	1,235	,267
Intersección	120,050	1	120,050	808,893	,000
ANA	,994	3	,331	2,234	*,086
AG ₃	,133	2	,067	,449	,639
ANA * AG ₃	,889	6	,148	,998	,428
Error	24,933	168	,148		
Total	147,000	180			
Total corregida	26,950	179			

R cuadrado = .075 (R cuadrado corregida = .014)

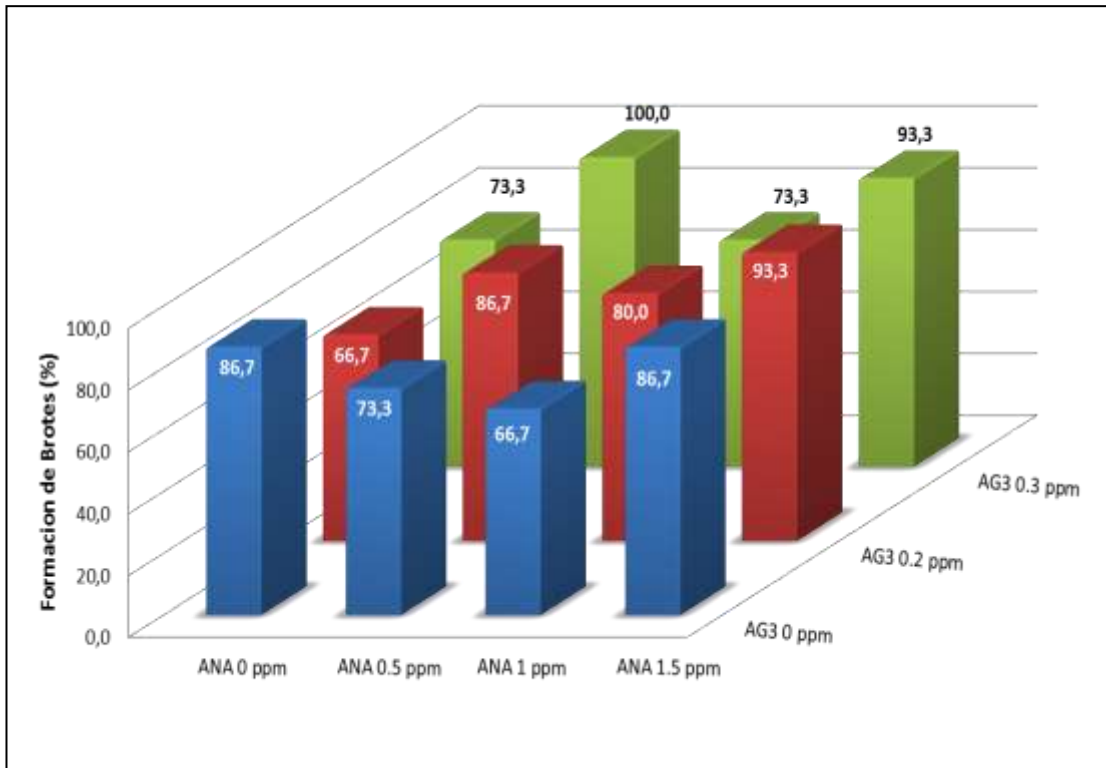
En el Cuadro N° 1, se puede apreciar el Análisis de Varianza de la variable Formación de Brotes donde el Factor ANA es significativo con respecto a la formación de los brotes en las microestacas de *Morinda citrifolia* L. y los Factores AG₃ y la interacción de los factores ANA*AG₃ no son significativos para esta variable.

Cuadro N° 2. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Formación de Brotes en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de ANA		N	Subconjunto
			1
DHS de Tukey	1 ppm	45	,73
	0 ppm	45	,76
	0,5 ppm	45	,87
	1,5 ppm	45	,91
	Sig.		,131

Al realizar la Prueba de Tukey para determinar mediante el análisis de las medias, la concentración adecuada de ANA que influyó en la variable Formación de Brotes se puede apreciar que en el Cuadro N° 2, la concentración de ANA adecuada para la formación de brotes es 1.5 ppm.

Gráfico N° 2. Porcentaje de la Variable Formación de Brotes en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.



En el Gráfico N° 2, se aprecia el porcentaje de Formación de Brotes de las microestacas de *Morinda citrifolia* L. donde se observa que los mejores porcentajes de formación de brotes se da en las interacciones con las concentraciones de ANA a 1.5 ppm.

4.4. FORMACIÓN DE RAÍZ

Cuadro N° 3. Análisis de Varianza de la variable Formación de Raíz en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	6,044a	11	0,549	2,623	0,004
Intersección	74,756	1	74,756	356,788	0,000
ANA	3,422	3	1,141	5,444	**0,001
AG ₃	,844	2	0,422	2,015	*0,137
ANA * AG ₃	1,778	6	0,296	1,414	0,212
Error	35,200	168	0,210		
Total	116,000	180			
Total corregida	41,244	179			

a. R cuadrado = .147 (R cuadrado corregida = .091)

El Análisis de Varianza del Cuadro N° 3, indica que los factores independientes ANA y AG₃ fueron significativos para la formación de raíz de las microestacas de *Morinda citrifolia* L. Para determinar el tratamiento adecuado y la concentración de la hormona que estimula la formación de raíz se procedió a realizar la Prueba de Tukey.

Cuadro N° 4. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Formación de Raíz en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de ANA		N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey	0 ppm	45	0,42	
	0,5 ppm	45	0,67	0,67
	1 ppm	45		0,69
	1,5	45		0,80
	Sig.		0.059	0.513

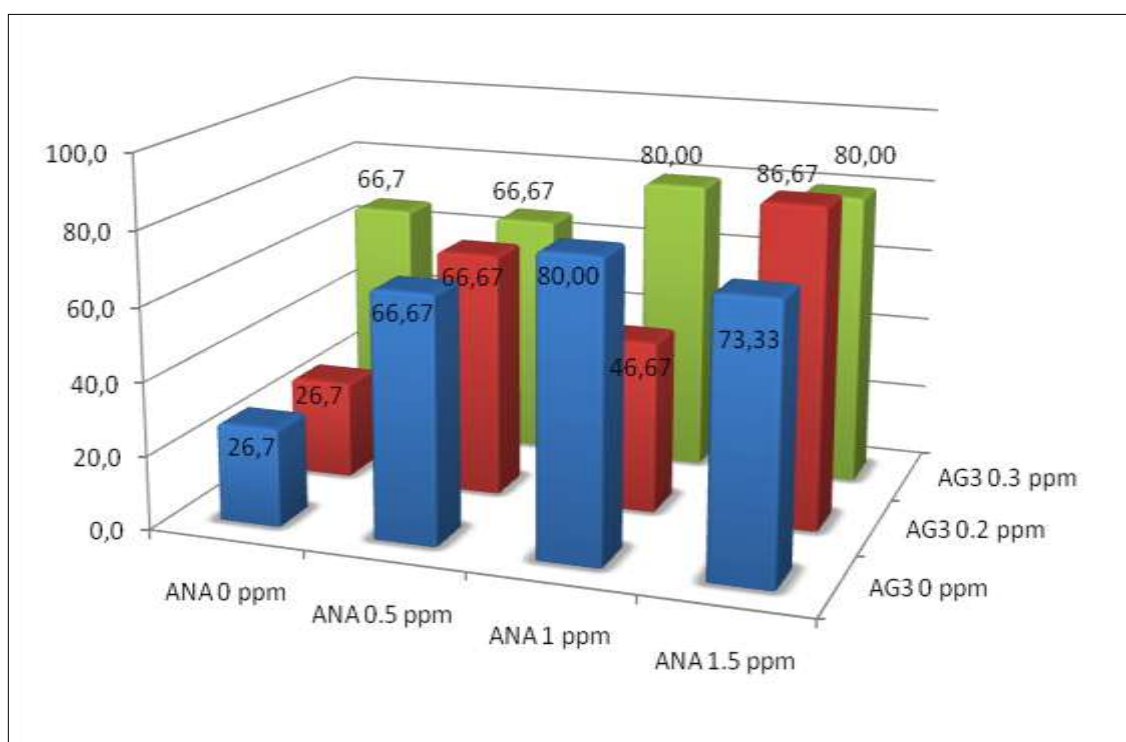
Al realizar la Prueba de Tukey, en el Cuadro N° 4, se puede observar que para el Factor ANA la mejor concentración que influyó en la formación de raíz fue de 1.5 ppm.

Cuadro N° 5. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG₃ en la variable Formación de Raíz en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de AG ₃		N	Subconjunto
			1
DHS de Tukey	0,2 ppm	60	0,57
	0 ppm	60	0,63
	0,3 ppm	60	0,73
	Sig.		,497

Con respecto al Factor AG₃, en el Cuadro N° 5, se puede observar que no existe diferencias significativas entre los factores considerando que la concentración 0.3 ppm obtuvo el mejor resultado.

Gráfico N° 3. Porcentaje de la Variable Formación de Raíz en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.



En el Gráfico N° 3, podemos apreciar la interacción de los factores con respecto al porcentaje de Formación de Raíz, donde la interacción de ANA 1.5 pm * AG₃ 0.2 ppm es considerado como el mejor tratamiento con 86.67% de formación de raíz.

4.5. LONGITUD DEL BROTE

Cuadro N° 6. Análisis de Varianza de la variable Longitud del Brote en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	12,723 ^a	11	1,157	2,894	,002
Intersección	156,632	1	156,632	391,850	,000
ANA	1,986	3	,662	1,656	,178
AG ₃	5,871	2	2,935	7,343	**,001
ANA * AG ₃	4,866	6	,811	2,029	*,064
Error	67,154	168	,400		
Total	236,509	180			
Total corregida	79,877	179			

a.R. cuadrado = .159 (R cuadrado corregida = .104)

En el Cuadro N° 6, se observa el Análisis de Varianza de la variable Longitud del Brote donde se puede apreciar que el factor AG₃ resultó muy significativo para esta variable y el factor formado por la interacción de ANA*AG₃ resulto significativo. El factor ANA no resultó significativo para esta variable.

Cuadro N° 7. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Longitud del Brote en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de ANA		N	Subconjunto	
			1	
DHS de Tukey	1 ppm	45		,8207
	0,5 ppm	45		,8360
	1.5 ppm	45		1,0242
	0 ppm	45		1,0504
	Sig.			,315

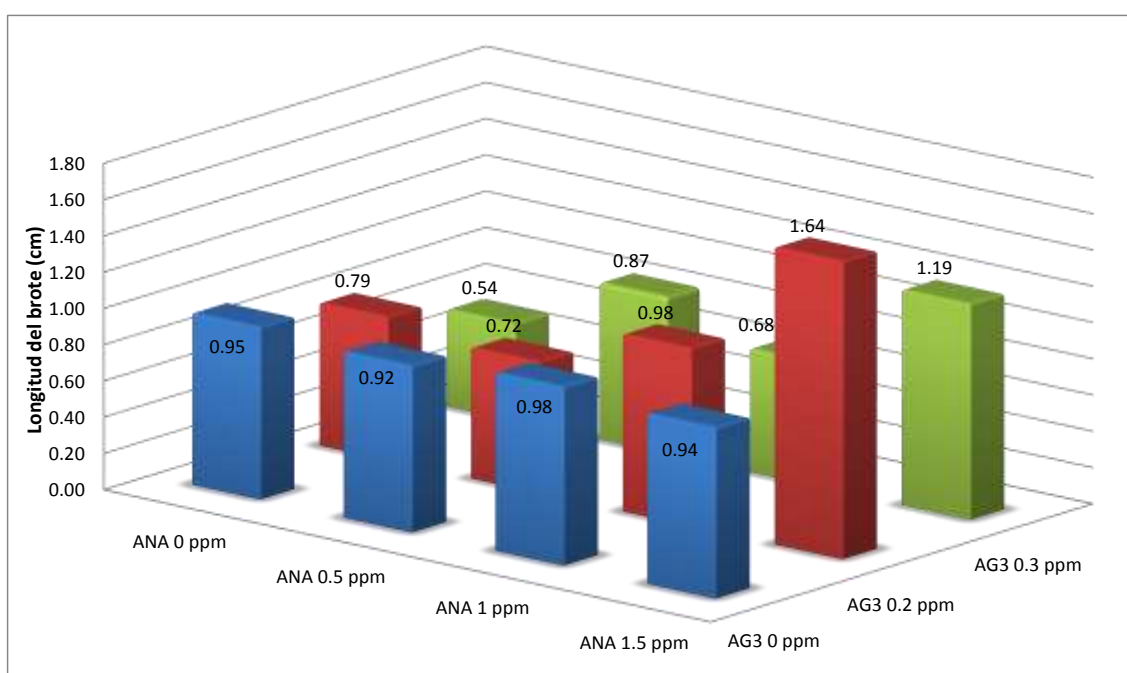
En el Cuadro N° 7, se ha realizado la Prueba de Tukey en base a las medias realizadas en las microestacas de *Morinda citrifolia* L., donde se observa con respecto al factor ANA que la concentración que resultó más óptima fue en aquellos tratamientos donde no existía ésta hormona, es decir ANA a concentración de 0 ppm.

Cuadro N° 8. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG₃ en la variable Longitud del Brote en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de AG ₃		N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey	0 ppm	60	,7570	
	0.3 ppm	60	,8603	
	0,2 ppm	60		1,1812
	Sig.		,644	1,000

En el Cuadro N° 8, con respecto al factor concentración de AG₃, se puede observar que la concentración adecuada fue de 0.2 ppm, seguido de la concentración de AG₃ al 0.3 ppm.

Gráfico N° 4. Crecimiento (cm) en longitud de la Variable Longitud del Brote en microestacas de *Morinda citrifolia* L. sembradas *in vitro* a la 14^{va} semana de evaluación.



El Gráfico N° 4, indica que los tratamientos que alcanzaron mejor crecimiento fue donde interactuaban los factores ANA con una concentración de 1.5 ppm con las concentraciones de AG₃ 0.2 ppm y 0.3 ppm, que alcanzaron un crecimiento de la longitud del brote entre 1.64 cm a 1.19 cm. Los demás tratamientos presentaron crecimiento entre 0.54 cm y 0.98 cm.

4.6. NÚMERO DE BROTES

Cuadro N° 9. Análisis de Varianza de la variable Número de Brotes en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	40,444 ^a	11	3,677	1,849	,050
Intersección	961,422	1	961,422	483,397	,000
ANA	17,333	3	5,778	2,905	*,036
AG ₃	5,211	2	2,606	1,310	,273
ANA * AG ₃	17,900	6	2,983	1,500	,181
Error	334,133	168	1,989		
Total	1336,000	180			
Total corregida	374,578	179			

a. R cuadrado = .108 (R cuadrado corregida = .050)

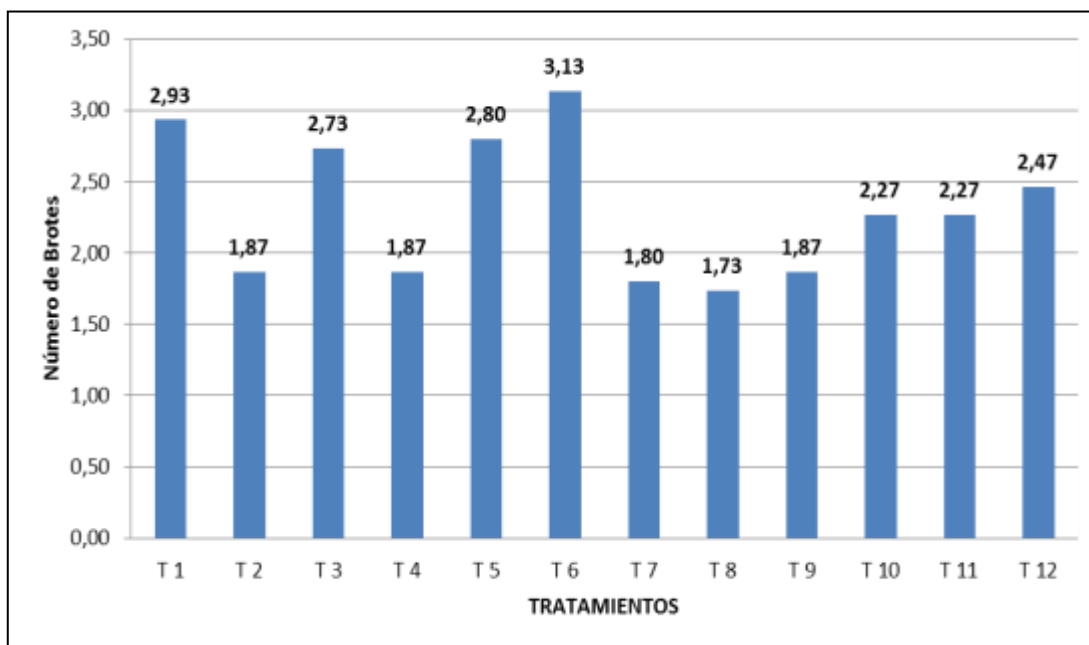
El Análisis de Varianza del Cuadro N° 9, muestra significancia en el Factor ANA para la variable Número de Brotes, siendo no significativos los factores AG₃ y la interacción ANA*AG₃. Es decir para la variable Número de Brotes el Factor ANA fue determinante a comparación de los otros factores.

Cuadro N° 10. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Número de Brotes en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de ANA		N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey	1 ppm	45	1,80	
	1,5 ppm	45	2,33	2,33
	0 ppm	45	2,51	2,51
	0,5 ppm	45		2,60
	Sig.		,083	,806

Al realizar la Prueba de Tukey para comparar las medias con respecto al Factor concentración de ANA (Cuadro N° 10), se puede determinar que existen diferencias significativas entre las medias, considerando la concentración de ANA a 0.5 ppm como la mejor concentración para la variable Número de Brotes.

Gráfico N° 5. Formación en Número de la Variable Número de Brotes en microestacas de *Morinda citrifolia* L. sembradas *in vitro* a la 14^{va} semana de evaluación.



En el Gráfico N° 5, se puede demostrar el efecto del factor ANA sobre la variable Número de Brotes, el tratamiento 6 (T6) - (ANA 0.5 ppm y AG₃ 0.3 ppm) resultó como el mejor tratamiento con respecto a la formación del mayor número de brotes en las microestacas de *Morinda citrifolia* L., ya que formó como promedio 3.13 brotes por microestaca, seguida de los tratamiento T1 con un promedio de 2.93 brotes y T5 con un promedio de 2.80 brotes por microestacas.

4.7. DIAMETRO DE LA PLANTA

Cuadro N° 11. Análisis de Varianza de la variable Diámetro de la Planta en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,226 ^a	11	,021	3,661	,000
Intersección	3,901	1	3,901	695,297	,000
ANA	,036	3	,012	2,122	*,099
AG ₃	,013	2	,007	1,198	,304
ANA * AG ₃	,177	6	,029	5,251	***,000
Error	,943	168	,006		
Total	5,070	180			
Total corregida	1,169	179			

a. R cuadrado = .193 (R cuadrado corregida = .141)

El Cuadro N° 11, muestra el Análisis de Varianza de la variable Diámetro de la Planta donde se aprecia que el factor formado por la interacción de las fitohormonas ANA*AG₃, es altamente significativo para el crecimiento en diámetro de *Morinda citrifolia* L. hasta la 14^{va} semana de evaluación, en cambio el factor ANA es sólo significativo.

Cuadro N° 12. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Diámetro de la Planta en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de ANA		N	Subconjunto
			1
DHS de Tukey	0 ppm	45	,133
	1 ppm	45	,133
	1,5 ppm	45	,158
	0,5 ppm	45	,164
	Sig.		,203

Al realizar la Prueba de Tukey sobre las medias de la variable Diámetro de la planta, se puede apreciar en el Cuadro N° 12, que la mejor concentración de la fitohormona ANA fue de 0.5 ppm, alcanzando un promedio de 0.164 cm de diámetro, el cual influenció el crecimiento en diámetro de las plántulas de *Morinda citrifolia* L.

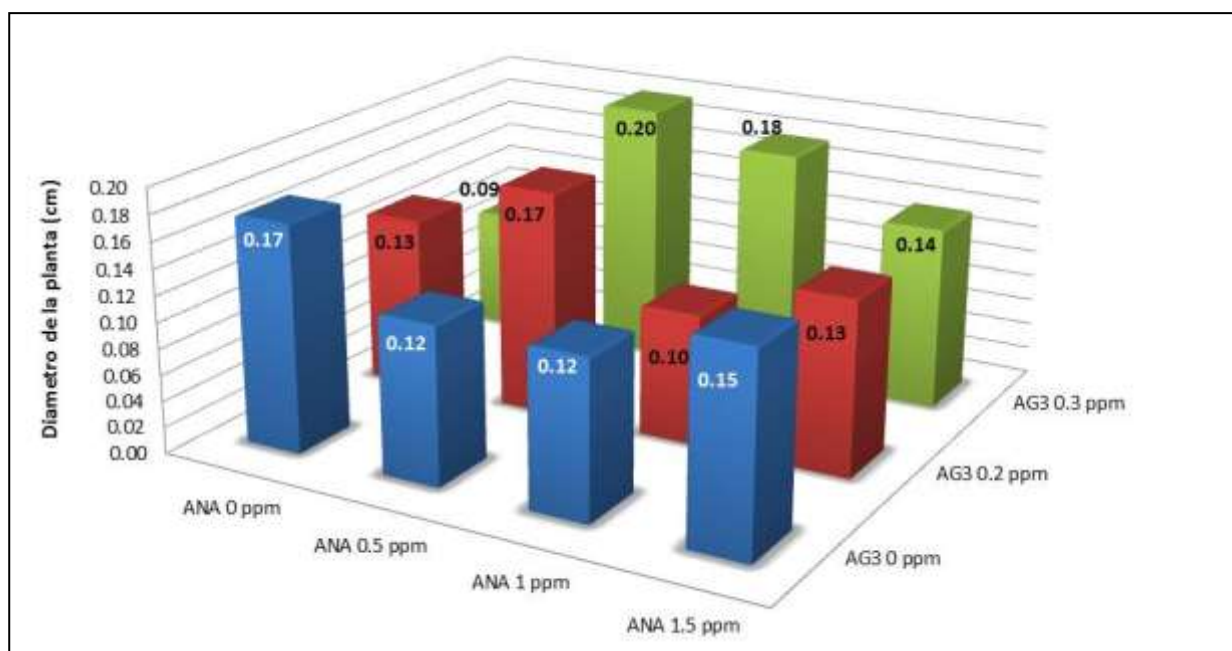
Cuadro N°13. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG₃ en la variable Diámetro de la Planta en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de AG ₃		N	Subconjunto
			1
DHS de Tukey	0,2 ppm	60	,135
	0 ppm	60	,153
	0,3 ppm	60	,153
	Sig.		,375

En el Cuadro N° 13, se observa que la mejor concentración de la hormona AG₃ que influenció el crecimiento en diámetro de las plántulas de *Morinda*

citrifolia L. fue de 0.3 ppm donde la plántulas alcanzaron un promedio de diámetro de 0.153 cm.

Gráfico N° 6. Crecimiento en centímetro de la Variable Diámetro de la planta en microestacas de *Morinda citrifolia* L. sembradas *in vitro* a la 14^{va} semana de evaluación.



El Gráfico N° 6, indica que el tratamiento 6 (T6), en que interactúan las dos fitohormonas, ANA a una concentración de 0.5 ppm y AG₃ a una concentración de 0.3 ppm representa el tratamiento en el cual la variable Diámetro de la planta tuvo su mejor crecimiento alcanzando un promedio de 0.20 cm de diámetro. Los tratamientos con menor crecimiento se suscitaron en el tratamiento T3 (ANA 0 ppm y AG₃ 0.3 ppm) con un promedio de 0.09 cm y el tratamiento T8 con un promedio de 0.10 cm.

4.8. LONGITUD DE LA RAÍZ

Cuadro N° 14. Análisis de Varianza de la variable Longitud de la Raíz en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	21,669a	11	1,970	1,715	0,074
Intersección	268,156	1	268,156	233,487	0,000
ANA	7,906	3	2,635	2,295	**0,080
AG ₃	6,331	2	3,166	2,756	**0,066
ANA * AG ₃	7,431	6	1,239	1,078	*0,377
Error	192,945	168	1,148		
Total	482,770	180			
Total corregida	214,614	179			

a. R cuadrado = .101 (R cuadrado corregida = .042)

El Análisis de Varianza de la variable Longitud de Raíz indicada en el Cuadro N° 14, se puede apreciar que el factor concentración de ANA y el factor AG₃ son significativos para el crecimiento en longitud de la raíz de las microestacas de *Morinda citrifolia* L. Para determinar el tratamiento adecuado y la concentración de la hormona que estimula el incremento de la Longitud de la raíz se procedió a realizar la Prueba de Tukey.

Cuadro N° 15. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Longitud de la Raíz en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de ANA		N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey	0 ppm	45	0,867	
	0,5 ppm	45	1,282	
	1 ppm	45	1,322	1,322
	1,5 ppm	45		1,411
	Sig.		,059	,079

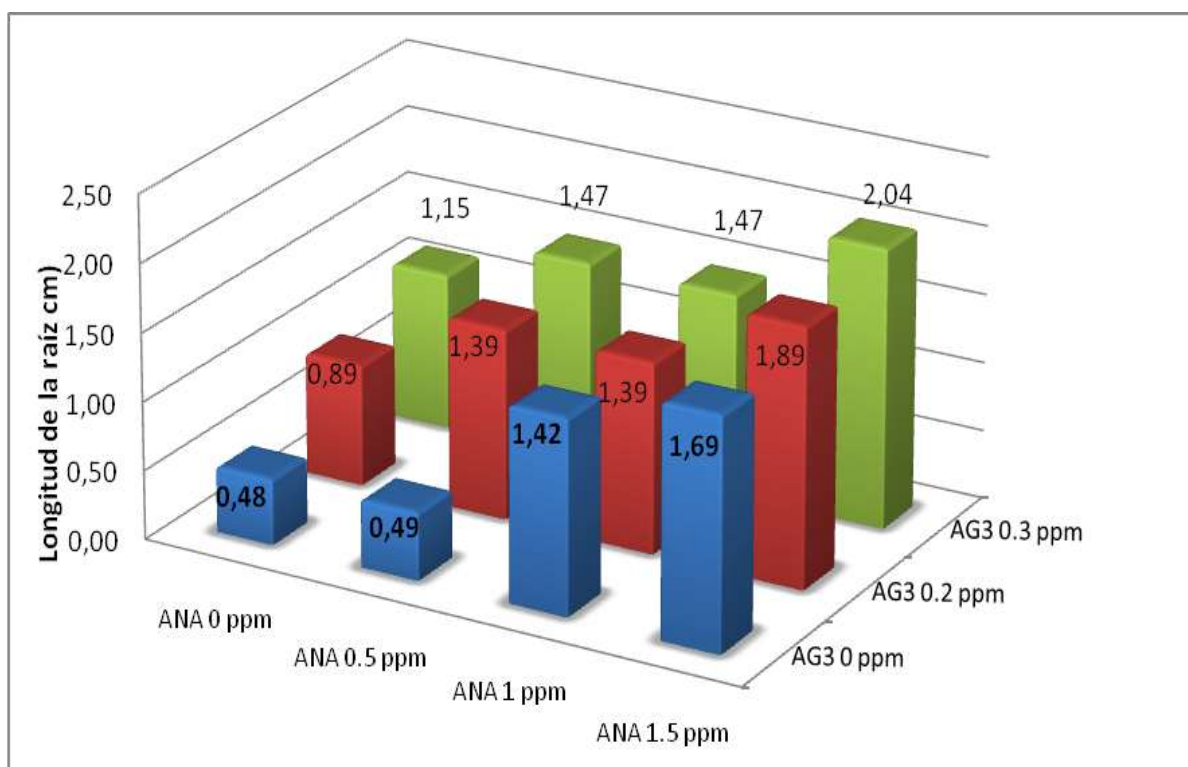
La Prueba de Tukey (Cuadro N° 15), nos indica que existen diferencias significativas entre las medias de la variable Longitud de Raíz, donde los tratamientos con ANA a una concentración de 1.5 ppm han producido la mayor longitud de raíz; así mismo con la concentración de ANA a 1.0 ppm.

Cuadro N° 16. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG₃ en la variable Longitud de la Raíz en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de AG ₃		N	Subconjunto
			1
DHS de Tukey	0,2 ppm	60	1,007
	0 ppm	60	1,192
	0,3 ppm	60	1,463
	Sig.		0,054

En el Cuadro N° 16, se muestra que no existen diferencias significativas entre las concentraciones de la hormona AG₃, obteniéndose que la concentración de AG₃ adecuada para la variable Longitud de Raíz es de 0.3 ppm.

Gráfico N° 7. Crecimiento en centímetro de la Variable Longitud de la Raíz en microestacas de *Morinda citrifolia* L. sembradas *in vitro* a la 14^{va} semana de evaluación.



El Gráfico N° 7, muestra la interacción de las hormonas ANA y AG₃ para la variable Longitud de la Raíz en centímetros. Se puede apreciar que la interacción de ANA a 1.5 ppm con AG₃ 0.3 ppm obtuvo la mayor longitud de raíz (2.04 cm), seguido de la interacción de ANA 1.5 ppm y AG₃ 0.2 ppm (1.89 cm), la interacción de ANA 0.5 ppm con AG₃ 0 ppm fue uno de los tratamientos que tuvieron menor crecimiento de la raíz. La ausencia de las fitohormonas permite la formación de raíces pero en menor proporción.

4.9. NUMERO DE HOJAS POR BROTE

Cuadro N° 17. Análisis de Varianza de la variable Número de Hojas por Brote en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	343,244 ^a	11	31,204	4,159	,000
Intersección	3449,689	1	3449,689	459,752	,000
ANA	181,111	3	60,370	8,046	***,000
AG ₃	,078	2	,039	,005	,995
ANA * AG ₃	162,056	6	27,009	3,600	***,002
Error	1260,567	168	7,503		
Total	5053,500	180			
Total corregida	1603,811	179			

a. R cuadrado = .214 (R cuadrado corregida = .163)

Con respecto a la formación de hojas en los brotes, en el Cuadro N° 17, se puede apreciar el Análisis de Varianza de la variable Número de Hojas por Brote, donde se demuestra que para esta variable, el factor concentración de ANA y la interacción de las concentraciones de las hormonas ANA y AG₃ presentan alta significancia. En cambio el factor de concentración de la hormona AG₃ no es significativa para el aumento del número de hojas en las plántulas de *Morinda citrifolia* L.

Cuadro N° 18. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Número de Hojas por Brote en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de ANA		N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey	1 ppm	45	2,67	
	1,5 ppm	45		4,69
	0 ppm	45		4,98
	0,5 ppm	45		5,18
	Sig.		1,000	,832

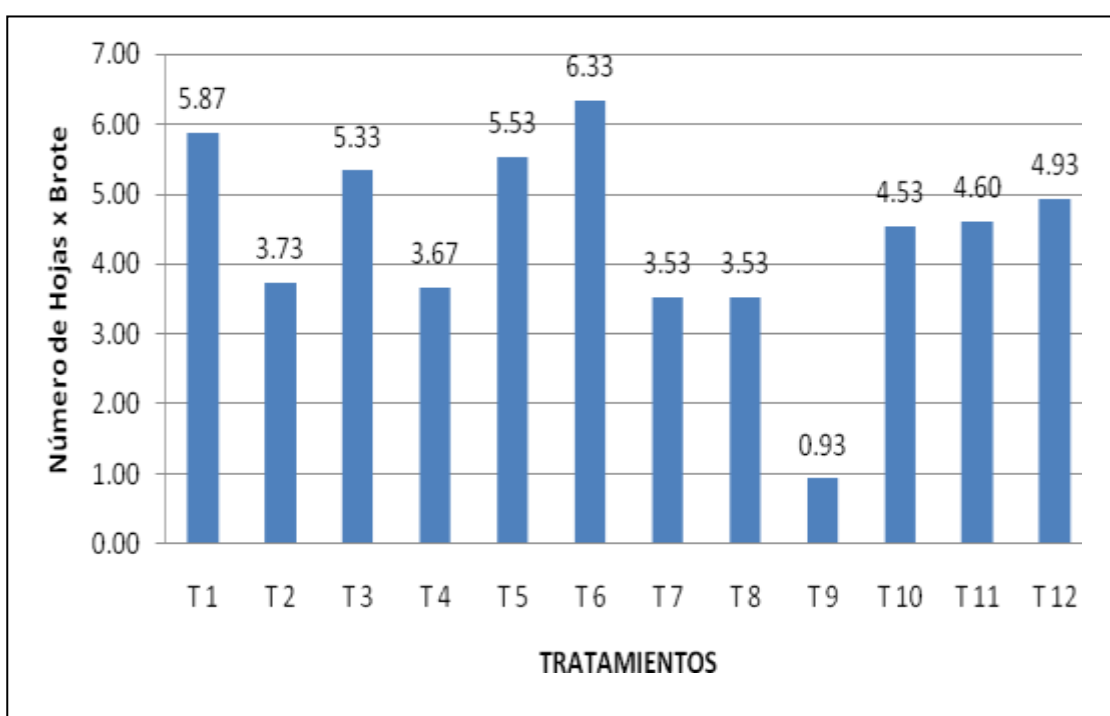
Se realizó la Prueba de Tukey como se puede apreciar en el Cuadro N° 18, donde existen diferencias significativas entre las concentraciones de la hormona ANA. A concentraciones de 0.5 ppm de ANA se obtuvo como promedio de 5.18 hojas por brote, en cambio a concentraciones de ANA de 1 ppm se obtuvo como promedio 2.67 hojas por brote.

Cuadro N° 19. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG₃ en la variable Número de Hojas por Brote en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de AG ₃		N	Subconjunto
			1
DHS de Tukey	0,2 ppm	60	4,35
	0,3 ppm	60	4,38
	0 ppm	60	4,40
	Sig.		,995

En el Cuadro N° 19, no existe diferencia significativa entre las concentraciones de la fitohormona AG₃, se obtuvo como promedio entre 4.35 - 4.40 hojas por brote en las plántulas de *Morinda citrifolia* L.

Gráfico N° 8. Formación en número de la Variable Número de hojas por brote en microestacas de *Morinda citrifolia* L. sembradas *in vitro* a la 14^{va} semana de evaluación.



Como se puede observar en el Gráfico N° 8, el tratamiento que obtuvo mayor número de hojas por brote fue el tratamiento T6 formado por la interacción de ANA (0.5 ppm) y AG₃ (0.3 ppm) alcanzando un número de 6.33 hojas por brote, el tratamiento que obtuvo menor número de hojas por brote fue el tratamiento T9 formado por la interacción de las hormonas ANA (0.5 ppm) y AG₃ (0.3 ppm) que tuvo como promedio 0.92 hojas.

4.10. FORMACIÓN DE CALLOS

Cuadro N° 20. Análisis de Varianza de la variable Formación de Callos en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	4,417 ^a	11	,402	2,994	,001
Intersección	120,050	1	120,050	895,047	,000
ANA	1,528	3	,509	3,797	*,011
AG ₃	,633	2	,317	2,361	,097
ANA * AG ₃	2,256	6	,376	2,803	*,013
Error	22,533	168	,134		
Total	147,000	180			
Total corregida	26,950	179			

a. R cuadrado = .164 (R cuadrado corregida = .109)

El Cuadro N° 20, muestra el Análisis de Varianza de la variable Formación de Callos donde se puede apreciar que existe significancia estadística para los Factores: Concentración de ANA y la interacción de ANA*AG₃ sobre la formación de callos y el Factor Concentración de AG₃ no es significativo para esta variable.

Cuadro N° 21. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Formación de Callos en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de ANA		N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey	0 ppm	45	,73	
	1 ppm	45	,73	
	0,5 ppm	45	,84	,84
	1,5 ppm	45		,96
	Sig.		,477	,477

Al realizar la prueba de Tukey para determinar las concentraciones adecuadas de ANA, se observa en el Cuadro N° 21, que para el factor ANA la mejor concentración para la formación de callos fue de 1.5 ppm, seguido de la concentración de 0.5 ppm. En ausencia de esta hormona (0 ppm) la formación de callos fue mínima.

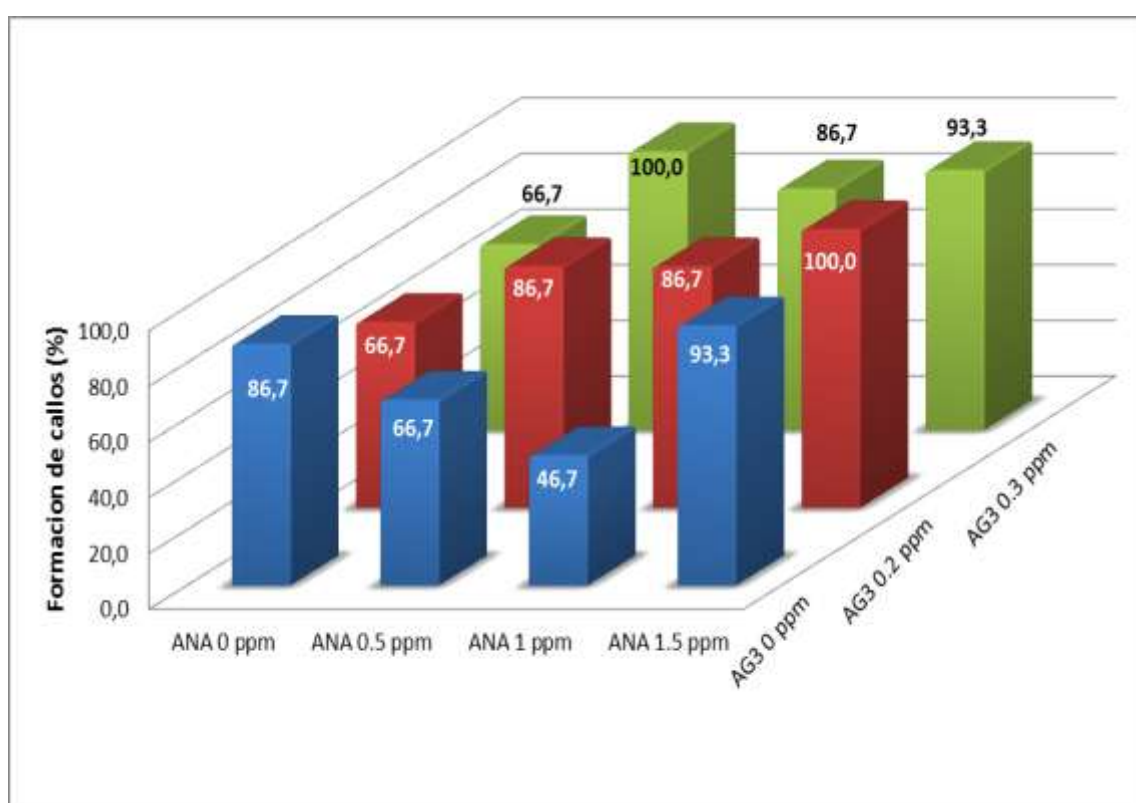
Cuadro N° 22. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG₃ en la variable Formación de Callos en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de AG ₃		N	Subconjunto
			1
DHS de Tukey	0 ppm	60	,73
	0,2 ppm	60	,85
	0,3 ppm	60	,87
	Sig.		,117

En el Cuadro N° 22, en la Prueba de Tukey se determino que la mejor concentración de AG₃ que estimula la formación de callos es 0.3 ppm.

Además indica que la ausencia de esta hormona (0 ppm) produjo un promedio mínimo de formación de callos.

Gráfico N° 9. Porcentaje de la Variable Formación de Callos en microestacas de *Morinda citrifolia* L. sembradas *in vitro* a la 14^{va} semana de evaluación.



Como se aprecia en Gráfico N° 9, en concentraciones de ANA a 1.5 ppm se obtiene mayor porcentaje de Formación de Callos, siendo el tratamiento T11 el que alcanzó el 100 % en formación de callos a una concentración de ANA (1.5 ppm) y AG₃ (0.2 ppm). También el tratamiento T6 alcanzó el 100 % de formación de callos con una concentración de ANA (0.5 ppm) y AG₃ (0.3 ppm) confirmándose el efecto de la hormona AG₃ sobre la formación de callos.

4.11. TAMAÑO DE LA PLÁNTULA

Cuadro N° 23. Análisis de Varianza de la variable Tamaño de la Plántula en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	238,411 ^a	11	21,674	7,399	,000
Intersección	1402,254	1	1402,254	478,687	,000
ANA	30,627	3	10,209	3,485	,017
AG ₃	154,693	2	77,347	26,404	***,000
ANA * AG ₃	53,091	6	8,848	3,021	**,008
Error	492,135	168	2,929		
Total	2132,800	180			
Total corregida	730,546	179			

a. R cuadrado = .326 (R cuadrado corregida = .282)

El Análisis de Varianza realizado con respecto a la variable Tamaño de la Plántula que se indica en el Cuadro N° 23, nos muestra que el factor concentración de AG₃ presenta alta significancia para esta variable, seguido del factor formado por la interacción de las hormonas ANA*AG₃ que es muy significativo para esta variable.

Cuadro N° 24. Prueba de Tukey de las concentraciones de ANA en la variable Tamaño de la Plántula en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de ANA		N	Subconjunto	
			1	2
DHS de Tukey	0 ppm	45	2,518	
	1 ppm	45	2,560	
	1,5	45	2,582	2,582
	0,5 ppm	45		3,504
	Sig.		,998	,055

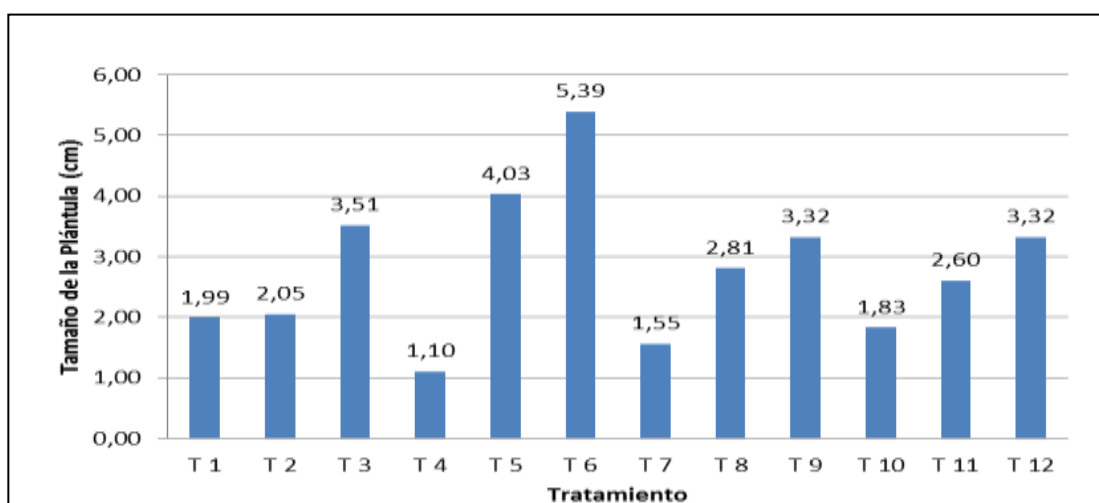
En el Cuadro N° 24, se muestra la Prueba de Tukey sobre el Factor ANA donde se aprecia que existen diferencias significativas entre las medias donde la mejor concentración de ANA con respecto al tamaño de la plántula fue con una concentración de 0.5 ppm. En ausencia de esta hormona (0 ppm) el tamaño de la plántula fue mínima.

Cuadro N° 25. Prueba de Tukey de las concentraciones de AG₃ en la variable Tamaño de la Plántula en microestacas sembradas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. a la 14^{va} semana de evaluación.

Concentración de AG ₃		N	Subconjunto		
			1	2	3
DHS de Tukey	0 ppm	45	1,618		
	0,2 ppm	45		2,870	
	0,3 ppm	45			3,885
	Sig.	45	1,000	1,000	1,000

En el Cuadro N° 25, se muestra la Prueba de Tukey del factor AG₃ existen altas diferencias significativas entre las concentraciones de esta hormona con respecto al tamaño de la plántula. La mejor concentración de AG₃ que estimuló el crecimiento de la plántula fue a 0.3 ppm, en cambio en ausencia de esta hormona (0 ppm) el crecimiento alcanzado fue mínimo.

Gráfico N° 10. Tamaño de la plántula en microestacas de *Morinda citrifolia* L. sembradas *in vitro* a la 14^{va} semana de evaluación.



En el Gráfico N° 10, se puede apreciar el tamaño de las plántulas de *Morinda citrifolia* L. cultivadas *in vitro* hasta la 14^{va} evaluación, donde se observa que el mejor tratamiento que alcanzó una altura promedio de 5.39 cm de longitud fue el tratamiento T6 que estaba formado por las concentraciones de ANA (0.5 ppm) y AG₃ (0.3 ppm), seguida del tratamiento T5 conformada por las concentraciones de hormonas de ANA (0.5 ppm) y AG₃ (0.2 ppm) que alcanzó una longitud promedio de 4.03 cm. El tratamiento T4 alcanzó el menor promedio en longitud (1.10 cm).

V. DISCUSIÓN

5.1. Efectos de Concentración del Ácido Naftalen Acético (ANA)

Los efectos del ácido naftalenacético (ANA), en el enraizamiento de *Morinda citrifolia* L., fue evaluado considerando como tratamientos las concentraciones de 0; 0.5; 1.0; y 1.5. A la 14^{va} semana, se determinaron que los mayores efectos de ANA sobre las variables formación de brotes, formación de raíz, longitud de raíz y formación de callo, fueron a una concentración de 1.5 ppm.

Estos resultados comparte con lo reportado por **Muñoz & Reyes (2006)**, quienes en el cultivo *in vitro* de *Rubus glaucus*, utilizaron reguladores de crecimiento (ANA y AIA) a diferentes concentraciones, los cuales presentaron una mayor producción de raíces, donde el Ácido Naftalenacético (ANA) obtuvo un 93% de plantas enraizadas contrapuesto al AIA con un 43%.

También se concuerda con **Medeiros et, al. (2009)**, quienes al evaluar el efecto de tres reguladores de crecimiento (AIA, AIB y ANA), en el enraizamiento de *Uncaria tomentosa*; se determinó que los mayores porcentajes de enraizamiento se observaron en las concentraciones de 2.0 m/l de AIB (79.1%) y ANA (70.8%), las demás variables no presentaron diferencias estadísticas.

Del mismo modo se coincide con **Mogollón de Lucena & Gil de Serpa (2008)**, quienes en el cultivo *in vitro* de *Mussaenda erythrophylla* utilizaron ANA a diferentes concentraciones (1, 2, 4, 8 y 10 ppm), donde a 1, 2 y 4 ppm, obtuvieron 21, 25 y 21% de formación de brotes y raíces. Al aumentar las concentraciones (8-10 ppm), las raíces se hacían más cortas y muy gruesas y la proliferación de callo fue mayor.

En otro trabajo, no se relaciona con lo mencionado por **Vidales (2002)**, quien en el enraizamiento *in vitro* de brotes de *Persea americana*, utilizó ANA a concentraciones bajas donde generalmente no obtuvo formación

de raíces, excepto, utilizando ANA a concentraciones de 0.3 mg/l obtuvo un 16.67% de enraizamiento.

Del mismo modo, no compatibilizamos con lo reportado por **Subramani et. al. (2007)**, quienes reportaron que la concentración adecuada en el enraizamiento *in vitro* de *Morinda citrifolia* fue a una concentración menor de 0,5 mg/l de ANA, produciendo gran cantidad de raíces. **G. de Garcia & Rafael (1989)**, quienes en el cultivo de *Coffea arabica* L. al utilizar ANA a una menor concentración (0.5 mg/l), se incrementó el porcentaje de brotes.

Al igual que no se concuerda con lo reportado por **Liendo y Mogollón (2009)**, quienes en el enraizamiento de brotes de *Anthurium andraeanum*, añadieron al medio de cultivo ANA a concentraciones de 0.1mg/l obteniendo un incremento en el número de raíces (5.49) y longitud de raíz (2.59cm); puesto que en el presente trabajo se obtuvo una mayor producción y formación de raíces a un nivel de 1.5 ppm.

Por lo tanto, esta respuesta advierte que para obtener el enraizamiento *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. es necesario la adición de la fitohormona ANA a 1.5 ppm.

Ya que dentro de los principales efectos que provocan las auxinas en las plantas, se encuentra la formación de raíces, regula el crecimiento, estimula el desarrollo y formación de hojas (**Arditti, 1982**).

Por lo que la adición de auxinas al medio de cultivo promueve la formación de callo, pero en la etapa de enraizamiento es un factor que no debe presentarse, ya que por ser un tejido de consistencia mucilaginosa, dificulta la manipulación de las plántulas en el momento del trasplante.

Por lo que se debe tener en cuenta la dosis de auxina adicionada al medio de cultivo. (**Litz & Jarret, 1993**).

5.2. Efectos de Concentración del Ácido Giberélico (AG₃)

Los efectos del Ácido Giberélico (AG₃), en el enraizamiento de *Morinda citrifolia*, fue evaluado considerando como tratamientos las concentraciones de 0; 0.2 y 0.3. A la 9ª semana se determinaron que los mayores efectos de AG₃ sobre las variables formación de brotes, formación de raíz, longitud de raíz y formación de callo, fue a una concentración de 0.3 ppm.

Estos resultados congenian con **Van Braga & Pierik (1971)**, quienes en el cultivo de *Rubus glaucus*, se establecieron y enraizaron a niveles sumamente bajos (0.2 mg/l) de AG₃. En la mayoría de los cultivos, los niveles de AG₃ superiores a 1.0 mg/l son tóxicos, en este caso las giberilinas deberían utilizarse en niveles bajos. La Giberilina (AG₃) es importante en el cultivo de tejidos vegetales ya que presenta un espectro de actividad biológica muy variado, ya que este puede producir una elongación extraordinaria del tallo (**Hurtado & Merino, 1994**).

De otro lado, también se comparte con lo reportado por **Alvarenga (2010)**, quienes en el establecimiento *in vitro* y cultivos de células de *Uncaria tomentosa*, obtuvieron un buen incremento en la formación de brotes y tamaño de plántulas al utilizar 0.5 mg/l de AG₃. Al igual que lo mencionado por **Kochba et. al. (1974)**, quienes en la propagación clonal en *Coffea arabica*, reportaron que la presencia de ácido giberélico en el medio de cultivo permite el inicio de una zona de la raíz, pero cuando se aplica a altas concentraciones, previene la formación de raíces. Puesto que en el presente trabajo se obtuvo una mayor formación de raíces y brotes a un nivel bajo de AG₃ (0.3 ppm).

Por lo tanto, la adición de la fitohormona AG₃ en concentraciones de 0.3 ppm, es necesario para el enraizamiento *in vitro* de *M. citrifolia* L. "noni", puesto que a concentraciones más bajas o más elevadas no producen buenos resultados.

5.3. Efectos de las Interacciones entre el Ácido Naftalen Acético (ANA) y Ácido Giberélico (AG₃).

Los efectos de las interacciones de Ácido Naftalenacetico y Acido Giberélico (ANA* AG₃), en el enraizamiento de *Morinda citrifolia* L., se determinaron a la 14^{va} semana, donde los mayores efectos de ANA* AG₃ sobre las variables formación de brotes, formación de raíz, y formación de callo, se dieron en las interacciones de los factores A4B2 (ANA 1.5 ppm*AG₃ 0.2 ppm) con promedios de 93%, 86.6% y 100% y la variable longitud de raíz, con un promedio de 1.89cm.

En un estudio similar, no se relaciona con lo reportado por **(Díaz, 2010)**, quien en el estudio del efecto del medio de cultivo y niveles de concentración de dos fitorreguladores (BAP y ANA) en el crecimiento de microestacas de *M. citrifolia* L. “noni”, obtuvo los mayores promedios en longitud de raíz al utilizar el medio de cultivo M&S al 50 % de su concentración, 0.0 ppm (BAP) y 0.5 ppm (ANA) con valores de 1.427 mm; y 0.0 ppm (BAP) con 0.0 ppm (ANA) con valor de 1.413 mm.

En otros resultados, no se congenia con los que obtuvieron **Gajakosh et al. (2010)**, quienes obtuvieron una mayor formación de raíz de *Morinda citrifolia* L. a una mayor concentración de ANA y BAP a 5.0 mg/L.

Del mismo modo, no se coincide con lo reportado por **Jimenez et al. (2009)**, quienes obtuvieron una notable inducción de callos en *Solanum tuberosum*, al combinar ANA y AG₃ a concentraciones de ANA 0.2 mg/l + AG₃ 1.0 mg/l, obteniendo un promedio del 100%. En ausencia de ANA se obtuvo un promedio bajo (16%). Puesto que en el presente estudio, se logró formar callos al 100% pero a concentraciones más altas de las fitohormonas (ANA 1.5 ppm*AG₃ 0.2 ppm).

VI. CONCLUSIONES

- Los mayores efectos del Ácido Naftalen Acético (ANA), sobre el enraizamiento de *Morinda citrifolia* L. se obtuvieron a un nivel de concentración de 1.5 ppm.
- Los mayores efectos del Ácido Giberélico (AG₃), sobre el enraizamiento de *Morinda citrifolia* L. se obtuvieron a un nivel de concentración de 0.3 ppm.
- Los mayores efectos de las interacciones entre las fitohormonas ANA + AG₃, se obtuvieron a concentraciones de 1.5 ppm (ANA) + 0.2 ppm (AG₃) en las variables formación de brotes (93.3%), formación de raíz (86.6%) y longitud de raíces (1.89cm).
- El efecto de las concentraciones de ANA y AG₃, fueron notables, existiendo un efecto significativo en el incremento de sus concentraciones, es decir, a medida que se aumentaron las dosis en ambas fitohormonas, se obtuvo un mayor enraizamiento; puesto que a concentraciones mucho más elevadas producen la inhibición en el enraizamiento *in vitro*.
- Para obtener el enraizamiento *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. “noni”, es necesario la aplicación de ambas fitohormonas (ANA y AG₃) a concentraciones de 1.5 ppm (ANA) con 0.2 ppm (AG₃) y el medio de cultivo M&S a la mitad de su concentración (50%).

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar el enraizamiento de microestacas de *Morinda citrifolia* L. a partir de plántulas establecidas *in vitro*.
- Las plántulas obtenidas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. deben manipularse cuidadosamente para disminuir el porcentaje de contaminación de las microestacas.
- Realizar estudios en la fase de aclimatación de plántulas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L.
- Instalar una parcela demostrativa para controlar su comportamiento en el campo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALASEI, J. 1988.** La Madera Crece en el Laboratorio Interciencia. 13 (4):201.
- ALVARENGA VENUTOLO, SILVANA. 2010.** Establecimiento *in vitro* y Cultivo de Células de la “uña de gato” (*Uncaria tomentosa*) (Willd.) D.C. Centro de Investigación en Biotecnología. Escuela de Biología. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago-Costa Rica. Vol. 23, N° 5, Número Especial 2010, Pp. 24-33. Disponible en: http://www.sbfv.org.br/congresso2009/trabalhos/tema/crescimento_e_de_senvolvimento/final_509.pdf. Consultado el 15/09/11.
- ARDITTI J., 1982.** Clonal Propagation of Orchids by Means of Tissue Culture _ A Manual. Pag. 203 – 293. En: Arditti (editor) Orchid Biology: Reviews and Perspectives Vol. I Croneli University Press. Ithaca, New York.
- BIDWEL; R. G. C; 2000.** Fisiología Vegetal. Primera edición. Editor AGT. México D.F.
- CASTILLO, ALICIA. 2007.** Propagación de Plantas por Cultivo *in vitro*: Una Biotecnología Que Nos Acompaña Hace Mucho tiempo. Instituto Nacional de Investigación Agraria “Las Brujas”. Unidad de Biotecnología. Paysandú-Uruguay.
- DÁVILA, F. S; 2000.** Determinación del método de colección y conservación *in vitro* del grano de polen de camu-camu (*Myrciaria dubia*) Mc Vaugh, Iquitos – Perú. 80 pp.
- DEVLIN, R. M. 1980.** Fisiología Vegetal. Tercera Edición. Traducido por X. Llimosa Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. 517 p.

DÍAZ JARAMA, FELICIA. 2010. Efecto de Medio de Cultivo (Murashige y Skoog, 1962) y niveles de concentración de dos fitorreguladores: Acido Bencilamino Purina (BAP) y Ácido Naftalen Acético (ANA), en el crecimiento de microestacas de *Morinda citrifolia* L. (noni) provenientes de plántulas establecidas *in vitro*. Tesis para optar el título de Magíster. Iquitos-Perú. UNAP. 125 pp.

FONTURBEL, F. 2001. Micropropagación de un cultivo perenne. Revista Biológica. 6 pp.

G. DE GARCIA, EVA; RAFAEL, MARGARITA. 1989. Propagacion Clonal de Plantas de café (*Coffea arabica* L. 'Catimor') a partir de Microesquejes cultivados *in vitro*. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Centro de Botánica Tropical. Caracas-Venezuela.

GAJAKOSH, A. M.; M. JAYARAJ, G. V.; MATHAD AND P. V. PATTAR. 2010. Organogenesis from Shoot Tip and Leaf Explants of *Morinda Citrifolia*, L. An Important Medicinal Tree Department of Botany, Karnataka University, Dharwad-580003. Libyan Agriculture Research Center Journal Internation 1 (4): 250-254, India.

GALLETTI, M. 2003. Mejoramiento y Genética Forestal. Disponible en: http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/agric/forest/forest_genetica.htm. Consultado el 21/05/2010.

GOVAERTS, RAFAEL. 2011. World Checklist Of Selected Plant Families. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens. Disponible en: http://www.species.wikimedia.org/wiki/Morinda_citrifolia. Consultado el 28/03/11.

GÓMEZ, M; HUARANCA R. 1997. Establecimiento *in vitro* de *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc. Vaugh. Tesis para optar el título de Biólogo. Iquitos-Perú. UNAP. 52 pp.

HURTADO, D. M Y MERINO, M. E. 1994. Cultivo de Tejidos Vegetales. Trillas S.A. de C.V. México. 233 pp.

IMAN, C. S; 1996. Bancos de Germoplasma Vegetal. Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología. Estación Experimental. San Roque – INIA - Iquitos. Mecanografiado. 19 pp.

JIMÉNEZ BARRETO, JENNY PAOLA; CHAPARRO, ALEJANDRO; BLANCO, JENNIFER. 2009. Evaluación de Diferentes Combinaciones Fitohormonales en la Regeneración de *Solanum tuberosum* (Solanaceae) Var. Pastusa Suprema a partir de Explantes Internodales. Grupo Ingeniería Genética de Plantas, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. Disponible en: <http://www.redalyc.uaemex.mx/pdf/436/43627201.pdf>. Consultado el 15/09/11.

JUDD, W. S., C. S. CAMPBELL, E. A. KELLOGG, P. F. STEVENS, AND M. J. DONOGHUE. 2002. Plant Systematics: A Phylogenetic Approach. 2nd Edition. Sinauer Associates Inc. Publishers Sunderland Massachusetts U.S.A. 576 pp.

KOCHBA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C. H.; KOCHBA, M. 1974. Stimulation of rooting of citrus embryoids by gibberelic acids and adenine sulphate. Annals of Botany, London, v. 38, n. 157, p. 795-802,

LIENDO, MARIELY; MOGOLLÓN, NORCA. 2009. Multiplicación Clonal *in vitro* del Anturio (*Anthurium andraeanum* Lind. c.v. Nicoya). Revista Científica BIOAGRO. Vol. 21 (3): 179-182. Universidad Centrooccidental “Lisandro Alvarado” (UCLA). Barquisimeto-Venezuela. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/pdf/ba/v21n3/art05.pdf>. Consultado el 15/09/11.

LITZ, R. E.; JARRET, R. L. 1993. Regeneración de Plantas en el Cultivo de Tejidos: Embriogénesis Somática y Organogénesis. en: Cultivo de

Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Cali, Colombia: CIAT, pp. 143-172.

LOAYZA, 2003. La planta del “noni”. Un trabajo de que belleza. Disponible en: <http://jwww.geocities.com/quebelleza2003/plantanoni1.htm>. Consultado el 26/07/2009.

MANZANERA, J.A., PARDOS J.A. 1990. Micropropagation of Juvenile and Adult *Quercus suber* L.” *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 21: 1-8. Disponible en: http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento_2004/Mogollon%20et%20al.pdf. Consultado el 11/09/2009.

MEDEIROS VASCONCELOS, JANAINA; CORDEIRO LIMA, ÍTALO AUGUSTO; FERNANDES CHOCOROSQUI, ALANA; BELTRÃO TEIXEIRA, RENATA; RAPOSO, ANDRÉA. 2009. Efeitos Dos Reguladores de Crescimento AIA, AIB e ANA No Enraizamento *in vitro* de *Uncaria tomentosa*. XII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal “Desafios Para Produção de Alimentos e Bioenergía”. Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular. Fortaleza. CE-Brasil. Disponible en: http://www.sbfv.org.br/congresso2009/trabalhos/tema/crescimento_e_de_senvolvimento/final_433.pdf . Consultado el 15/09/11.

MEDINA, M. 2005. Organismos vegetales. Fundamento de la Organografía Vegetal. Disponible en: http://www.unizar.es./departamentos/bioquímica_biología/docencia/FMBvirtual/micropropagación/Micvegetai.htm. Consultado el 08/07/2009.

MEJÍA, A. R. 1994. Propagación Comercial. 312 Especies de plantas por cultivo *in vitro*. Agro biotecnología. Fundamentos y aplicaciones 364 pp.

MEJÍA K. & RENGIFO E. 2000. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. 2ª Edición. Lima-Perú. AECI/IIAP. 286 pp.

MELO-FARIAS, P. C.; PETERS, J. A.; NAKASU, B. H. 1998. Micropropagación de Orta-enxerto de *Pereira Old Homex Farmingdale*. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, Vol.. 2, Nº. 2, Pp. 71-78.

MOGOLLON DE LUCENA, NORCA y GIL DE SERPA, MARÍA. 2008. Propagación de *Mussaenda erythrophylla* Schum Y Thonn, `Rosea' mediante cultivo *in vitro*. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Barquisimeto. Venezuela. Disponible en:http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento_2008/Mogollon%20et%20al.pdf. Consultado el 21/05/2010.

MUÑOZ, Q. ILEANA F. Y REYES SANDINO. HEIDY J. 2006. Efecto de Reguladores de Crecimiento, L-Cisteína y Ácido Ascórbico en el Cultivo *in vitro* de "mora de castilla" (*Rubus glaucus* Benth). Universidad Nacional Agraria. Managua-Nicaragua. Pp 38. Disponible en: <http://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf01m967.pdf>. Consultado el 15/09/11.

PALACIOS MONTENEGRO, MIGUEL A. 2005. Poder curativo y nutricional del "noni" *Morinda citrifolia* L. "La Fruta Milagrosa" 6ta Edición. Editorial Ediciones "Miguel Ángel". Lima-Perú. 75 pp.

PIERIK, R. 1990. Cultivo *in vitro* de las Plantas Superiores. 3ª Edición. Editorial Mundi-Prensa. Madrid-España. 326 pp.

PINEDO, F. S. 1998. Propagación *in vitro* de la uña de gato. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Iquitos-Perú. UNAP.58 pp.

ROCA, W.; MROGINSKI, L. 1991. Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones. Cali-Colombia. CIAT. 969 pp.

ROCA, W.; MROGINSKI, L. 1999. El Cultivo de Meristemo de Yuca. Guía de estudio. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali. Colombia. 40p.

RODRÍGUEZ DE LA O, J L; ALFIE, L; AGUILAR D N. M. 2009. Obtención y Multiplicación *in vitro* de Brotes de Tallo de “noni” *Morinda citrifolia*. Universidad Autónoma de Chapingo. Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Fitotecnia. Chapingo-México, D.F. Disponible en: <http://www.somech.com.mx/.../memoria%20-%20fruticultura%2039.pdf>. Consultado el 22/06/10.

SOMOYA, K., P. NARAYANASWAMY Y K. JAYAPRASAD. 2000. Micropropagation studies in *Anthurium andraeanum* Lind. Karnataka Journal of Agricultural Science. 11(2): 466-470.

SUBRAMANIS, J; ANTONY SELVARAJ D; VIJAY, M. SAKTHIVEL; UMASHANTHI, M. 2007. Micropropagation in vitro of *Morinda citrifolia*. Crop Research Division of WNRF, INRF, Chennai, Tamilnadu, India - 600 119.

TAKAHASHI, N. 1986. Chemistry of Plants Hormones. “Boca raton”. Fla.: CRC. Disponible en: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmac_euticas/apbot-farm2c/evanswc01/11.html Press Inc. Consultado el 15/04/2011.

VAN BRAGA, J. Y PIERIK, R. L. M. 1971. The Effect of Autoclaving on the Gibberellins Activity of Aqueous Solutions Containing Gibberellin AG3. Misc. Papers. Landbouwhoge School Wageningen. 9: 1-147.

VIDALES FERNÁNDEZ IGNACIO. 2002. Efecto de los Reguladores de Crecimiento en los Procesos de Organogénesis y Embriogénesis Somática del “Aguacate” *Persea americana* Mill. Tesis para optar el Título de Doctor en Ciencias: Área Ciencias Agrícolas y Forestales. Universidad de Colima. Tecomán, Colima – México. Disponible en: http://www.avocadosource.com/WAC4/WAC4_p231.pdf. Consultado el 22/06/10.

WIKIPEDIA, LA ENCICLOPEDIA LIBRE, 2007. *Morinda citrifolia* L. “noni”.
Disponible en: <http://www.es.wikipedia.org/wiki/Morinda-citrifolia>.
Consultado el 12/06/2010.

ZEGARRA CARBAJAL. H. L. 2008. Aplicación de diferentes fitorreguladores en cuatro tipos de Explantes para el establecimiento *in vitro* de *Plukenetia volúbilis* L. “sacha inchi” - Iquitos. Tesis para optar el Título de Ing. Agrónomo. 76 Pág.

PÁGINAS DE INTERNET:

1. http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/crecimiento_vegetal/). Consultado el 25/07/2009.
2. <http://www.wagroweb.blogspot.com>. (2009). Consultado el 25/07/2009.

IX. ANEXOS

Anexo Nº 1. Composición del Medio de Cultivo Murashige & Skoog (1962)

MACRONUTRIENTES:

<u>Componentes:</u>	<u>Cantidad (mg/L)</u>
NH NO ₃	1650
KNO ₃	1900
KH ₂ PO ₄	170
Mg SO ₄ 7H ₂ O	370
Ca Cl ₂ 2H ₂ O	440

MICRONUTRIENTES:

<u>Componentes:</u>	<u>Cantidad (mg/L)</u>
KI	0.83
H ₃ BO ₃	6.20
MnSO ₄ 7H ₂ O	22.30
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8.60
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ 6H ₂ O	0.025

FIERRO:

<u>Componentes:</u>	<u>Cantidad (mg/L)</u>
Fe SO ₄ 7H ₂ O	27.80
Na -EDTA 2H ₂ O	37.30

VITAMINAS:

<u>Componentes:</u>	<u>Cantidad (mg/L)</u>
Tiamina HCl	0.10
Ac. Nicotínico	0.50
Pyridoxina	0.50
Glicina	2.00

Fuente: Roca & Mroginski (1991)

Anexo N° 2. Composición de las Soluciones Stock (mg/l).

SOLUCIÓN “A”

<u>Componentes:</u>	<u>Cantidad (mg/L)</u>
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440
KH ₂ PO ₄	170
KI	0.83
H ₃ BO ₃	6.20
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.30
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.60
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025

SOLUCION “B”

<u>Componentes:</u>	<u>Cantidad (mg/L)</u>
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370

SOLUCION “C”

<u>Componentes:</u>	<u>Cantidad (mg/L)</u>
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.80
Na ₂ EDTA	37.30

SOLUCION “D”

<u>Componentes:</u>	<u>Cantidad (mg/L)</u>
Glicina	2.00
Tiamina	0.10
Piridoxina	0.50
Ac. Nicotínico	0.50

Anexo Nº 3. Glosario

Hormonas o fitorreguladores

El término "hormona" procede de una palabra griega (hormaein) que significa excitar. No obstante, hoy se sabe que muchas hormonas tienen efectos inhibitorios. De modo que en lugar de considerar las Hormonas como estimuladores, quizá sea más útil considerarlas como reguladores químicos. Se conocen cinco grupos principales de hormonas vegetales o fitohormonas: las auxinas, las citocininas, las giberelinas, el etileno y el ácido abscísico; todas ellas actúan coordinadamente para regular el crecimiento en las diferentes partes de una planta.

(<http://www.euita.upv.es/varios/biologia/programa.htm>).

Auxina.

Grupo de reguladores de crecimiento de plantas, natural o sintético y que estimula la división celular, alargamiento, dominancia apical iniciación de la raíz y floración.

Callo.

Tejido celular parenquimatoso (masa de células vegetales, meristemáticas y tumoroides sin organización interna aparente, que se origina mediante proliferación de un explante parental en continuidad protoplasmática.

Cámaras de cultivo

Gabinete de luz y temperatura controlada, similar a un fitotron, a veces también con control de humedad relativa, tiene la iluminación en el lado superior y normalmente sin divisiones el interior

Citocinina.

Nombre genérico para un grupo heterogéneo de plántulas y péptidos solubles que actúan como regulador hormonal a concentraciones extremadamente pequeñas y que, tanto en condiciones normales como patológicas modulan las actividades funcionales de células individuales y tejidos.

Cultivo de tejido.

Término muy usado frecuentemente como generalizador para descubrir cualquier tipo de cultivo aséptico de protoplasto, células, tejidos, órganos, etc. Manteniendo por más de 24 horas *in vitro*.

Estaca.

Planta que se separa de una planta y que puede ser inducida, al recibir el tratamiento adecuado, a reproducirse la planta completa.

Esterilización.

Proceso de eliminación de microorganismos, contaminantes sea por calor seco (horno) calor húmedo (Autoclave) o en frío por sustancias desinfectantes, filtración, radiación, ionización, etc.

Explante.

Fragmento o tejido excisado de material parental (tejido u órgano) para iniciar un cultivo.

Giberilina (GA3)

Grupo de sustancias reguladora de crecimiento, actuando sobre la elongación del tallo.

Medio.

Mezcla de determinada sustancia, con o sin gelificación, sobre el cual crecen los explantes, normalmente consiste de combinación de los elementos esenciales en forma de sales inorgánicas y fuente de nitrógeno reducido y regulador de crecimiento, para su uso se esterilizan en autoclave o por filtración a través de filtros de papel mili porosos.

Micropropagación.

Multiplicación miniaturizada *in vitro* y/o regeneración del material vegetal bajo condiciones ambientales controladas y asépticas.

Plántula.

Pequeño vástago enraizada, regenerada de un cultivo celular mediante embriogénesis u órgano génesis. Las plantas pueden desarrollarse en plantas normales cuando se transplantan al suelo.

Regulador de crecimiento de plantas.

Compuesto orgánico natural o sintético, sin funciones nutritivas, que modifica y controla uno o más procesos fisiológicos específicos de la planta.

Anexo Nº 4. Ficha de Evaluación

ESPECIE: *Morinda citrifolia* L.
 MEDIO DE CULTIVO : M&S ¹/₂

FECHA DE SIEMBRA:.....
 FECHA DE EVALUACION:.....

Nº TRATAMIENTO.....
 Nº. REPETICIONES.....

No.	Contaminación	Oxidación	formación de brote	Formación de raíz	Longitud de brote (mm)	Nº. de brotes	Diámetro de la planta (mm)	Longitud de raíz (mm)	Nº. de hojas por brote	Formación de callo	Observaciones
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											

0 = No contaminó

0 = No oxidó

0 = No enraizó

0 = No formó brote

0 = No formó raíz

1 = Contaminó

1 = Oxidó

1 = enraizó

1 = brotó

1 = formó raíz

Anexo N° 5. Abreviaturas empleadas

ANVA	:	ANÁLISIS DE VARIANZA
F.V.	:	FUENTE DE VARIACIÓN
G.L	:	GRADO DE LIBERTAD
S.C	:	SUMA DE CUADRADO
C.M	:	CUADRADO MEDIO
F	:	FRECUENCIA
PROB.	:	PROBABILIDAD
SIG.	:	SIGNIFICANCIA

Anexo N° 6. Lista de Fotografías

Foto N° 1. Plántulas establecidas *in vitro* de *Morinda citrifolia* L. “noni”

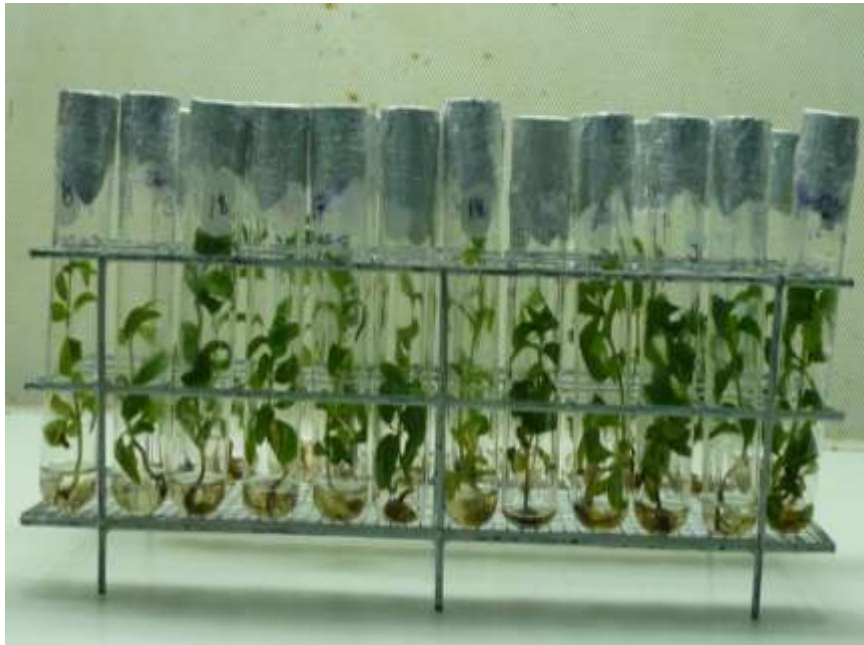


Foto N° 2: Plántula selecta de *Morinda citrifolia* L. “noni”



Foto Nº 3: Seccionamiento de las plántulas de *Morinda citrifolia* L. “noni”



Foto Nº 4: Segmentos de microestacas de *Morinda citrifolia* L. “noni”



Foto N° 5: Preparación del medio de cultivo M&S con las fitohormonas ANA y AG3



Foto N° 6: Microestacas sembradas de *Morinda citrifolia* L. “noni”

