

UNIVERSIDAD DE SONORA

DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA Y GANADERIA

PROPAGACION DE VARIEDADES Y PORTAINJERTOS
DE VID (Vitis Sp.) POR CULTIVO DE TEJIDOS Y SU USO
POTENCIAL EN PRUEBAS DE SALINIDAD
IN VITRO

TESIS DE MAESTRIA EN CIENCIAS

GLORIA IRMA AYALA ASTORGA

1995

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

PROPAGACION DE VARIEDADES Y PORTAINJERTOS
DE VID (Vitis Sp.) POR CULTIVO DE TEJIDOS Y SU USO
POTENCIAL EN PRUEBAS DE SALINIDAD
IN VITRO

SOMETIDA A CONSIDERACION DEL
DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA Y GANADERIA
DE LA
UNIVERSIDAD DE SONORA
POR

GLORIA IRMA AYALA ASTORGA

TESIS
PRESENTADA COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN
HORTICULTURA

Esta tesis se realizó bajo la dirección del Consejo Particular
y aceptada como requisito para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
HORTICULTURA

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR:


DR. JAIME MARTINEZ TELLEZ

ASESOR:


DR. DAMIAN MARTINEZ HEREDIA

ASESOR


MS. SERGIO GARZA ORTEGA

Hermosillo, Sonora, Septiembre de 1995

DEDICATORIA

A mis tres Amores: Bernardo, Edgardo y Gloria Irma, por ser mis Grandes Motivos de vivir.

A Bernardo, por su Comprensión e Invaluable Apoyo.

A mis padres Isabel y Aurelio, por su Cariño y Colaboración.

A mis hermanos: Víctor, Roberto, Jesús Salvador, Manuel Ezequiel, Rosa Esthela, José Aurelio y Bernardo, por conservar nuestra Unión Fraternal.

A mis compañeros de la maestría: Marina Arvayo, Raúl Romo, Rodolfo Nevarez, Romualdo Bojórquez y Virginia Fernández, porque en cada uno de ellos puedo encontrar: Un Amigo.

AGRADECIMIENTOS

Manifiesto mi mas profundo Agradecimiento a Aquél por quien todo fue hecho. A Dios, por Iluminarme y permitirme terminar el presente trabajo..

A mi querida Alma Mater. La Universidad de Sonora, por existir y darme la oportunidad de Superación.

Al CICTUS, por brindarme el apoyo para la realización de los estudios de maestría y la culminación de ellos.

Al personal del CICTUS que colaboró para la realización de este trabajo: A Alejandro Castellanos, Carlos Yocupicio, Carlos Aguirre, Jesús Ortega, Gilberto Solís, Jesús Meza V. Así como a las alumnas Luz Raquel Bourne M. y Liliana Ruíz López.

A Jesús A. Márquez C. del CIRNO (CIANO Costa de Hermosillo), Santiago Vega, del Depto. de Agricultura y Ganadería de la Universidad de Sonora, así como a Carlos Herrera C.y Ricardo Herrera C. del viñedo Don Carlos de La Costa de Hermosillo, por las facilidades brindadas para la recolección de muestras de vid.

A los maestros de la maestría en Horticultura, por transmitirme sus conocimientos y experiencias: Marco Antonio Terán R., Daniel Díaz M., Eduardo Canseco, Pedro Luis Ibarra y muy especialmente a Alfredo Serrano no solo por su gran apoyo para el análisis estadístico del presente trabajo, sino por su responsabilidad, dedicación y profesionalismo que demostró siempre.

A los asesores: Damián Martínez H. y Sergio Garza O. por su cuidadosa revisión en este escrito y a Jaime Martínez T. por su valiosa colaboración y dirección en este trabajo.

CONTENIDO

	Página
CARTA DE APROBACION	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
CONTENIDO	v
INDICE DE CUADROS	vii
INDICE DE FIGURAS	viii
INDICE DE ILUSTRACIONES	ix
OBJETIVOS	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xiii
Capítulo	
I. INTRODUCCION	1
II. LITERATURA REVISADA	4
1 Generalidades	4
2 Plagas y enfermedades.	5
3 Malezas	6
4 Productos	6
5 Propagación in vitro	7
6 Etapas en la multiplicación	9
7 Cultivo de tejidos	11
7.1 Sacarosa	12
7.2 Carbón activado	13
7.3 Vitaminas	13
8 Reguladores de crecimiento	14
8.1 Citocininas	14

	página
8.2 Giberelinas	17
9 Salinidad	18
10 Efecto de suelo salino sobre vides	21
11 Cultivo de tejidos de vid	22
III. MATERIALES Y METODOS	30
1 Localización del material biológico	30
2 Desinfestación	30
3 Siembra	31
4 Incubación	31
5 Medios de cultivo	31
6 Pruebas de salinidad	34
7 Diseño experimental	34
8 Análisis de resultados.	35
9 Reguladores de crecimiento utilizados	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	37
1 Variedades	37
1.1 Promedio de crecimiento	37
1.2 Porcentaje de proliferación	39
1.3 Vigor	44
1.4 Callo	44
1.5 Enraizamiento	44
2 Portainjertos	46
2.1 Promedio de crecimiento	46
2.2 Porcentaje de proliferación	49
2.3 Vigor	51
2.4 Callo	51
2.5 Enraizamiento	51
2.6 Resultados de salinidad	53
2.7 Análisis estadístico	57
V. CONCLUSIONES	66
VI. LITERATURA CITADA	70

INDICE DE CUADROS

Cuadros	Página
1. Composición de las sales de Murashige y Skoog.	32
2. Substancias orgánicas adicionadas en el medio de cultivo.	33
3. Porcentaje de proliferación de las variedades Thompson Seedless, Perlette, Flame Seedless y Superior en cuatro semanas de incubación.	43
4. Porcentaje de enraizamiento de las variedades Thompson Seedless y Perlette y los portainjertos Salt Creek y 1613 en ocho semanas de incubación.	47
5. Porcentaje de proliferación de los portainjertos Salt Creek, Dog Ridge, 1613 y Harmony en cuatro semanas de Incubación.	52
6. Promedio de crecimiento (cm) de yemas de Perlette y Superior en la interacción de 6-bencilaminopurina con la variedad.	59
7. Promedio de crecimiento (cm) de yemas de Perlette y Superior en la interacción de ácido giberélico con la variedad.	60
8. Interacción de 6-bencilaminopurina con ácido giberélico	61
9. Promedio de crecimiento (cm) en la Interacción de los portainjertos Dog Ridge y 1613 con 6-bencilaminopurina.	63
10. Promedio de crecimiento (cm) en la Interacción de los portainjertos 1613 y Harmony con ácido giberélico.	64
11. Interacción de 6-bencilaminopurina con ácido giberélico entre portainjertos.	65

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Fórmulas estructurales de la 6- bencilaminopurina y el ácido giberélico.	16
2. Promedio de crecimiento (cm) de las variedades Thompson, Seedless, Perlette, Superior y Flame Seedless en cuatro semanas de incubación.	38
3. Porcentaje de proliferación de las variedades Thompson Seedless, Perlette y Superior en cuatro semanas de Incubación.	41
4. Promedio de crecimiento (cm) de los portainjertos Salt Creek, Dog Ridge, 1613 y Harmony en cuatro semanas de incubación.	48
5. Porcentaje de proliferación de los portainjertos Salt Creek, Dog Ridge, 1613 y Harmony en cuatro semanas de Incubación.	50
6. Porcentaje de sobrevivencia de la variedad Thompson Seedless y el portainjerto Harmony con cloruro de sodio in vitro.	55
7. Porcentaje de sobrevivencia de la variedad Thompson Seedless y el portainjerto Harmony con cloruro de sodio en suelo comercial para invernadero (peat moss).	56

INDICE DE ILUSTRACIONES

ILUSTRACION	Página
1. Variedad Superior mostrando diferentes crecimientos a las cuatro semanas de incubación.	40
2. Variedad Thompson Seedless presentando desarrollos distintos de las muestras in vitro en cuatro semanas de incubación.	42
3. Variedad Thompson Seedless mostrando un tipo de enraizamiento obtenido.	45
4. Variedad Thompson Seedless mostrando los distintos resultados obtenidos con cloruro de sodio y suelo comercial para invernadero (peat moss) in vitro.	54
5. Portainjerto Harmony mostrando las diferencias en las respuestas con cloruro de sodio y suelo comercial para invernadero (peat moss) in vitro.	58

OBJETIVOS

1. Desarrollar una metodología para la proliferación de yemas laterales de cuatro variedades y cuatro portainjertos de vid por cultivo de tejidos in vitro.
2. Desarrollar una metodología rápida para evaluar el comportamiento de la vid en condiciones de salinidad.

PARTICULARES

1. Estudiar el efecto de la 6-Bencilaminopurina y el Acido Giberélico en diferentes concentraciones, efectuando combinaciones con ellos sobre la proliferación de yemas y sobre la producción de plantas completas "in vitro", en cuatro portainjertos y cuatro variedades de vid.
2. Evaluar el comportamiento de la variedad y el portainjerto en presencia de cloruro de sodio en el medio de cultivo a diferentes concentraciones.
3. Evaluar el comportamiento de variedades y portainjertos establecidos en un medio de suelo adicionado con cloruro de sodio.

RESUMEN

La producción de uva en la región enfrenta serios problemas que limitan su potencial productivo; la utilización de materiales con adaptación a factores limitantes como son calidad de suelo y agua, presencia de patógenos y clima, son esenciales para desarrollar el potencial productivo de la vid.

El uso de herramientas como el cultivo de tejidos permitiría una evaluación preliminar rápida para seleccionar variedades y portainjertos con mayores posibilidades de adaptación y a su vez propagar rápidamente el material para su evaluación en el campo.

En este trabajo, se buscó adaptar la metodología de cultivo de tejidos existente para las variedades (Thompson Seedless, Flame Seedless, Perlette y Superior) y los portainjertos (Salt Creek, Dodge Ridge, 1613 y Harmony) tratando de obtener un buen rendimiento en la producción de plantas completas in vitro y someterlas a presión de selección en presencia de cloruro de sodio; para lo cual se trabajó con el medio de cultivo de Murashige y Skoog conteniendo sustancias orgánicas en diferentes concentraciones y reguladores de crecimiento vegetal: (0.0, 0.5×10^{-5} , 1.0×10^{-5} y 1.5×10^{-5} M) de 6-Bencilaminopurina y (0.0, 1.0×10^{-6} , 1.25×10^{-6} y 1.5×10^{-6} M) de ácido giberélico, efectuando combinaciones con cada una de las concentraciones, para observar sus efectos sobre la proliferación de yemas e inducción a planta completa in vitro. El material vegetal, se recolectó en La Costa de Hermosillo, se llevó a cabo la inoculación de las yemas en los medios de cultivo, se incubaron bajo condiciones controladas y posteriormente se observó su crecimiento.

El análisis de varianza de los resultados se efectuó para el promedio de crecimiento de las yemas a las cuatro semanas de incubación durante la primera fase y arrojó resultados altamente significativos para todos los factores e interacciones entre ellos en las variedades y resultados estadísticamente significativos para los portainjertos. A las ocho semanas de incubación la variedad Thompson Seedless en la concentración de 0.5×10^{-5} M de BAP presentó 48% de planta completa in vitro y el portainjerto Harmony en las concentraciones de 0.5×10^{-5} M de BAP y 1.5×10^{-6} M de ácido giberélico, presentó 100% producción de tallos en la primera fase; Para la segunda fase del experimento, se utilizó esta variedad (Thompson Seedless) y este portainjerto (Harmony), se efectuaron las pruebas de salinidad in vitro con 0.0, 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4% de NaCl en el medio de cultivo y también se añadieron esas mismas concentraciones de sal en suelo comercial para uso en invernadero (peat moss) estéril, observando necrosamiento del material vegetal y deformaciones a mayor concentración de cloruro de sodio en un tiempo de cuatro semanas. Durante un tiempo de ocho semanas, muchos de los tejidos habían muerto.

El portainjerto Harmony mostró mayor resistencia que Thompson Seedless en concentraciones de 0.1% de cloruro de sodio en un tiempo de cuatro semanas y se observó una necrosis general en concentraciones mayores hasta 0.4%. Los resultados en medio de cultivo in vitro reflejan mejor el comportamiento en campo que los obtenidos en suelo comercial para uso en invernadero.

ABSTRACT

Grape production in the area faces serious problems that limit their productive potential; the utilization of material with adaptation to limiting factors like quality of the soil and water, presence of pathogens and climate, are essential in order to develop the productive potential of the vine.

The use of tools like tissue culture could permit a preliminary rapid evaluation in order to select varieties and roostocks with good possibilities of adaptation and at the same time spread the material for their evaluation in the field.

In this work, it was aimed to adapt the methodology of tissue culture in use for the varieties and the roostocks used trying to get a good yield in the production of whole plants in vitro and subject them to pressure of selection in presence of sodium chloride; for which it was worked with the medium of culture of Murashige and Skoog containing organic compounds and growth regulators in different concentrations: (0.0, 0.5×10^{-5} , 1.0×10^{-5} and 1.5×10^{-5} M) of 6-benzilaminopurine and (0.0, 1.0×10^{-6} , 1.25×10^{-6} and 1.5×10^{-6} M) of gibberelic acid, performing combinations with each one of the concentrations, in order to observe their performance on the proliferation of buds and induction to complete plants in vitro.

The plant material was collected in The Coast of Hermosillo, Sonora, Mexico. The inoculation of the buds in the mediums of culture was carried out. They were incubated under controlled conditions and was observed their growth subsequently.

The analysis of the variance of the outputs was effected after four weeks of incubation during the first phase for the average of growth of the buds and the results were highly significant in the varieties, for all the factors and interactions and in the roostocks, results were statistically significant. At eight weeks, Thompson Seedless in the concentration of 0.5×10^{-5} M de BAP produced 48% of whole plants and the roostock Harmony in the concentrations of 0.5×10^{-5} M of BAP and 1.5×10^{-6} M of AG produced 100% of shoots in the first phase; utilizing this variety (Thompson Seedless) and this roostock (Harmony), they were effected the salinity test in vitro with 0.0, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4% of sodium chloride in the culture medium and also adding the same concentrations of the salt in sterile peatmoss, observing necrosis of the material and deformations of the leaves at all concentration of the sodium chloride at a time of four weeks; at time of eight weeks the majority of the tissues had died.

The Harmony roostock showed a better behavior than Thompson Seedless in presence of sodium chloride in a period of four weeks, and a general necrosis was observed in bigger concentrations up to 0.4%. The results in culture medium in vitro reflect in a better way the behavior in field, than the ones obtained in commercial soil for usage in nurseries, indeed it could be utilized like reference for the evaluation of new materials pretending to be introduced.

INTRODUCCION

Debido a la importancia cada vez mas creciente de la fruticultura, es necesario disponer de cultivares mas productores y con mejores posibilidades de adaptación a las condiciones de clima y suelo regionales y al mismo tiempo que produzcan fruta de calidad superior.

El proceso de introducción y evaluación de nuevos cultivares es normalmente lento debido al tiempo requerido para establecer, evaluar, seleccionar, propagar y distribuir los materiales seleccionados de las diferentes especies de interés. Toda acción tendiente a acelerar este proceso, permite una adopción mas rápida de nuevos cultivares de interés en los mercados tanto nacionales como extranjeros.

Definitivamente, la evaluación en campo es un paso imprescindible pero es posible llevar a cabo evaluaciones preliminares en etapas tempranas para reducir tiempo y costos del proceso. Así mismo, una vez efectuada la selección de los materiales, es necesario incrementar en el menor tiempo posible el material vegetal disponible para ser evaluado por el productor y de esa manera ser adoptado definitivamente en la región.

La propagación por métodos tradicionales es muchas veces problemática por lo heterogéneo de las semillas, dormancia, producción limitada, espacio y tiempo.

La propagación in vitro es una herramienta para el mejoramiento de plantas, ya que es posible seleccionar preliminarmente, evaluar y lograr la

multiplicación con una mayor certidumbre de que las características serán muy semejantes a la planta madre, siendo ya una práctica comercial en plantas herbáceas, algunas leñosas y semileñosas.

Entre las especies frutícolas establecidas en el estado de Sonora, la vid ocupa el primer lugar, destinando el mayor porcentaje de la producción para la industria.

El área plantada con uva de mesa tiende a incrementarse, sin embargo, en este cultivo, se han presentado serios problemas de desarrollo vegetativo, estado nutricional deficiente de la planta, mala brotación, baja producción, materiales plantados no adaptados, condiciones de clima y suelo adversos (Angulo et al., 1990). Adicionalmente, debido a la sobreexplotación del manto acuífero, se ha provocado una fuerte intrusión salina que está causando serios daños en los cultivos irrigados en áreas con este problema, limitando el desarrollo, disminuyendo el rendimiento y la calidad de los frutos, principalmente de los cultivos permanentes como lo es la vid (León, 1985).

Por lo anterior, se deben buscar nuevas técnicas tendientes a incrementar la calidad así como el rendimiento de los cultivos. La biotecnología proporciona una herramienta para realizar estudios de adaptación, así como de propagación, por lo cual este trabajo tuvo por objeto probar el efecto de diferentes concentraciones de los reguladores de crecimiento 6-Bencilaminopurina y Acido Giberélico sobre la proliferación de yemas de cuatro variedades y cuatro portainjertos de vid, en una primera fase, después de la cual se logró un medio de

cultivo adecuado para el crecimiento in vitro de dichas variedades y portainjertos.

Durante una segunda fase del trabajo, se realizaron estudios de salinidad utilizando la variedad que produjo el mayor porcentaje de enraizamiento durante la primera fase y el portainjerto que tuvo el mejor porcentaje de proliferación en la primera fase del estudio.

LITERATURA REVISADA

Generalidades

La vid es una planta trepadora de hojas casi redondas, cordadas en la base, de flores blancas. El fruto es la uva, que cambia de color y tamaño según la variedad, del negro hasta el rojizo, verde y ámbar. Contiene taninos, acetato de calcio, savia incolora, ácido péctico, ácido tartárico y ácido cítrico (Hernández y Jorda, 1989). Vitis vinifera, procede de Eurasia donde apareció hace miles de años. Varias especies son originarias de Norteamérica; la denominada Vitis labrusca o Vitis aestivalis que es dura y resistente; y Vitis rotundifera, del sudeste de los Estados Unidos. Las uvas crecen generalmente en vides leñosas o cepas que se desarrollan mediante ramas denominadas sarmientos, si tales ramas no se cortan pueden alcanzar hasta diez metros de longitud. En las regiones áridas forman arbustos y parras. Las hojas son dentadas y en forma de palma. El buen desarrollo de la vid requiere veranos largos, calurosos y secos e inviernos frescos. Se adapta a una gran variedad de suelos: arenosos, arcillosos, calcáreos e incluso de baja fertilidad (Winkler, 1984).

El género botánico Vitis incluye dos subgéneros: Euvitis, o de la vid verdadera y Muscadinia. Las ramas o sarmientos y vástagos de la especie Euvitis tienen una corteza fibrosa con las estrías longitudinales, que se caen al madurar y con zarcillos bifurcados. En contraste, los vástagos de la especie de Muscadinia tienen una corteza apretada, no caediza y con zarcillos simples.

La vid se cultiva en mas de setenta países, siendo las naciones europeas las que tienen mayor producción. En Francia, Italia y España existen cerca de millón y medio de hectáreas productoras de uva. Otras naciones productoras de uva son Turquía, La Unión Soviética , Argelia y Argentina (Winkler, 1984).

El estado de Sonora cuenta con una superficie agrícola de setecientos mil hectáreas, de las cuales el 96% son de riego. Los volúmenes de producción alcanzan los 3.5 millones de toneladas anuales de diversos productos agrícolas, entre los cuales destacan: garbanzo, hortalizas, cártamo, soya, trigo, algodón y maíz. En lo referente a cultivos perennes sobresale la vid y los cítricos (SARH, 1993).

Particularmente en la producción de uva el estado de Sonora ocupa el primer lugar en el país al aportar la mayor parte de la producción nacional. La producción se logra en 488 unidades de producción rural de las cuales 153 son terrenos ejidales, 325 son de tierras de propiedad privada y diez son unidades de producción mixtas.

Las regiones productoras de uva se localizan en la zona centro-norte que comprende La Costa de Hermosillo y El Distrito de Caborca, correspondiéndole, el 81.2% de la producción, con 161,317 toneladas (INEGI, 1991). En La Costa de Hermosillo, se tienen establecidas comercialmente alrededor de once mil hectáreas (Maldonado y Durazo, 1995).

Plagas y enfermedades

La vid es atacada por varias especies de insectos que afecta la calidad de la fruta y por consiguiente, su producción. Entre las principales plagas se encuentran: Chicharritas, trips de la floración y fruto, descarnador de la vid, barrenador de la madera.

Entre las enfermedades mas generalizadas en la región se encuentra la cenicilla polvorienta, causada por el hongo, Uncinula necator (Schw) Burr., pudrición de racimos causada por el hongo Diplodia spp. y pudrición texana, originada por el hongo Phymatotrichum omnivorum (Shear) Dugg.

Los nemátodos que causan daño en la región son: Meloidogyne y Xiphinema.

Malezas

Las malezas que se presentan en el cultivo de la vid son: correhuela, zacate Johnson y zacate bermuda (Raya, 1984).

Productos

Los productos principales de la vid son: vino de mesa, aguardiente, alcohol, uva en fresco, uva pasa, vino y concentrado de jugo (Weaver, 1981).

Propagación in vitro

La micropropagación es la técnica para lograr el desarrollo de plantas nuevas en un medio artificial, en condiciones asépticas, a partir de porciones muy pequeñas de plantas, tales como embriones, semillas, tallos, puntas de ramas, puntas de raíces, callo, células individuales y granos de polen (Hartmann y Kester, 1986). El desarrollo organizado "in vitro", se inicia con cambios en una sola célula, que se activa por factores exógenos y endógenos. La célula activa origina a los meristemoides los cuales interactúan con la célula adyacente para dar origen a los brotes (Villalobos, 1985).

La propagación in vitro es una herramienta para el mejoramiento, ya que se puede lograr la multiplicación de plantas con características semejantes o idénticas a las de la planta madre, siendo ya una práctica comercial en plantas herbáceas y algunas leñosas (Fiorino y Loreti, 1987). Son necesarios modelos basados en las interacciones de los componentes de las plantas para determinar:

- a) Medio ambiente o formas de las plantas que pueden ser modificadas por manipulaciones de los cultivos y
- b) Formas de las plantas que tienen variabilidad para permitir mejoras genéticas.

Las formas de las plantas mecánicamente importantes con potencial limitado para cultivo o manipulación genética ofrece pocas esperanzas para mejoramiento en plantas. Los objetivos en el mejoramiento de plantas dependen de cómo se definan los requerimientos óptimos de las plantas (sobrevivencia contra producción, estabilidad contra máxima producción)

(Olien, 1989). Además, una cuidadosa selección de las plantas madres con la consiguiente manipulación adecuada de los cultivos, puede incrementar significativamente la respuesta de organogénesis (Perea y Navarro, 1988).

El uso de la micropropagación ha aumentado debido a presiones económicas para reducir los costos de producción especialmente para patrones que son difíciles de propagar por prácticas comunes, para satisfacer la demanda de patrones clonales, que cada vez deben de ser mas y mas específicos y para producir gran cantidad de material en un pequeño espacio, establecido a partir de pocas plantas madres (Fiorino y Loreti, 1987), además, se deben conocer las características específicas de los patrones clonales para ser utilizados adecuadamente. El vigor y adaptación a diferentes condiciones de clima y suelo, la resistencia a plagas y enfermedades, la precocidad, productividad, anclaje y facilidad de propagación son rasgos importantes de considerar (Westwood, 1982).

La micropropagación juega un papel importante en la propagación clonal de líneas seleccionadas o para la multiplicación de portainjertos. Las plantas herbáceas son menos difíciles de micropropagar que las plantas perennes. El tejido juvenil es menos difícil que el tejido maduro. El cultivo de estructuras organizadas tales como yemas y meristemas es menos difícil que la regeneración a partir de células o de protoplastos. A pesar de esas dificultades ha habido progresos y la lista de plantas logradas aumenta cada año; sin embargo, aún se requieren entendimientos conceptuales de la genética y biología del desarrollo de la regeneración (Smith y Drew, 1990). Existen tres razones por las cuales los

micropropagadores comerciales de plantas utilizan la micropropagación para la producción de árboles frutales:

- a) La posibilidad de iniciar con un número pequeño de plantas (aún con una).
- b) Es posible multiplicar plantas libres de patógenos en un tiempo corto y en un espacio pequeño.
- c) Es posible ajustar la tasa de producción de acuerdo a las necesidades del mercado, ya que los propágulos cultivados in vitro no dependen del ciclo vegetativo in vivo (Fiorino y Loreti, 1987).

Etapas en la multiplicación

En la multiplicación vegetativa se pueden observar generalmente cuatro etapas, puede ser que cada etapa necesite diferentes condiciones de cultivo, como son cambios de luz, cambios de temperatura, cambios en el medio de cultivo etc.

Cada etapa requiere condiciones particulares en el medio de cultivo, medio ambiente y tipo de inóculo utilizado.

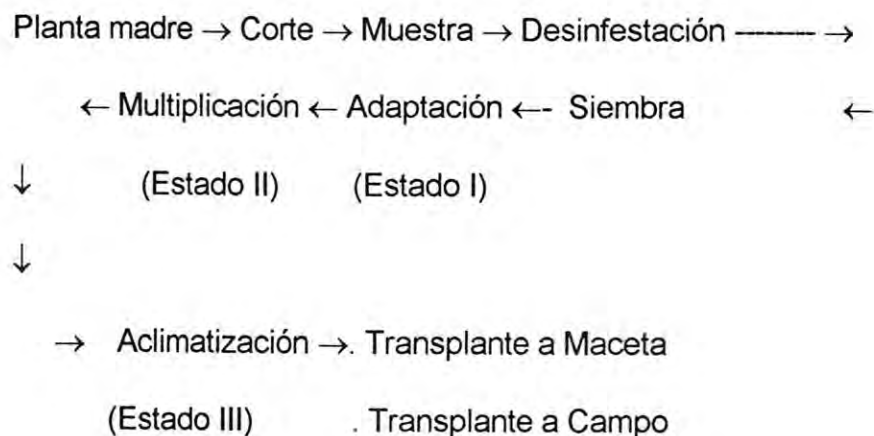
La primera etapa (estado I), es la de adaptación del cultivo, en la cual la muestra inicial se establece en el medio de cultivo. La segunda etapa (estado II), es la etapa de multiplicación del cultivo, en la cual la muestra ya adaptada inicia algún desarrollo ya sea de tallos u otras estructuras. La tercera etapa (estado III), es la de Preparación de la planta obtenida para su transferencia a maceta, esta

etapa comprende el enraizamiento (Vidalie et al, 1986).

El estado I comprende el establecimiento del cultivo aséptico, se requiere que sobreviva el máximo de inóculos y que se logre un rápido crecimiento entre las muestras. El estado II, la idea de este estado es que en los inóculos haya un aumento rápido de órganos u otras estructuras. (Murashige, 1974). En ocasiones las plántulas son transferidas del estado II directamente al suelo, con o sin auxinas y expuestas a alta humedad hasta que logren enraizar. Otras veces se logra el enraizamiento adicionando carbón activado (Kyte, 1990).

Estado III. Comprende la preparación de la plántula para su establecimiento en el suelo. involucra el enraizamiento de los tallos, se imparte alguna tolerancia a la planta al estrés de humedad, le confiere un grado de resistencia a ciertos patógenos y la conversión de la planta del estado heterótrofo al estado autótrofo (Murashige, 1974).

Diagrama representativo de los estados:



Cultivo de tejidos

El término cultivo de tejidos comprende la propagación asexual de células y tejidos de una manera artificial, bajo condiciones asépticas. Se aprovecha la totipotencialidad de las células, las cuales aumentan de tamaño por división celular continua (Hartmann y Kester, 1986).

El propósito de la propagación asexual es producir plantas uniformes de genotipos seleccionados. La propagación vegetativa generalmente asegura que las características deseadas de una planta seleccionada es retenida a través de su clon (Murashige, 1974).

Un cultivo de tejidos se puede iniciar de una diversidad de partes de la planta que tenga tejidos capaces de dividirse, los tejidos cercanos al área vascular de tallos y raíces proliferan mejor, pero se han efectuado cultivos de frutos, endospermo, polen y embriones (Hartmann y Kester, 1986).

Desafortunadamente, la variabilidad en el cultivo de tejidos derivados de plantas se ha utilizado como un marcador de que del cultivo de tejidos siempre se obtendrá una variación genética. Uno de los problemas que se presentan en el cultivo de tejidos es la variación que se ha encontrado entre células y líneas de células (Hartmann y Kester, 1986). Sin embargo, se han propagado gran cantidad de plantas sin la formación primera de callo, ya que se ha observado que la producción de múltiples tallos no es solamente mas eficiente, sino que además las plantas están menos sujetas a la variabilidad genética (Kyte, 1990). La variabilidad genética en plantas regeneradas a partir de los cultivos, puede ser debida

a variaciones genéticas inherentes entre las células del explante, o a la variación inducida por los métodos de propagación in vitro (Templeton y Collins, 1986). Las variaciones en las características regenerativas entre los explantes, son algunas veces atribuidas a las diferencias en su edad fisiológica y el grado de diferenciación entre sus constituyentes celulares (Murashige, 1974).

Es importante que para cada especie de planta que se cultive se deben establecer sus requerimientos especiales de nutrientes y condiciones ambientales (Hartmann y Kester, 1986).

El cultivo de tejidos ofrece para un futuro, mejorar la productividad de los cultivos, combinado con técnicas tan poderosas como la biología molecular de plantas, integrados con prácticas muy bien establecidas de mejoramiento de plantas (Smith y Drew, 1990).

Para poder efectuar la propagación, es necesario proveer al inóculo de sustancias nutritivas que favorezcan su crecimiento, así como un balance hormonal adecuado que promueva el desarrollo de brotes, su multiplicación y el enraizamiento de las plántulas obtenidas. Las sustancias requeridas más comunes que se añaden al medio de cultivo que se va a utilizar, se resúmen a continuación:

Sacarosa

La sacarosa es un azúcar encontrado abundantemente en tejidos de plantas (Kyte, 1990). Es la fuente principal de carbono y energía en los tejidos,

también funciona como osmorregulador, es esencial para la formación de raíces, sin embargo, concentraciones superiores a veinte gr/l limitan el enraizamiento (Dodds y Roberts, 1982). Además de la sacarosa, también se puede utilizar glucosa, lactosa, maltosa, fructosa y galactosa como fuente de carbono (Raquin, 1983).

Carbón activado

El carbón activado se ha utilizado para favorecer el crecimiento de raíces y acelerar el transplante al suelo, absorbe los residuos tóxicos de las auxinas. En manzanas, zarzamoras y otros frutales se han logrado buenos resultados (Gamborg, 1985).

Vitaminas

El complejo de vitaminas B contiene compuestos esenciales para el metabolismo y crecimiento de las plantas (Kyte, 1990). Se han utilizado muchas vitaminas porque pueden estimular procesos específicos de crecimiento, pero la única que ha demostrado ser importante en cultivo de tejidos es la tiamina (Hurtado y Merino, 1987). La piridoxina y el ácido nicotínico en concentraciones de 0.1 a 0.4 mg/l son empleadas también en el medio de cultivo (Dodds y Roberts, 1982).

Reguladores de crecimiento

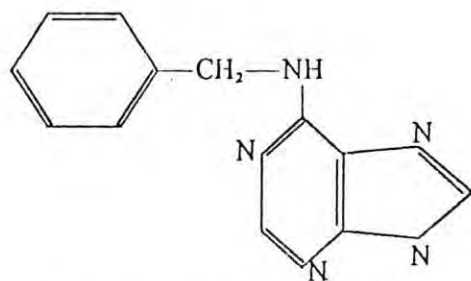
Los reguladores de las plantas se definen como compuestos orgánicos diferentes de los nutrientes que en pequeñas cantidades fomentan, inhiben o modifican de alguna otra forma cualquier proceso biológico vegetal (Weaver, 1990).

Se conocen cinco tipos básicos de reguladores del crecimiento vegetal, divididos en tres grupos principales: Promotores del crecimiento (auxinas, citocininas y giberelinas), inhibidores del crecimiento (ácido abscísico y compuestos fenólicos) y etileno. En cultivo de tejidos vegetales se utilizan solamente los promotores de crecimiento por sus características (Hurtado y Merino, 1987). Algunas veces, el cultivo in vitro ha sido imposible sin la presencia de los reguladores (Pierik, 1987).

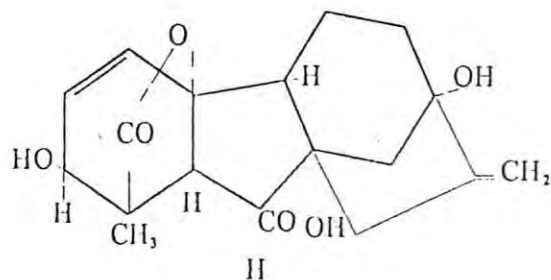
Citocininas

Las citocininas son sustancias que estimulan la división celular, actúan en la formación de brotes y yemas adventicias "in vitro" (Vidalie et al., 1986). Además, promueven el inicio de tallo. Se ha sugerido que una auxina puede reaccionar como una citocinina y una citocinina como una auxina en determinadas condiciones, en cualquier caso es de mucha importancia que el medio de cultivo contenga la proporción correcta y el tipo de regulador de crecimiento adecuado para cada especie de plantas que se desee cultivar (Kyte, 1990). Las citocininas

se concentran en los tejidos con crecimiento activo, ya que los niveles citocinínicos son muy altos en frutos jóvenes en desarrollo, en semillas, embriones, hojas y raíces; estas últimas parece ser la fuente principal de citocinina, desde donde se envían a los brotes. La habilidad de la citocinina de moverse hacia arriba se ha confirmado con experimentos donde se demuestran los efectos sistémicos en el transporte (Hurtado y Merino, 1987). Se necesita citocinina tanto en el inicio como en la continuación de la división celular. Las citocininas provocan la elongación de algunas hojas y de tallos etiolados, retrasan el envejecimiento en tejidos vegetales, su aplicación tiene efecto sobre la dominancia apical. En algunas yemas de frutales, se ha observado que la citocinina pone fin al reposo, en algunas plantas fomentan el desarrollo de estolones y formación de tubérculos. Estimulan el desarrollo de brotes y se oponen al enraizamiento, sin embargo, se han presentado casos en que bajas concentraciones de citocinina estimulan el inicio de raíz. En estacas de vid se ha visto que la aplicación de bencilaminopurina (BAP) estimula el inicio de raíz, pero el efecto puede haber sido indirecto, ya que se había terminado el reposo en yemas, permitiendo que comenzara el crecimiento de brotes. El transporte basipétalo de auxinas producido por los brotes en crecimiento puede haber sido la razón del inicio de raíces. Generalmente las actividades de las citocininas, se correlacionan con la ubicación de las regiones de división celular activa y los períodos de división celular activa. Es probable que las citocininas se sinteticen en las puntas de raíces y se desplacen por el xilema hacia las hojas, donde desempeñan funciones en el metabolismo y en el envejecimiento (Weaver, 1990).



6 - Bencilaminopurina (BAP)



Acido Giberélico (AG)

FIGURA 1. Fórmulas estructurales de la 6-bencilaminopurina y el ácido giberélico.

Se ha reportado a la citocinina altamente efectiva para cultivos de uva in vitro y puede ser efectiva en la promoción de la proliferación del tallo en determinados genotipos (Reich, 1986).

Giberelinas

Las giberelinas son un grupo de sustancias naturales que influyen en el alargamiento celular (Kyte, 1990). Se transportan rápidamente dentro de la planta, en forma acropetal y basipetal (Hurtado y Merino, 1987). Promueven la elongación celular y reprimen la formación de cualquier tipo de tejido organizado (López, 1985), pueden producir una gran elongación del tallo en enanos genéticos, induce floración y desarrollo de los frutos (Rojas y Ramírez, 1985). Incrementan el tamaño de muchos frutos jóvenes como las uvas y los higos, pueden terminar con el reposo de semillas de muchas especies (Weaver, 1990). Son activas en numerosos meristemas (Vidalie et al., 1986).

La aplicación de giberelinas en tallos produce incremento pronunciado de la división celular en el meristemo subapical. Al asperjar plantas con giberelinas, los tallos se vuelven generalmente mucho más largos que lo normal.

Tal vez las giberelinas provocan cambios a nivel genético, que a su vez estimulan la síntesis enzimáticas en células. Las giberelinas provocan la estimulación de la síntesis de ARN en las capas de aleuronas, que puede requerir la expresión de los efectos giberelínicos. Una de las teorías sostiene que las

giberelina tienen relación con la síntesis de ARNm dirigida por el ADN en el núcleo. Actualmente se piensa que las giberelinas modifican el ARN producido en los núcleos y puede así éste ejercer su control sobre la expansión celular, así como de otras actividades del crecimiento y desarrollo vegetal. Estos reguladores de crecimiento, se oponen al inicio de raíz, tal vez impidan la división celular en tejidos maduros, que es un requisito previo necesario para el origen y creación de regiones meristemáticas y la formación de raíces, el efecto de las giberelinas puede ser nutritivo debido a que se estimula el crecimiento de brotes, compitiendo así para la obtención de productos asimilados que requiere el inicio de raíces (Weaver, 1990).

Salinidad

El crecimiento de las plantas es afectado por altas concentraciones de sales solubles en el suelo ó en el agua de riego. Los daños por sales pueden provenir de varias fuentes, como la brisa marina que se presenta en ciertas regiones y afectan a las hojas de las plantas; en las regiones áridas en donde existen los problemas mas serios ya que es difícil la práctica de la irrigación, en esas áreas el agua es frecuentemente de una concentración elevada en sales y con un suelo de drenaje pobre; el manto freático se hace superficial, aumentando la concentración salina en la superficie debido a la evaporación (Bernstein y Hayward, 1958).

En cultivos frutícolas, los síntomas de alta concentración de sales pueden traer como consecuencia una reducción en el tamaño del fruto y en general de su calidad. Además, una gran cantidad de especies de plantas, incluyendo algunas especies frutales, son susceptibles a iones de sodio y cloruros. La acumulación de sodio y cloruros en esta especies provocan una quemadura en los bordes de las hojas, la cual, es precedida con frecuencia por una clorosis marginal. En estados avanzados se puede producir una quemadura total del follaje (Bernstein, 1956).

Los mecanismos de resistencia a daño por sales aún no están completamente entendidos, pero la mayoría de las plantas no adaptadas a salinidad, incluyendo a muchos frutales, resisten regulando la absorción y transferencia de iones salinos por medio de las membranas plasmáticas y tonoplastos (Greenway, 1973).

La edad de la planta parece influir sobre la tolerancia a sales, la que a su vez, limita las pruebas de resistencia a salinidad. Muchas plantas anuales se vuelven más resistentes a la sal con la edad, pero con las plantas perennes, sucede lo opuesto, incluyendo a los frutales. Esto es importante para las vides en donde los iones de sodio y cloruros se acumulan más rápidamente en las hojas, los daños al follaje se presentan temprano en el ciclo de desarrollo y con mayor severidad en plantas viejas (Bernstein, 1956).

La vid se ha clasificado como moderadamente sensible a la sal, aunque hay estudios, que han presentado diferencias en su resistencia a la sal (West y

Taylor, 1984).

Algunos investigadores han sugerido el uso del cultivo de tejidos y células como un posible medio para mejorar la tolerancia a la salinidad de las plantas (Dracup, 1991).

En vid, después de aplicar sal se observaron daños por quemaduras en hojas, decaimiento de las puntas de los brotes y muerte de las parras. La severidad aumenta con un aumento en la concentración de sal. El crecimiento de los tallos disminuyó considerablemente en todos los cultivares en las concentraciones mayores que 0.3% de sal. El número de hojas disminuyó significativamente con cada aumento de 0.1% en la concentración de sal. La cantidad de cloruros, sulfatos y sodio acumulado en hojas se incrementaron con el aumento en la concentración de sal en el medio de crecimiento. En uva Perlette y Khalili aparecieron síntomas de daños en concentraciones bajas de sal. Alamwick, Thompson y Beauty Seedless sobrevivieron aún en concentraciones de sal de 0.4% (Parkash, 1971).

En estudios realizados con tomate, se vió que la calidad de la fruta del tomate se puede mejorar al utilizar riego salino moderado; sin embargo, se puede disminuir la producción de fruto si el riego se aplica durante los inicios del desarrollo de la planta o cuando las concentraciones de sal son elevadas. Con el uso de agua de riego salino también se aumenta la susceptibilidad de la planta a enfermedades. La acidez de la fruta y el porcentaje de sólidos solubles aumentaron en ambos cultivares al aumentar las concentraciones de sal (Snapp y Shennan, 1990).

Se realizaron cruces entre Fragaria X Ananassa Duch cultivares Douglas y Fern y Fragaria chiloensis (L) Duchn. Las semillas ya germinadas se colocaron en medio de Murashige y Skoog con concentraciones de cloruro de sodio al 0.5%, las plantas se evaluaron despues de cincuenta días y se observaron diferencias en la tolerancia a la sal, las cuales se asociaron con el genotipo (Volk et al., 1990).

Existe un entendimiento limitado acerca de la tolerancia a la sal en células en cultivo, principalmente por las metodologías limitadas, particularmente al considerar el efecto de cloruro de sodio elevado sobre varias de las fases del crecimiento del cultivo. Necesita ser estudiada la relación a la tolerancia en células cultivadas y en plantas completas, ya que mucha de la tolerancia de la planta completa se encuentra asociada con su funcionamiento integrado. Las células en cultivo crecen lentamente y tienen diferentes requerimientos hormonales y nutritivos entre otros, de las células de las plantas completas (Dracup, 1991).

Efecto de suelos salinos sobre vides

La vid que crece en suelo salino, puede estar incapacitada para absorber agua con la rapidez que demandan sus necesidades. Esto conduce a una reducción en el crecimiento, así como en el rendimiento y calidad de los frutos. La

historia previa de cultivos efectuados en el terreno es de utilidad limitada para predecir el daño por salinidad o por las condiciones sódicas o tóxicas del suelo debido a que los diversos cultivos responden en forma diferente en estos suelos. La mejor manera de determinar el estado de salinidad de los suelos de un viñedo es efectuar un análisis del suelo y del agua (Winkler, 1984).

La salinidad afecta principalmente al rendimiento de los cultivos. En vid, con una conductividad eléctrica de 2.5 dS/m, se redujo el rendimiento en un 10%, mientras que con una conductividad eléctrica de 6.7 dS/m, se disminuyó en un 50% (Ayers, 1977).

Cultivo de tejidos de vid

En estudios efectuados con la variedad Chenin Blanc, al utilizar BAP combinada con un ribósido de zeatina, se ha observado un efecto aditivo sobre la proliferación de tallos al utilizar ambas citocininas; sin embargo, un efecto aditivo de auxinas, bién conocido para enraizamiento de brotes, no se ha reportado para el enraizamiento de tallos de vid en cultivo (Lewandowski, 1991).

En estudios llevados a cabo en cuatro genotipos de Vitis en presencia de tres citocininas, se encontró que cinetina es importante para la propagación de vid, pero solo para ciertos genotipos. Cinetina en concentraciones de 0.1 a 20 μ M sola influyó en el crecimiento de tallos, no afectó la proliferación al utilizar un híbrido interespecífico de vid (V. riparia michaux X V. berlandieri planchon). La BA de 0.0 a 10.0 μ M fue altamente significativa sobre la proliferación de tallos y masa total.

La formación de callo y raíces en cultivos de 'Alba', indican probablemente altas concentraciones de auxina endógena. 'Concord' y 'Alba' respondieron muy bien en el medio MS mas 5.0 μM de BA. El crecimiento de cultivares de Vitis fue pobre en el medio MS mas 5.0 μM de BA, pero la proliferación de tallos de 'White Riesling' se mejoró al transferirse a la mitad de las sales MS mas 10.0 μM de BA. Vitis responde mejor a BA en el medio, pero cada genotipo responde diferente para cada concentración igual de BA (Reich, 1986).

En trabajos efectuados por Novak y Zadina, (1982) y Harris y Stevenson, (1982) en vid, reportaron la proliferación de yemas axilares y el enraizamiento de microesquejes en condiciones asépticas, lo cual coincide con lo reportado por Li y Eaton, (1984).

Trabajando con tres cultivares de vid y tres portainjertos se encontró diferencias en sus respuestas a la proliferación, no se determinó si esas diferencias se debían a los diferentes requerimientos de sustancias nutritivas y de reguladores de crecimiento ó a las diferencias en la incidencia de vitrificación (Morini et al., 1985).

En experimentos con el híbrido Remaily Seedless utilizando muestras de tallos con tres a cuatro entrenudos en el medio de cultivo con sales MS, encontraron una concentración óptima de BA para la multiplicación de tallos y sugirieron que la optimización de la concentración del regulador de crecimiento difiere de acuerdo al cultivar (Chee y Pool, 1985).

En experimentos realizados con vid 'Muscadine', utilizaron segmentos de tallos con dos o tres nudos en el medio de cultivo MS con BA en concentraciones

de 5, 10, 20 y 40 μM , se observó que los niveles mas altos de BA inhibieron el desarrollo del tallo. Los tallos proliferados en medio de cultivo con 5 μM de BA crecieron mas vigorosos y produjeron raices mas largas y mas ramificadas que los tallos provenientes de 10 μM de BA (Lee y Wetzstein, 1990). Por otra parte, en estudios efectuados con (*Vitis vinifera*) y (*Vitis rotundifolia*) muestran la posibilidad de aumentar el número de híbridos a partir de *V. vinifera* X *V. rotundifolia* utilizando la técnica del rescate de embriones. Esta técnica utilizada en cultivo de óvulos, es un proceso complejo y de demasiado tiempo y es importante considerarlo en estudios de mejoramiento genético de plantas (Goldy et al., 1989).

En otros estudios, al utilizar microestacas con un nudo, de plantas con buena apariencia de las variedades: 'Chardonnay', 'Pinot Noir', 'Cabernet Sauvignon', 'Chenin' y 'Riesling', e inocular en medio de cultivo con BA y AG, se observó que la mejor combinación en todos los cultivos estudiados fue 1 mg/l de BA y 0.5 mg/l de AG. El medio de enraizamiento, ademas de las sustancias orgánicas y vitaminas, contenía ANA en 0.01 mg/l. En todos los cultivos estudiados se logró 80% de plántulas en crecimiento (Martínez y Tizio, 1989).

Yu y Meredith (1986), tomaron muestras de varias variedades de uva durante Julio y Agosto bajo luz solar completa y en sombra, tanto de yemas axilares como de yemas terminales, utilizando medio de cultivo MS mas 2 mg/l de BA, vitaminas y 3% de sacarosa. La sobrevivencia mas grande se presentó en brotes axilares que en brotes terminales y en brotes expuestos a la sombra. El vigor del brote influyó sobre la sobrevivencia del tejido, fragmentos de brotes

débiles presentaron una tasa de sobrevivencia mucho mas alta que los brotes vigorosos. Los cultivos con yemas terminales y expuestos al sol fueron los mas vigorosos, pero produjeron pocos tallos y cafés. Los cultivos de sombra y axilares fueron menos vigorosos y produjeron mas tallos.

En estudios efectuados con plantas de vid variedad Muscadine en latencia, para observar el enraizamiento de los tallos utilizaron el regulador de crecimiento ácido indolbutírico en 0, 3,000 y 6,000 ppm. Los tallos permanecieron viables a través de todo el experimento y no presentaron formación de raíces (Goode et al., 1982).

Sin embargo, en trabajos efectuados con plantas de V. vinifera cultivares: Cabernet Sauvignon, French Colombard, Grenache, Thompson Seedless y White Riesling; y V. rupestris cultivar St. George y V. vinifera X V. rupestris Cv. Gangin 1 y cultivados en medio MS o medio Nitsch con BA 0, 1, 2 y 4 mg/l. La formación de tallos se presentó con 2 mg/l de BA. Los tallos enraizaron facilmente y las plantas resultantes parecieron morfológicamente idénticas a las plantas madres de vid (Stamp et al., 1990).

En un estudio con siete variedades de vid, la mayor habilidad regenerativa se encontró en explantes cuando estaban en crecimiento activo (Junio y Julio). El grado de desarrollo de las muestras dependió de su posición en el tallo y la habilidad regenerativa fue mas débil en los esquejes de uno a cuatro nudos a partir del ápice y mejor en los esquejes de cinco a ocho nudos. La habilidad regenerativa fue mayor en la variedad Rupestris du lot y mas débil en

Rusalka (Pandeliev et al., 1990).

Cholvadova, (1989) utilizando meristemas a partir de yemas apicales y axilares las plantas híbridas 'Red Tramin' x 'Red White Veltlin', presentaron mejor rizogénesis que 'Red Tramin' x 'Muller Thurgau'. La formación del tallo fue independiente del medio utilizado pero estuvo influenciado por la concentración de BA, la concentración óptima fue de 5 a 7 $\mu\text{M/l}$. El medio de enraizamiento mas adecuado fue el MS con la mitad de la concentración de sales minerales suplementado con 1 $\mu\text{M/l}$ de AIB.

Clog, et al., (1990), trabajaron con patrones Kober 5BB, SO4 y 41B, así como con el híbrido LN33, utilizaron hojas como explantes de plantas maduras en crecimiento en cámaras en crecimiento ó a partir de plántulas en crecimiento in vitro e inocularon en medio de cultivo MS con BA en rango de 2.21 a 13.29 μM . Observaron la producción de 89.9% de callos verdes y 38.6% de callo organogénico. BA fue esencial para la formación de callo. Las concentraciones de BA requeridas para la producción de callo organogénico dependió de la longitud del cultivo de la plántula a partir de las cuales se derivaron las hojas, períodos de cultivo mas corto necesitaron concentraciones mas bajas de BA. Yemas cultivadas en medio de cultivo con 4.42 μM de BA desarrollaron callos, a partir de los cuales se pudieron cortar tallos. Las yemas produjeron de 30 a 63% de plántulas.

En trabajos sobre micropropagación en variedades de mesa 'Kishmish', 'Erevani Zheltyi' (Erevan Yellow) y 'Muskat Belyi' (White Muscat) utilizando

meristemo apical de 1 mm, formaron hojas a partir de cada pieza de meristemo sobre medio líquido MS suplementado con sustancias biológicamente activas. Cuando esas hojas se transfirieron a medio con altas concentraciones de BAP, se desarrollaron muchos primordios de tallos. Sin embargo, para desarrollar una plántula completa a partir del primordio, BAP tuvo que ser excluída del medio de cultivo. Las plántulas obtenidas se propagaron a partir de esquejes in vitro (Shcherbakova et al., 1988).

En experimentos efectuados con los cultivares Muscat Bailey A (MBA) y Riesling, se observó que los segmentos a partir de tallos de Riesling crecieron mejor cuando se cultivaron en medio MS que los de MBA, pero la adición de los reguladores de crecimiento al medio de cultivo disminuyó las diferencias de las respuestas entre los cultivares. No hubo diferencias en el crecimiento entre las yemas terminales y las yemas axilares. La adición de 2.7 o 10.7 μM de ANA ó 2.5 ó 10 μM de picloram aumentó la proliferación de callo. La adición de BA a 2.2 ó 4.4 μM incrementó la producción de tallos normales. 'Riesling' produjo mejores raíces que MBA el cual produjo raíces largas y delgadas (Hwang y Kim, 1990).

En explantes del cultivar Noah Berry, se indujo el crecimiento de callo, el pericarpio se cultivó en medio MS suplementado con 2,4-D y agua de coco. Se sometieron a choque con calor (dos días a 45°C), obteniéndose un callo con deformaciones, de color blanco el cual creció rapidamente. Los callos se transfirieron a medio MS sin sustancias de crecimiento y agua de coco creciendo normalmente. Después de tres años en el medio de cultivo sin sustancias de

crecimiento, se analizó el contenido de citocinina endógena y el callo blanco contuvo 1.56 μg de zeatina por gramo y 3.2 μg de zeatina por gramo, en el callo que estuvo con 65% de agua de coco (Cholvadova et al., 1990).

Krstanova, et al., (1990), cultivando embriones inmaduros de la variedad Pamid en medio de cultivo MS y con auxinas, citocininas y giberelinas, obtuvieron los mejores resultados para la inducción de callo embriogénico y desarrollo de órgano al utilizar BAP. Además, obtuvieron un buen sistema de raíz con 2 mg/l de AIB.

En un estudio con yemas de (Vitis vinifera) variedad Rkatsiteli y Agadai y el patrón V. berlandieri variedad Kober 5BB. Kober tuvo la regeneración más activa, con 30% de yemas desarrollando tallo. La formación de tallos fue 100% en el medio con BA (1 mg/l), concentraciones más altas del regulador de crecimiento, inhibieron el crecimiento del tallo. Cuando los esquejes con yemas apicales de la variedad y del patrón se cultivaron juntas, los esquejes de 'Rkatsiteli' y 'Agadai' inhibieron la regeneración de 'Kober'. Parece que este fenómeno puede ser una prueba de compatibilidad patrón/variedad (Bumagina et al., 1988).

En otro estudio, los cultivares Marechal Foch y Cascade, presentaron mayor inicio de tallo al ser tratados con combinaciones de BAP y ANA, que al utilizar únicamente BAP. No se presentó enraizamiento al utilizar el medio MS, sin embargo, cuando se adicionó AIB, el enraizamiento se presentó en ambos cultivares y se observó que este regulador de crecimiento previno la formación de callo (Li y Eaton, 1984).

En experimentos efectuados con uva Muscadine (Vitis rotundifolia), 'Regale' y 'Fry', en callos de cuatro a siete semanas, se observaron embriones somáticos a partir de pecíolos. Es recomendable el uso de los pecíolos como explantes por su disponibilidad y su facilidad para establecerse en cultivos, y en el caso de 'Regale' y 'Fry', produjeron altas porcentajes de embriogénesis somática, además los pecíolos posteriores mantuvieron la identidad del cultivo (Robacker, 1993).

Stamp, et al. (1990), al trabajar con uva variedad French Colombard y Thompson Seedless, utilizaron el medio sólido Nitsch con 2 mg/l de BA, las muestras de hojas mas jóvenes produjeron las mejores respuestas (90% de tallos). Los tallos enraizaron en medio MS con 1 mg/l de AIA y produjeron plantas morfológicamente normales.

En el cultivo de diez variedades de uva de mesa, se utilizaron segmentos de tallos con una yema axilar como explante, encontrándose diferencias intervarietales marcadas en la capacidad para crecer in vitro y en la respuesta a la composición del medio de cultivo y a la concentración de los reguladores de crecimiento y vitaminas. Se observó que las variedades fueron capaces de responder en medio de cultivo con bajas concentraciones de los componentes nutritivos. Se encontró una asociación directa entre la capacidad de las variedades para formar callo a partir de los discos de hojas en cultivo y su capacidad para la inducción de tallo (Lukanina et al., 1988).

MATERIALES Y METODOS

Localización del material biológico

Para la realización de este trabajo, se seleccionaron plantas de vid en base a su vigor, salud y apariencia, establecidas en el Campo Experimental Costa de Hermosillo, (INIFAP). Las variedades utilizadas fueron: Superior, Flame Seedless, Thompson Seedless y Perlette. Los portainjertos utilizados fueron: Salt Creek, Dog Ridge, 1613 y Harmony, para la primera fase del experimento, mientras que para la segunda fase, las muestras de la variedad Thompson Seedless se recolectaron en el viñedo Don Carlos del campo San Antonio ubicado en La Costa de Hermosillo. Las muestras del portainjerto Harmony se recolectaron de plantas de la huerta del Departamento de Agricultura y Ganadería de La Universidad de Sonora.

Los segmentos de las plantas conteniendo las yemas se transportaron al laboratorio evitando su deshidratación. Inmediatamente se lavaron con agua corriente y después se desinfestaron.

Desinfestación

La muestra consistió en yemas laterales de 3 a 4 mm aproximadamente, que se desinfestaron con alcohol etílico al 70-80% por un minuto, después se añadió hipoclorito de sodio del 0.5-1.5% con Tween 20 durante 12-15 minutos y se lavaron varias veces con agua destilada estéril.

En ocasiones se cambió de hipoclorito de sodio a cloro comercial (cloralex) (Ayala, 1980).

Siembra

Después de lavadas las muestras se inocularon asépticamente en una cámara de flujo laminar modelo Edge Gard Hood, cincuenta muestras por tratamiento, se colocaron dos yemas por tubo de cultivo, los cuales contenían el medio de cultivo, procediendo después a su incubación.

Incubación

Realizada la siembra se incubó a una temperatura de 25-27 grados centígrados, un fotoperíodo de 8 horas de oscuridad y 16 horas de luz con una humedad relativa de 70-75%, desechando las muestras contaminadas. Los datos se registraron a las cuatro semanas de incubación.

Medios de cultivo

El medio de cultivo se preparó con agua deionizada, utilizando sales de Murashige y Skoog (Murashige y Skoog, 1962) (Cuadro 1), modificado con compuestos orgánicos (Cuadro 2) y se les agregó las diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento, el pH se ajustó a 5.7, añadiendo diez ml a

CUADRO 1. Composición de las sales de Murashige y Skoog.

COMPUESTOS	
Macroelementos	mg/l
KNO ₃	1900.0
NH ₄ NO ₃	1650.0
CaCl ₂ .2H ₂ O	440.0
MgSO ₄ .7H ₂ O	370.0
KH ₂ PO ₄	170.0
Na ₂ . EDTA . 2H ₂ O	37.3
FeSO ₄ . 7H ₂ O	27.8
Microelementos	
MnSO ₄ . 4H ₂ O	22.300
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8.600
H ₃ BO ₃	6.200
KI	0.830
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0.250
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.025

CUADRO 2. Sustancias orgánicas adicionadas en el medio de cultivo.

COMPUESTO	CONCENTRACION (mg/l)
Inositol	100.0
Tiamina	0.4
Piridoxina	0.4
Sulfato de adenina	40.0
Sacarosa	30000.0

Reguladores de Crecimiento: (6-bencilaminopurina y Acido giberélico).

cada tubo de cultivo y se esterilizaron en una autoclave modelo Market Forget Sterilmatic STM-E a una presión de 1.5 Kg/Cm² durante un tiempo de quince minutos.

Pruebas de salinidad

Las pruebas de salinidad se realizaron con la variedad Thompson seedless y el portainjerto Harmony. las plantas obtenidas in vitro de la variedad y el portainjerto, se sometieron en 0.0, 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4% de cloruro de sodio in vitro y se colocaron en incubación bajo las condiciones descritas. Lo anterior también se efectuó colocando la variedad y el portainjerto mencionado en suelo comercial para uso en invernaderos (musgo, perlita y vermiculita) (peat moss) adicionando las diferentes concentraciones de cloruro de sodio mencionadas anteriormente.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con dos repeticiones para las variedades y otro diseño con las mismas características para los portainjertos. Se probaron tres factores y cuatro niveles. Los factores fueron: Variedades: (Thompson Seedless, Flame Seedless, Perlette y Superior), Portainjertos: (Salt Creek, Dodge Ridge, 1613 y Harmony) y los reguladores de crecimiento:

Bencilaminopurina y Acido Giberélico, con los niveles: (0.0, $0.5 \times 10^{-5} \text{M}$, $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$, y $1.5 \times 10^{-5} \text{M}$) y (0.0, $1.0 \times 10^{-6} \text{M}$, $1.25 \times 10^{-6} \text{M}$ y $1.5 \times 10^{-6} \text{M}$) respectivamente.

Análisis de resultados

La variable analizada fue el promedio de crecimiento de las muestras, el cual se midió en cm utilizando una cinta métrica. Los resultados se analizaron estadísticamente a través del Statistical Analysis System (SAS). Al observar diferencias estadísticamente significativas se aplicó la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 5%.

También se evaluaron visualmente el porcentaje de enraizamiento de los propágulos en tiempo de incubación de ocho semanas. La presencia y el color del callo, el vigor de las plantas in vitro y la proliferación de las muestras a las cuatro semanas de incubación.

A la variedad que presentó el porcentaje de enraizamiento mas alto, así como al potainjerto que presentó el porcentaje de tallos mas grande, se les efectuaron pruebas de salinidad con cloruro de sodio, añadiendo éste en las concentraciones de 0, 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 % en el medio de cultivo y en suelo comercial para invernadero (peat moss); se observó la sobrevivencia in vitro de las muestras a las cuatro semanas y a las ocho semanas de incubación.

Reguladores de crecimiento utilizados

Los reguladores de crecimiento utilizados fueron 6-Bencilaminopurina (BAP) en las concentraciones de 0, 0.5×10^{-5} , 1.0×10^{-5} y $1.5 \times 10^{-5} \text{M}$ y Acido

giberélico (AG) en las concentraciones de 0 , 1.0×10^{-6} , 1.25×10^{-6} y 1.5×10^{-6} M.

Tratamientos utilizados con las diferentes concentraciones de los reguladores de crecimiento:

BAP($\times 10^{-5}$ M) , ACIDO GIBERELICO($\times 10^{-6}$ M).

1. 0.0 , 0.00
2. 0.0 , 1.00
3. 0.0 , 1.25
4. 0.0 , 1.50
5. 0.5 , 0.00
6. 0.5 , 1.00
7. 0.5 , 1.25
8. 0.5 , 1.50
9. 1.0 , 0.00
10. 1.0 , 1.00
11. 1.0 , 1.25
12. 1.0 , 1.50
13. 1.5 , 0.00
14. 1.5 , 1.00
15. 1.5 , 1.25
16. 1.5 , 1.50

RESULTADOS Y DISCUSION

Variedades

Promedio de crecimiento

A las cuatro semanas de incubación de las muestras en el medio de cultivo, se observó que las variedades Thompson Seedless y Flame Seedless presentaron menor crecimiento (Figura 2), en comparación con las variedades Perlette y Superior, las cuales alcanzaron mayores promedios de crecimiento. Thompson Seedless presentó 0.85 cm con 0.5×10^{-5} M de BAP y Flame Seedless presentó 1.0 cm de promedio de crecimiento con 1.5×10^{-5} M de BAP y 1.0×10^{-6} M de AG. La variedad Perlette presentó el mas alto promedio de crecimiento (1.3 cm) al estar con 0.5×10^{-5} M de BAP mas 1.5×10^{-6} M de AG mientras que la variedad Superior presentó el mas alto promedio de crecimiento con 0.5×10^{-5} M de BAP mas 1.50×10^{-6} M de AG y con 1.0×10^{-5} M de BAP mas 1.25×10^{-6} M de AG. Estos resultados no concuerdan con los trabajos de Martínez y Tizio, (1989) quienes encontraron que 1 mg/l de BAP y 0.5 mg/l de AG fue la mejor combinación para todos los cultivares de vid estudiados. En el análisis estadístico de los resultados las variedades Thompson Seedless y Flame Seedless no presentaron resultados mejores que el testigo, mientras que en Perlette y Superior se observaron resultados estadísticamente significativos (Cuadro 6 y 7). De acuerdo al análisis estadístico se obtuvo como interacción significativa a la formada por 1.0×10^{-5} M de BAP y 1.25×10^{-6} M de AG (Cuadro 8) con la

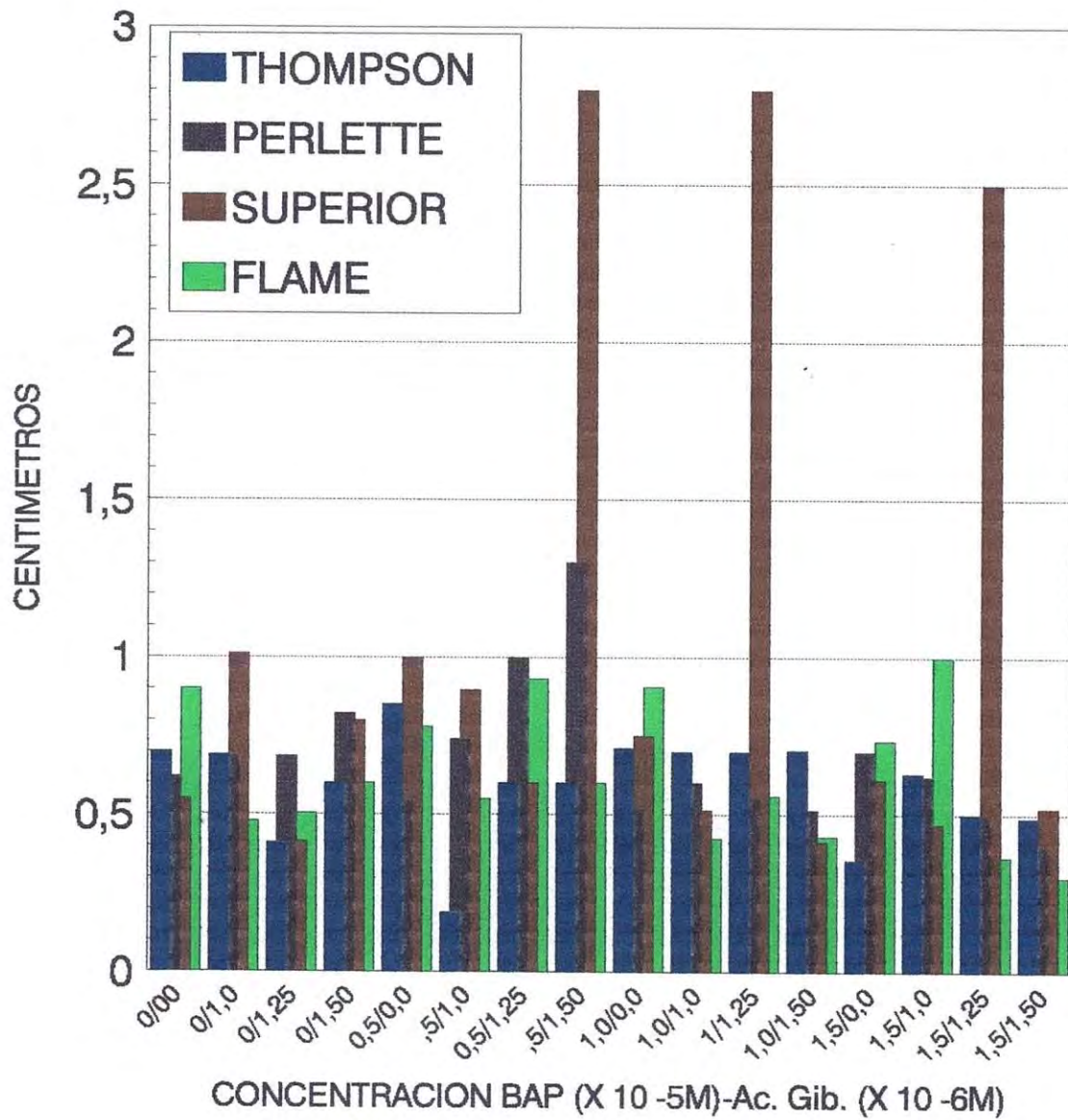


FIGURA 2. Promedio de crecimiento (cm) de las variedades Thompson Seedless, Perlette, Superior y Flame Seedless en cuatro semanas de incubación.

que la variedad Superior presentó el máximo promedio de crecimiento de 2.8 cm (Figura 2).

El análisis estadístico de los datos también menciona como interacción estadísticamente significativa a la formada por: 1.5×10^{-5} M de BAP mas 1.25×10^{-6} M de AG (Cuadro 8) con la que la variedad Superior alcanzó 2.5 cm de promedio de crecimiento (Figura 2, Ilustración 1).

Porcentaje de proliferación

Tomando en cuenta el porcentaje de proliferación de las muestras en el medio de cultivo, a las cuatro semanas de incubación, (figura 3), se puede observar que la variedad Thompson Seedless presentó la mayor proliferación (70%), en la concentración de 0.5×10^{-5} M de BAP (Ilustración 2), presentando también callo blanco (Cuadro 3). En la variedad Perlette, el porcentaje de proliferación mayor (100%), se observó en la concentración de 0.5×10^{-5} M de BAP mas 1.25×10^{-6} M de AG, coincidiendo con Bumagina, et al. (1988), quienes lograron 100% de tallos con 1 mg/l de BAP al trabajar con yemas de (Vitis vinifera)

Las variedades Flame Seedless y Superior, presentaron mayor porcentaje de proliferación (96%) en la concentración de 1.25×10^{-6} M de Ac. Gib. y en 1.5×10^{-5} M de BAP mas 1.25×10^{-6} M de AG respectivamente. Estos resultados en todas las variedades coinciden con los estudios efectuados por Morini et al., (1985), quienes encontraron diferentes respuestas en la proliferación al trabajar con tres



ILUSTRACION 1. Variedad Superior mostrando diferentes crecimientos en cuatro semanas de incubación.

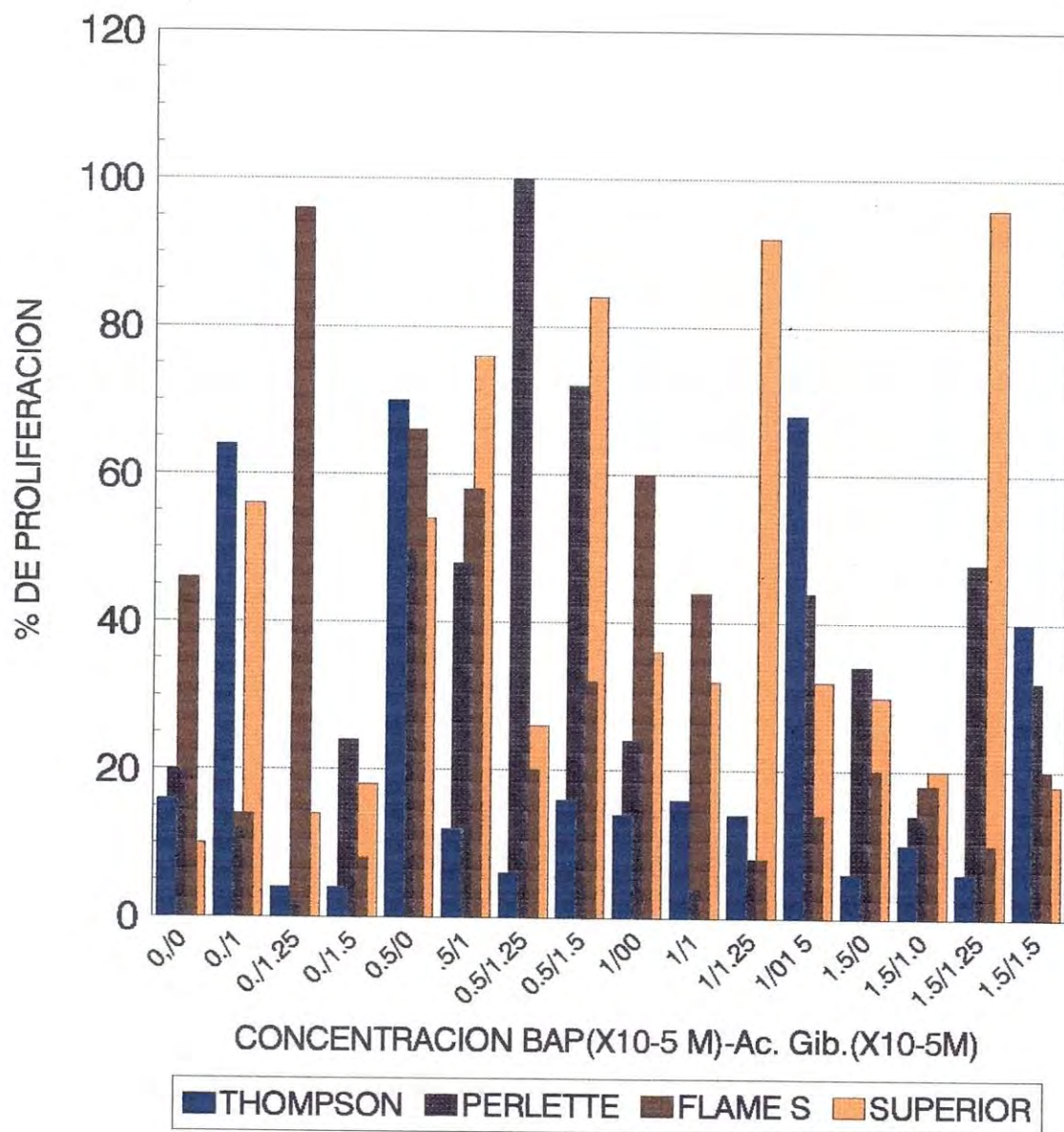


FIGURA 3. Porcentaje de proliferación de las variedades Thompson Seedless, Perlette, Superior y Flame Seedless en cuatro semanas de incubación.



ILUSTRACION 2. Variedad Thompson Seedless presentando desarrollos distintos de las muestras in vitro en cuatro semanas de incubación.

CUADRO 3. Porcentaje de proliferación de las variedades Thompson Seedless, Perlette, Flame Seedless y Superior en cuatro semanas de incubación.

TRATAMIENTOS CON BAP Y ACIDO GIBERELICO.

VAR.*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
I	16	64	4	4	70	12	6	16	14	16	14	68	6	10	6	40
		c			c	v								v	v	v
II	20	12	2	24	50	48	100	72	24	4	8	44	34	14	48	32
		v			v	v								v		v
III	46	14	96	8	66	58	20	32	60	44	8	14	20	18	10	20
		v	cv		v	v			cv					v		
IV	10	56	14	18	54	76	26	84	36	32	92	32	30	20	96	18
		cv			c	v								v		

*VARIEDADES

- | | |
|----------------------|--|
| I. Thompson Seedless | c. Presencia de callo blanco |
| II. Perlette | v. Plántulas vigorosas |
| III. Flame Seedless | cv. Plántulas con callo y con buen vigor |
| IV. Superior | |

cultivares de vid.

Vigor

En las cuatro variedades probadas se obtuvieron plantas vigorosas en algunas de las concentraciones utilizadas, pero se observó que en la concentración de 0.5×10^{-5} M de BAP mas 1.0×10^{-6} M de AG en todas las variedades se lograron plantas con buen vigor (Cuadro 3).

Callo

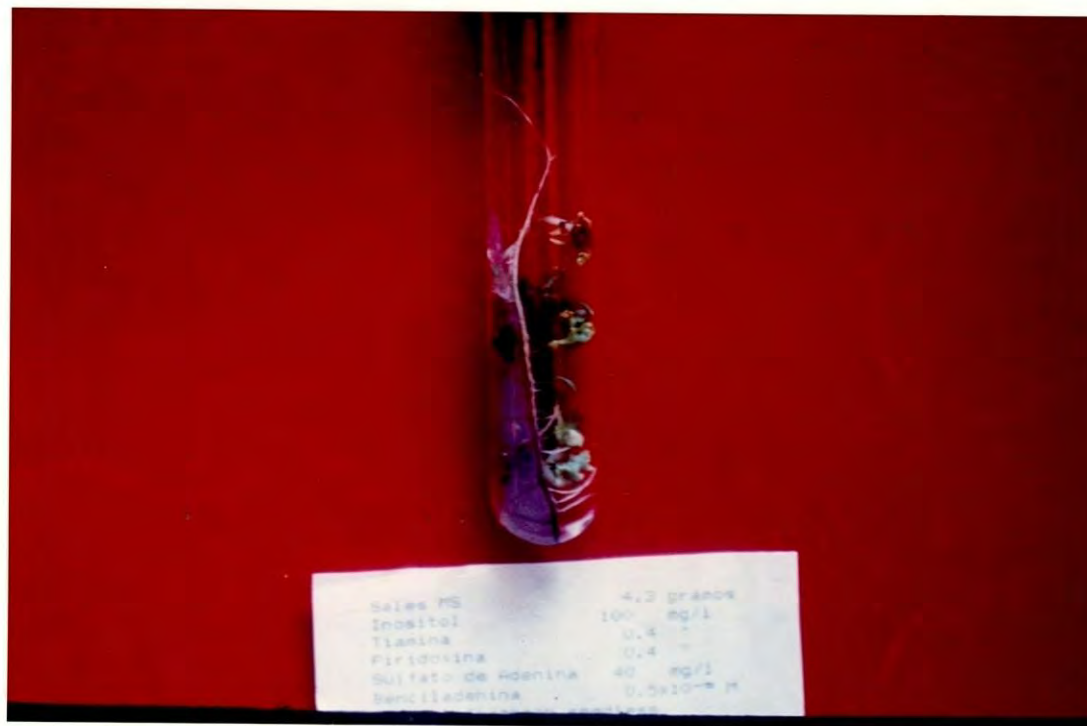
En la concentración de 0.5×10^{-5} M de BAP en la variedad Thompson Seedless hubo presencia de callo blanco a las cuatro semanas de incubación (Cuadro 3).

La variedad Flame Seedless presentó callo blanco en la concentración de 1.25×10^{-6} M de AG.

En la variedad Superior se presentó callo blanco en la concentración de 0.5×10^{-5} M de BAP y en la variedad Perlette no hubo presencia de callo, para las concentraciones probadas con los reguladores de crecimiento utilizados. Estos resultados, concuerdan con los trabajos de Pandeliev, et al., 1990, quien encontró mayores diferencias en la habilidad regenerativa en unas variedades que en otras, al trabajar con siete variedades de vid; y con Krstanova, et al., 1990, que encontraron mejores resultados para la producción de callo embriogénico, al utilizar BAP en medio de cultivo .MS, cuando trabajaron con la variedad Pamid

Enraizamiento

El enraizamiento, se presentó a los dos meses de incubación, sin



ILUSTRACION 3. Variedad Thompson Seedless mostrando un tipo de enraizamiento obtenido.

transferir a otro medio de cultivo, entre las variedades estudiadas, Thompson Seedless fue la que presentó mayor porcentaje de enraizamiento con 48% (Ilustración 3), en 0.5×10^{-5} M de BAP (Cuadro 4), presentando raíces con geotropismo positivo y raíces con geotropismo negativo y de buena apariencia. Chée y Pool, (1988) obtuvieron los mejores resultados de enraizamiento, en experimentos con la variedad Remaily Seedless, con el medio de cultivo MS y 1% de sacarosa.

Portainjertos

Promedio de crecimiento

A las cuatro semanas de incubación en los portainjertos probados, se pudo observar en Salt Creek, pobre crecimiento (Figura 4), lo mismo se observó en el portainjerto Harmony.

El portainjerto Dog Ridge, presentó menor crecimiento, en el tratamiento de 0.5×10^{-5} M de BAP, presentó un promedio de crecimiento mayor (Figura 4).

El portainjerto 1613, presentó altos promedios de crecimiento con los tratamientos: AG 1.0×10^{-6} M, BAP 0.5×10^{-5} M mas AG 1.5×10^{-6} M; BAP 1.0×10^{-5} M mas AG 1.25×10^{-6} M. Reich, en 1986, encontró que cada genotipo responde de manera diferente para cada concentración igual de BAP. El análisis estadístico de los datos mencionó como mejores interacciones a las formadas por 1.0×10^{-5} M de BAP mas 1.25×10^{-6} M de AG y 1.5×10^{-5} M de BAP mas 1.25×10^{-6} M de AG (Cuadro

CUADRO 4. Porcentaje de enraizamiento de las variedades Thompson Seedless y Perlette y los portainjertos Salt Creek. y 1613 en ocho semanas de incubación.

CONC.*	VARIEDAD		PORTAINJERTO	
	Thompson Seedless	Perlette	Salt Creek	1613
5	48	-	58	-
8	-	-	-	58
9	16	-	-	-
11	-	12	-	48

* Concentraciones de 6-bencilaminopurina ($\times 10^{-5}$ M) y Ac. giberélico ($\times 10^{-6}$ M).

5. 0.5 , 0.00

8. 0.5 , 1.50

9. 1.0 , 0.00

11. 1.0 , 1.25

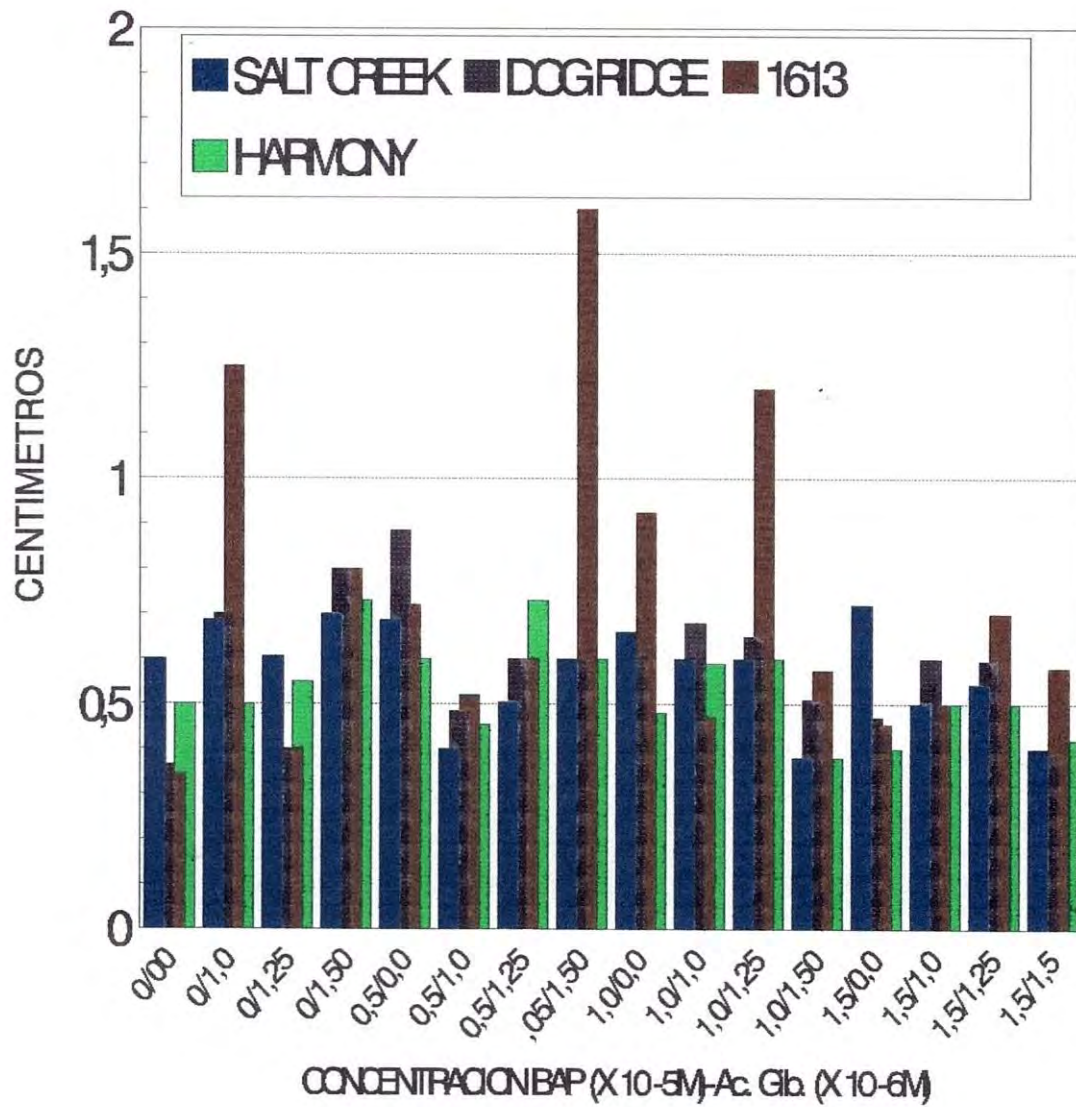


FIGURA 4. Promedio de crecimiento (cm) de los portainjertos Salt Creek, Dog Ridge, 1613 y Harmony en cuatro semanas de incubación.

11), sin embargo, en esta última interacción no se obtuvieron buenos resultados en los cuatro portainjertos probados (Figura 4).

El mayor promedio de crecimiento en los portainjertos, lo presentó el 1613, con la interacción de 1.0×10^{-5} M de BAP con 1.25×10^{-6} M de AG (Figura 4), y es en esta misma interacción en donde en las variedades probadas, se presentó también el mas alto promedio de crecimiento con la variedad Superior (Figura 2). Además, en esta misma interacción, el análisis estadístico resultó significativo (Cuadro 8 y 11), tanto en variedades como en portainjertos. Resultados semejantes encontró Reich en 1986, quien concluyó que cada genotipo responde de manera distinta para cada concentración de BAP.

Con el portainjerto Harmony se observó que no hubo gran crecimiento de las muestras, sin embargo, todas las concentraciones probadas de BAP y AG resultaron mejores que el testigo (Cuadro 10).

Porcentaje de proliferación

A las cuatro semanas de incubación de las muestras en el medio de cultivo, hubo una interacción en donde se presentó 100% de proliferación en tres de los portainjertos estudiados, la interacción fue: 0.5×10^{-5} M de BAP mas 1.5×10^{-6} M de AG, los portainjertos fueron: Salt Creek, 1613 y Harmony. El portainjerto 1613 también presentó 100% de proliferación en la interacción formada por 1.5×10^{-5} M de BAP mas 1.25×10^{-6} M de AG. El portainjerto Dog Ridge presentó

Fig. T-2, 141

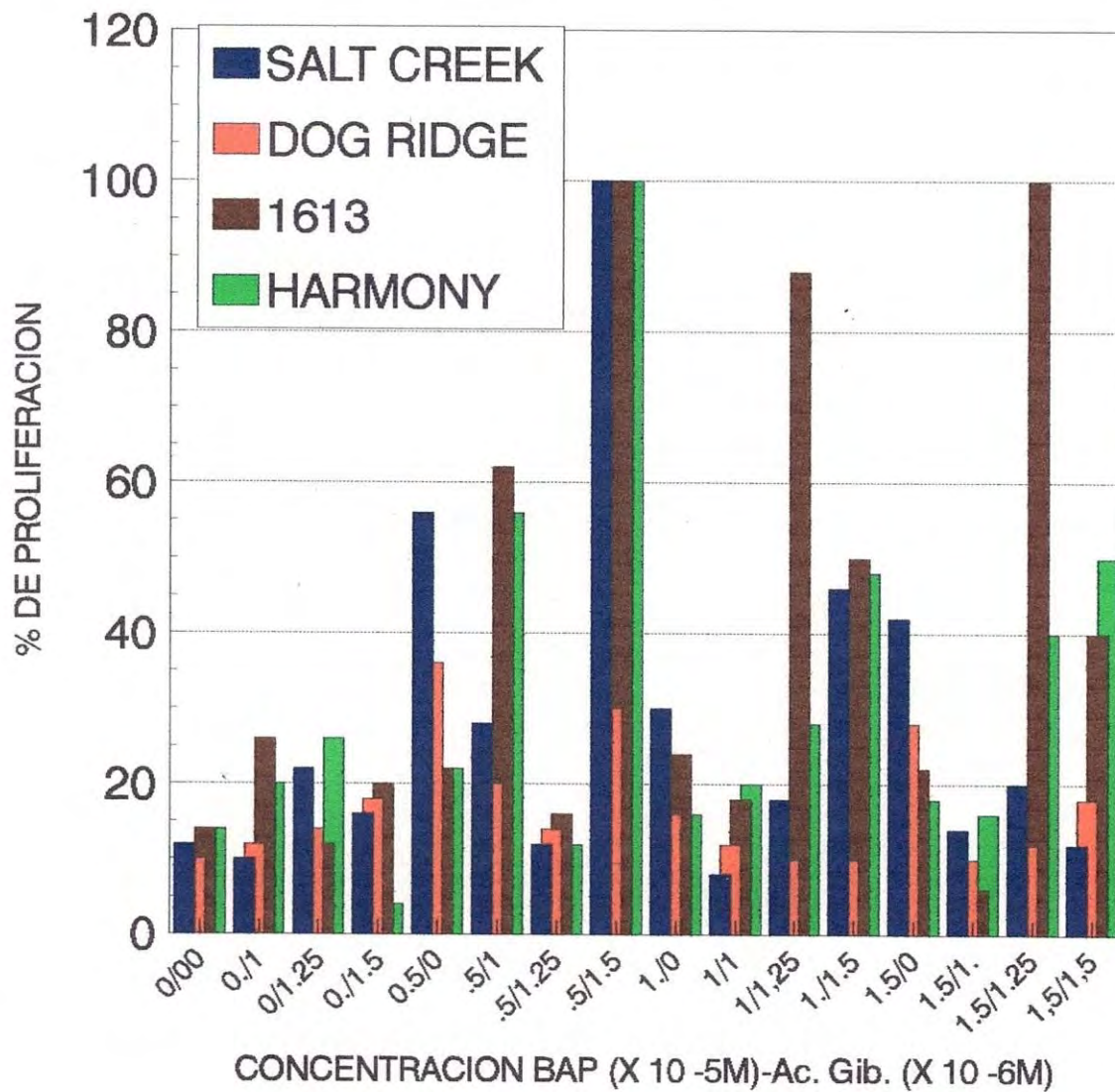


FIGURA 5. Porcentaje de proliferación de los portainjertos Salt Creek, Dog Ridge, 1613 y Harmony en cuatro semanas de incubación.

baja proliferación, ya que el valor mas alto fue 36% (Figura 5). En otros experimentos efectuados al trabajar con tres portainjertos, observaron diferentes respuestas en la proliferación (Morini et al., 1985).

Vigor

En algunas de las interacciones probadas se obtuvieron plantas vigorosas in vitro, pero hubo una interacción en la cual los cuatro portainjertos probados presentaron un vigor adecuado y fue en la interacción formada por BAP = 0.5×10^{-5} M (Cuadro 5).

Callo

A las cuatro semanas de incubación, en el portainjerto Salt Creek, se presentó callo blanco en las interacciones: 0.5×10^{-5} M de BAP; 10×10^{-5} M de BAP y 1.0×10^{-5} M de BAP mas 1.25×10^{-6} M de AG (Cuadro 5).

En el portainjerto Dog Ridge hubo callo blanco en las concentraciones de 0.5×10^{-5} M y 1.0×10^{-5} M de BAP y en la interacción de 0.5×10^{-5} M de BAP mas 1.0×10^{-6} M de AG.

En el portainjerto 1613, se presentó callo blanco en el testigo, así como en la concentración de 0.5×10^{-5} M de BAP (Cuadro 5). Experimentos efectuados por Cholvadova, et al. (1990), reportaron crecimiento de callo al trabajar con el cultivar Noah Berry en medio de cultivo MS.

Enraizamiento

CUADRO 5. Porcentaje de proliferación de los portainjertos Salt Creek, Dog Ridge, 1613 y Harmony en cuatro semanas de incubación.

TRATAMIENTOS CON BAP Y ACIDO GIBERELICO																
PORT.*1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
I.	12	10	22	16	56	28	12	100	30	8	18	46	42	14	20	12
		cv	c		cv				c		c					
II.	10	12	14	18	36	20	14	30	16	12	10	10	28	10	12	18
		cv	c		cv	c			c							
III.	14	26	12	20	22	62	16	100	24	18	88	50	22	6	100	40
		c	cv	v		cv	v					v		v		
IV.	14	20	26	4	22	56	12	100	16	20	28	48	18	16	40	50
		v	c		v	v								v		

*PORTAINJERTOS

- | | |
|---------------|--|
| I. Salt Creek | c. Presencia de callo |
| II. Dog Ridge | v. Plántulas vigorosas |
| III. 1613 | cv. Plántulas con callo y con buen vigor |
| IV. Harmony | |

Las muestras lograron enraizar in vitro, sin transferir a otro nuevo medio de cultivo. Los portainjertos que presentaron mayor porcentaje de enraizamiento (58%), fueron: Salt Creek en 0.5×10^{-5} M de BAP y 1613 en 0.5×10^{-5} M de BAP mas 1.5×10^{-6} M de Acido giberélico (Cuadro 4). En otros trabajos con varios cultivares de Vitis, lograron la formación de tallos con 2 mg/l de BA en el medio de cultivo, los cuales lograron enraizar facilmente (Stamp, 1990).

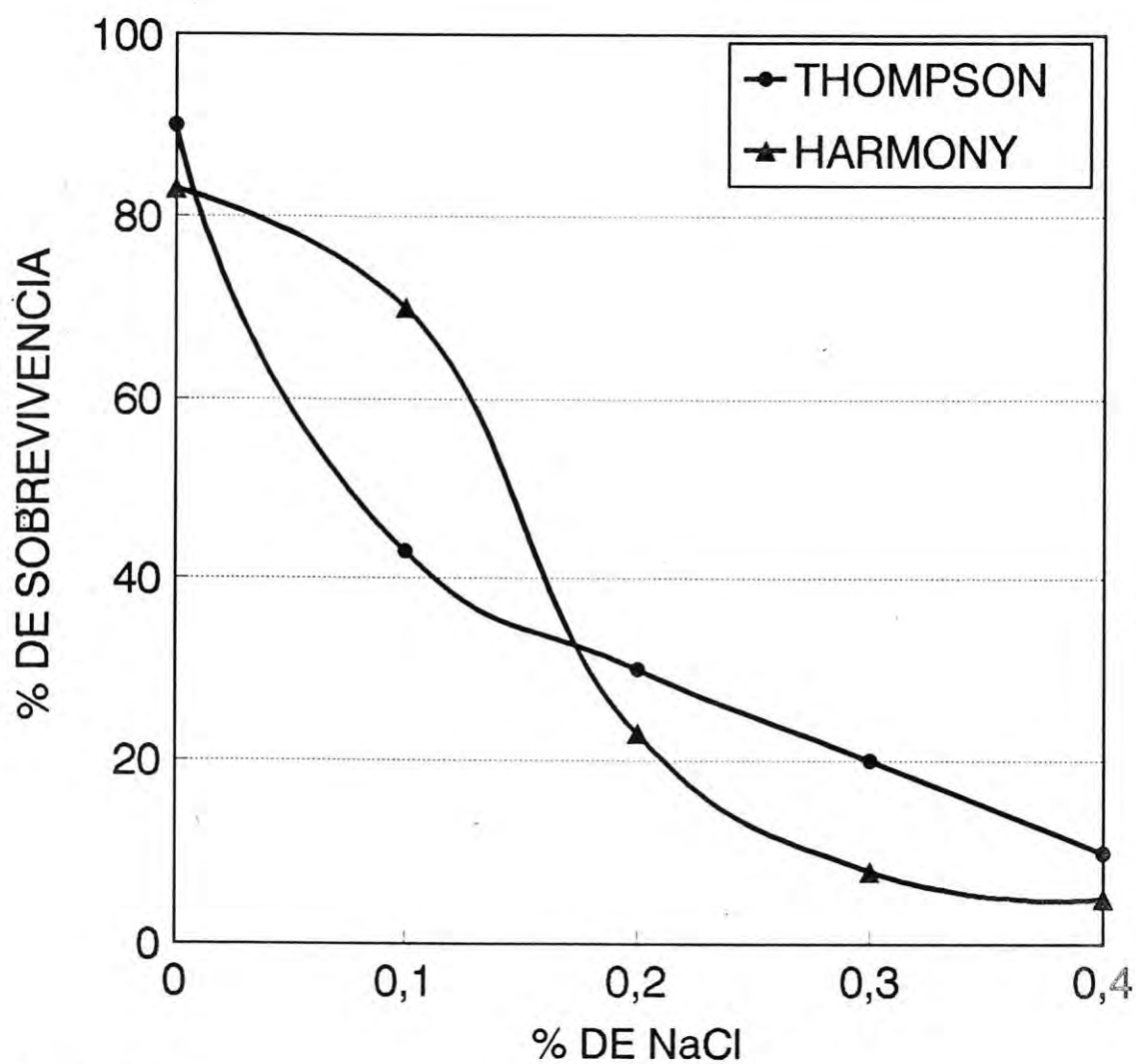
Resultados de salinidad

Las pruebas de salinidad, se efectuaron en la variedad Thompson Seedless. A las cuatro semanas de incubación las plántulas colocadas en 0.4% de cloruro de sodio estaban café, las colocadas en 0.3% de cloruro de sodio presentaron en ese mismo tiempo una coloración café-amarillenta, mientras que las que estuvieron con 0.2 y 0.1% de sal presentaron color verde y sin deformaciones. A las ocho semanas de incubación, las colocadas en 0.4 y 0.3% de cloruro de sodio murieron, mientras que las de 0.2 y 0.1% se tornaron café-amarillentas y se deformaron, doblándose (Ilustración 4). En experimentos efectuados por Parkash, en 1971, la variedad Perlette presentó daños en bajas concentraciones de sal, mientras que Thompson Seedless, sobrevivió en 0.4% de sal. Las plántulas colocadas en suelo comercial para invernadero (Peat moss) in vitro, con las concentraciones de sal, alcanzaron mayor porcentaje de sobrevivencia que las plántulas colocadas también con sal, pero en el medio de cultivo (Figura 6 y 7).

Las pruebas de salinidad con cloruro de sodio se efectuaron en el

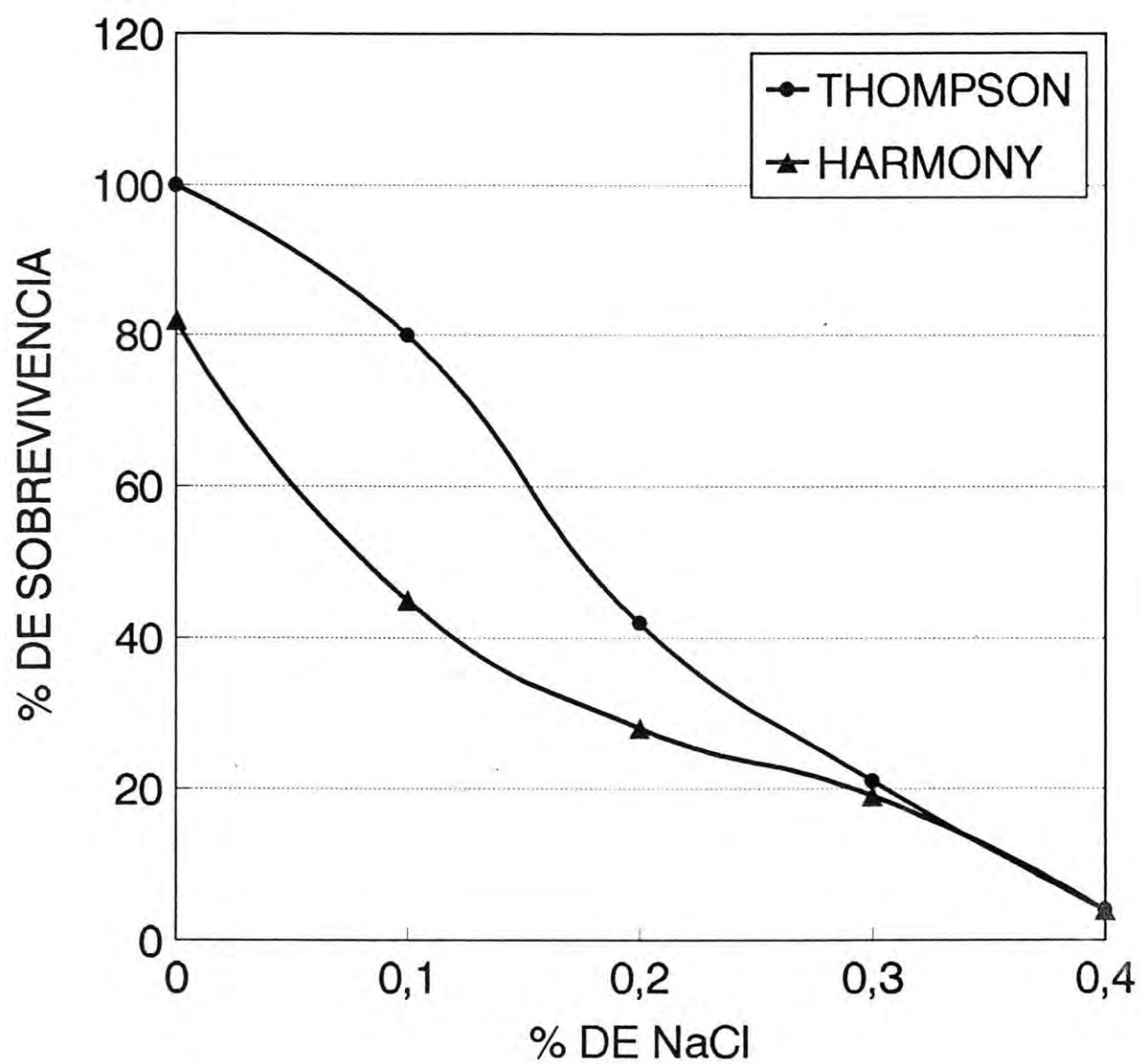


ILUSTRACION 4. Variedad Thompson Seedless mostrando los distintos resultados obtenidos con cloruro de sodio y suelo comercial para invernadero (peat moss) in vitro.



IN VITRO

FIGURA 6. Porcentaje de sobrevivencia de la variedad Thompson Seedless y el portainjerto Harmony con cloruro de sodio in vitro.



PEAT MOSS

FIGURA 7. Porcentaje de sobrevivencia de la variedad Thompson Seedless y el portainjerto Harmony con cloruro de sodio en suelo comercial para invernadero (Peat moss).

portainjerto Harmony. A las cuatro semanas de incubación en las muestras colocadas en 0.1% de NaCl estaban verdes, con inicios de color amarillento, mientras que las colocadas en 0.2 y 0.3% de NaCl estaban café-amarillentas, y las colocadas en 0.4% se tornaron cafés. A las ocho semanas de incubación murieron todas. Estas diferencias a la tolerancia a la sal, ha sido observado por Volk (1990) en trabajos con (Fragaria Sp).

Las pruebas de salinidad se efectuaron en el medio de cultivo in vitro y en suelo comercial para invernadero (Peat moss) estéril in vitro, en las figuras 6 y 7, se pueden observar las diferentes respuestas de porcentaje de sobrevivencia tanto de Thompson Seedless como de Harmony, en las distintas concentraciones de cloruro de sodio utilizadas (Ilustración 5).

Análisis estadístico

A las cuatro semanas de incubación de las muestras en el medio de cultivo se analizaron los datos estadísticamente; el análisis de varianza para las variedades arrojó resultados altamente significativos para todos los factores y todas las interacciones (Cuadro 12), por lo cual se procedió a comparar los niveles de un factor para cada nivel del otro, mediante la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 5%. La variable respuesta fue el promedio de crecimiento. Para las variedades Thompson Seedless y Flame Seedless ninguna concentración de BAP probadas dió resultados mejores que el testigo y en las



ILUSTRACION 5. Portainjerto Harmony mostrando las diferencias en las respuestas con cloruro de sodio y suelo comercial para invernaderos (peat moss) in vitro.

variedades Perlette y Superior, se observó que la mejor concentración fue 0.5×10^{-5} M (Cuadro 6).

Cuadro 6. Promedio de Crecimiento (cm) de yemas de Perlette y Superior en la interacción de 6- bencilaminopurina con la variedad.

Variedad	BAP ($\times 10^{-5}$ M)	Media (cm)
Perlette	0.5	0.896 A
Perlette	0.0	0.704 B
Perlette	1.5	0.555 C
Perlette	1.0	0.545 C
Superior	0.5	1.325 A
Superior	1.0	1.120 B
Superior	1.5	1.025 C
Superior	0.0	0.704 D

Tomando en cuenta la interacción de la variedad con el AG, en las variedades Thompson Seedless y Flame Seedless, no se observaron

concentraciones mejores que el testigo, mientras que en la variedad Perlette, las tres concentraciones de AG utilizadas se observaron con mejores respuestas que las presentadas por el testigo. En la variedad Superior se observó que la mejor concentración fue la 1.25×10^{-6} M, como se puede observar en el Cuadro 7.

En la interacción de BAP con AG, se observó como mejor tratamiento al utilizar BAP en la concentración de 1.0×10^{-5} M y AG en la concentración de 1.25×10^{-6} M, así como BAP 1.5×10^{-5} M y 1.25×10^{-6} M de AG (Cuadro 8).

Cuadro 7. Promedio de crecimiento (cm) de yemas de Perlette y Superior en la interacción de ácido giberélico con la variedad.

Variedad	AG ($\times 10^{-6}$ M)	Media (cm)
Perlette	1.50	0.759 A
Perlette	1.25	0.684 A B
Perlette	1.00	0.662 A B
Perlette	0.00	0.595 B
Superior	1.25	1.579 A
Superior	1.50	1.134 B
Superior	1.00	0.732 C
Superior	0.00	0.729 C

La misma letra indica que son estadísticamente iguales (DMS $\alpha = 1\%$)

Cuadro 8. Interacción de 6-bencilaminopurina con ácido giberélico.

Nivel de BAP ($\times 10^{-5}$ M)	Nivel de AG ($\times 10^{-6}$ M)	Media (cm)
1.00	1.25	1.1525 A
1.00	0.00	0.7200 B
1.00	1.00	0.5600 C
1.00	1.50	0.5162 C
1.50	1.25	1.0562 A
1.50	1.00	0.6800 B
1.50	0.00	0.6000 B
1.50	1.50	0.4312 C

La misma letra indica que son estadísticamente iguales (DMS $\alpha = 1\%$).

El análisis de varianza efectuado en los portainjertos arrojó resultados altamente significativos para los factores: portainjerto y BAP y no fue significativo el AG. Fueron significativas las interacciones: portainjerto con BAP y portainjerto con AG y altamente significativas las otras interacciones (Cuadro 13). Al observar la interacción de los portainjertos con los niveles de BAP, en los portainjertos Salt Creek y Harmony, ninguna concentración de BAP dió resultados mejores que el testigo, mientras que en portainjerto Dog Ridge, se observó como mejor tratamiento cuando BAP estuvo en concentración de 0.5×10^{-5} M. En el portainjerto 1613, se observó como mejor tratamiento con el nivel de 1.00×10^{-5} M de BAP (Cuadro 9).

En la interacción del portainjerto con AG, los mejores tratamientos fueron con 1.25×10^{-6} M y 1.50×10^{-6} M, ésto se observó en los portainjertos 1613 y Harmony (Cuadro 10).

En lo referente a las interacciones de los portainjertos con la BAP y el ácido giberélico, se observó que la mejor concentración fue al utilizar 1.0×10^{-5} M de BAP con 1.25×10^{-6} M de AG y al utilizar 1.50×10^{-5} M de BAP con 1.25×10^{-6} M de AG (Cuadro 11).

Cuadro 9. Promedio de crecimiento (cm) en la interacción de los portainjertos Dog Ridge y 1613 con 6-bencilaminopurina.

Portainjertos	Nivel de BAP ($\times 10^{-5}$ M)	Media (cm)
Dog ridge	0.50	0.6425 A
Dog ridge	1.00	0.6125 B
Dog ridge	0.00	0.5662 C
Dog ridge	1.50	0.5137 D
1613	1.00	0.7925 A
1613	0.50	0.7100 B
1613	0.00	0.6987 B
1613	1.50	0.5587 C

La misma letra indica que son estadísticamente iguales (DMS $\alpha = 1\%$).

Cuadro 10. Promedio de crecimiento (cm) en la interacción de los portainjertos 1613 y Harmony con ácido giberélico.

Portainjerto	AG ($\times 10^{-6}$ M)	Media (cm)
1613	1.50	0.7387 A
1613	1.25	0.7250 A
1613	1.00	0.6850 B
1613	0.00	0.6112 C
Harmony	1.25	0.5950 A
Harmony	1.50	0.5325 B
Harmony	1.00	0.5112 B
Harmony	0.00	0.4950 C

Las mismas letras indican que son estadísticamente iguales (DMS $\alpha = 1\%$).

Cuadro 11. Interacción de 6-bencilaminopurina con ácido giberélico entre portainjertos.

Nivel de BAP ($\times 10^{-5}$ M)	Nivel AG ($\times 10^{-6}$ M)	Medias(cm)	
1.00	1.25	0.7625	A
1.00	0.00	0.6687	B
1.00	1.00	0.5850	C
1.00	1.50	0.4600	D
1.50	1.25	0.5850	A
1.50	1.00	0.5250	B
1.50	0.00	0.5112	B
1.50	1.50	0.4475	C

La misma letra indica que son estadísticamente iguales (DMS $\alpha = 1\%$).

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados se puede notar que tanto las variedades como los portainjertos respondieron de manera diferente para cada concentración de los reguladores de crecimiento a que fueron sometidos.

Se pudo observar que la interacción formada por 1.0×10^{-5} M de 6-Bencilaminopurina produjo buenos resultados con las concentraciones de 1.25×10^{-6} M de ácido giberélico en las variedades y portainjertos probados, ya que las muestras alcanzaron mayor promedio de crecimiento en esa interacción de los reguladores de crecimiento, así como también el análisis estadístico de los resultados fue significativo para esta interacción.

De acuerdo al porcentaje de proliferación, también se pudieron observar diferencias en las respuestas tanto en las variedades como en los portainjertos. Para la variedad Thompson Seedless la mejor concentración fue la de 0.5×10^{-5} M de 6-bencilaminopurina, ya que fue cuando se logró el mayor porcentaje de proliferación y el mas alto promedio de enraizamiento.

Para el portainjerto Salt Creek, se puede mencionar como mejor interacción a la formada por 0.5×10^{-5} M de 6-bencilaminopurina con 1.5×10^{-6} M de ácido giberélico, ya que fue en esta interacción en donde, además de alcanzar un porcentaje de proliferación máximo, produjo el mas alto promedio de enraizamiento (58%).

En tres de los portainjertos utilizados en el presente trabajo, Salt Creek, Dog Ridge y Harmony, se alcanzó el máximo porcentaje de proliferación

con la misma interacción de ambos reguladores de crecimiento probados, por lo cual, para fines de propagación in vitro, es recomendable utilizar 0.5×10^{-5} M de 6-bencilaminopurina y 1.5×10^{-6} M de ácido giberélico.

Fue notable que algunas interacciones de los reguladores de crecimiento usados fomentaron la formación de callo, tanto en variedades como en portainjertos.

En lo referente al vigor observado en las plantas estudiadas también se pudo observar diferencias en sus respuestas en las interacciones utilizadas tanto en las variedades como en los portainjertos.

Es muy necesario recalcar que para este tipo de experimentos, es importante el tipo de planta que interese propagar y la época de recolección de las muestras, ya que de Noviembre a Febrero, que es cuando la planta de vid se encuentra en latencia, no se obtuvieron resultados favorables in vitro. Hubo muestras recolectadas el dos de Noviembre que sí se lograron adaptar al medio de cultivo con buenos resultados.

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de salinidad, los resultados son evaluables hasta un máximo de cuatro semanas; Después de este tiempo la mayoría de las plantas tienden a morir.

Se observaron síntomas de quemadura del follaje y deformaciones de las plantas como consecuencia atribuida a las concentraciones de sal, presentando menores efectos en la concentración de 0.1% de cloruro de sodio.

Las evaluaciones en el medio de cultivo reflejaron mejor el comportamiento de las plantas cultivadas en el campo mientras que el uso de suelo comercial para invernaderos (Peat moss) estéril, no mostraron el comportamiento normal de las mismas.

En la variedad Thompson Seedless, se pudo observar que al utilizar concentraciones mas elevadas de cloruro de sodio se afectó el crecimiento de las plantas, ya que se deformaron y mostraron clorosis y necrosis marginal incipiente a las cuatro semanas de incubación, mientras que a las ocho semanas, se pudo observar que la totalidad de las plantas se vieron afectadas por todas las concentraciones de cloruro de sodio utilizadas.

El portainjerto Harmony, no se vió afectado por la concentración de 0.1% de cloruro de sodio a las cuatro semanas de incubación, sin embargo, sufrió deformaciones a concentraciones mas altas. No resistió en la concentración de cloruro de sodio a que fue sometido a las ocho semanas de incubación.

A las cuatro semanas de incubación, se pudo observar que las muestras colocadas in vitro alcanzaron mayor porcentaje de sobrevivencia en la concentración de 0.1% de cloruro de sodio, que las muestras colocadas en suelo comercial para invernaderos (Peat moss), mientras que en las otras concentraciones de cloruro de sodio, su comportamiento fue parecido in vitro y en suelo comercial para invernaderos (Peat moss) estéril.

En base a los resultados obtenidos en este trabajo, es posible evaluar y seleccionar en forma preliminar variedades y/o portainjertos de vid

susceptibles a ser cultivados en la región, pudiendo reducir los costos y el tiempo para probar nuevas introducciones de material a plantar. Así mismo, es posible obtener grandes volúmenes de plantas en un corto período de tiempo utilizando la metodología de propagación vegetativa in vitro.

Para cada planta que se desee investigar su comportamiento a salinidad es necesario que se efectúen pruebas con concentraciones distintas de cloruro de sodio cercanos al 0.1% durante un tiempo máximo de cuatro semanas, ya que el comportamiento varía para cada cultivo, así como para cada concentración de la sal utilizada.

LITERATURA CITADA

1. Angulo, M.M, J. A. Márquez, M. Jiménez y A. Raya. 1991. Uva para mesa de invierno en La Costa de Hermosillo. SARH, INIFAP, CIRNO. Folleto n.7.p.5-6.
2. Ayala, A. G. I. 1980. Influencia de cinco reguladores de crecimiento sobre tejidos de Jojoba *in vitro*. Tesis de Licenciatura en Química CICTUS-UNISON. Hillo. Son. p. 17.
3. Ayers, R. S. 1977. Quality of water for irrigation. Irr. Drain Div. ASCE. Vol. 103, No.1R2. p. 142.
4. Bernstein, L. 1956. Salt tolerance of plants. USDA. Agr. information Bull. No. 292
5. Bernstein, L. and H. Hayward 1958. Physiology of salt tolerance. Annu. Rev. Plant Physiol. 9:25-46.
6. Bumagina, S. I., S. S. Khachumova and N. M. Shamova. 1990. In vitro cultures of axillary buds of grape. Biologikakultiv. Novosibirsk,USSR. 1: 147.
7. Chee, R. and R. M. Pool. 1985. In vitro propagation of Vitis: The effects of organic substances on shoot multiplication. Vitis 24(2):106-118.
8. Chee, N. and R. M. Pool. 1988. Sucrose and NAA influence growth of subcultured shoots and in vitro production of roots in Vitis. HortSci. 23(4):76.
9. Cholvadova, B. 1989. Cultivating of meristem cultures of the grape-vine (*Vitis vinifera* L). Acta Facultatis Rerum Nat. Phisiol. Plantarum. 24:31-44.
10. Cholvadova B; P. Fulop; G. Vizarova and I. Vozar. 1990. Determining the cytokinin content in two clones of grapevine tissue cultures.Physiol. Plantarum. 26: 15-22.
11. Clog E., P. Bass and B. Walter. 1990. Plant regeneration by organogenesis in Vitis rooststock species. Plant Cell Rep. 8(12):726-728.
12. Dodds, J. H. and L. W. Roberts. 1982. Experiments in plant tissue culture. Nutritional componentes of tissue culture media. Cambridge Univ. Press. pp. 21-35.

13. Dracup, M. 1991. Increasing salt tolerance of plants through cell culture requires greater understanding of tolerance mechanisms. *Aust.J. Plant Physiol.* 18:1-15
14. Fiorino, P. and F. Loreti. 1987. Propagation of fruit trees by tissue culture in Italy. *HortSci.* 22(3):353-358.
15. Gamborg, O. L., T. Murashige, T. A. Thorpe and I. K. Vasil. 1976. Plant tissue culture media. *In vitro.* 12(7):473-478.
16. Goldy, R.G., D. W. Ramming, R. L. 1989. Increasing production of *Vitis vinifera* X *Vitis rotundifolia* hybrids through embryo rescue. *Hort Sci.* 24(5):820-822.
17. Goode, D.K., G. W. Krewer, R. P. Lane and J. W. Daniel. 1982. Rootings studies of dormant Muscadine grape cuttings. *HortSci.* 17(4):644-645.
18. Greenway, H. 1973. Salinity, plant growth and metabolism. *Austral. Inst. Agr. Sci.* 39: 24-34.
19. Harris, R. E. and J. H. Stevenson. 1982. In vitro propagation of *Vitis*. *Vitis.* 21:22- 32.
20. Hartmann, H. T. y D. E. Kester. 1986. Propagación de plantas principios y prácticas. Ed. CECSA. México, D. F. pp. 639-770.
21. Hernández, R. M. y M. G. Jorda. 1989. Plantas medicinales. Uso y dosificación de las 184 plantas mas usadas en América Latina. Ed. Arbol, S.A. de C.V. México, D.F. p. 191.
22. Hurtado, D. y M. E. Merino. 1987. Cultivo de tejidos Vegetales. Ed. Trillas, S.A. México, D.F. pp.48-85.
23. Hwang, J. H. y S. K. Kim. 1990. The effects of plant growth regulators on in vitro growth of differentially chilled grape shoots. *Korean Soc. for Hort.Sci.* 31(2):142-149.
24. INEGI. 1991. VII Censo agropecuario. Sonora. Panorama agropecuario. p. 30.

25. Krstanova, S.; S. Zagorska and N. Doichinova. 1991. Induced callus development and regeneration of whole plants in vitro in the variety Pamid. *Rastenievadni-Nauki*.27(7):84-86.
26. Kyte, L. 1990. Plants from test tube an introduction to micropropagation. Ed. Timber Press,inc. Portland, Oregon. pp. 42-45.
27. Lee, N. and Y. Wetzstein. 1990. In vitro propagation of Muscadine grape by axillary shoot proliferation. *J. Amer. Soc. HortSci.* 115(2):324-329.
28. León, F. J.C. 1985. Evaluación de mejoradores del suelo y prácticas culturales para corregir daños de sales en el cultivar Thompson Seedless. Primer Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas A.C. Resúmenes de Ponencias. Hillo. Son. p. 104.
29. Lewandowsky, V. T. 1991. Rooting and acclimatization of micropropagated Vitis labrusca 'Delaware'. *HortSci.* 26(5):586-589.
30. Li, J. and G. W. Eaton. 1984. Growth and rooting of grape shoot apices in vitro. *Hortsci.* 19(1):64-66.
31. López, P. 1985. Medio de Cultivo. Fundamentos teórico-prácticos de cultivo de tejidos vegetales: Laboratorio de biotecnología. C. P. Chapingo, Mex. pp. 25-32.
32. Lukanina, N. N., T.G.Karagezov, I.M. Makhmudova and D.A. Aliev. 1988. Aspects of morphogenesis in grapes of different varieties in the course of in vitro microclonal propagation. *Biologiya*. Ed. Butenko R. G. Novosibirsk, USSR pp. 149-150.
33. Maldonado, L. A. y J. U. Durazo. 1995. Investigación actual del Campo Experimental Costa de Hermosillo. INIFAP-CIRNO-CECH. Memorias del VI Congreso Nac. de Horticultura. Hermosillo, Sonora. p. 163.
34. Martínez, E. A. and R. Tizio. 1989. Grapevine micropropagation through shoot tips and minucuttings from in vitro cultured one-node cuttings. *HortSci.* 24(3):513.
35. Morini, S., P. Marzialetti and C. Barbieri. 1985. In vitro propagation of grapevine. *Revista de la Ortoflorofruticultura Italiana.* 69(6):385-396.

36. Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. Reprinted from *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25:133-140.
37. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum.* 15:473-479.
38. Novak, F. J. and J. Zadina. 1982. Clonal propagation of grapevine through in vitro axillary bud culture. *Scientia Hort.* 18: 231-240.
39. Olien, W.C. 1989. Stress-strain-response. Components as a basic for improved plant response to drought. ASHS Annual meeting/program and abstract. Abs. No.632. p. 144.
40. Pandeliev, S., R. M. Ruseva and P. Georgieva. 1990. Degree of development of grapevine plants in vitro in relation to the biology of the initial explant. *Rastenievdni-Nauki.* 27(7):79-83.
41. Parkash, D. 1971. Effect of various salt concentrations on different grape cultivars. *HortSci.* 6(3):159-160.
42. Perea, M. y W. Navarro. 1988. Técnicas in vitro para la producción y mejoramiento de plantas. Univ. Nac. CONICIT. Costa Rica. p.27.
43. Pierik, R. L. 1987. In vitro culture of higher plants. Martinus nijhoff publishers. Holanda. pp. 231-238.
44. Raquin, C. 1983. Utilization of different sugars as carbon source for in vitro anther culture of petunia. *Z. pflanzenphysiol.* Bd. 111:453-457.
45. Raya, S.A. 1984. Guía para la Asistencia Técnica agrícola: Costa de Hermosillo, SARH, INIA, CIANO, CAECH. Hillo. Son. México. pp.3-5.
46. Reich, B.I. 1986. Influence of genotype and cytokinins on in vitro shoot proliferation of grapes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111(1): 138-141.
47. Robacker, C. D. and C. J. Chang. 1990. Shoot tip culture of Muscadine grape eliminate piercens disease bacterium. *Hort Sci.* 25(9):150.
48. Robacker, C. D. 1993. Somatic embryogenesis and plant regeneration from muscadine grape leaf explants. *Hort Sci.* 28(1):53-54.

49. Rojas, G. M. y H. Ramírez. 1985. Control hormonal del desarrollo de las plantas. Ed. Limusa. México, D.F. pp. 30-32.
50. SARH-CIRNO. 1993. Informe técnico. Campo experimental Costa de Hermosillo. Hermosillo, Sonora, México. pp.4,13.
51. Shcherbakova, E. N and M. K. Mkrtumyan. 1988. Clonal Micropropagation of grape. *Biologiya Kultklet. Biotekhnol.* Ed. Butenko. R.G. Novosibirsk, USSR. p.149.
52. Smith, M. K. and R. A. Drew. 1990. Current application of tissue cultures in plant propagation and improvement. *Aust. J. Plant Physiol.* 17:267-289.
53. Snapp, S. and C. Shennan. 1990. Tomato fruit quality and ion status: The effects of salinity, *Phytophthora* root rot and genotype. *Hort Sci.* 15(9):149.
54. Stamp, J. A., S. M. Colby and C. P. Meredith. 1990. Direct shoot organogenesis and plant regeneration from leaves of grape (*Vitis* Spp). *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* 22(2):127-133.
55. Stamp, J. A., S. M. Colby and C. P. Meredith. 1990. Improved shoot organogenesis from leaves of grapes. *J. Amer. Soc. Hort Sci.* 115(6):1038-1042.
56. Templeton, K. M. and W.W. Collins. 1986. Field performance and clonal variability in sweet potatoes propagated in vitro. *J. Amer. Soc. Hort Sci.* 111(5):689- 694.
57. Vidalie, H., R. Augé, G. Beauchesne, J. Boccon-Gibod, L. Decourtye, B. Digat; J. Galandrin, R. Minier y J. Morand. 1986. Cultivo in vitro. Ed. Científica. S.A. México, D.F. pp. 10-46.
58. Villalobos, A. V. 1985. Cítricos libres de virus. Fundamentos teórico-prácticos en cultivo de tejidos vegetales. Laboratorio de biotecnología. C. P. Chapingo, México. p. 210.
59. Volk, G. ,V. Esensee and H. Hughes. 1990. Evaluation of strawberry (*Fragaria* Sp.) seedlings for drought and salt tolerance by in vitro induced stresses. *HortSci.* 25(9):1113.
60. Weaver, R. J. 1981. Cultivo de la Uva. CECSA. México. pp. 23-31

61. Weaver, R. J. 1990. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Ed. Trillas. México, D. F. pp. 96- 126; 146.
62. West, D. W. and J. A. Taylor. 1984. Response of six grape cultivars to the combined effects of high salinity and rootzone waterlogging. J. Amer. Soc. Hort Sci. 109(6): 844-851.
63. Westwood, N. H. 1982. Fruticultura de zonas templadas. Ed. Mundi prensa, Madrid, España. pp. 77-107.
64. Winkler, A. J. 1984. Viticultura. Ed. Continental. México, D. F. pp. 21-37; 185- 188.
65. Yu, D. and C. P. Meredith. 1986. The influence of explant origin on tissue browning and shoot production in shoot tip cultures of grapevine. J Amer. Soc. Hort. Sci. 111(6): 972-975.

APENDICE

CUADRO 12. Análisis de varianza del promedio de crecimiento de cuatro variedades de vid en cuatro semanas de incubación.

FV	GL	VALOR F
VARIEDAD	3	160.25**
CONCENTRACION DE BAP	3	33.71**
CONCENTRACION DE Ac. Gib.	3	36.92**
INTERACCION VAR * BAP	9	22.11**
INTERACCION VAR * Ac. Gib.	9	47.82**
INTERACCION BAP * Ac. Gib.	9	70.19**
INTER. VAR * BAP * Ac. Gib.	27	55.21**
TOTAL	63	

BAP = 6-bencilaminopurina

Ac. Gib. = Acido giberélico

CUADRO 13. Análisis de varianza del promedio de crecimiento de cuatro portainjertos de vid en cuatro semanas de incubación.

FV	GL	VALOR F
PORTAINJERTO	3	14.93**
CONCENTRACION DE BAP	3	9.07**
CONCENTRACION DE Ac. Gib.	3	0.38NS
INTERACCION PORT * BAP	9	2.27 *
INTERACCION PORT * Ac. Gib.	9	2.63 *
INTERACCION BAP * Ac. Gib.	9	17.62**
INTER. PORT * BAP * Ac. Gib.	27	5.40**
TOTAL	63	

BAP = 6-bencilaminopurina

Ac. Gib. = Acido giberélico