

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POSGRADO

**MAESTRÍA EN CONSERVACIÓN DE RECURSOS
FORESTALES**



“PROPAGACIÓN *in vitro* DE GERMOPLASMA DE *Guadua weberbaueri* Pilg. COLECTADO EN TRES SITIOS DE SELVA CENTRAL”

Presentada Por:

MARICEL JADITH MÓSTIGA RODRÍGUEZ

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTAE EN CONSERVACIÓN DE RECURSOS
FORESTALES**

LIMA – PERÚ

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POSGRADO

**MAESTRÍA EN CONSERVACIÓN DE RECURSOS
FORESTALES**

**“PROPAGACIÓN *in vitro* DE GERMOPLASMA DE *Guadua weberbaueri*
Pilg. COLECTADO EN TRES SITIOS DE SELVA CENTRAL”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTAE EN CONSERVACIÓN DE RECURSOS
FORESTALES**

**Presentada Por:
MARICEL JADITH MÓSTIGA RODRÍGUEZ**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dr. Javier Arias Carbajal
PRESIDENTE

Dr. Gilberto Domínguez Torrejón
ASESOR

Mg. Sc. María de Lourdes Tapia y Figueroa
CO-ASESOR

PhD. Carlos Augusto Reynel Rodriguez
MIEMBRO

Mg. Sc. Pedro Vásquez Ruesta
MIEMBRO

DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada a

mi guía

“Dios”

mis padres

“Cecilia y Romel”

mis hermanitas

“Romina y Tefy”

mi esposo

“Giancarlo”

Mis abuelos

Mi gran familia

“Si la mente lo concibe y el corazón lo cree entonces es posible”

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

A los profesores Gilberto Domínguez y Lourdes Tapia por la confianza y la asesoría brindada durante la investigación.

A mis padres por siempre motivarme y estar dispuestos a ayudarme en todo. A Giancarlo por ser esa persona incondicional en mi vida. A mis hermanas por ser fuente de alegría y fuerza. A Mariel por la ayuda brindada, a pesar de la distancia.

Al “Círculo de Investigación en la cadena de valor del bambú para su desarrollo científico y tecnológico” (CIB). Al Ing. Francisco Castaño Nieto “Pachito” por compartir conmigo sus conocimientos acerca de la silvicultura de la guadua. Así también, a Bruno y Paolo, porque juntos supimos trabajar como un equipo compartiendo momentos durante los trabajos de propagación de bambúes.

Al Instituto de Biotecnología de la UNALM en especial a la Profesora Lourdes y a todos los que trabajan en el laboratorio: Roxana, Milagros, Deysi, Miryam, Tiffany, Leti y Andrea por el cariño con que me acogieron en el laboratorio y por su disposición.

Al VF DAMF FCF UNALM por la colaboración durante el trabajo de invernadero.

Al Profesor Ignacio Lombardi por los consejos. Al Profesor Fernando Bulnes por siempre estar dispuesto a compartir sus conocimientos y experiencias de vida. A la Profesora Rose por su disponibilidad y apoyo. A mis compañeros del DAMF Giancarlo, Julius, Gino y Diego por su comprensión en los momentos en que requerí apoyo.

A la Profesora Luz Leonor Mattos por brindarme información acerca del hongo endófito. A Rolando Montenegro por la asesoría en lo que respecta al procesamiento estadístico de datos.

Al Profesor Javier Arias por los aportes y correcciones al texto. Así también a los Profesores Carlos Reynel y Pedro Vásquez por la atención y disponibilidad.

Este trabajo de investigación se realizó con el apoyo parcial de FONDECYT- CONCYTEC, programa Ciencia Activa, del convenio N° 174-2015 “Círculo de Investigación para el Desarrollo de la Cadena de Valor del Bambú para el Desarrollo Científico Tecnológico”

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 FORMACIÓN VEGETAL: “GUADALES”	4
2.1.1 Distribución	4
2.1.2 Clima	5
2.1.3 Suelos.....	6
2.2 ESPECIE EN ESTUDIO: GUADUA WEBERBAUERI PILG.....	7
2.2.1 Clasificación taxonómica.....	7
2.2.2 Morfología.....	7
2.2.3 Características botánicas de la especie	9
2.2.4 Otras características relevantes de la especie	10
2.2.5 Usos	10
2.3 MÉTODOS DE PROPAGACIÓN PARA EL GÉNERO GUADUA	11
2.3.1 Propagación sexual o gámica.....	11
2.3.2 Propagación asexual o agámica	11
a. División de rizomas con segmento de tallo.....	12
b. División de plantones o trasplante directo	12
c. Segmentos de culmos.....	12
d. Segmentos de ramas.....	12
e. Esquejes	13
f. Rizomas.....	13
g. Chusquines o plántulas	13
2.3.3 Métodos de propagación biotecnológicos	13
a. Fases de la micropropagación.....	14
b. Avances biotecnológicos con especies de bambú.....	16
III. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	18
3.2 ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN	19
3.3 SELECCIÓN DE LOS 3 SITIOS DE COLECTA DE GERMOPLASMA DE G. WEBERBAUERI	19
3.4 COLECTA DE GERMOPLASMA DE G. WEBERBAUERI.....	20
3.4.1 Insumos y herramientas	20

3.4.2 Procedimiento.....	20
3.5 PREPARACIÓN DE LAS PLANTAS MADRE DE G. WEBERBAUERI	21
3.5.1 Insumos y herramientas	21
3.5.2 Procedimiento.....	22
a. Propagación del germoplasma de G. Weberbaueri	22
b. Mantenimiento de plantas G. Weberbaueri en invernadero	22
3.6 SELECCIÓN Y COLECTA DE EXPLANTES	23
3.6.1 Insumos y herramientas	23
3.6.2 Procedimiento	23
3.7 ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO IN VITRO	25
3.7.1 Desinfección de explantes.....	26
a. Insumos y herramientas.....	26
b. Procedimiento.....	27
b.1 Pre desinfección dentro de la cámara de siembra (PD1)	27
b.2 Pre desinfección fuera de la cámara de siembra (PD2)	28
b.3 Tratamiento 1 (D1)	28
b.4 Tratamiento 2 (D2)	28
b.5 Tratamiento 3 (D3)	29
b.6 Tratamiento 4 (D4)	29
3.7.2 Preparación de medios de cultivo	30
a. Insumos, materiales y equipos	30
b. Procedimiento.....	31
3.7.3 Introducción de explantes	33
a. Insumos, materiales y equipos	33
b. Procedimiento.....	34
3.7.4 Época de introducción.....	35
3.8 MULTIPLICACIÓN DE BROTES	36
3.9 PARÁMETROS EVALUADOS	37
3.9.1 Evaluación del desarrollo de las procedencias en condiciones de invernadero	37
a. Supervivencia	37
b. Incidencia	37
3.9.2 Establecimiento del cultivo in vitro	38

a. Pre desinfección.....	38
b. Desinfección.....	38
c. Medio de cultivo.....	38
d. Fotoperiodo	39
e. Época de introducción.....	39
f. Establecimiento de las procedencias	39
3.9.3 Multiplicación	40
3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	41
3.10.1 Pre desinfección	41
a. Hipótesis	41
b. t-Student	41
3.10.2 Desinfección.....	41
a. Hipótesis	41
b. ANOVA.....	41
c. Test de Tukey	41
3.10.3 Efecto de ppm.....	41
a. Hipótesis	41
b. t-Student	41
3.10.4 Fotoperiodo	41
a. Hipótesis	41
b. t-Student	41
3.10.5 Establecimiento de las procedencias	42
a. hipótesis	42
b. t-Student	42
3.10.6 Multiplicación	42
a. hipótesis	42
b. Test de Kruskal- Wallis.....	42
c. Test de Tukey	42
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
4.1 SELECCIÓN DE SITIOS DE LOS 3 SITIOS DE COLECTA DE GERMOPLASMA DE GUADUA WEBERBAUERI	43
4.2 COLECTAS DE GERMOPLASMA DE GUADUA WEBERBAUERI	44

4.3 EVALUACIÓN DEL DESARROLLO DEL GERMOPLASMA PROCEDENTE DE LOS 3 SITIOS DE COLECTA EN EL INVERNADERO	44
4.3.1 Desarrollo del germoplasma procedente de “Satipo 1”	44
4.3.2 Desarrollo del germoplasma procedente del “Chanchamayo”	45
4.3.3 Desarrollo del germoplasma procedente de “Satipo 2”	46
4.3.4 Problemas fitosanitarios	46
4.3.5 Comparación del desarrollo de las plantas procedentes de los 3 sitios de colecta en condiciones de invernadero.....	49
4.4 ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO IN VITRO	51
4.4.1 Desinfección	51
4.4.2 Medio de cultivo.....	56
4.4.3 Fotoperiodo	58
4.4.4 Época de introducción.....	58
4.4.5 Establecimiento de las procedencias	59
4.5 MULTIPLICACIÓN.....	61
V. CONCLUSIONES.....	69
VI. RECOMENDACIONES	70
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
VIII. ANEXOS	80

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
TABLA 1: CARACTERÍSTICAS EDÁFICAS DE LUGARES DE SELVA CENTRAL DONDE SE ENCUENTRA <i>GUADUA WEBERBAUERI</i>	6
TABLA 2: COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MURASHIGE AND SKOOG (1962) (MS)	32
TABLA 3: MEDIOS DE MULTIPLICACIÓN PARA <i>G. WEBERBAUERI</i>	36
TABLA 4: SELECCIÓN DE PROCEDENCIAS DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	43
TABLA 5: FECHA DE COLECTAS DE LAS PROCEDENCIAS DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	44
TABLA 6: PROBLEMAS FITOSANITARIOS DE <i>G. WEBERBAUERI</i> A NIVEL DE INVERNADERO	47

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: DISTRIBUCIÓN DE BAMBÚES EN EL MUNDO	5
FIGURA 2: RIZOMA JUVENIL DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	7
FIGURA 3: CULMO DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	8
FIGURA 4: HOJA CAULINAR DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	8
FIGURA 5: YEMAS, RAMAS Y FOLLAJE DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	9
FIGURA 6: FLORACIÓN DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	9
FIGURA 7: MODELO DE MUESTRA PARA COLECTA DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	21
FIGURA 8: TIPOS DE SEGMENTOS NODALES DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	24
FIGURA 9: EXPLANTES DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	25
FIGURA 10: PRE DESINFECCIÓN DE MICRO ESTACAS DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	28
FIGURA 11: PREPARACIÓN DEL ANTIBIÓTICO	30
FIGURA 12: PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO	33
FIGURA 13: SIEMBRA DE EXPLANTES DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	35
FIGURA 14: EXPLANTES EN PERIODO DE CRECIMIENTO EN LA CÁMARA FITOCLIMÁTICA	35
FIGURA 15: PLÁNTULA VIGOROSA DE <i>G. WEBERBAUERI</i> VIGOROSA PARA INTRODUCCIÓN	36
FIGURA 16: EVALUACIÓN DE ESTABLECIMIENTO DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	40
FIGURA 17: EVALUACIÓN MULTIPLICACIÓN DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	40
FIGURA 18: DESARROLLO EN INVERNADERO DE LA PROCEDENCIA “SATIPO 1”	44
FIGURA 19: DESARROLLO EN INVERNADERO DE LA PROCEDENCIA “CHANCHAMAYO”	45
FIGURA 20: DESARROLLO EN INVERNADERO DE LA PROCEDENCIA “SATIPO 2”	46
FIGURA 21: DESARROLLO DEL ATAQUE DE PSEUDOCOCCIDO EN PLANTAS DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	47
FIGURA 22: DESARROLLO DEL SÍNTOMA DE SECAMIENTO DE BROTES Y YEMAS EN PLANTAS DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	48
FIGURA 23: PROBLEMAS FITOSANITARIOS DE <i>G. WEBERBAUERI</i> A NIVEL DE INVERNADERO	49
FIGURA 24: SOBREVIVENCIA DE LAS DE LOS 3 SITIOS DE COLECTA DE <i>G. WEBERBAUERI</i> EN INVERNADERO	50
FIGURA 25: YEMAS APTAS PARA PROPAGACIÓN <i>IN VITRO</i> DE <i>G. WEBERBAUERI</i> POR PROCEDENCIA	51
FIGURA 26: TRATAMIENTOS DE PRE DESINFECCIÓN DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	52
FIGURA 27: PRUEBA DE TUKEY TRATAMIENTOS DE PRE DESINFECCIÓN DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	52

FIGURA 28: PRUEBA TUKEY PARA TRATAMIENTOS DE DESINFECCIÓN DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	54
FIGURA 29: CONTAMINACIÓN DE EXPLANTES DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	54
FIGURA 30: TRATAMIENTOS DE DESINFECCIÓN EN <i>G. WEBERBAUERI</i>	56
FIGURA 31: EFECTO DEL PPM EN EL ESTABLECIMIENTO DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	57
FIGURA 32: PRUEBA TUKEY PARA MEDIO DE CULTIVO PARA <i>G. WEBERBAUERI</i>	57
FIGURA 33: EFECTO DE LA ÉPOCA EN EL ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE <i>G.</i> <i>WEBERBAUERI</i>	59
FIGURA 34: EFECTO DE LA PROCEDENCIA EN EL ESTABLECIMIENTO DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	60
FIGURA 35: PRUEBA DE TUKEY PARA PROCEDENCIAS DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	60
FIGURA 36: ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	61
FIGURA 37: PRUEBA DE TUKEY PARA TRATAMIENTOS DE MULTIPLICACIÓN DE <i>G.</i> <i>WEBERBAUERI</i>	62
FIGURA 38: TRATAMIENTOS DE MULTIPLICACIÓN EN <i>G. WEBERBAUERI</i>	63
FIGURA 39: MULTIPLICACIÓN DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	64
FIGURA 40: VITROPLANTAS DE <i>G. WEBERBAUERI</i> CONTAMINADAS POR <i>ACREMEDIUM SP.</i>	64

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
ANEXO 1: FICHAS TÉCNICAS DE LA SOLUCIÓN HIDROPÓNICA A Y B.....	80
ANEXO 2: FICHA TÉCNICA PPM.....	81
ANEXO 3: EVALUACIONES DEL DESARROLLO EN EL INVERNADERO DE PLANTAS MADRES PROCEDENTES DE “SATIPO 1”.....	82
ANEXO 4: EVALUACIONES DEL DESARROLLO EN EL INVERNADERO DE PLANTAS MADRES PROCEDENTES DE “CHANCHAMAYO”.....	85
ANEXO 5: EVALUACIONES DEL DESARROLLO EN EL INVERNADERO DE PLANTAS MADRES PROCEDENTES DE “SATIPO 2”.....	89
ANEXO 6: EVALUACIONES DE TRATAMIENTOS DE PREDESINFECCIÓN PARA <i>G. WEBERBAUERI</i>	94
ANEXO 7: EVALUACIONES DE TRATAMIENTOS DE DESINFECCIÓN PARA <i>G. WEBERBAUERI</i>	95
ANEXO 8: EVALUACIONES DE MEDIO DE CULTIVO PARA <i>G. WEBERBAUERI</i>	97
ANEXO 9: EVALUACIONES DEL FOTOPERIODO DURANTE LA INCUBACIÓN DE <i>G. WEBERBAUERI</i> ...	98
ANEXO 10: EVALUACIONES DE LA ÉPOCA DE INTRODUCCIÓN DE EXPLANTES DE <i>G.</i> <i>WEBERBAUERI</i>	99
ANEXO 11: EVALUACIONES DE <i>G. WEBERBAUERI</i> PROCEDENTE DE LOS SITIOS DE COLECTA DE SELVA CENTRAL.....	101
ANEXO 12: EVALUACIONES DE LOS TRATAMIENTOS DE MULTIPLICACIÓN PARA <i>G.</i> <i>WEBERBAUERI</i>	102
ANEXO 13: EVALUACIONES DE LA LONGITUD DE BROTES POR TRATAMIENTOS DE MULTIPLICACIÓN DE <i>G. WEBERBAUERI</i>	103
ANEXO 14: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS ESTADÍSTICAS.....	104
ANEXO 15: RESULTADOS DE LA CLÍNICA DE DIAGNOSIS DE FITOPATOLOGÍA Y NEMATOLOGÍA VEGETAL DE LAS VITROPLANTAS.....	108
ANEXO 16: RESULTADOS DE LA CLÍNICA DE DIAGNOSIS DE FITOPATOLOGÍA Y NEMATOLOGÍA VEGETAL DE LAS PLANTAS MADRES.....	109

RESUMEN

La presente investigación tiene por objetivo evaluar la propagación *in vitro* del germoplasma de la especie nativa *Guadua weberbaueri* Pilg colectado en 3 sitios de Selva Central, al presentarse dificultades por los métodos convencionales de propagación asexual para bambúes. Los 3 sitios de colecta: Rafael Gastelua Bella, Satipo, Junín (Satipo 1); Génova, Chanchamayo, Junín (Chanchamayo) y Rio Negro, Satipo, Junín (Satipo 2) fueron seleccionados en base a un estudio de identificación molecular, por la similitud de características vegetativas con *Guadua sarcocarpa* especie coexistente en Selva Central. Se obtuvieron plantas madres de los sitios “Satipo 1” y “Chanchamayo”, siendo “Satipo 1” la que presento mejores resultados durante el establecimiento y multiplicación. La mejor época en la ciudad de Lima para la introducción fue de abril a julio. La desinfección debe realizarse dentro de la cámara de flujo laminar y usando el D4: inmersión en alcohol de 70°, limpieza con NaOCl al 2,5% por 10 minutos seguido de una segunda desinfección con NaOCl al 1,5% por 3 minutos e inmersión en Ceftriaxona disódica hemiheptahidratada por 1 segundo. Asimismo, se debe enriquecer el medio de cultivo Moorashige & Skoog (1962) (MS) con 2 ml/l Plant Preservative Mixture (PPM) y la brotación no está influenciada por la oscuridad. La tasa de multiplicación es de 2,5 brotes por vitroplanta para *G. weberbaueri* usando: MS enriquecido con 2 ml/l de PPM y 5 mg/l de 6- Benzilaminopurine. Se identifica al hongo endófito asintomático *Acremonium* sp. como un limitante durante la multiplicación que debe ser investigado para poder completar el protocolo de propagación *in vitro*.

Palabras claves: *Guadua weberbaueri*, establecimiento, multiplicación, desinfección, época y *Acremonium* sp.

ABSTRACT

The purpose of this research is to evaluate the in vitro propagation of the germplasm of the native species *Guadua weberbaueri* Pilg collected at 3 sites in the Central Forest as difficulties arise due to conventional methods of asexual propagation for bamboo. The 3 collection sites: Rafael Gastelua Bella, Satipo, Junín (Satipo 1); Génova, Chanchamayo, Junín (Chanchamayo) and Río Negro, Satipo, Junín (Satipo 2) were selected based on a molecular identification study, due to the similarity of vegetative characteristics with *Guadua sarcocarpa* coexisting species in the Central Forest. Mother plants were obtained from the sites "Satipo 1" and "Chanchamayo", being that "Satipo 1" presented the best results during establishment and multiplication. The best time of the year in Lima for the introduction was from April to July. Disinfection must be carried out inside the laminar flow chamber and using D4: 70 ° alcohol immersion, cleaning with 2.5% NaOCl for 10 minutes followed by a second 1.5% NaOCl disinfection for 3 minutes and immersion in Ceftriaxone disodium hemiheptahydrate for 1 second. Likewise, the Moorashige & Skoog (1962) (MS) culture medium should be enriched with 2 ml/l Plant Preservative Mixture (PPM) and sprouting is not influenced by darkness. The multiplication rate is 2.5 outbreaks per vitroplant for *G. weberbaueri* using: MS enriched with 2 ml/l of PPM and 5 mg/l of 6-Benzilaminopurine. The asymptomatic endophyte fungus *Acremonium* sp. as a limitation during multiplication that must be investigated in order to complete the in vitro propagation protocol.

Keywords: *Guadua weberbaueri*, establishment, multiplication, disinfection, time of the year and *Acremonium* sp.

I. INTRODUCCIÓN

En Sudamérica el sudoeste de la Amazonía (Perú, Brasil y Bolivia) está dominado por dos especies de bambú *Guadua weberbaueri* Pilg. y *Guadua sarcocarpa* Londoño & Peterson (Nelson, 1994). En Perú a ambas especies nativas se les denomina vulgarmente como “paca” constituyéndose en pacales cuando forman masas homogéneas en el bosque natural y se encuentran distribuidas en la región sur-oriental (Junín, Ucayali, Cusco y Madre de Dios) y región nor-oriental (San Martín y Amazonas) ocupando una superficie de 3 997 800 hectáreas es decir el 3,11 % del territorio nacional (INRENA, 1996).

Londoño & Peterson (1991), indican que *G. weberbaueri* y *G. sarcocarpa* tienen morfologías vegetativas muy similares y comparten caracteres particulares únicos dentro del género *Guadua* por lo que estudios que empleen marcadores moleculares como el de Quispe (2019) son importantes para su identificación.

Las principales especies de bambú existentes en el Perú son *Guadua aff. angustifolia*, *G. weberbaueri* y *G. sarcocarpa* (Londoño y Peterson, 1991; MINAM, 2015). *Guadua angustifolia* (especie introducida) es la especie más investigada, cultivada y demandada con un uso principal para construcción y otros productos de transformación mecánica y química que se vienen desarrollando (INBAR, 2015). Mientras que, las especies nativas tienen un uso local y etnobotánicos (Reátegui, 2009; Bamonte y Kociancich, 2007 y Judziewicz, et al., 1999), siendo poco abundante en la región selva central donde se presenta en lugares marginales o fragmentos de bosque donde aún no se la ha cortado y quemado (Catpo, 2019). La importancia de estas últimas especies radica en su facilidad para colonizar terrenos (Nelson, 1994), y su rápido crecimiento, lo que las hace un potencial para la industria.

Los bambúes tienen ciclos largos de reproducción sexual, sin embargo no se ha reportado información para *G. weberbaueri* pero se conoce que *G. angustifolia* reporta un ciclo entre floraciones aparentemente de entre 30 a 35 años (Young y Judd, 1992). A causa de lo anterior y por la inviabilidad de los frutos y semillas la propagación por semillas es descartada. Dentro de los métodos de propagación es reconocido el método del chusquín por

el éxito en la especie de *G. angustifolia*, sin embargo Arancibia (2017) menciona que es poco probable encontrar chusquines en los pacales. La misma autora desarrolló ensayos de propagación vegetativa por secciones de ramas teniendo porcentajes sumamente bajos.

En este contexto se hace necesario encontrar métodos eficientes de propagación de *G. weberbaueri* para garantizar la disponibilidad de material para la industria garantizando la conservación *in situ* y la manutención de germoplasma para fines de mejoramiento vegetal. Por lo que las técnicas biotecnológicas son imprescindibles para el mejoramiento genético, la propagación en masa de bambúes y la conservación de gran variabilidad genética a mediano y largo plazo (Londoño, 2010 a y b). Las técnicas de cultivos de tejidos viabilizan la producción en gran escala de plantas con calidad fisiológica y fitosanitaria a partir de genotipos superiores seleccionados (Sanches, 2017).

Existen diversos estudios en cultivo de tejidos de bambúes, siendo la mayoría de ellos realizados en especies asiáticas. Para el caso de bambúes americanos la mayoría de estudios se han realizado en *Guadua angustifolia*, la cual es la única especie americana en la lista de las 20 especies prioritarias (RAO *et al.* 1998 citado por Sanches, 2017). El estudio revisado más reciente en Lima para *G. angustifolia* es el protocolo de propagación *in vitro* desarrollado por Martínez (sf.) a partir de microestacas de plantas madres provenientes de un vivero en Satipo, Junín logrando culminar con éxito el proceso hasta la aclimatación de plantas. Así también, existen investigaciones recientes para otras especies del género *Guadua* como el protocolo de micropropagación *in vitro* para *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño & P.M. Peterson desarrollado por Sanches (2017) en Santa Catalina, Brasil a partir de micro estacas provenientes de plantas madres con sustrato hidropónico instaladas en vivero logrando culminar con éxito el proceso hasta la aclimatación de plantas y los ensayos de desinfección y de medios de cultivos en *G. Weberbaueri* desarrollados por Casanova (2017) en Lima cuyos resultados son satisfactorios para las etapas de introducción y establecimiento.

La presente investigación tuvo como objetivo general: evaluar la propagación *in vitro* de germoplasma de la especie nativa de *Guadua weberbaueri* Pilg colectado en 3 sitios de Selva Central. Se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Optimizar el establecimiento del cultivo *in vitro* de *Guadua weberbaueri*
- Determinar la mejor época de extracción de explante de *Guadua weberbaueri* para el establecimiento del cultivo aséptico
- Determinar las diferencias entre procedencias de la planta madre de *Guadua weberbaueri*, respecto al establecimiento de los explantes en condiciones asépticas
- Determinar la tasa de multiplicación de brotes de *Guadua weberbaueri*

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Formación vegetal: “Guadales”

2.1.1 Distribución

El género *Guadua* reúne aproximadamente 30 especies que se distribuyen desde los 23° de latitud Norte en México hasta los 35° de latitud Sur en Argentina; crece naturalmente en todos los países de América Latina con excepción de Chile y las Islas del Caribe, sin embargo, en esta región del Caribe la especie *Guadua angustifolia* ha sido introducida a islas como Puerto Rico, Cuba, Haití y Trinidad. Altitudinalmente el género *Guadua* se distribuye desde el nivel del mar hasta los 2000 msnm, pero es mucho más abundante y diversa en elevaciones por debajo de los 1500 metros sobre el nivel del mar. Crece en diversos tipos de hábitats incluyendo la selva húmeda tropical, el bosque montano bajo, las sabanas, los cerrados, los bosques de galería y los valles interandino; sin embargo, se puede considerar un género amazónico con el 45% de sus especies habitando la cuenca Amazónica y la Orinoquía (Añazco, 2013). Las especies *Guadua weberbaueri* y *Guadua sarcocarpa* son las que más abundan en estas áreas (Villegas, sf.).

En el Perú a las asociaciones de cañas silvestres que forman una mixtura con las asociaciones arbóreas en diferentes niveles y proporciones se les conoce con el nombre de “pacales”. Estas se localizan en la región sur-oriental del Perú, en los departamentos de Junín, Ucayali, Cusco y Madre de Dios, en ecosistemas de llanura meándrica, terrazas aluviales, colinas y montañas, llegando esporádicamente hasta 1200 msnm. (FAO, sf.) *Guadua weberbaueri* está distribuida en la región Amazónica del Perú: Amazonas, Cusco, Huánuco, Junín, Loreto, Madre de Dios, Pasco y San Martín (Reátegui, 2009 ;Ortíz, 2017 y Catpo, 2019).

Hay registros de *Guadua weberbaueri* en zonas perturbadas de bosques secundarios o matorrales, por debajo de los 1000 msnm en San Martín. La especie prefiere terrenos secos a

húmedos (Londoño, 2010a). Reátegui (2009) afirma que encontró esta especie en la provincia de Chanchamayo en la región de Junín, por debajo de los 1100 msnm. Hay registros de la especie en Loreto, y Madre de Dios (GBIF, 2016) de bambú silvestre (*Guadua* sp: *weberbaueri* y *Guada sarcocarpa*) o “paca”. Catpo (2019) halló a *G. weberbaueri* en cuatro lugares de selva central: dos en el departamento de Junín y dos en el departamento de Pasco: en el Fundo Génova (San Ramón, Junín) a 1033 msnm, Comunidad de Santa Rosa de Ipanaquiari (Rio Negro, Junín) a 696 msnm, Camino al mirador de Pozuzo (Pozuzo, Pasco) a 786 msnm y La Cumbre- Cacazú (Villa Rica, Pasco) a 1033 msnm. Mientras que Ortíz (2017) halló en: Amazonas, Provincia Utcubamba, Distrito Cajaruro, cerca al centro poblado Seda Flor, a 2387 msnm y en San Martín en: Provincia Rioja, Distrito Rioja, cerca al centro poblado Tonchima a 826 msnm y Provincia Moyobamba, Distrito Moyobamba a 822 msnm. Quispe (2019) mediante el uso de marcadores moleculares identifica zonas de *Guadua weberbaueri* en selva central.

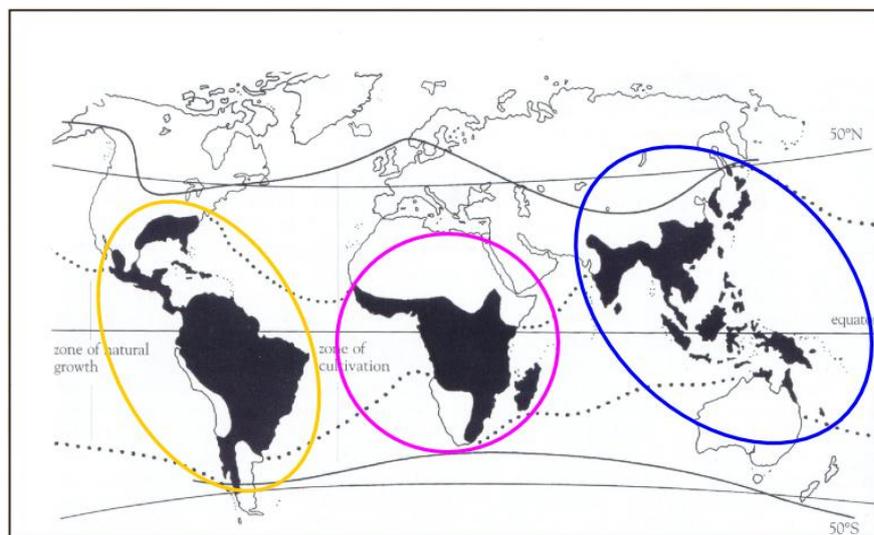


Figura 1: Distribución de bambúes en el mundo
FUENTE: Castaño (2017)

2.1.2 Clima

Según Mc Michael *et al.* 2014 citado por Quispe (2019), la presencia de *Guadua* es más probable cuando los valores de estacionalidad de la temperatura varían de 24°C a 26°C, la temperatura mínima del mes más frío entre 14 a 20 ° C. Catpo (2019) indica que la temperatura promedio de los cuatro lugares de selva central donde identificó *Guadua weberbaueri* fluctúa de 19,3 a 23,9 °C.

La precipitación es el factor climático que más afecta el desarrollo y crecimiento de la Guadua, es así, como en sitios secos o muy húmedos, se encontraron los guaduales con las características de desarrollo más deficientes. Dependiendo de la latitud, el bambú crece bien en zonas cuyas precipitaciones alcanzan rangos hasta los 4050 mm/año. Se encuentran en bosques desarrollándose en rangos comprendidos entre los 1270 mm/año y los 5000 mm/año; pero los desarrollos óptimos de los rodales se presentan cuando el rango de precipitación se ubica entre los 1500 mm/año y los 2500 mm/año (Fernández, 2012). Capto (2019) indica que la precipitación de los cuatro lugares de selva central donde identificó *Guadua weberbaueri* fluctúa de 1743 a 2281 mm/ año.

2.1.3 Suelos

Los emplazamientos de bosques de Guadua se presentan en suelos con pH entre 5,5 y 6,0, presentándose el mayor desarrollo en suelos con pH promedio a 5,8; tendientes moderadamente al ácido. El grado de adaptabilidad a condiciones de pH inferiores a 5,5 afecta notablemente. Un pH salino no favorece el desarrollo de la planta. Los suelos que más favorecen el desarrollo de la guadua son los areno-limosos, francos, franco-arenosos; además suelos fértiles, sueltos, aluviales, derivados de cenizas volcánicas, ricos en materia orgánica, irrigados por fuentes naturales de agua y con buenos drenajes, húmedos pero no inundables. Suelos pesados, arcillosos, no favorecen el desarrollo de la planta. El régimen acuífero puede ser importante para este tipo de plantas cuando se presentan los niveles freáticos profundos en los suelos. Lo contrario trae problemas de oxigenación y los suelos permanecen inundados evitando el normal desarrollo de la planta (Fernández, 2012). Capto (2019) indica que *G. weberbaueri* es tolerante a suelos ácidos y con bajo porcentaje de materia orgánica y menciona las condiciones edáficas de los cuatro lugares de selva central donde identificó *Guadua weberbaueri* (Tabla 1).

Tabla 1: Características edáficas de lugares de selva central donde se encuentra *Guadua weberbaueri*

<i>Lugar</i>	<i>pH</i>	<i>C.E. (1:1)</i> <i>dS/m</i>	<i>CaCO3</i> <i>%</i>	<i>M.O.</i>	<i>P</i> <i>ppm</i>	<i>K</i> <i>ppm</i>	<i>CIC</i>	<i>Clase</i> <i>textural</i>
Fundo Génova	5,52	0,21	0	2,17	4,5	101	11,2	Fr. A
CN Santa Rosa de Ipanaquiari	5,19	0,14	0	3,93	3,3	60	12,8	Fr.
Camino mirador de Pozuzo	5,21	0,29	0	6,34	9,8	60	21,44	Fr.
La Cumbre- Cacazú	7,57	0,19	3,8	2,28	3,6	74	13,92	Fr.A

FUENTE: Capto (2019)

2.2 Especie en estudio: *Guadua weberbaueri* Pilg.

2.2.1 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *Guadua weberbaueri* según Londoño & Peterson (1991) es la siguiente: Reino: Plantae; División: Spermatofitas; Subdivisión: Angiospermas; Orden: Glumiflorales; Clase: Monocotiledoneas; Familia: Poaceae o Gramineae; Subfamilia: Bambúsoideae; Supertribu: Bambúseae; Tribu: Bambuseae; Subtribu: Guaduinae; Género: *Guadua*; Especie: *Guadua weberbaueri* Pilg.

2.2.2 Morfología

Según Castaño y Moreno (2004) describen la morfología del género *Guadua* de la siguiente manera.

a. Rizoma

Eje segmentado y subterráneo que constituye la estructura de soporte de la planta y es responsable de la absorción de nutrientes.



Figura 2: Rizoma juvenil de *G. weberbaueri*

b. Culmo

Eje aéreo segmentado que emerge del rizoma, función principal de soporte; se distinguen tres partes comerciales: basal, medio y apical.



Figura 3: Culmo de *G. weberbaueri*

c. Hoja caulinar

Son hojas modificadas, tienen la función de proteger a las yemas que se originan en las ramas y follaje.



Figura 4: Hoja caulinar de *G. weberbaueri*

d. Yemas, ramas y follaje

Se originan en las yemas nodales del culmo, pueden ser solitarias o múltiples. Al final del crecimiento longitudinal del tallo. Sus hojas son de forma lanceolada.



Figura 5: Yemas, ramas y follaje de *G. weberbaueri*

e. Inflorescencia y floración

Son poco vistosas, algunos con floración gregaria (una sola vez y al mismo tiempo), otros con floración continua (floración anual o estacional, sin muerte posterior).



Figura 6: Floración de *G. weberbaueri*

2.2.3 Características botánicas de la especie

Esta especie se caracteriza por ser un bambú espinoso. El culmo (caña) de sección circular y superficie lisa. Es erecto en la base, apicalmente arqueado, de color verde blanquecino cuando joven, diámetro de 5 a 7 cm, altura 3-10 m, espesor de pared delgado (entre 1 a 5,2 mm). Rizoma paquimorfo de cuello corto con entrenudos más anchos que largos. Sus rizomas se asemejan a un cono truncado en posición horizontal o inclinada. El patrón que presenta es del tipo radial, reflejándolo en la parte aérea como un conjunto de culmos aglutinados (distanciados entre 20 a 50 cm). Asimismo se ha encontrado conexión entre los grupos de rizomas (matas), a través de rizomas de cuello largo de más de 1 metro de

longitud, interpretándose como una estrategia de reproducción y extensión de dominio del área por parte esta especie de bambú con respecto a otras plantas en selva central. Hoja caulinar de forma triangular, textura blanda y color púrpura oscuro en su desarrollo inicial para luego tornarse de color amarillo pajizo y textura coreácea. Ramificación de 3 ramas por nudo, inicialmente una rama central dominante y luego desarrolla 2 ramas secundarias laterales; la rama central puede desarrollarse con diámetros gruesos como el culmo principal y crecer paralela al eje central o puede ser ligeramente más gruesa que las laterales y desarrollar espinas y follaje; las ramas espinosas se observan generalmente en el tercio medio, con un número de 3 a 5 espinas por nudo. Follaje conformado por de 8 a 18 hojas por complemento; lámina foliar elíptico-lanceolada o linearlanceolada (Londoño, 2010b y Catpo, 2019).

2.2.4 Otras características relevantes de la especie

Guadua weberbaueri tiene un ciclo de vida monocarpico de 30 años. Todos los individuos florecen y producen una gran cantidad de semillas y después mueren. Cada estadio ocurre en sincronía. Una población de *Guadua* sp. puede cubrir miles de kilómetros cuadrados (Griscom y Ashton, 2003).

2.2.5 Usos

Guadua weberbaueri es usada para la construcción de refugios temporales, almacenes, cercas, corrales para animales menores, fabricación de canastos, aljabas y otras artesanías por comunidades nativas. Algunas etnias indígenas de Madre de Dios la usan para la confección de instrumentos musicales y de caza, objetos ceremoniales y como utensilio culinario (tamices, para almacenar y cocinar comida) y para la fabricación de tintes. Así también, como combustible junto con la leña para la cocción de alimentos por la etnia Asháninka. (Reátegui, 2009; Ortíz, 2017 y Catpo, 2019).

G. weberbaueri tiene un promisorio potencial uso como material de construcción no convencional en ingeniería civil, debido a su muy alta resistencia a la tracción (Romand-Monnier, 2013). En la zona nor oriental se mezcla con barro para hacer techos de las casas según lo indicado por Ortíz (2017). Judziewicz (1999) citado por Reátegui (2009) señala que la especie tiene potencial de uso como elemento de construcción en elementos como vigas para techos pero cuyo uso es limitado por la presencia de espinas en la población mestiza según Catpo (2019).

En cuanto a la transformación química, existió un proyecto realizado por INRENA (Instituto Nacional de Recursos Naturales, hoy SERFOR Servicio Forestal y de Fauna Silvestre) y la OIMT (Organización Internacional de Maderas Tropicales) en el Perú en el año 1995 en el cual se menciona que existe un estudio donde se indica que la pulpa de Paca, *Guadua sarcocarpa*, al sulfato es más resistente que la pulpa de pino importado y que se puede obtener alcohol para vehículos motorizados, pero por los altos costos de transporte a la Costa resultó no rentable (INRENA, 1995).

2.3 Métodos de propagación para el género guadua

Los bambúes al tener una gran diversidad morfológica pueden propagarse por métodos sexuales o asexuales (Londoño, 2002 citado por Pérez *et al.*, 2009).

2.3.1 Propagación sexual o gámica

La posibilidad de propagar bambúes por semilla no es un método práctico debido a los largos ciclos de semillación de los bambúes (Uchimura, 1980 citado por Londoño y Clark, 2004) y a la dificultad de obtener semillas en algunos de ellos; sin embargo, en Asia, especies como *Dendrocalamus strictus* se han propagado a partir de semilla, facilitándose además la distribución a diferentes partes del mundo. En Asia el porcentaje de germinación de las semillas de varias especies fluctúa entre 26-52%; en América, las semillas de algunas especies como *Guadua angustifolia* presentan porcentajes altos de germinación, 95-100%, sin embargo, la probabilidad de que esta especie produzca semillas es escasa ya que un alto porcentaje de los flósculos de la espiguilla son parasitados en estado inmaduro por larvas de insectos principalmente de los órdenes Díptera e Himenóptera (Londoño y Clark, 2004) la germinación se alcanza luego de 23 días después de la siembra (Giraldo y Sabogal, 1999 citados por García *et al.*, 2011). Otras especies de bambú de los géneros *Bambusa*, *Gigantochloa* y la especie *Schizostachyum lumampao* alcanzan entre el 50-80% de germinación al séptimo día de ser sembradas (Ramírez *et al.*, 2011).

2.3.2 Propagación asexual o agámica

Los métodos de propagación asexuales son los más usados en la mayoría de especies de bambú debido a que estas especies no florecen regularmente y a que los frutos son estériles y/o inviábiles. Ramírez *et al.* (2011) reconoce los siguientes métodos de propagación asexual:

a. División de rizomas con segmento de tallo

Es efectivo para todas las especies. Permite un 100% de supervivencia. Es un método práctico y ventajoso debido a la disponibilidad de material vegetal y a la facilidad de transportación. En *B. tuldooides* se ha alcanzado un 80.0% de éxito y ha sido ampliamente distribuida en la India para la reforestación. Colombia ha implementado este método para las reforestaciones con *G.angustifolia* (Londoño, 2002).

b. División de plantones o trasplante directo

Permite un alto grado de éxito tanto por la tasa de supervivencia como su posterior desarrollo. Por lo general se emplea este sistema cuando se desea trasplantar un número muy pequeño de tallos con fines ornamentales (Catasús 2003, citado por Ramírez *et al.*, 2011).

c. Segmentos de culmos

Es efectivo para propagar bambúes de gran tamaño y pared gruesa tales como *B. vulgaris*, *B. blumeana*, *D. asper* y *D. latiflorus*. Permite dar solución a problemas de escasez y peso del material vegetal para plantar. Se debe utilizar culmos de un año de sembrados y segmentos de culmo con uno o dos nudos por segmento.

La siembra es mejor horizontal que vertical u oblicua y se deben enterrar a 20 cm de profundidad, regando dos veces al día. Los nuevos brotes se pueden empezar a observar entre la segunda y cuarta semana. Este método no es ventajoso por su alto costo y por la limitación de material vegetal, los cuales pueden ser usados para otros propósitos (Londoño, 2002).

d. Segmentos de ramas

Es útil, práctico y efectivo, además de ser fácilmente manejable. En Asia este método es ideal para establecer plantaciones a gran escala.

Comúnmente se aplica en la siembra de *Dendrocalamus asper*. Arancibia (2017) ensayó este método para *Guadua weberbaueri* y *Guadua lynnclarkiae* encontrando bajos valores de respuesta para las especies ensayadas.

Otros métodos de propagación asexual reconocidos son:

e. Esquejes

Se seleccionan las ramas o riendas de la parte central, inferior o basal del tallo, se cortan segmentos de 5 a 15 cm de longitud que posean yemas activas, colocándolos en bolsas plásticas con sustrato o en bancos de propagación a 45° de inclinación. Se debe suministrar riego constante para obtener un prendimiento adecuado (PERUBAMBÚ, s.f.).

f. Rizomas

El rizoma del bambú es una prolongación del tallo que sirve de almacén de nutrientes, a los que se les cortan fracciones de 40 – 50 cm, cuidando de no dañar las yemas, para ser plantados individualmente (Catasús, 2003 citado por Lárraga *et al.*, 2011). Se le considera elemento básico para la propagación del bambú, que asexualmente, se realiza por ramificación de los rizomas (Mercedes 2006 citado por Lárraga *et al.* 2011). Sin embargo, requiere mucha mano de obra lo que lo hace costoso y presenta baja tasa de multiplicación (Gielis *et al.*, 2001 citado por Lárraga *et al.*, 2011).

Se extraen los rizomas y se los entierran completamente en los lugares definidos. Este método no es recomendable, por el daño que se le causa a la mancha de la planta “madre” y por el tiempo que requiere la extracción del rizoma (PERUBAMBÚ, s.f.).

g. Chusquines o plántulas

La principal vía de propagación es por chusquines, estos se encuentran en la base de las plantas, y se originan de yemas adventicias en los rizomas. Estas emergen una vez que el culmo ha sido cortado o fraccionado. Este método de propagación es muy recomendable por alto prendimiento y desarrollo; cada brote llega a producir de dos a 12 plántulas a los cuatro meses. Sin embargo, esta vía presenta limitaciones como la poca disponibilidad de material vegetal (Gallardo *et al.*, 2008 citado por Lárraga *et al.*, 2011).

2.3.3 Métodos de propagación biotecnológicos

Los métodos biotecnológicos constituyen una herramienta fundamental para la propagación masiva, ya que permiten obtener un mayor número de plantas en un corto período de tiempo (Sanches, 2017).

Varios autores manifiestan que este método de propagación tiene ventajas y desventajas frente a los métodos de propagación convencional, así tenemos que Barba *et al.* (2001) menciona lo siguiente:

Ventajas:

- ✓ Producción de un gran número de plantas a partir de un inóculo.
- ✓ Las plantas pueden almacenarse *in vitro* ocupando poco espacio.
- ✓ Permite la obtención de clones de plantas donadoras de alta calidad.
- ✓ En la mayoría de los casos la producción comercial de las especies resulta redituable.

Desventajas:

- No todas las especies responden igual al cultivo *in vitro*.
- Cada especie requiere de métodos particulares de cultivo.
- La fase de investigación es costosa.

La micropropagación es un procedimiento que consiste en el cultivo en condiciones asépticas de órganos, tejidos, células o protoplastos en un medio de cultivo artificial para lograr el desarrollo y producción de plantas completas *in vitro*. Es también una de las aplicaciones del cultivo de tejidos donde ha habido más avances y es aplicada comercialmente a un mayor número de especies (Barba *et al.*, 2001). La embriogénesis somática y la organogénesis constituyen los dos métodos más empleados en la propagación *in vitro* de bambúes (Lin *et al.*, 2004; Arshad *et al.*, 2005; Jiménez *et al.*, 2006; Ramanayake *et al.*, 2006 citados por Ramírez *et al.*, 2011). La gran mayoría de las especies de bambúes han sido propagadas vía organogénesis utilizando como material vegetal yemas axilares (Sood *et al.*, 2002; Lin *et al.*, 2004; Arshad *et al.*, 2005; Jiménez *et al.*, 2006; Ramanayake *et al.*, 2006 citados por Ramírez *et al.*, 2011). Las especies *D. hamiltoni*, *G. angustifolia*, *Bambusa vulgaris* var. *vittata*, *B.wamin* y *B.edulis* han sido propagadas mediante esta vía (Rajneesh y Hyamal, 2009 citado por Ramírez *et al.*, 2011).

a. Fases de la micropropagación

Las fases de la micropropagación tomadas de Castillo (2004) citado por Casanova (2017) son:

- Fase 0: preparación de la planta madre

Para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantes con un nivel nutricional y un grado de desarrollo adecuado. Para obtener estos explantes es

recomendable mantener a las plantas madre, es decir la planta donadora de yemas, durante un período de tiempo que puede oscilar entre unas semanas o varios meses en un invernadero bajo condiciones controladas. En ese ambiente se cultiva la planta en condiciones sanitarias óptimas y con un control de la nutrición y riego adecuados para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades.

- Fase 1: desinfección del material vegetal

Una vez elegida la planta madre, se extraerán los fragmentos a partir de los cuales se obtendrán los explantes. Los explantes pueden ser yemas, trozos de hojas, porciones de raíces, semillas, etc. Antes de extraer los explantes se hará una desinfección de los fragmentos de planta madre para eliminar los contaminantes externos. Los contaminantes más comunes son los hongos y las bacterias que habitan en forma natural en el ambiente. Una vez desinfectado el material vegetal, se debe mantener en condiciones de asepsia. A efectos de obtener las condiciones de asepsia, se trabajará en cabinas de flujo laminar para extraer los explantes a partir del material vegetal. Estos explantes se introducen en un tubo de cultivo conteniendo medio de iniciación para poder controlar la sanidad y la viabilidad, luego de realizar la desinfección del material con hipoclorito de sodio (agua clorada comercial), pura o diluido durante un período de 5 a 15 minutos, seguido por 3 a 4 enjuagues en agua esterilizada.

- Fase 2: introducción del material *in vitro*

Luego de la desinfección superficial, las semillas o las yemas dependiendo del material seleccionado, se ponen en medio de cultivo estéril. En un período de una semana o quince días, comienza el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo de cultivo *in vitro*.

- Fase 3: multiplicación de los brotes

Durante esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron la FASE 1 y 2 originen brotes (de procedencia axilar o adventicia) con varias hojas. En la base de cada hoja hay una yema que se desarrollará luego de ser puesta en contacto con el medio de cultivo. Periódicamente estos nuevos brotes se deben subcultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones se realizan en la cámara de flujo laminar o en un lugar aislado que nos permita mantener las condiciones de asepsia. De esta forma aumenta el número de plantas en cada repique o

división de las plantas. El número de plantas que se obtiene dependerá de la especie vegetal y de las condiciones del medio de cultivo. El número de plantas que se obtiene por la vía de la micropropagación permite alcanzar incrementos exponenciales, considerando que todos los factores que afectan el crecimiento hayan sido optimizados.

- Fase 4: elección de un medio de enraizamiento de los explantes

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

- Fase 5: aclimatación de los explantes enraizados

Los explantes recién enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales, de manera que el éxito o el fracaso de todo el proceso dependen de la aclimatación. En esta etapa las plantas sufrirán cambios de diferente tipo que permitirán la adaptación de las mismas a vivir en condiciones naturales. En el momento en que se extraen los explantes o plantines enraizados de los frascos, están poco adaptados a crecer en un invernáculo, ya que estos explantes han enraizado y crecido en ambientes con una humedad relativa muy elevada y generalmente tienen estomas (estructuras responsables de regular la transpiración y pérdida de agua en la planta) que no son completamente funcionales frente a descensos de la humedad relativa, y por lo tanto demasiado lentos para evitar la desecación del explante. Por otra parte, crecer en ambientes tan húmedos también suele implicar la falta de una cutícula con cera bien desarrollada, que representa la barrera física para evitar la pérdida de agua a lo largo de toda la superficie de la planta.

b. Avances biotecnológicos con especies de bambú

En la actualidad el cultivo *in vitro* se utiliza cada vez más para la propagación de especies amenazadas, con el fin de aumentar rápidamente el número de individuos, superar problemas de fertilidad y de biología reproductiva, así como proporcionar material para su reintroducción en la naturaleza y contribuir a la conservación de la diversidad a mediano y largo plazo (Pedroza, 2008). Algunas de las especies que se micropropagaron a partir de tejidos jóvenes han sido: *Bambusa arundinacea*, *Bambusa nutans*, *Bambusa vulgaris*,

Bambusa tulda, *Dendrocalamus* sp, *Dendrocalamus asper*, *Dendrocalamus giganteus*, *Dendrocalamus stricutus*, *Gigantochloa levis*. Las especies en las que se usaron tejidos maduros han sido: *Bambusa arundinacea*, *Bambusa balcooa*, *Bambusa edulis*, *Bambusa nutans*, *Bambusa vulgaris*, *Dendrocalamus asper*, *Dendrocalamus giganteus*, *Dendrocalamus hamiltonii*, *Guadua angustifolia*. (Londoño, 2010a)

El estudio y la optimización de la organogénesis en la mayoría de especies bambúes se ha centrado en evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento en el medio de cultivo (Ramanayake *et al.*, 2008 citado por García *et al.*, 2011). Sin embargo, aún hace falta estudios que profundicen los factores que limitan la propagación masiva de bambúes bajo los métodos de cultivos de tejidos. Entre estos factores se encuentra: la contaminación microbiana en la fase de establecimiento (Acosta-Suárez *et al.*, 2008 citado por García *et al.*, 2011), las bajas tasas de multiplicación y enraizamiento, las manifestaciones de contaminación tardías en la multiplicación y los bajos porcentajes de supervivencia *ex vitro* (Acosta-Suárez *et al.*, 2008 citado por García *et al.*, 2011)

La contaminación microbiana de los explantes en la fase de establecimiento se relaciona con el tipo de explante, época del año y las atenciones fitosanitarias realizadas al banco de plantas donantes, ya que en períodos de escasas precipitaciones los porcentajes de contaminantes microbianos visibles se reducen y se incrementa el número de explantes con yemas brotadas (Gieles y Oprins, 2002 citados por García *et al.*, 2011). La baja tasa de multiplicación a causa del manejo del explante, los reguladores de crecimiento y el estado físico del medio de cultivo. Las manifestaciones de contaminación tardías en la multiplicación debido a la asociación de microorganismos de forma epífita o endófito con especies de bambúes (Jimenez y Guevara, 2007; Banerjee *et al.*, 2011 citados por Sanches, 2017). La baja tasa de enraizamiento la cual puede estar relacionada con la altura del explante, los reguladores de crecimiento y el estado físico del medio de cultivo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Hipótesis de la investigación

En esta investigación se plantearon las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula 1:

Los diferentes sitios de colecta del germoplasma de *Guadua weberbaueri* al ser introducidas *in vitro* muestran variabilidad en las características del establecimiento aséptico de los explantes.

Hipótesis alterna 1:

Los diferentes sitios de colecta del germoplasma de *Guadua weberbaueri* al ser introducidas *in vitro* no ocasionan variabilidad en el establecimiento aséptico del cultivo.

Hipótesis nula 2:

El tratamiento de desinfección, medio de cultivo y el fotoperiodo durante la incubación ocasionan variabilidad en el establecimiento aséptico del cultivo

Hipótesis alterna 2:

El tratamiento de desinfección, medio de cultivo y el fotoperiodo durante la incubación no ocasionan variabilidad en el establecimiento aséptico del cultivo

Hipótesis nula 3:

Existe una época de introducción favorable para el establecimiento exitoso del cultivo aséptico de *Guadua weberbaueri*.

Hipótesis alterna 3:

No existe una época de introducción favorable para el establecimiento exitoso del cultivo aséptico de *Guadua weberbaueri*.

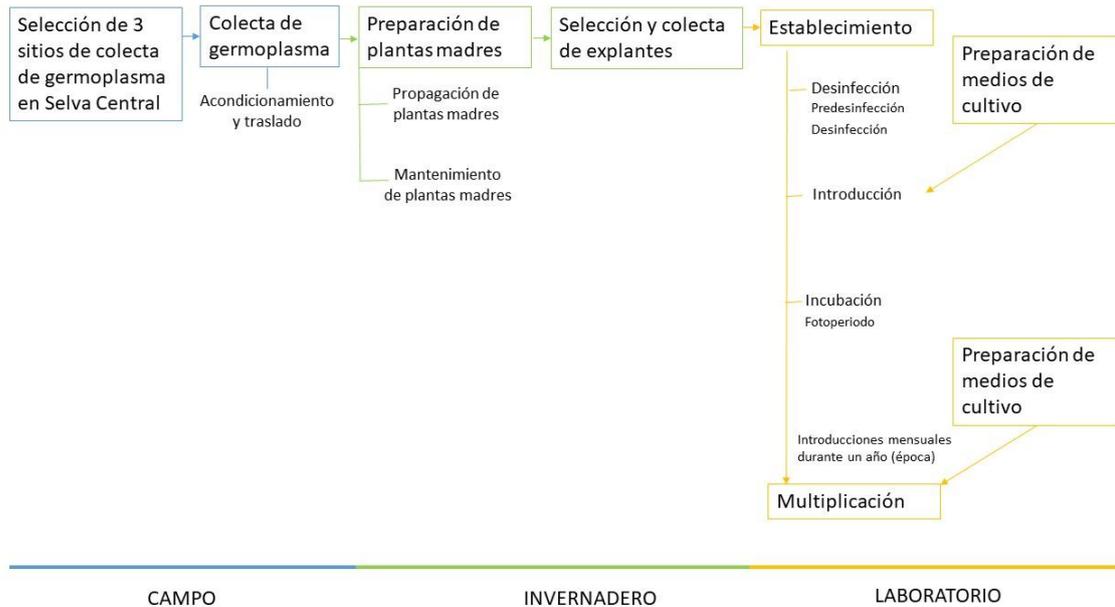
Hipótesis nula 4:

Existe un tratamiento que estimula una alta multiplicación de brotes

Hipótesis alterna 4:

No existe un tratamiento que estimule una alta tasa de multiplicación de brotes

3.2 Esquema de la investigación



3.3 Selección de los 3 sitios de colecta de germoplasma de *G. Weberbaueri*

Guadua weberbaueri y *Guadua sarcocarpa* son especies nativas de largos ciclos reproductivos y con características vegetativas similares. Ambas especies coexisten en la región sur-oriental (Junín, Ucayali, Cusco y Madre de Dios) y región nor-oriental (San Martín y Amazonas) y son conocidas como “pacaes”. Lo anterior hace que la distinción entre las dos sea una tarea difícil, por lo que la selección de los sitios de colecta de *G. weberbaueri* se realizó tomando como base los lugares señalados por Quispe (2019) quien realizó la identificación a nivel molecular. Estos lugares fueron 5 en Junín (4 en Satipo y 1 en Chanchamayo) y 2 en Pasco en Oxapampa.

3.4 Colecta de germoplasma de *G. Weberbaueri*

3.4.1 Insumos y herramientas

- Calza (herramienta de corte que consta de un mango de 1 m de largo y un elemento cortante de 0.1 m de ancho)
- Pala recta
- Machete
- Bolsas plásticas negras
- Periódico
- Agua
- Cinta adhesiva
- Tijera de podar
- Costales

3.4.2 Procedimiento

Para realizar la colecta lo ideal es que el material sea juvenil (Figura 7) por presentar mayor número de yemas en el rizoma y culmo, alta capacidad de rebrote, reducida pérdida hídrica, facilidad de extracción y transporte.

En el lugar de colecta se ubicó los puntos donde se encontró el material vegetal juvenil. La calza junto con la pala recta permitieron seccionar el rizoma. Primero con la pala recta se bordeó al material vegetal para posteriormente con la calza cortar las uniones del rizoma y con la pala recta palanquear y extraer la champa (masa compacta de tierra con rizoma). Finalmente, con un machete bien afilado se corta las 4 esquinas de la champa con la finalidad de obtener un corte limpio y se procedió a ubicar el material bajo sombra para reducir el estrés hídrico.

La champa se colocó en bolsas negras con papel periódico humedecido para que la muestra no sufriera de estrés hídrico en el transporte, una vez colocada la champa se selló la bolsa con cinta adhesiva. La parte aérea fue podada para evitar la pérdida de agua. Para facilitar el transporte las muestras procesadas fueron colocadas en costales.

Los sacos embalados se transportaron hasta el invernadero ubicado en la UNALM, La Molina, Lima donde se recepcionó y procesó el material.



Figura 7: Modelo de muestra para colecta de *G. weberbaueri*

3.5 Preparación de las plantas madre de *G. Weberbaueri*

3.5.1 Insumos y herramientas

- Tierra de chacra
- Arena de río
- Compost
- Pala cuchara
- Carretilla
- Bolsas de polipropileno negras
- Razormin
- Baldes
- Probeta
- Solución hidropónica A+B

- Tijera de podar
- Agua
- Pulverizador
- Benlate
- Phyton

3.5.2 Procedimiento

a. Propagación del germoplasma de *G. Weberbaueri*

Las plantas de *Guadua weberbaueri* provenientes de las 3 colectas fueron transportadas en sacos manteniendo el pan de tierra envuelto en bolsas negras al invernadero de policarbonato del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

Inmediatamente los rizomas fueron trasplantados a un sustrato desinfectado con proporción 2:1:1 (tierra de chacra, arena de río y compost) en bolsas de polipropileno negras y se aplicó en el riego el enraizante Razormin (40 ml/20 l).

b. Mantenimiento de plantas *G. Weberbaueri* en invernadero

El mantenimiento consistió en riego con agua deionizada 3 veces por semana 1 l/ planta durante los meses de menor porcentaje de humedad y de 2 a 1 vez por semana 500 ml/planta durante los meses de mayor humedad.

Asimismo, cuando las plantas adultas presentaron hojas de tamaño medio se aplicó, cada 15 días, la solución hidropónica en el riego (solución A 2 ml/l y solución B 5 ml/l). (Figura 12 y Anexo 1)

Igualmente una vez que las plantas se mostraron grandes se inició la fumigación preventiva en el invernadero con un pulverizador de 2 L, 2 veces por semana con una solución de 2 g/l de Benlate y 2 ml/l de Phyton.

Una muestra de las plantas madres fue enviadas a la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología Vegetal para identificar los patógenos presentes.

3.6 Selección y colecta de explantes

3.6.1 Insumos y herramientas

- Alcohol 96°
- Tijera de podar
- Lejía

3.6.2 Procedimiento

Es importante observar en el invernadero el desarrollo de los segmentos nodales de los culmos, ramas primarias y secundarias. En el invernadero se observa que en las ramas primarias se desarrollan de 3 a 4 segmentos nodales los cuales se observan en la Figura 8. En base a lo indicado por Corrales (2017) y Casanova (2017) se determina que las plantas donantes presentan las características para la extracción de explantes cuando estas son vigorosas, con hojas verdes, presentan ramas primarias y secundarias con segmentos nodales sanos y la planta tiene una altura total mayor a 60 cm.

En *G. angustifolia* Corrales (2017) hace una distinción por la ubicación de las yemas de ramas primarias, las cuales denomina: basal, medio y apical. Adicionalmente, el autor incluye el color de la hoja caulinar y el grado de lignificación de la yema en las categorías de basal y medio. Finalmente el autor recomienda la extracción de yemas ubicadas en la sección media y basal, en este último caso cuando la hoja caulinar es de color verde oscuro o marrón rojizo y no se ha desprendido de la rama, al presentar menor contaminación y mayor respuesta.

La extracción de los segmentos nodales se realizó usando una tijera de podar previamente lavada con detergente, remojada en lejía por 5 minutos y esterilizada con alcohol de 96° previo al corte de cada planta. Se colectaron ramas de las plantas que presentaban las mejores características fenotípicas (hojas más verdes y sanas, altura mínima de 60 cm y vigorosas) como lo proponen Marulanda *et al.* (2005) y Corrales (2017). Las ramas fueron llevadas al laboratorio en donde se cortaron segmentos de 5 cm., lo anterior para evitar la contaminación de la estaca. (Figura 9)

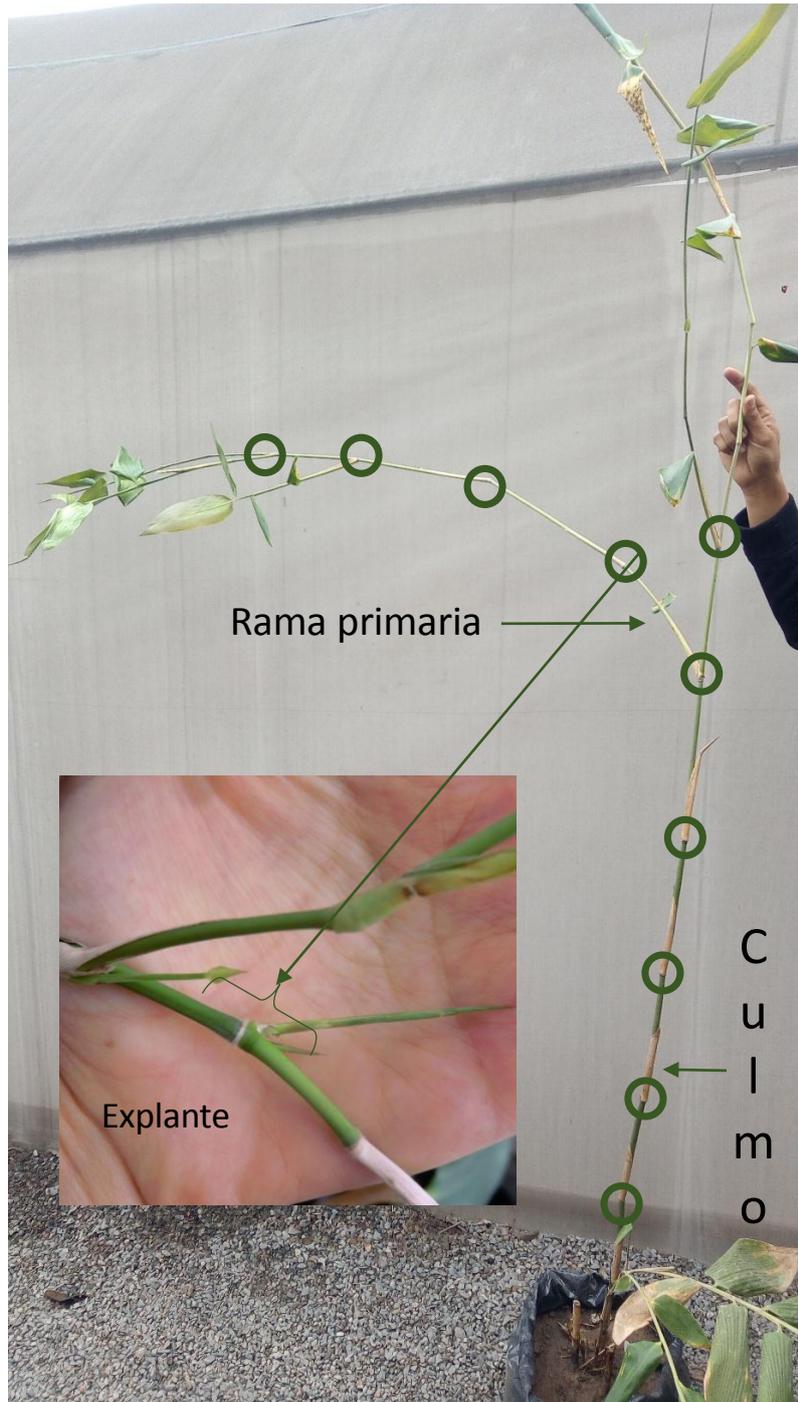


Figura 8: Tipos de segmentos nodales de *G. weberbaueri*



Figura 9: Explantes de *G. weberbaueri*

3.7 ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO *in vitro*

El establecimiento del cultivo *in vitro* se llevó a cabo en los ambientes del Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) con las procedencias “Satipo 1” y “Chanchamayo” que se desarrollaron a nivel invernadero. “Satipo 2” no fue introducida debido a que no sobrevivió la fase de invernadero.

Las limitantes para el establecimiento del cultivo *in vitro* son: la contaminación de los explantes, el fotoperiodo durante la incubación, el medio de cultivo, la época de introducción y la procedencia del germoplasma.

Durante la mejor época de introducción se ensayó la diferencia en el establecimiento de las procedencias introducidas, mediante la introducción de 15 explantes por procedencia en los mejores tratamientos de predesinfección, desinfección, medio de cultivo y fotoperiodo.

Una muestra de los explantes contaminados de ambas procedencias fue enviada a la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología Vegetal para identificar los patógenos presentes.

3.7.1 Desinfección de explantes

a. Insumos y herramientas

- Detergente Comercial (20 g/ 500 ml)
- Benlate (2 g/ 100 ml)
- Phyton (4 ml/ 100 ml)
- Tween 20 (4 gotas/ 100 ml)
- Agua destilada estéril
- Cepillo de dientes
- Placas Petri
- Frascos estériles
- Pinzas
- Balanza analítica
- Alcohol 70°
- Hipoclorito de Sodio (NaOCl)
- Agua destilada estéril
- Tween 20
- L-Cisteína
- Cefalogen (Ceftriaxona disódica hemiheptahidratada)
- Probetas (100 ml y 1 l)
- Botellas biotecnológicas
- Autoclave
- Estufa

- Tubos
- Pinza recta
- Pinza curva
- Bisturí
- Platos de acero (2)
- Papel
- Mechero

b. Procedimiento

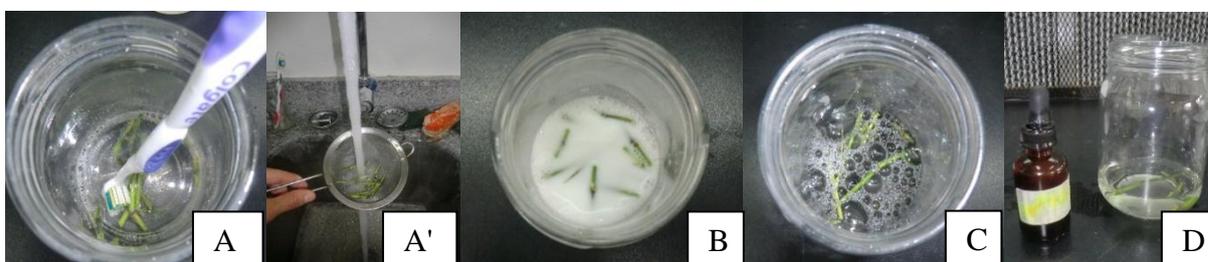
Para la pre desinfección se probó 2 tratamientos: (a) dentro de la cámara de siembra PD1 (b) fuera la cámara de siembra PD2 (Figura 10) usando 15 explantes por tratamiento. Este ensayo se repitió 3 veces cada 15 días.

b.1 Pre desinfección dentro de la cámara de siembra (PD1)

- Paso 1: se lavó los explantes con detergente comercial a una concentración de 10g/500ml de agua destilada estéril con un cepillo de dientes esterilizado durante 10´
- Paso 2: se sumergió los explantes en una solución de Benlate a una concentración de 2g/100 ml de agua destilada estéril con Tween 20 (4 gotas/100ml) con agitación constante por una hora
- Paso 3: se sumergió los segmentos nodales en una solución de Phyton a una concentración de 4 ml/100 ml de agua destilada estéril con Tween 20 (4 gotas/100ml) durante una hora con agitación constante
- Paso 4: se remojó en L-Cysteína 5 mg/ 100 ml de agua destilada estéril y Tween 20 (4 gotas/100ml) con agitación constante durante 15´
- Paso 5: se enjuagó con abundante agua antes de ser llevados a la cámara de siembra en un frasco esterilizado.

b.2 Pre desinfección fuera de la cámara de siembra (PD2)

El procedimiento es el mismo que el PD1 pero se ejecutó fuera de la cámara de siembra y una variación en el paso 1 al realizar el lavado de los explantes con detergente comercial en agua corriente y con un cepillo de dientes nuevo pero sin esterilizar.



A. Paso 1 A'. Paso 1 (PD2) B. Paso 2 C. Paso 3 D. Paso 4

Figura 10: Pre desinfección de micro estacas de *G. weberbaueri*

En la cámara de siembra una vez obtenidos los explantes y luego de la pre desinfección se definieron 4 tratamientos de desinfección considerando 10 explantes por tratamiento y repitiendo el ensayo 3 veces cada 15 días.

b.3 Tratamiento 1 (D1)

En función a lo propuesto por Casanova (2017) para *G. weberbaueri* quien logró un 33% de contaminación.

- Se sumergieron los explantes en alcohol de 70° por 1 segundo
- Se colocaron en un frasco estéril con 100 ml de hipoclorito de Sodio al 2,5% por 10 minutos con Tween 20 (4 gotas/100ml) en agitación constante
- Se enjuagaron los explantes tres veces con agua destilada estéril
- Se colocaron en un frasco estéril con 100 ml de hipoclorito de sodio al 1,5% con Tween 20 (4 gotas/100ml) por 3 minutos en agitación constante.
- Se enjuagaron los explantes tres veces con agua destilada estéril.

b.4 Tratamiento 2 (D2)

En función a lo propuesto por Borgues *et al.* (2004) para *G. angustifolia* obteniendo un 20% de contaminación usando el método de doble desinfección con hipoclorito de sodio.

- Se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 2 % durante 5 minutos con Tween 20 (4 gotas/100ml)

- Se realizaron tres enjuagues en agua destilada estéril.
- Se colocaron en frascos con agua destilada estéril por un período de 24 horas en la parte baja de una refrigeradora.
- Se sumergieron nuevamente en una solución de hipoclorito de sodio al 2 % durante 5 minutos con Tween 20 (4 gotas/100ml)
- Se realizaron tres enjuagues en agua destilada estéril

b.5 Tratamiento 3 (D3)

En función a lo propuesto por Sanches (2017) para introducir plantas de *Guadua chacoensis* en sustratos con 2ml de PPM (Plant Preserve Mixture) logró un 30% de contaminación y sin PPM un 60% de contaminación.

- Se Agitó por 20 minutos en solución de Cefalogen (2 g/l) y con Tween 20 (4 gotas/100 ml)
- Previamente se esterilizó en autoclave el agua destilada (1l). En la cámara de siembra se diluyó 60 mg del antibiótico Cefalogen en 2 ml de agua destilada. Posteriormente, se colocó un filtro, previamente esterilizado en autoclave, en la botella de un litro esteriliza y la jeringa con el antibiótico diluido lo cual demoró aproximadamente una hora.
- Posteriormente los explantes fueron inmersos en alcohol 70° por 60 segundos
- Inmersos en hipoclorito de sodio al 3% y Tween 20 (4 gotas/100 ml) durante 20 minutos en agitación constante
- Se lavó 3 veces con agua destilada estéril

b.6 Tratamiento 4 (D4)

Este tratamiento tomó como referencia a Neves (2017) que en las pruebas de establecimiento de *Dencrocalamus asper* incluyó concentraciones de antibióticos como la Amoxicilina, Canamicina y Cefotaxima Sódica. Por lo que se planteó una variación del tratamiento 1 adicionando como último la sumersión del explante en un antibiótico de amplio espectro Cefalogen por un segundo.

Para la preparación del antibiótico previamente se esterilizó en la autoclave 1L de agua destilada. En la cámara de siembra se diluyó 60 mg del antibiótico Cefalogen en 2 ml de agua destilada. Posteriormente, se colocó un filtro, previamente esterilizado en autoclave, en la botella de un litro esterilizada y la jeringa con el antibiótico diluido (Figura 11).



Figura 11: Preparación del antibiótico

3.7.2 Preparación de medios de cultivo

a. Insumos, materiales y equipos

- Jeringas estériles de 5 ml
- Microondas
- Placas Petri
- Frascos estériles
- Balanza analítica
- pHmetro
- Alcohol 70°
- Probetas (100 ml y 1 l)
- Frascos estériles
- Autoclave
- Estufa

- Tubos
- Papel aluminio
- Papel film
- Macronutrientes
- Micronutrientes
- Vitaminas
- Glucosa
- Sacarosa
- PPM

b. Procedimiento

El medio de cultivo seleccionado fue el medio basal establecido por Murashige & Skoog (1962) (MS) recomendado por Casanova (2017). Fue preparado en la sala de medios utilizando: macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, azúcar comercial y agar diluidos en agua destilada según la Tabla 2. Una vez calibrado el pH del MS, usando hidróxido de potasio (KOH) y ácido clorhídrico (HCL), hasta lograr un pH de 5,7 se agrega el agar y se calienta en microondas por 10 minutos. Es importante asegurar que el agar se diluya, por lo que se remueve con una bureta y si es preciso se vuelve a calentar por 5 minutos adicionales.

El MS se vierte en tubos de ensayo gruesos y/o frascos y se tapa con papel aluminio con ayuda de una jeringa. Posteriormente, los tubos se autoclavan para su esterilización (125°C y 1,1 Kg/cm² por un tiempo de 25 minutos). Finalmente, se sellaron con papel film y se esperó como mínimo 7 días para poder utilizar los medios de cultivo, con la finalidad de observar la presencia de algún agente patógeno que se haya podido desarrollar en el medio de cultivo. (Figura 12)

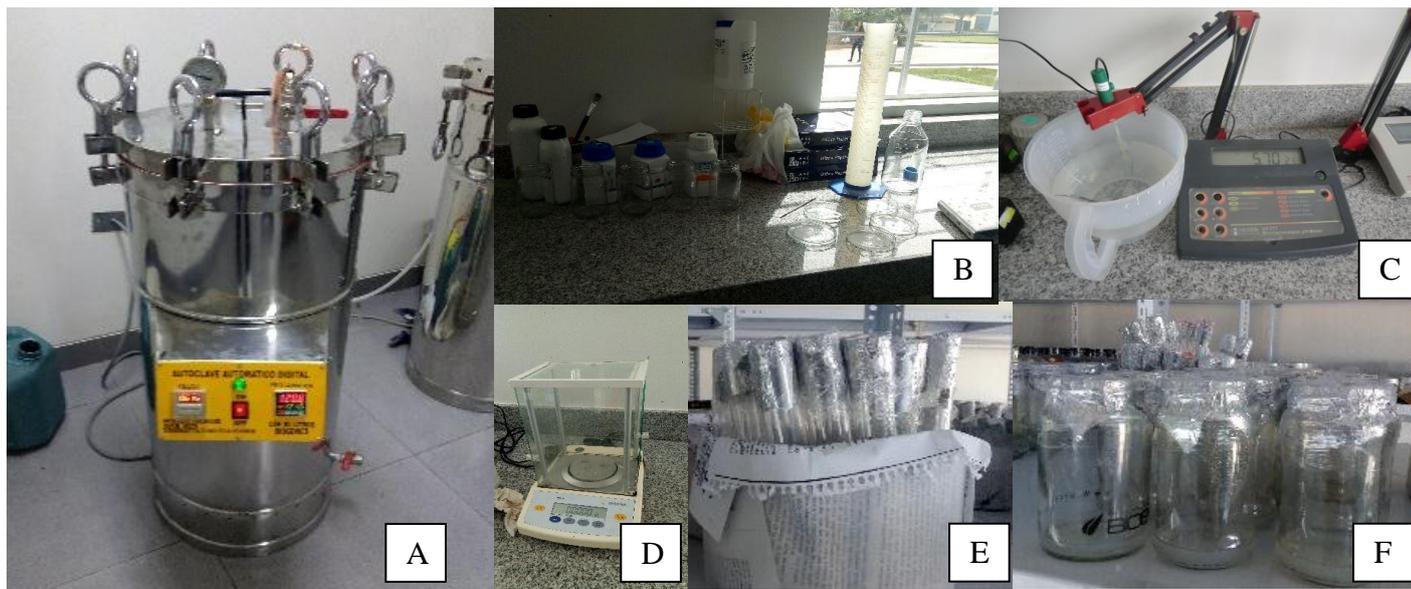
El PPM (Anexo 2) es un compuesto biocida de amplio espectro utilizado para el cultivo de tejidos vegetales que puede ser usado tanto en la desinfección como adicionándolo al medio de cultivo (Plant Cell Technology, EUA). Varios autores recomiendan su uso en diferentes especies de bambúes, por lo que se probó incorporar este compuesto al medio de cultivo

previo a la calibración del pH con este compuesto usando 2 ml/l según lo propuesto por Jiménez *et al.* (2004), Sanches (2017) y Casanova (2017) para especies del género *Guadua*.

Se sembró 10 explantes en MS y MS+PPM respectivamente y se repitió 3 veces cada quince días.

Tabla 2: Composición del medio de cultivo Murashige and Skoog (1962) (MS)

Compuesto	Concentración (mg/l)
Macronutrientes	
NH₄NO₃	1650,0
MgSO₄.7H₂O	370
KNO₃	1900
CaCl₂.2H₂O	440
KH₂PO₄	170
Na₂-EDTA	37,3
Micronutrientes	
FeSO₄.7H₂O	27,8
Na₂MoO₄.2H₂O	0,25
CuSO₄.5H₂O	0,025
CoCl₂.6H₂O	0,025
KI	0,83
H₃BO₃	6,2
ZnSO₄.7H₂O	8,6
Vitaminas	
Glicina	2
Ácido Nicotínico	0,5
Piridoxina	0,5
Tiamina	0,1
myo-Inositol	100
Glucosa	30 g/l
Agar	8 g/l



A. Autoclave B. Insumos C. pHmetro D. Balanza analítica E. Tubos con MS y F. Frascos con MS

Figura 12: Preparación de medio de cultivo

3.7.3 Introducción de explantes

a. Insumos, materiales y equipos

- Cámara de flujo laminar
- Alcohol 70°
- Mechero
- Frascos pyrex
- Platos de aluminio
- Hojas bond
- Pinza curva
- Pinza recta
- Bisturí
- Láminas para bisturí
- Etiquetas

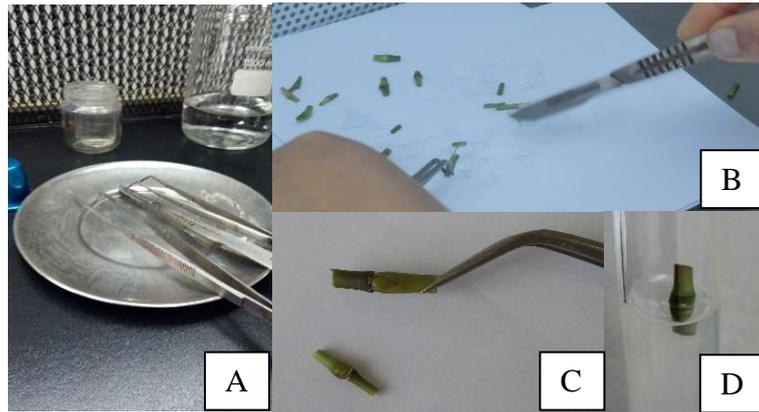
- Papel film
- Tubos de ensayo o frascos con MS
- Encendedor
- Papel toalla
- Pulverizador
- Cámara fitoclimática

b. Procedimiento

Luego de los tratamientos de predesinfección y desinfección los explantes fueron sembrados (Figura 13) en la cámara de siembra en tubos con medio de cultivo esterilizados según el siguiente procedimiento:

- Se desinfectó la cámara de siembra con alcohol.
- Se colocó el mechero junto con el frasco de alcohol.
- Sobre un plato de aluminio se colocó el papel bond esterilizado y en otro el bisturí y las pinzas recta y curva.
- Empleando pinza curva y bisturí se cortó cada lado del explantes hasta que mida aproximadamente 1 cm con la finalidad de retirar los extremos que podrían haber sido dañados en el proceso de desinfección.
- Empleando la pinza recta se sembraron los explantes en los tubos con MS esterilizados
- Se codificaron los tubos de ensayo de acuerdo a tratamiento
- Se sellaron los tubos de ensayo con papel film

Se mantuvo la asepsia durante todo el proceso al emplearse todos los materiales esterilizados a estufa o autoclave y realizando el flameo de los utensilios previo al uso en explante



A. Materiales B. Corte de extremos de explantes C. Explante dimensionado D. Explante sembrado

Figura 13: Siembra de explantes de *G. weberbaueri*

Los explantes sembrados se mantuvieron en una cámara fitoclimática donde permanecen en un periodo de crecimiento a una temperatura de 28°C con iluminación artificial 2.000 lux y un fotoperíodo de 12 horas luz como es lo recomendado por Marulanda *et al.* (2005) para *G. angustifolia* (Figura 14).

A fin de reducir la oxidación de explantes y promover su brotación, se probó el efecto de la oscuridad manteniendo 10 explantes en oscuridad hasta que mostraran señales de brotación y en otro caso se mantuvieron los explantes expuestos al fotoperíodo recomendado. Este ensayo fue repetido tres veces cada 15 días.

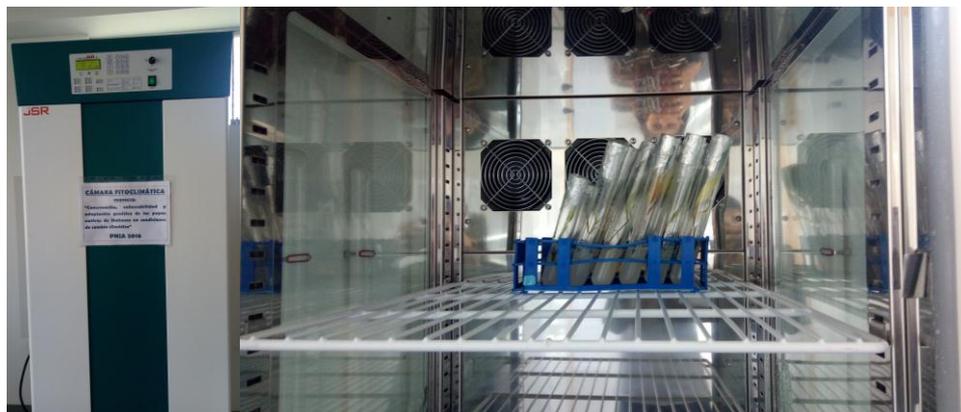


Figura 14: Explantes en periodo de crecimiento en la Cámara fitoclimática

3.7.4 Época de introducción

Se selecciona los mejores tratamientos de predesinfección, desinfección, medio de cultivo y fotoperíodo y se realiza una vez al mes introducciones de 15 explantes del sitio de colecta “Satipo (1)” que presentó mejor desarrollo a nivel de invernadero.

3.8 Multiplicación de brotes

La multiplicación se llevó a cabo en los ambientes del Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) con la procedencias “Satipo 1” cuyo cultivo logró establecerse.

En base en investigaciones previas realizadas en bambú se seleccionaron 3 medios de multiplicación con 8 repeticiones (1 plántula es una repetición) por tratamiento (Tabla 3) y se realizaron subcultivos cada 2 semanas. Esta prueba se realizó con explantes establecidos de la “Satipo 1”.

Tabla 3: Medios de multiplicación para *G. weberbaueri*

Tratamiento	Composición
M1	MS+PPM+ 3 mg BAP
M2	MS+PPM+ 5 mg BAP
M3	MS CON VITAMINAS MOREL (1974)+ PPM+ 15 μ M BAP < > 3,38 mg BAP
M4 (testigo)	MS+PPM

Nota: 6- Benzilaminopurine (BAP)

PPM (2ml/l)

Se seleccionaron las plántulas vigorosas con 2 hojas a partir de 5 cm (Figura 22).



Figura 15: Plántula vigorosa de *G. weberbaueri* vigorosa para introducción

Se evaluó la producción de brotes y el desarrollo de los brotes (longitud). Luego de un mes y medio a 2 meses los brotes resultantes y vigorosos se trasladaron nuevamente a MS+PPM para continuar su crecimiento.

3.9 Parámetros evaluados

3.9.1 Evaluación del desarrollo de las procedencias en condiciones de invernadero

Semanalmente se evaluaron las plantas en el invernadero para registrar el número de plantas con yemas aptas para la extracción de yemas, con incidencia de ataques fitosanitarios y muertas (Anexo 1, 2 y 3).

Las variables de sobrevivencia y producción de yemas aptas son indicadoras de los sitios que presentaron mejor desarrollo a nivel de invernadero. Para su cálculo se realizaron evaluaciones semanales (Anexos 3,4 y 5).

a. Sobrevivencia

Se evaluó el estado de la planta madre en función a las siguientes categorías:

Verde (V): planta turgente con el culmo y follaje verde vivo que aún no presenta yemas.

Vigorosa con yemas aptas (Y): planta en buen estado y con yemas aptas para la introducción *in vitro*.

Seco (S): planta seca con culmos y follaje en color verde oscuro.

Muerta (M): planta completamente seca con culmos y follaje en color pajizo.

No Vigorosas sin yemas aptas (NY): planta con la presencia de algunos síntomas o signos de plagas y/o enfermedades que afecten la producción de yemas aptas para la introducción *in vitro*.

La sobrevivencia es el porcentaje de plantas que presentaba yemas vivas (Y) respecto del total.

b. Incidencia

Referida al porcentaje de la población con síntomas o signos de plagas y/o enfermedades que afecten la producción de yemas aptas para la introducción *in vitro* (NY).

3.9.2 Establecimiento del cultivo in vitro

a. Pre desinfección

A los explantes introducidos dentro y fuera de cámara de siembra se evaluaron 2 veces por semana durante 31 días (Anexo 6) en junio 2018 para contabilizar lo siguiente:

- Porcentaje con respuesta y sano
- Porcentaje sin respuesta y sano
- Porcentaje con respuesta y contaminado
- Porcentaje sin respuesta y contaminado

b. Desinfección

A los explantes introducidos en los cuatro tratamientos definidos para la desinfección se evaluaron 2 veces por semana durante 31 días (Anexo 7) en junio 2018 para contabilizar lo siguiente:

- Porcentaje con respuesta y sano
- Porcentaje sin respuesta y sano
- Porcentaje con respuesta y contaminado
- Porcentaje sin respuesta y contaminado

c. Medio de cultivo

A los explantes sembrados en MS y MS+PPM se evaluaron 2 veces por semana durante 31 días (Anexo 8) en junio 2018 para contabilizar lo siguiente:

- Porcentaje con respuesta y sano
- Porcentaje sin respuesta y sano
- Porcentaje con respuesta y contaminado
- Porcentaje sin respuesta y contaminado

d. Fotoperiodo

A los explantes sembrados con oscuridad durante 10 días y los sembrados en el fotoperiodo recomendado se evaluaron 2 veces por semana durante 31 días (Anexo 9) en junio 2018 para contabilizar lo siguiente:

- Porcentaje con respuesta y sano
- Porcentaje sin respuesta y sano
- Porcentaje con respuesta y contaminado
- Porcentaje sin respuesta y contaminado

e. Época de introducción

A los explantes sembrados cada mes (de junio 2018 a mayo 2019) se evaluaron 2 veces por semana durante 31 días (Anexo 10) para contabilizar lo siguiente:

- Porcentaje con respuesta y sano
- Porcentaje sin respuesta y sano
- Porcentaje con respuesta y contaminado
- Porcentaje sin respuesta y contaminado

f. Establecimiento de las procedencias

A los explantes sembrados por procedencia se evaluaron 2 veces por semana durante 31 días (Anexo 11) para contabilizar lo siguiente:

- Porcentaje con respuesta y sano
- Porcentaje sin respuesta y sano
- Porcentaje con respuesta y contaminado
- Porcentaje sin respuesta y contaminado
-



Figura 16: Evaluación de establecimiento de *G. weberbaueri*

3.9.3 Multiplicación

Durante la multiplicación se evaluó 2 veces por semana durante 31 días el número de brotes por vitroplanta (Figura 17 y Anexo 12) y a las 8 semanas de iniciada la prueba se evaluó la longitud de cada brote (Anexo 13).



Figura 17: Evaluación multiplicación de *G. weberbaueri*

3.10 Análisis Estadístico

En la presente investigación se realizaron los siguientes análisis estadísticos haciendo uso de R Core Team (2018) y el complemento Mendiburu (2019):

3.10.1 Pre desinfección

a. Hipótesis

$$H_0: \mu_{PD_1} = \mu_{PD_2}$$

$$H_1: \mu_{PD_1} \neq \mu_{PD_2}$$

b. t-Student

Para afirmar con un alto nivel de significancia se comparó las medias de los tratamientos de pre desinfección empleando la prueba de t-Student.

3.10.2 Desinfección

a. Hipótesis

$$H_0: \mu_{D_1} = \mu_{D_2} = \mu_{D_3} = \mu_{D_4}$$

$$H_1: \text{Al menos un } \mu_{D_i} \text{ es } \neq$$

b. ANOVA

Se realizó un diseño completamente al azar con los 4 tratamientos y se aplicó un ANOVA.

c. Test de Tukey

Para determinar cuál fue el mejor tratamiento se realizó la prueba de Tukey.

3.10.3 Efecto de ppm

a. Hipótesis

$$H_0: \mu_{MS} = \mu_{MS+PPM}$$

$$H_1: \mu_{MS} \neq \mu_{MS+PPM}$$

b. t-Student

Para comparar las medias del medio de cultivo enriquecido o sin enriquecer con PPM se empleó la prueba de t-Student.

3.10.4 Fotoperiodo

a. Hipótesis

$$H_0: \mu_{Oscuridad} = \mu_{Sin oscuridad}$$

$$H_1: \mu_{Oscuridad} \neq \mu_{Sin oscuridad}$$

b. t-Student

Para comparar las medias entre la brotación con o sin oscuridad se empleó la prueba de t-Student.

3.10.5 Establecimiento de las procedencias

a. hipótesis

$$H_0: \mu_{\text{Satipo}_1} = \mu_{\text{Chanchamayo}}$$

$$H_1: \mu_{\text{Satipo}_1} \neq \mu_{\text{Chanchamayo}}$$

b. t-Student

Para comparar las medias entre los sitios de colecta de Satipo y Chanchamayo se empleó la prueba de t-Student.

3.10.6 Multiplicación

a. hipótesis

$$H_0: Me_{M_1} = Me_{M_2} = Me_{M_3} = Me_{M_4}$$

$$H_1: \text{Al menos un } Me_{M_i} \text{ es } \neq$$

b. Test de Kruskal- Wallis

Se aplicó una prueba no paramétrica para comparar las medianas de los 4 tratamientos de multiplicación.

c. Test de Tukey

Para determinar cuál fue el mejor tratamiento se realizó la prueba de Tukey.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Selección de sitios de los 3 sitios de colecta de germoplasma de *Guadua weberbaueri*

En función a lo encontrado por Quispe (2019), se distinguieron 2 rangos altitudinales y 2 condiciones hídricas. Los rangos altitudinales fueron de 900- 1200 msnm (1) y de 600- 900 msnm (2) y las condiciones hídricas fueron: asociado a un cuerpo de agua (A) y no asociado a un cuerpo de agua (B). Asimismo, en la visita de campo se evaluó el estado del material vegetal. Se seleccionaron las procedencias dando prioridad al estado fitosanitario de las plantas (sanas) y que tengan presencia de juveniles. Con la finalidad de tener material vegetal de un rango altitudinal más alto se seleccionó la población Génova, a pesar de presentar ataque de insectos y la edad adulta de las cañas. No se seleccionó a la población de Cacazu a pesar de estar en el mismo rango altitudinal y presentar juveniles por mostrar síntomas del ataque de algún agente patógeno. En la salida de campo se observó que la altitud y el aspecto hídrico influyen en el vigor y estado fitosanitario de *G. weberbaueri*. La selección de las procedencias se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4: Selección de procedencias de *G. weberbaueri*

Región	Provincia	Distrito	Población	Coordenadas UTM		Altitud msnm	Rango altitudinal	Condición hídrica	Condición del material vegetal	Selección
				X	Y					
Junín	Satipo	Coviriali	Bella Vista	537960	8754337	671	2	B	Sanos/adultos	NO
Pasco	Oxapampa	Villa rica	Cacazu	486790	8819825	985	1	B	Enfermos/juveniles	NO
Pasco	Oxapampa	Villa rica	Cacazu	486692	8819594	1006	1	B	Enfermos/ juveniles	NO
Junín	Chanchamayo	San Ramón	Génova	461307	8773376	1016	1	A	Ataque de insectos/ adultos	SI
Junín	Satipo	Satipo	Rafael Gastelua Bella	542401	8759275	583	2	A	Sano/ juveniles	SI
Junín	Satipo	Rio Negro	Rio Negro	533959	8768561	706	2	B	Sano/ juveniles	SI
Junín	Satipo	Satipo	Satipo 1	538913	8758112	646	2	B	Sano/adultos	NO

FUENTE: Modificado de Quispe (2019)

4.2 Colectas de germoplasma de *Guadua weberbaueri*

Se realizaron 3 colectas de *Guadua weberbaueri* como se observa en la Tabla 4. Cabe resaltar, que la condición de colecta de material juvenil solo se dio en el caso de las procedencias 1 y 3. La procedencia 2 no presentaba juveniles y como se indica en la Tabla 5 las cañas presentaban ataques de insectos y se encontraron pocos individuos. De cada procedencia se colectaron 50 muestras.

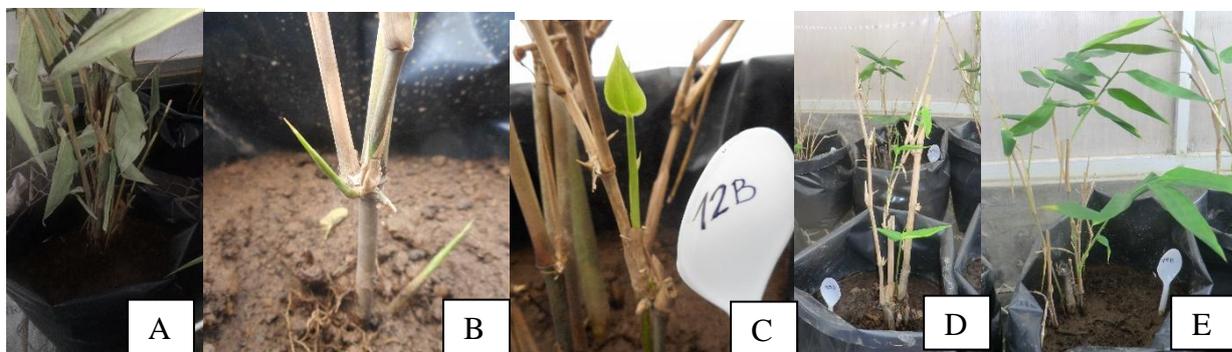
Tabla 5: Fecha de colectas de las procedencias de *G. weberbaueri*

<i>Procedencias</i>	<i>Región</i>	<i>Provincia</i>	<i>Distrito</i>	<i>Población</i>	<i>Fecha de colecta</i>
Satipo 1	Junín	Satipo	Satipo	Rafael Gastelua Bella	18/03/18
Chanchamayo	Junín	Chanchamayo	San Ramón	Génova	12/08/18
Satipo 2	Junín	Satipo	Rio negro	Rio Negro	21/08/18

4.3 Evaluación del desarrollo del germoplasma procedente de los 3 sitios de colecta en el invernadero

4.3.1 Desarrollo del germoplasma procedente de “Satipo 1”

Las muestras fueron juveniles y llegaron con hojas. A fines de marzo 2018 todas se secaron completamente y la primera semana de abril 2018 el 80% de muestras presentaron brotes. A inicios de mayo 2018 se observó que en la mayoría de estas plantas se presentaban hojas verdes, turgentes y brotes. Es importante mencionar que estos brotes surgieron a partir de los culmos y ramas. (Figura 18)



A. Marzo B. Inicio de Abril C. Mediado de abril D. Fines de abril E. Fines de Mayo (2018)

Figura 18: Desarrollo en invernadero de la procedencia “Satipo 1”.

A fines de abril 2018 se tuvieron 40 plantas vivas con hojas verdes y turgentes y presencia de yemas (80% de sobrevivencia) y desde mediados de junio 2018 se cuenta con 32 plantas (64% de sobrevivencia).

En junio de 2018 se observaron yemas con las características adecuadas para introducir a laboratorio con lo que a partir de esa fecha se extrajeron explantes.

4.3.2 Desarrollo del germoplasma procedente del “Chanchamayo”

Las muestras fueron adultas, sin hojas y con culmos de 0,3 a 0,5 cm. de diámetro. Los culmos se mantuvieron verdes sin presencia de brotes de agosto a setiembre de 2018 cuando comenzaban a secarse. La mayor parte de plantas presentaron brotes a partir del rizoma a diferencia de la procedencia 1 y 3 que presentaron brotes a partir de los culmos y ramas. Los brotes fueron creciendo a partir de fines de octubre 2018 hasta alcanzar alturas de hasta 1,5 m. en marzo 2019.

A fines de setiembre 2018 no se tuvieron plantas vivas con hojas verdes y turgentes y presencia de yemas (0% de sobrevivencia), a fines de octubre 2018 se tuvieron 10 plantas con brotes (20% de sobrevivencia) las cuales se mantuvieron hasta diciembre 2018 donde 5 plantas comenzaron a dar brotes. (Figura 19)

En abril del 2019 se observaron yemas con las características adecuadas para introducir en laboratorio con lo que a partir de esa fecha se extrajeron explantes.

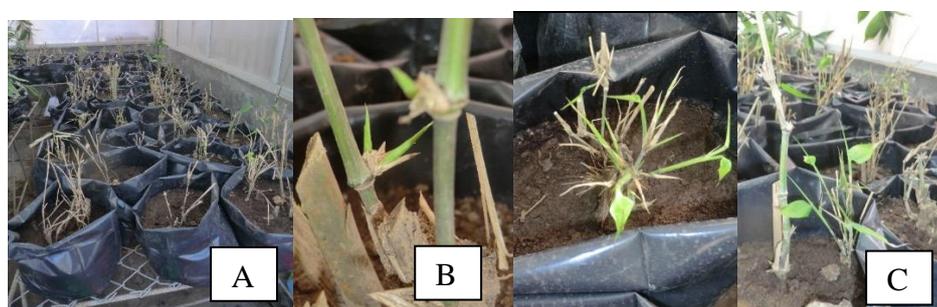


A. Agosto 2018 B. Octubre 2018 C. Diciembre 2018 D. Abril 2019

Figura 19: Desarrollo en invernadero de la procedencia “Chanchamayo”

4.3.3 Desarrollo del germoplasma procedente de “Satipo 2”

Las muestras fueron juveniles y llegaron con un mínimo número de hojas ya que fueron podadas antes de trasladarlas. La primera semana de setiembre se secaron las pocas hojas presentes. Sin embargo, el 14% de estas plantas llegaron con pequeños brotes los cuales continuaron creciendo. La segunda semana de setiembre de 2018 se comenzaron a observar brotes en el 40% de las plantas. A fines de setiembre de 2018 se observaron que estas plantas tenían hojas verdes, turgentes y brotes pero no tenían yemas aptas para la extracción de explantes al presentarse a inicios de octubre 2018 secamientos de los brotes y yemas en el 22% de plantas. (Figura 20)



A. Agosto B. Inicio de setiembre C. Fines de setiembre (2018)

Figura 20: Desarrollo en invernadero de la procedencia “Satipo 2”

A fines de setiembre de 2018 se tuvieron 20 plantas vivas con hojas verdes y turgentes y presencia de yemas (40% de sobrevivencia). Hacia octubre de 2018 se observó que los brotes de estas plantas iniciaban a secarse. En diciembre 2018 existieron 3 plantas no vigorosas (6% de sobrevivencia) y en enero 2019 con 1 planta no vigorosa (2% de sobrevivencia) la cual muere en febrero del 2019.

4.3.4 Problemas fitosanitarios

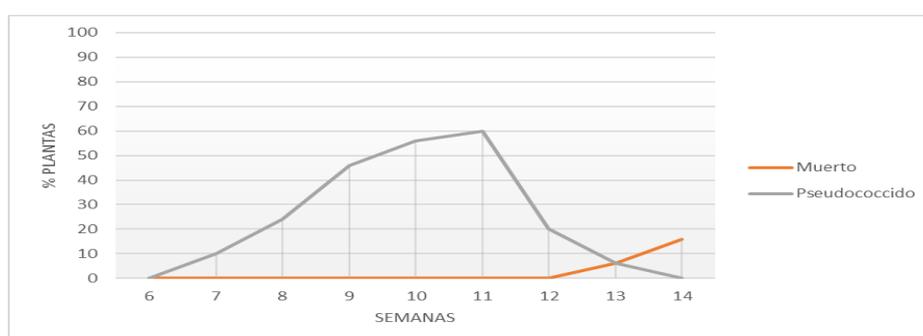
Durante el desarrollo de las plantas se observaron diferentes síntomas y signos (Figura 23) que se relacionan con la mortandad de las plantas. Estos problemas fitosanitarios se presentaron en las plantas procedentes de los 3 sitios de colecta y meses que se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6: Problemas fitosanitarios de *G. weberbaueri* a nivel de invernadero

Problema Fitosanitario	Procedencia	Mes
Amarillamiento y envejecimiento de hojas	“Satipo 1” y “Chanchamayo”	Todos los meses
Enrollamiento de hojas	“Satipo 1”	Todos los meses
Comeduras en hojas	“Satipo 1”	Abril 2018
Presencia de grillo causando daño	“Satipo 1”	Abril 2018
Secamiento de brotes y yemas	“Satipo 2”	De octubre a enero 2018
Ataque de Pseudococcido en ramas y yemas	“Satipo 1”	Mayo y junio 2018

“Satipo 1” es la que presentó mayor cantidad de problemas fitosanitarios, de los cuales se observó que el ataque del *Pseudococcido* al localizarse en el interior de las hojas caulinares (Figura 23 H.) comprometió el desarrollo de las yemas.

La Figura 21 muestra el desarrollo del ataque *Pseudococcido*. El ataque inicia en primera semana de mayo de 2018 (semana 7) cuando el 80% de plantas presentaban brotes o yemas y las plantas restantes se encontraban completamente secas es decir muertas. Con el pasar de las semanas el ataque incrementó en incidencia y severidad alcanzando a fines de mayo (semana 11) el 60% de incidencia. En junio 2018, se optó por el control químico el cual constó de 3 aplicaciones semanales de Alfacipermetrina mediante el uso de un pulverizador. La primera aplicación fue de 25 ml por 10 l de agua y la segunda y tercera es de 50 ml por 10 l de agua. En la segunda aplicación (semana 13) se redujo la incidencia a 3 plantas (9%) y en la última aplicación ya no existió incidencia (semana 14). A mediados de junio se logró erradicar el ataque pero este ataque provocó un 16% de mortandad de plantas. El enrollamiento de hojas, comeduras y presencia de grillos se presentaron en el 6%, 8% y 2% de plantas respectivamente sin comprometer el desarrollo de yemas por lo que no se efectuó control.

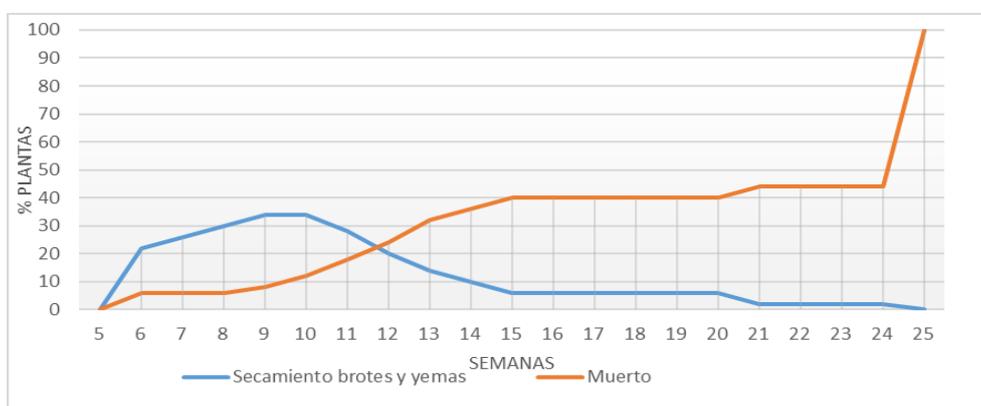


Nota: Las evaluaciones se iniciaron el 22 de marzo de 2018

Figura 21: Desarrollo del ataque de pseudococcido en plantas de *G. weberbaueri*

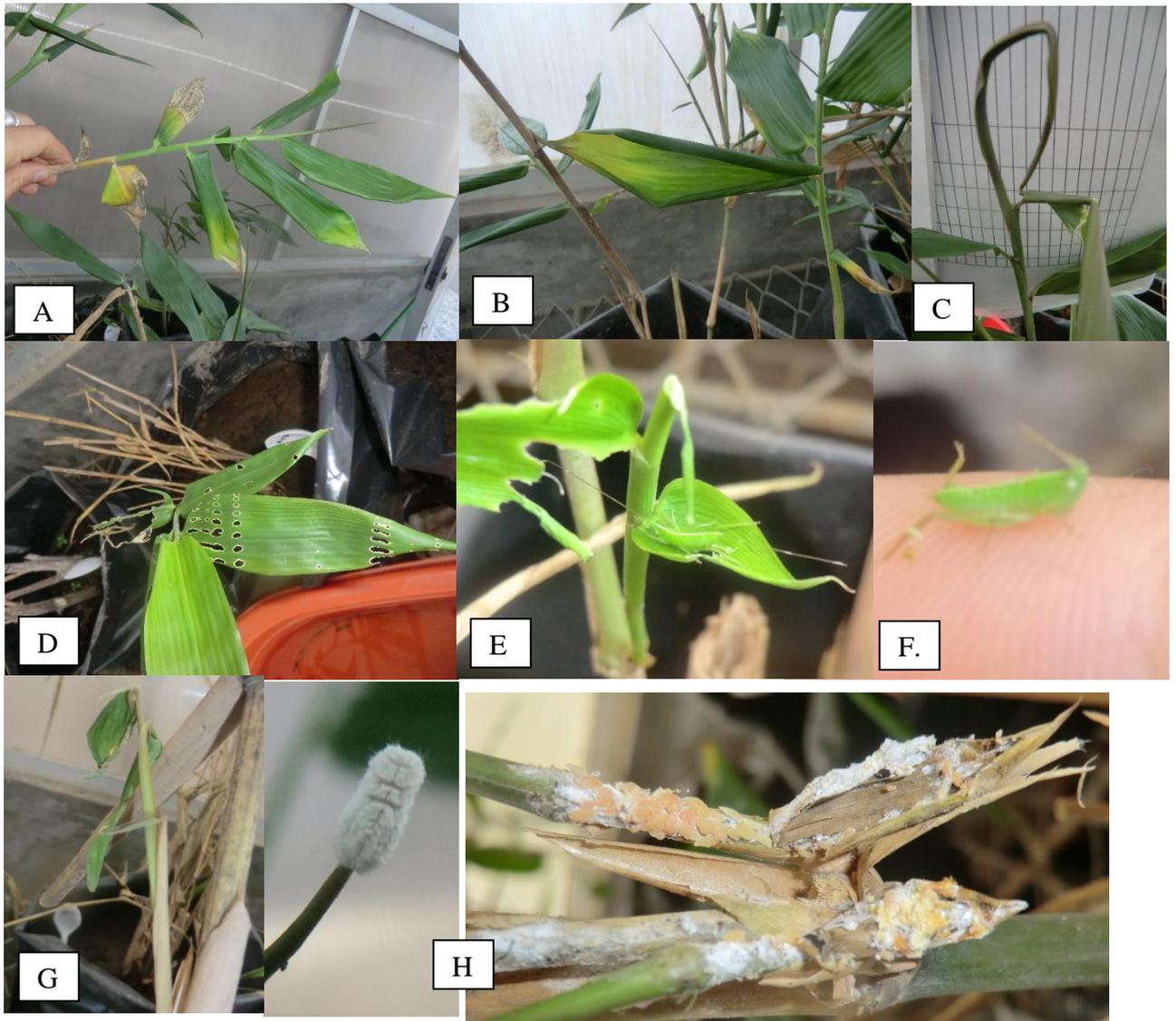
Para el caso de las plantas procedentes de “Satipo 1” y “Chanchamayo” se observó que el amarillamiento y envejecimiento de hojas incrementaba a medida que pasaban los meses y no interfería con el desarrollo de las yemas por lo que no se consideró un problema y se lo asoció con el crecimiento de la especie.

Mientras que en el caso de las plantas procedentes del sitio de “Satipo 2”, el secamiento de los brotes y yemas conllevó a la mortandad progresiva de todas las plantas a partir de inicio de octubre 2018 (semana 5) hasta fines de noviembre 2018 (semana 15) donde solo quedaron 3 plantas vivas que se mantuvieron vivas pero no vigorosas hasta la primera semana de enero 2018 (semana 20) donde solo queda una planta viva. Finalmente, en la última evaluación esta planta muere (primera semana de febrero, semana 25). (Figura 22)



Nota: Las evaluaciones inician el 30 de agosto de 2018

Figura 22: Desarrollo del síntoma de secamiento de brotes y yemas en plantas de *G. weberbaueri*



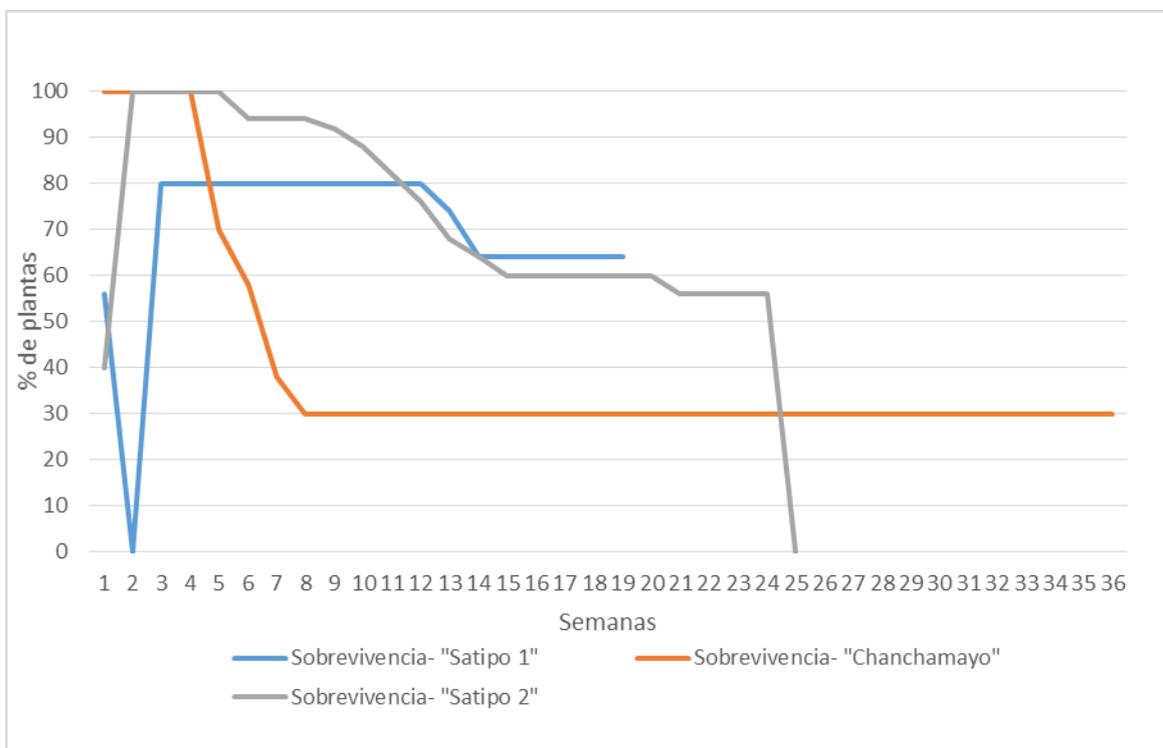
A. Amarillamiento y envejecimiento de hojas. B y C. Enrollamiento de hojas. D. Comeduras en hojas. E. y F. Presencia de grillo causando daño G. Secamiento de brotes y yemas H. Ataque de *Pseudococcido* en ramas y yemas

Figura 23: Problemas fitosanitarios de *G. weberbaueri* a nivel de invernadero

4.3.5 Comparación del desarrollo de las plantas procedentes de los 3 sitios de colecta en condiciones de invernadero

Las plantas procedentes de los sitios “Satipo 1” y “Satipo 2”, a pesar que ambas fueron materiales juveniles, cuando llegaron al invernadero en las semanas iniciales se comportaron de manera diferente. El total de plantas procedentes del “Satipo 1” durante la segunda semana se secaron completamente y en la tercera semana el 80% de plantas presentaron brotes y yemas que continuaron emergiendo de manera constante durante las siguientes 9 semanas, previo al ataque del hemíptero y una vez superado el ataque continuaron creciendo (64% de las plantas). Mientras que las plantas procedentes de “Satipo 2” se mantuvieron

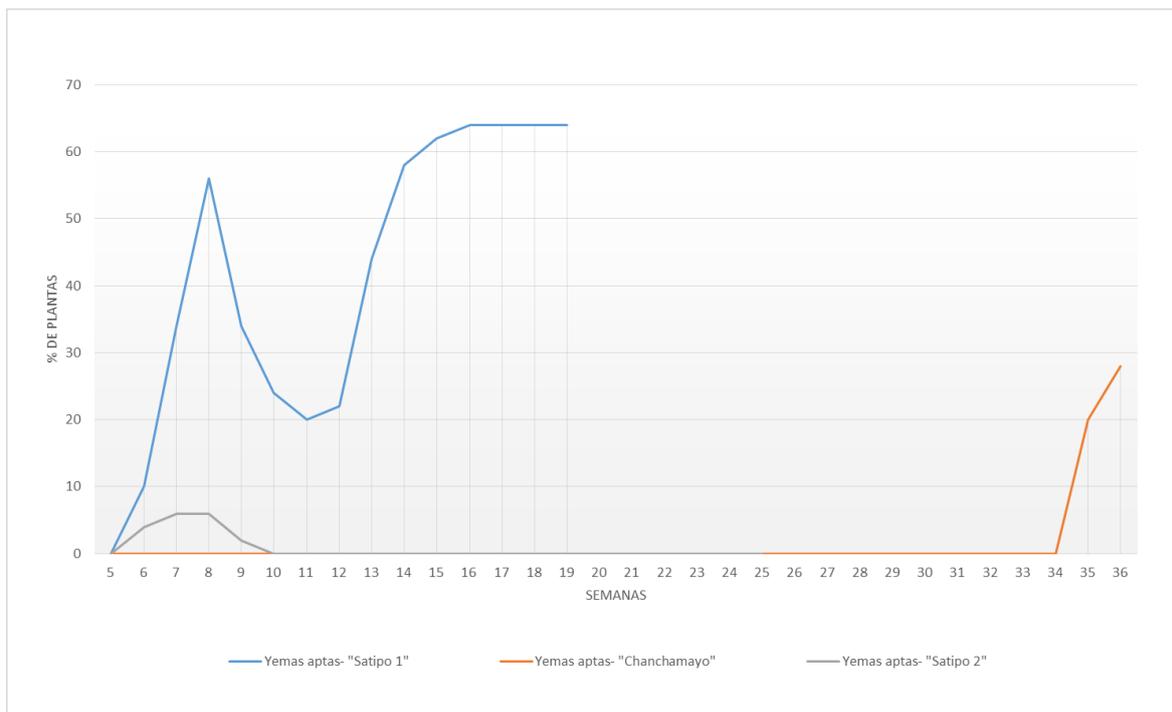
verdes hasta la semana 5, pero posteriormente se fueron secando hasta que ningún individuo quedó vivo. Las plantas procedentes de “Chanchamayo” fue un material adulto que al igual que la procedencia 3 se mantuvo verde durante las 4 semanas y progresivamente se fue secando sobreviviendo el 30% del material. (Figura 24)



Nota: semana 1 (“Satipo 1”): 22 de marzo; semana 1 (“Chanchamayo”): 16 de agosto y semana 1 (“Satipo 2”): 30 de agosto.

Figura 24: Sobrevivencia de las de los 3 sitios de colecta de *G. weberbaueri* en invernadero

Respecto a la producción de yemas aptas para la propagación *in vitro*, las plantas procedentes de “Satipo 1” comenzaron a presentar yemas aptas a partir de abril (semana 6) alcanzando en mayo un 50% de las plantas con esta característica. Sin embargo, estas yemas fueron infestadas rápidamente por el hemíptero, pero a consecuencia del control empleado en junio se contó nuevamente con yemas aptas para la extracción de explantes. Este no fue el caso de las plantas procedentes de “Satipo 2”, que también presentó yemas aptas a las 6 semanas (octubre 2018) sin embargo las yemas de estas plantas no fueron vigorosas y posteriormente mueren todas las plantas (febrero 2019). Las plantas procedentes de “Chanchamayo” al presentar brotes desde el rizoma que crecían en altura sin ramificar demoraron 35 semanas (abril 2019) en presentar yemas aptas. (Figura 25)



Nota: semana 1 ("Satipo 1"): 22 de marzo; semana 1 ("Chanchamayo"): 16 de agosto y semana 1 ("Satipo 2"): 30 de agosto.

Figura 25: Yemas aptas para propagación *in vitro* de *G. weberbaueri* por procedencia

Luego del análisis de sobrevivencia y producción de yemas aptas se infiere que la procedencia "Satipo 1" presenta las mejores características para la extracción de explantes.

4.4 Establecimiento del cultivo *in vitro*

4.4.1 Desinfección

La pre desinfección consta en un prelavado que permite hacer un arrastre de macromoléculas en su exterior y la sumersión en los demás compuestos rompiendo la tensión superficial de la membrana celular de los microorganismos coadyuvando al hipoclorito de sodio a eliminar los agentes microbianos. Este proceso es realizado por la mayoría de autores fuera de la cámara de siembra, sin embargo en esta investigación se observa que al realizarla dentro de la cámara se logra disminuir la contaminación de yemas con respuesta de manera considerablemente del 47% a 9% (Figura 26). Estadísticamente la prueba de t- Student con un alto nivel de significancia rechaza la hipótesis nula. Es decir, los tratamientos de pre desinfección son diferentes y la prueba de Tukey al 95% de probabilidad determina que el

mejor tratamiento es la pre desinfección dentro de la cámara de siembra (Figura 27 y Anexo 14).

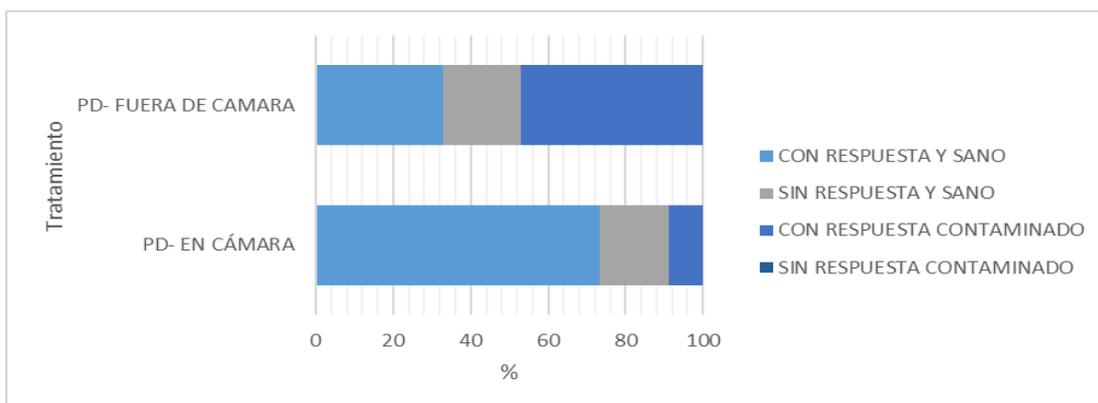


Figura 26: Tratamientos de pre desinfección de *G. weberbaueri*

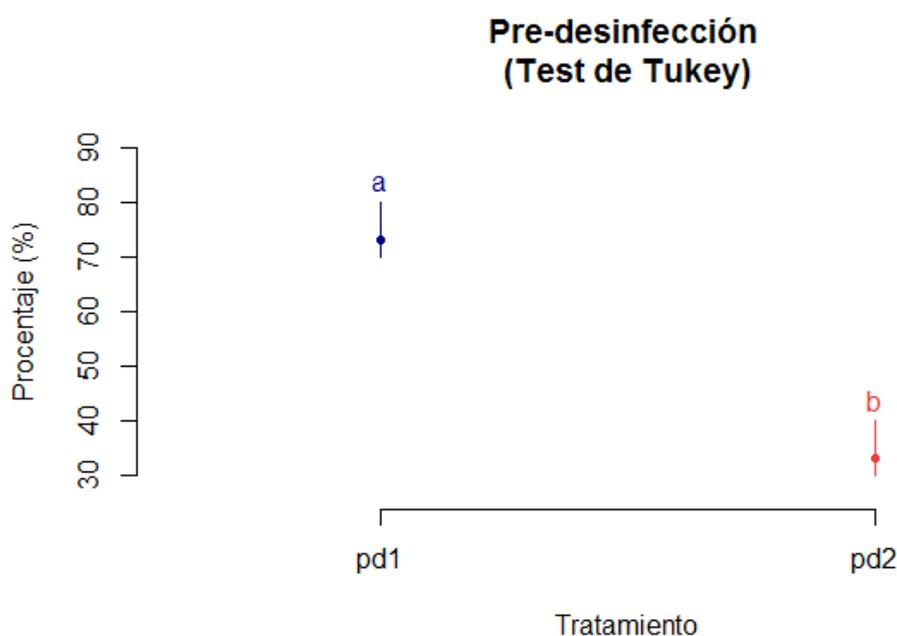


Figura 27: Prueba de Tukey tratamientos de pre desinfección de *G. weberbaueri*

En cuanto a la desinfección propiamente dicha existen diferentes compuestos que son usados para la desinfección de bambúes con diferentes toxicidades. En esta investigación se ha escogido al hipoclorito de sodio debido a que es uno de los más usados, logra una desinfección adecuada, causa un menor daño fitotóxico en los tejidos vegetales evitando la oxidación y facilitando la rápida regeneración *in vitro* y la exposición a una concentración media de NaClO en un mayor tiempo podría activar la diferenciación celular de las yemas nodales según Ramírez *et al.* (2014). El autor encuentra una correlación positiva entre el

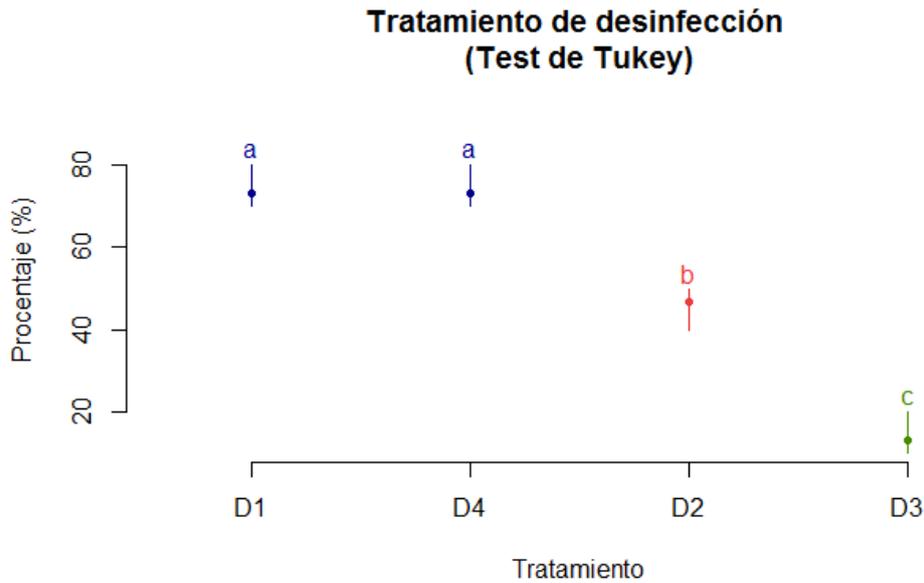
aumento del tiempo de exposición con la disminución de la contaminación y el aumento de la brotación de los explantes en el cultivo *in vitro* de *Guadua angustifolia*. Marulanda *et al.*

(2005) obtuvieron mayor brotación al usar NaClO al 2% por un mayor tiempo de exposición (10 minutos). Nidiye *et al.* (2006) obtuvieron entre un 80–100% de yemas brotadas durante el establecimiento *in vitro* de *Bambusa vulgaris* al emplear NaClO al 2% durante 20 minutos.

El hipoclorito de sodio llega al tejido vegetal y hace efectiva la eliminación de los microorganismos sin perjudicar los tejidos del explante, ya que el agente desinfectante disminuye los iones hidroxilo (OH), mediante la formación de agua; además, reduce el pH estimulando la presencia de ácido hipocloroso que en contacto con materia orgánica actúa como solvente y libera cloro que se combina con el grupo amino de las proteínas formando cloroaminas. El ácido hipocloroso y los iones hipoclorito (OCl-1) llevan a la degradación e hidrólisis de los aminoácidos (Estrela *et al.*, 2002), disminuyendo la tensión superficial de la membrana celular de las bacterias y permitiendo la lisis del microorganismo (Sánchez y Sáenz, 2005). En este sentido, el hipoclorito tiene como mecanismo de acción sobre los microorganismos, la inhibición de las reacciones enzimáticas y desnaturalización de las proteínas (Sánchez y Sáenz, 2005). Además, el hipoclorito de sodio neutraliza los aminoácidos, formando agua y sales.

Respecto a los tiempos de exposición y la concentración de NaClO se sabe que en concentraciones bajas durante mayor tiempo de exposición se genera un mejor desarrollo celular de los explantes, mientras que una concentración alta a un menor tiempo de exposición impide el adecuado desarrollo de los segmentos nodales de guadua. Esto puede deberse a que el hipoclorito de sodio afecta la permeabilidad celular del microorganismo y de las células vegetales, impidiendo el adecuado desarrollo celular de las células meristemáticas y por lo tanto no genera la brotación del segmento nodal.

Del análisis de variancia (ANOVA) se desprende, que con un alto nivel de significancia se rechaza la hipótesis nula. Es decir, al menos un tratamiento de desinfección (μ_{D_i}) es distinto (Anexo 14). Los mejores tratamientos según la prueba Tukey a un 95% de probabilidad fueron: D1 y D4 (Figura 28).



NOTA: Los tratamientos con una misma letra son estadísticamente iguales por la prueba de Tukey a un 95% de probabilidad.

Figura 28: Prueba Tukey para tratamientos de desinfección de *G. weberbaueri*

Los tratamientos D1 y D4 son iguales debido a que el D4 es una variación del D1 para desinfectar al explante de bacterias. Sin embargo, en las evaluaciones se observó que la causa de contaminación de explantes es por el micelio de un hongo sin observar signos de ataque bacterial. En todos los casos se identificó que el signo se observa de manera inicial sobre las yemas con respuesta como un micelio blanco que va creciendo y tornándose de color naranja hasta ocupar toda la superficie del medio de cultivo (Figura 29).

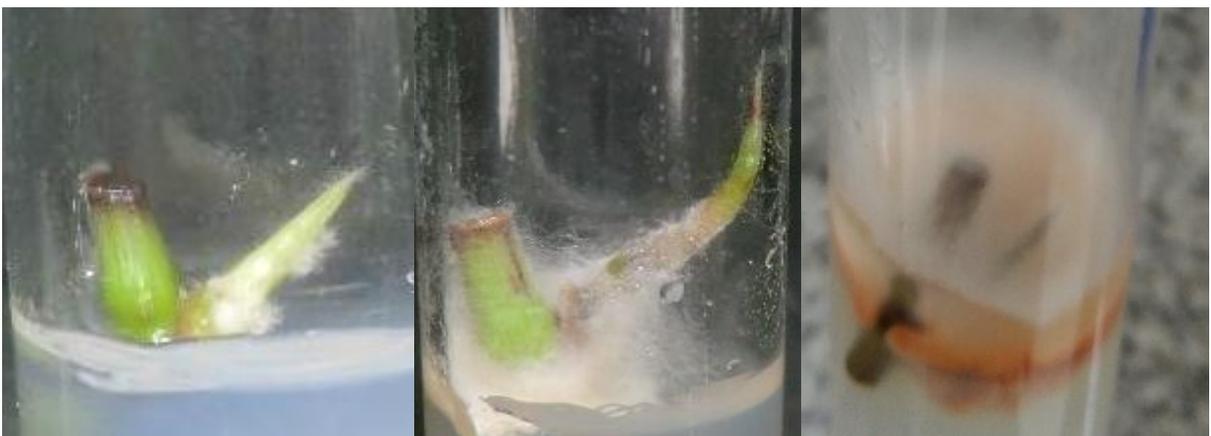


Figura 29: Contaminación de explantes de *G. weberbaueri*

El tratamiento D3 presentó un alto porcentaje de yemas sin respuesta (Figura 22); sobre este punto Dalal *et al.* (1992) citado por Borgues *et al.* (2004) menciona que durante el proceso de establecimiento del cultivo *in vitro* se da la oxidación fenólica que es explicada por George (1996) citado por Borgues *et al.* (2004) como la acumulación de sustancias fenólicas liberadas por el tejido vegetal en el medio de cultivo que son con frecuencia inhibidores del crecimiento. Asimismo, Borgues *et al.* (2004) menciona que lo anterior se puede deber al efecto fitotóxico de las distintas concentraciones de hipoclorito (1; 2 y 3%) por un tiempo de 20 minutos sobre el material vegetal que ocasiona la muerte de las yemas. El mismo autor indica que la acción fitotóxica del desinfectante puede llegar a provocar una liberación importante de compuestos fenólicos en el 100% de los explantes. (Figura 30)

El tratamiento D2 es una modificación del método de doble desinfección con hipoclorito de sodio propuesto por Borgues *et al.* (2004) para reducir el tiempo de exposición del explante y evitar la acción fitotóxica del desinfectante. La efectividad de la doble desinfección radica en el hecho que no todos los microorganismos mueren simultáneamente, ni siquiera cuando se aplica un exceso del agente desinfectante, es así que las esporas que no pueden ser destruidas inicialmente pasaran a formas vegetativas y durante la doble desinfección podrían ser eliminadas fácilmente de los explantes primarios trayendo consigo un menor porcentaje de contaminación según lo indicado por Sánchez y Sáenz (2005). Sin embargo, para *G. weberbaueri* este tratamiento presentó los valores más altos de porcentaje de yemas contaminadas a pesar que Borgues *et al.* (2004) lograron que todos los explantes que no se contaminaron (80%) sobrevivieran (no se presentó muerte de los explantes). (Figura 30)

Ramírez *et al.* (2009), Jiménez *et al.* (2006), Marulanda *et al.* (2005), Borges *et al.* (2004), Corrales (2017) y Casanova (2017) reportan una contaminación entre el 20% y 86% en los cultivos *in vitro* de bambúes, sin embargo el tratamiento D1 y D4 logran una contaminación de 7% y 9% respectivamente durante el mes de junio. La diferencia entre los resultados con la bibliografía es significativa y puede deberse a múltiples factores como: la procedencia, los cuidados en el mantenimiento de las plantas madres, la época de introducción, los tratamientos de desinfección, entre otros. Sin embargo, el resultado encontrado se acerca al 5% de contaminación reportado en *G. angustifolia* por Martínez (sf.) usando sulfato de estreptomicina 2 g/L e hipoclorito de sodio al 1,1% y PPM (2ml/L).

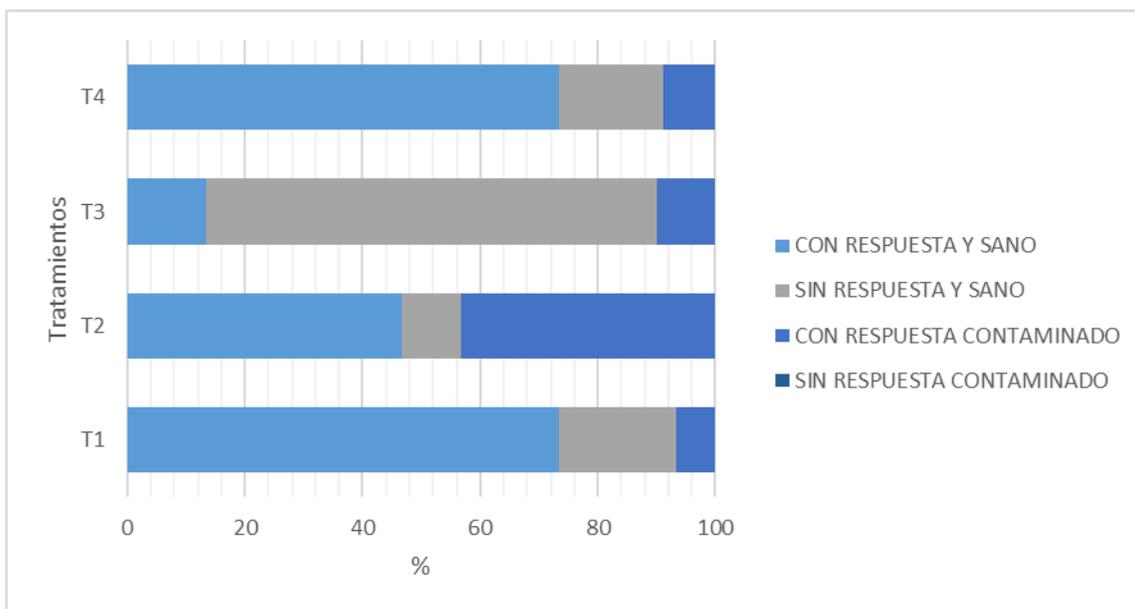


Figura 30: Tratamientos de desinfección en *G. weberbaueri*

4.4.2 Medio de cultivo

Jiménez *et al.* (2004) propusieron la combinación del uso de un tratamiento de desinfección con NaOCl (10% durante 10 minutos) y el producto comercial PPM® (Plant Preservative Mixture) en el medio de cultivo (2 ml/l) como una alternativa eficaz para la descontaminación de explantes nodales en la micropropagación de *G. angustifolia* en Costa Rica. Asimismo, Neves (2017) en las pruebas de establecimiento de *Dencrocalamus asper* incluyó concentraciones de antibióticos como la amoxicilina, canamicina y cefotaxima sódica los cuales obtuvieron altos porcentajes de contaminación (90-100%) y solo logró porcentajes de 49,9% y 54,05% usando PPM en 6 ml/l y 8 ml/l respectivamente. Es importante mencionar que Neves (2017) trabajó con plantas en campo las cuales no tuvieron un tratamiento previo por lo que se asume que el porcentaje de contaminación pudo ser alto. Sanches (2017) obtuvo buenos resultados en el establecimiento de *G. chacoensis* usando 2 ml de PPM en el medio de cultivo (50% sin respuesta, 35% establecimiento y 15% contaminación) de explantes provenientes de plantas hidropónicas. De igual manera, en *Guadua weberbaueri* se observa que el uso de PPM (2ml/l) en el medio de cultivo disminuye considerablemente (67%) la contaminación contribuyendo con el establecimiento del cultivo *in vitro* (Figura 31).

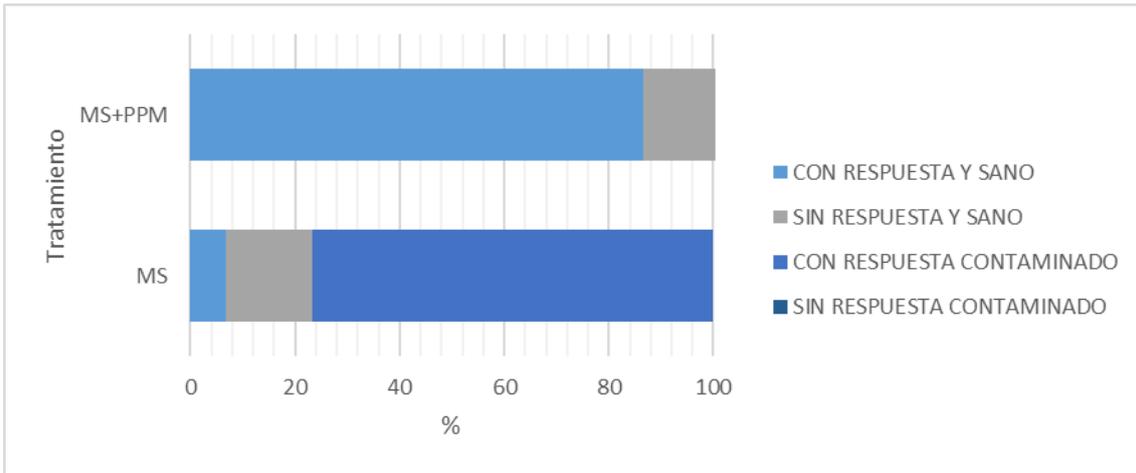


Figura 31: Efecto del PPM en el establecimiento de *G. weberbaueri*

Estadísticamente la prueba de t- Student con un alto nivel de significancia rechaza la hipótesis nula. Es decir, los tratamientos de MS y MS+PPM son diferentes y la prueba de Tukey al 95% de probabilidad determina que el mejor tratamiento es MS+PPM (Figura 32 y Anexo 14).

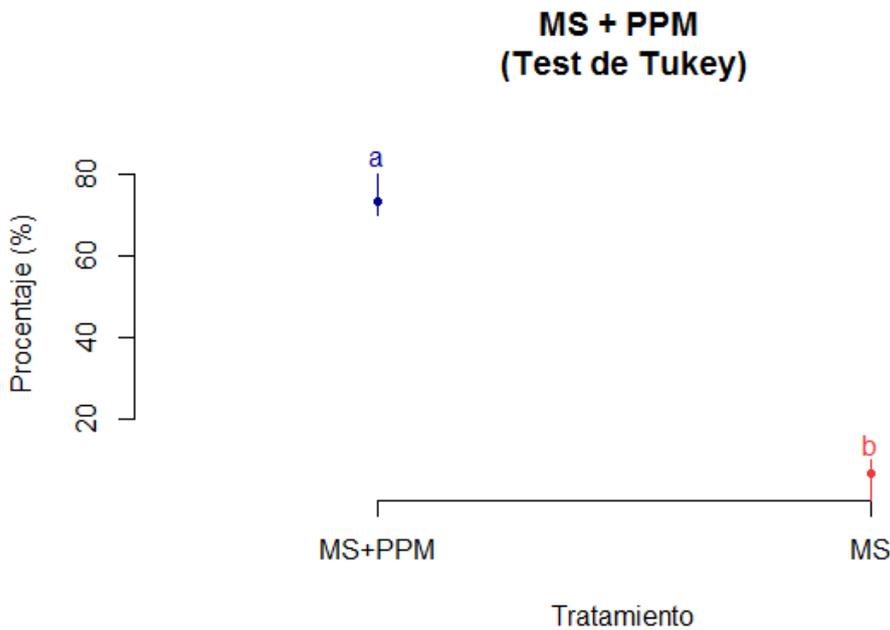


Figura 32: Prueba Tukey para medio de cultivo para *G. weberbaueri*

4.4.3 Fotoperiodo

Para algunos autores la respuesta de la yema, brotación, está influenciado por la oscuridad al evitar por efecto de la luz la oxidación de los segmentos nodales. Tal es el caso de las pruebas realizadas por Marulanda *et al.* (2005) y Ramírez *et al.* (2014) y Sanches (2017) quienes al mantener los explantes sembrados en oscuridad en la cámara de crecimiento notaron diferencias. Sin embargo para *G. weberbaueri* estadísticamente la prueba de t-Student con un alto nivel de significancia acepta la hipótesis nula. Es decir, los tratamientos de oscuridad y sin oscuridad son iguales (Anexo 14).

4.4.4 Época de introducción

Mientras que para la mayoría de especies la obtención de plantas puede ser en cualquier época del año. Existen registros que indican que la época del año influencia en el establecimiento *in vitro* de especies de bambúes. Tal es el caso de García *et al.* (2011) que identifica de noviembre- abril como la mejor época del año para realizar el establecimiento *in vitro* de *Bambusa vulgaris var. vulgaris*.

Siendo la procedencia “Satipo 1” la que presentó mejor desarrollo a nivel de invernadero se realizaron introducciones sucesivas a lo largo de un año demostrando que existen diferencias en el establecimiento del cultivo *in vitro* de *Guadua weberbaueri* con respecto a la época de introducción. Es así que para esta especie se identifica la época “de abril a julio” para el establecimiento del cultivo *in vitro* al observar un mayor porcentaje de yemas con respuesta y sanas al día 31, con respecto a los otros meses, en el mes de junio se observa el valor más alto 80%. Mientras que de setiembre a diciembre se observan altos porcentajes de yemas con respuesta pero contaminadas, siendo noviembre y diciembre los meses donde no se obtiene ninguna yema con respuesta y sana. Esta tendencia coincide con lo reportado por Corrales (2017) quien indica que el mes de junio es el que presenta menores valores de contaminación para *Guadua angustifolia* para las condiciones de Lima, Perú, en donde también se llevó a cabo la presente investigación. Es importante mencionar que los porcentajes de yemas sin respuesta y sanos se mantienen a lo largo de todo el año de evaluación y que las yemas que no respondieron no presentaron signos de contaminación. (Figura 33)

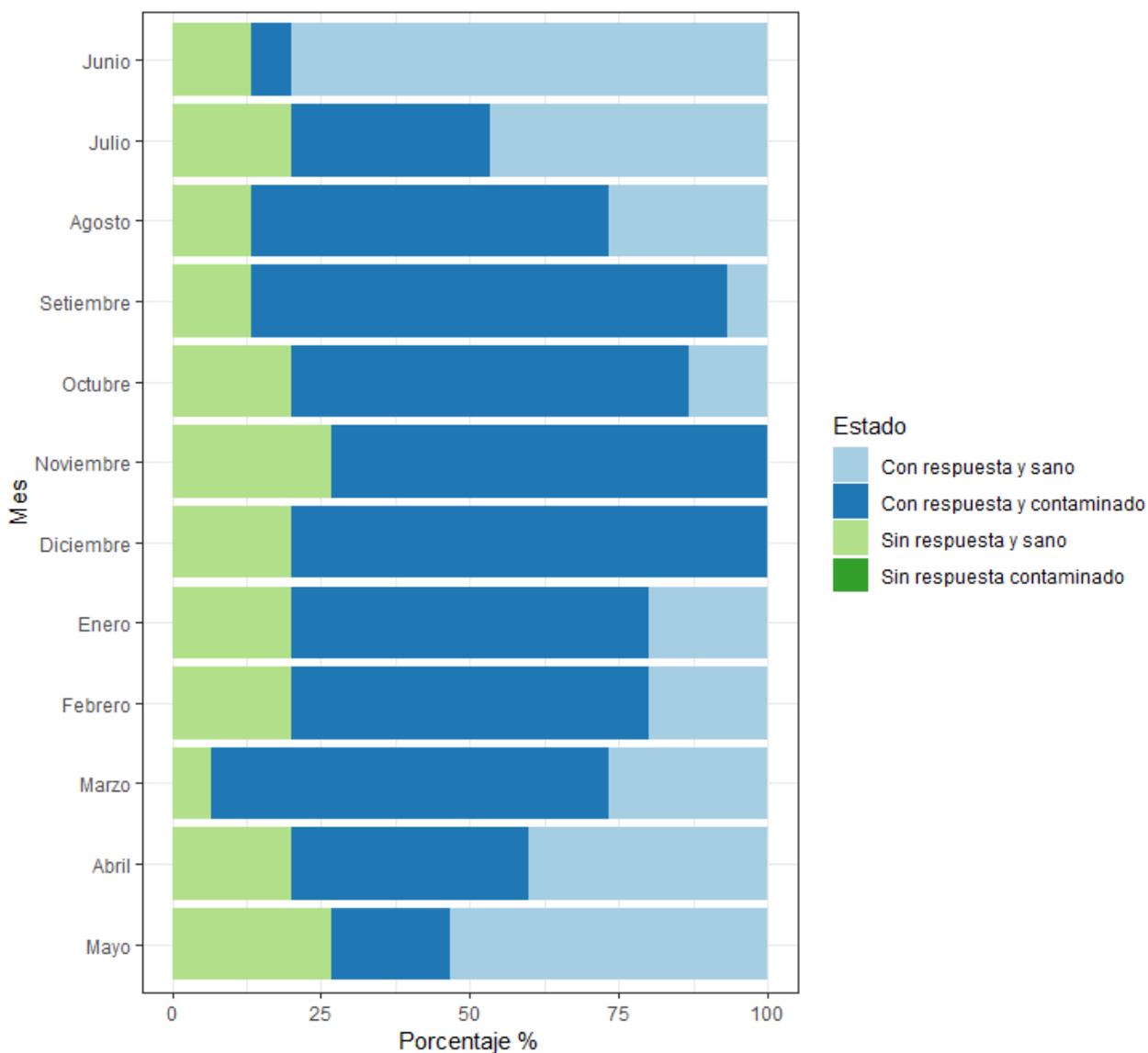


Figura 33: Efecto de la época en el establecimiento del cultivo *in vitro* de *G. weberbaueri*

4.4.5 Establecimiento de las procedencias

Se realizó la introducción del material procedente de “Chanchamayo” en la mejor época (abril a junio) encontrándose que el material procedente de “Satipo 1” es la que presenta valores más altos de yemas con respuesta y sanas (58%) y más bajos de contaminación (22%) (Figura 34) esto podría deberse a dos causas: el desarrollo de la especie en diferentes altitudes y el estado de madurez de las plantas madres. Catpo (2019) observa un mejor desarrollo de la especie en estudio en altitudes cercanas a los 786 msnm como es el caso de la procedencia “Satipo 1” y por tanto una menor cantidad de hongos endógenos en dicha procedencia. Gamarra (2014) citado por Martínez (sf.) indica que se ha observado que el uso de material vegetal adulto como es el caso de la procedencia “Chanchamayo” ha dificultado

el cultivo *in vitro* ya que estos tienen menor grado de actividad meristemática, por lo tanto tienden a tener menor plasticidad *in vitro*.

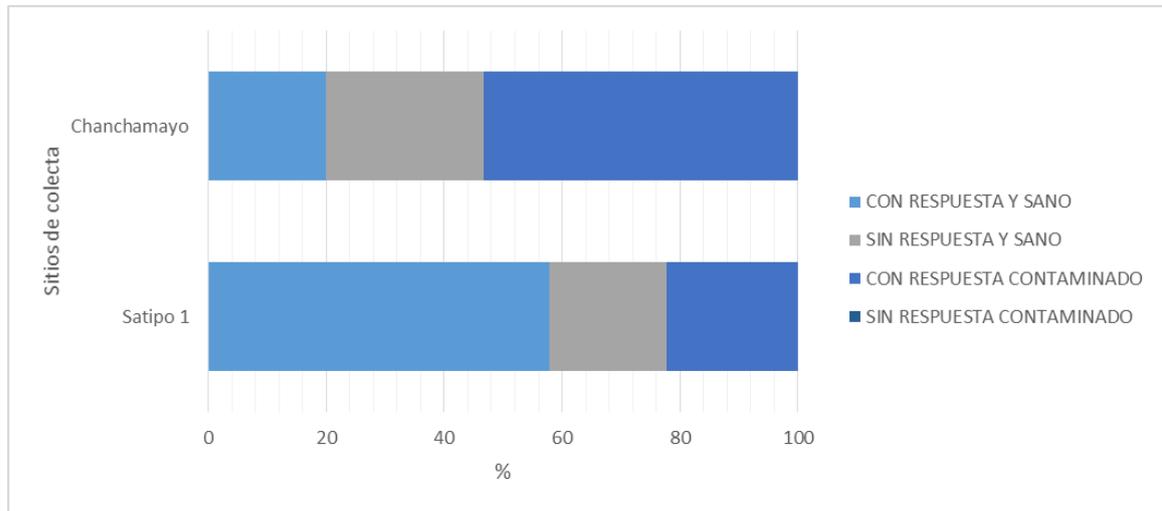


Figura 34: Efecto de la procedencia en el establecimiento de *G. weberbaueri*

Estadísticamente la prueba de t- Student con un alto nivel de significancia rechaza la hipótesis nula. Es decir, los resultados del establecimiento del cultivo *in vitro* proveniente de “Satipo 1” y “Chanchamayo” son diferentes y la prueba de Tukey al 95% de probabilidad determina que la mejor procedencia es “Satipo” (Figura 35 y Anexo 14).

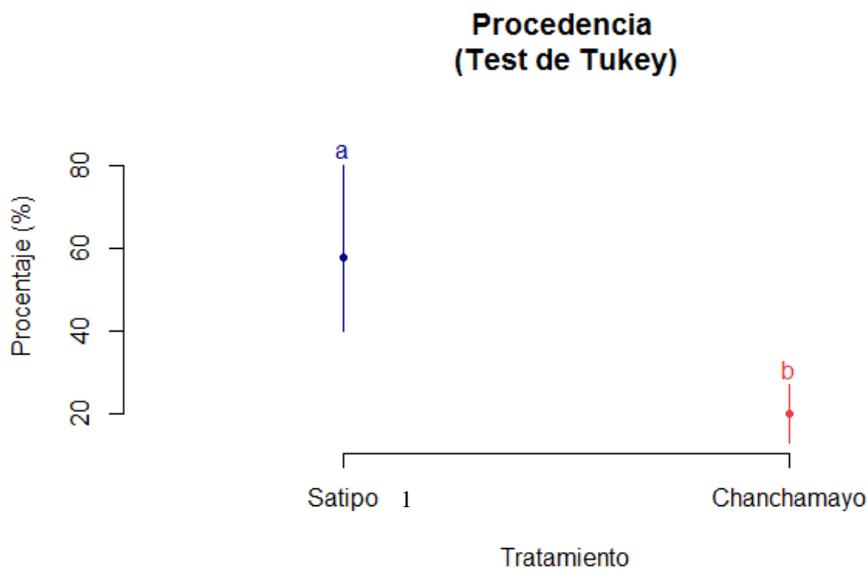


Figura 35: Prueba de Tukey para procedencias de *G. weberbaueri*

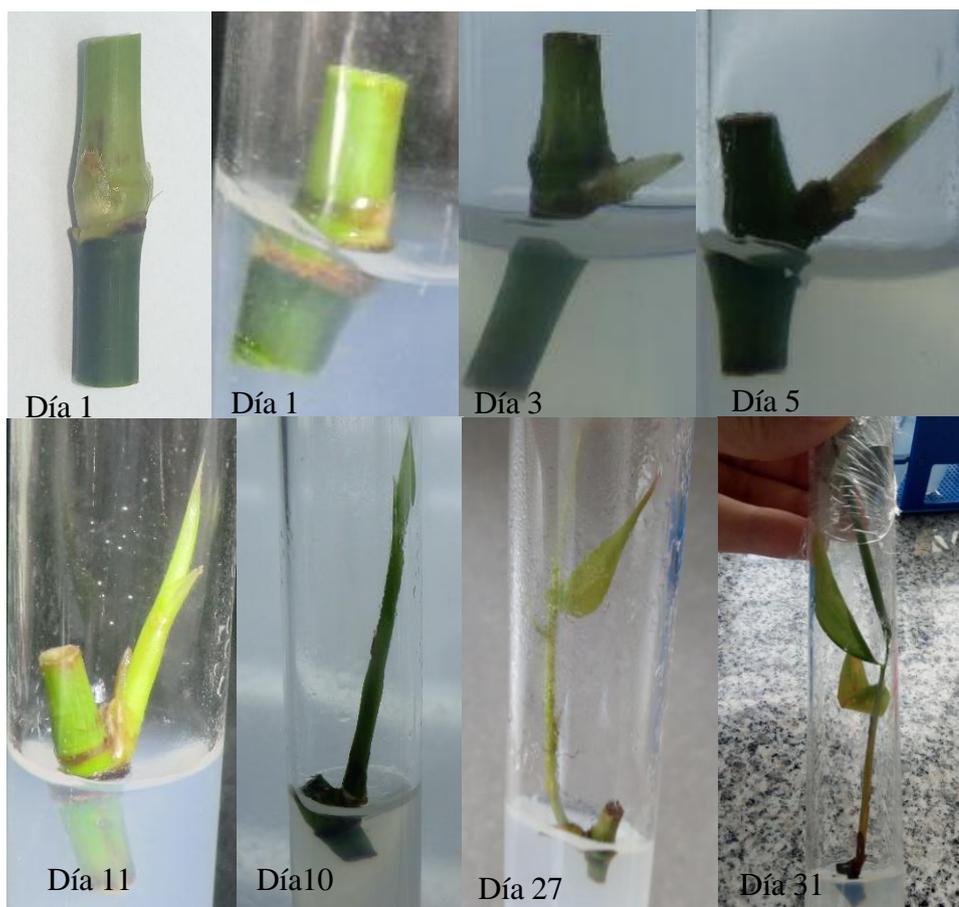


Figura 36: Establecimiento del cultivo *in vitro* de *G. weberbaueri*

4.5 Multiplicación

Las citoquininas usadas para la multiplicación de especies de bambúes son: 6-Benzilaminopurine (6- BAP), ácido indolbutírico (AIB,) ácido naftalenácetico (ANA) y Thidiazuron.

6- BAP es la hormona utilizada en esta investigación por ser la más utilizada en multiplicación de bambúes en concentraciones de 2 a 10 mg/l por Marulanda *et al.* (2005) y Martínez (sf) en *Guadua angustifolia*, Saxena (1990) en *Bambusa tulda* Roxb, Rao y Rao (1998) citados por Marulanda *et al.* (2005) en *Bambusa arundinacea*, *Dendrocalamus strictus* y *Bambusa vulgaris*, Ramanayake *et al.* (2001) en *Dendrocalamus giganteus* y Casanova (2018) en *Guadua weberbaueri*.

La necesidad de la adición de hormonas en el medio de cultivo explica Jiménez (2004) es porque la concentración endógena de reguladores de crecimiento en los explantes es baja. 6- BAP logra la proliferación de brotes al romper la dominancia apical y estimular la brotación de las yemas. Uno de los posibles efectos de las auxinas en esta fase es anular el efecto

depresivo de las altas concentraciones de citoquininas sobre la elongación de los brotes axilares y restablecer su crecimiento normal (Mroginski *et al.*, 2004 citado por García *et al.* 2011).

Estadísticamente la prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis Test con un alto nivel de significancia rechaza la hipótesis nula. Es decir, al menos un tratamiento Me_{M_i} es distinto. La prueba de Tukey al 95% de probabilidad determina que el mejor tratamiento de multiplicación es el tratamiento M2 (Figura 37 y Anexo 14).

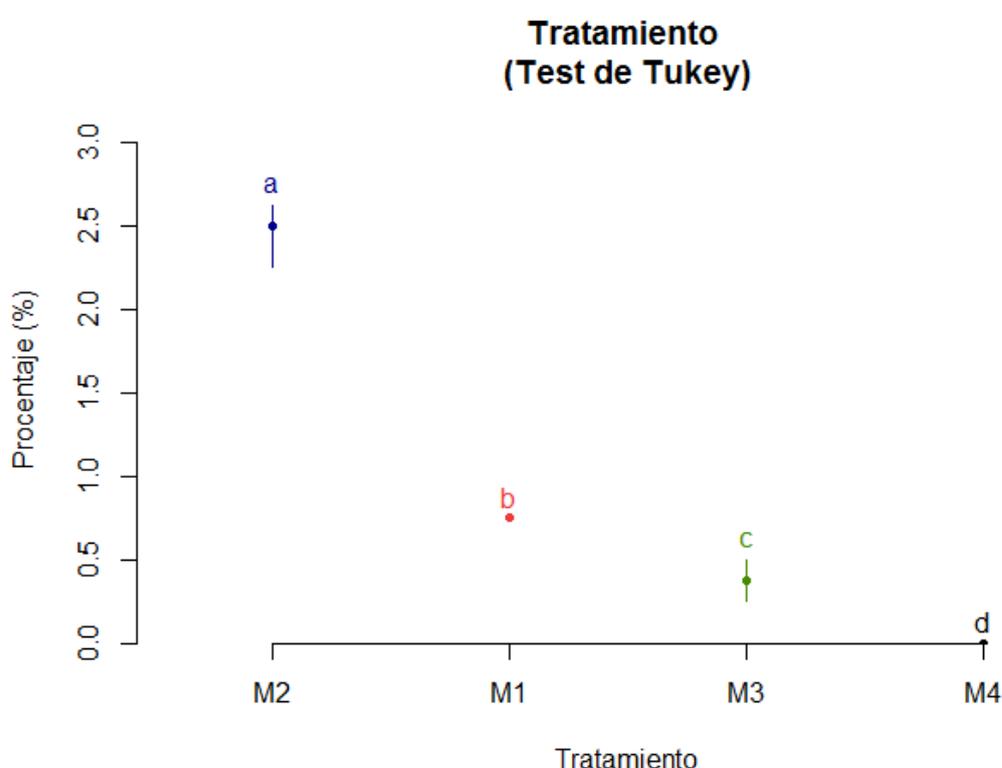


Figura 37: Prueba de Tukey para tratamientos de multiplicación de *G. weberbaueri*

Con el tratamiento M2, MS+5 mg 6- BAP+ 2 ml/l PPM, se obtuvo hasta 3 brotes por vitroplanta y en promedio 2,5 brotes a los 27 días siendo la mejor tasa de multiplicación. En el tratamiento M1, MS+3mg 6-BAP+ 2 ml/l PPM, también se obtuvo hasta 3 brotes por vitroplanta pero la tasa de multiplicación baja a 0,8 brotes a los 27 días. Lo anterior coincide con lo encontrado por Marulanda *et al.* (2005) en *Guadua angustifolia* y Casanova (2018) en *Guadua weberbaueri* quienes encuentran una relación entre la dosis de 6- BAP y la tasa de multiplicación. El tratamiento M3, MS + Vitaminas MOREL (1974)+ 15 M μ 6-BAP, se obtuvo hasta 1 brote por vitroplanta con una tasa de multiplicación deficiente de 0,3 brotes a los 27 días. (Figura 38)

G. weberbaueri presenta una mayor respuesta a las dosis de BAP que *G. angustifolia* la cual presenta 2 brotes por vitroplanta usando MS suplementado con 2,5 mg/l de 6-BAP (Marulanda *et al.* 2005) y *G. chacoensis* que presenta 1,73 brotes por vitroplanta usando MS suplementado por 15 μ M por 6-BAP (Sanches, 2017). Pero cercana a la tasa de multiplicación de *G. angustifolia* de 2,71 obtenida por Martínez (sf.) MS+6mg/l 6-BAP. Esta diferencia se puede deber a que en diferentes especies los explantes pueden responder de manera distinta a una misma concentración de reguladores de crecimiento, a causa de diferencias en el contenido hormonal endógeno Gielis *et al.* (2001). De igual manera, la variación en la respuesta entre explantes de una misma especie se explica por la misma razón.

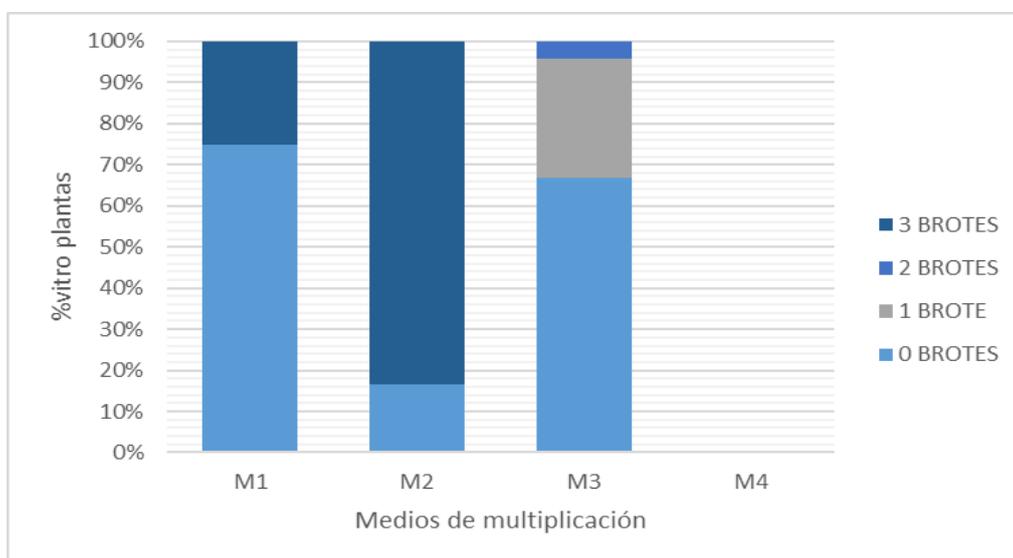


Figura 38: Tratamientos de multiplicación en *G. weberbaueri*

Los brotes de bambú fueron subcultivados en grupos de a 2 según las recomendaciones desarrolladas por varios autores que coinciden en que los explantes de bambú deben mantener pequeños grupos de plantas al momento de transferirlas para el incremento de los coeficientes de multiplicación y disminución de la mortandad (Saxena 1990; Prutpongse y Gavinlertvatana 1992; Ramanayake y Yakandawala 1997; Ravikumar *et al.* 1998; Ramanayake *et al.* 2001). (Figura 39)



Figura 39: Multiplicación de *G. weberbaueri*

Los nuevos brotes fueron transferidos al medio de crecimiento (MS+PPM) donde crecieron hasta dar por resultado nuevas vitroplantas. A pesar no haber usado un medio de enraizamiento durante la multiplicación se observó la tendencia a la formación de raíces en el 25% de las vitroplantas al igual que lo observado por Martínez (sf) quien lo observó en un 30% en *G. angustifolia*. Sin embargo, en esta etapa avanzada de la multiplicación, durante el verano del 2019, la contaminación de las vitroplantas con un micelio blanco anaranjado muy similar al observado en la fase de establecimiento (Figura 29). Por el motivo anterior se seleccionaron al azar vitroplantas (6) y se enviaron a la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología Vegetal de la UNALM donde se reportó únicamente al hongo *Acremonium* sp. (Anexo 15 y Figura 40).

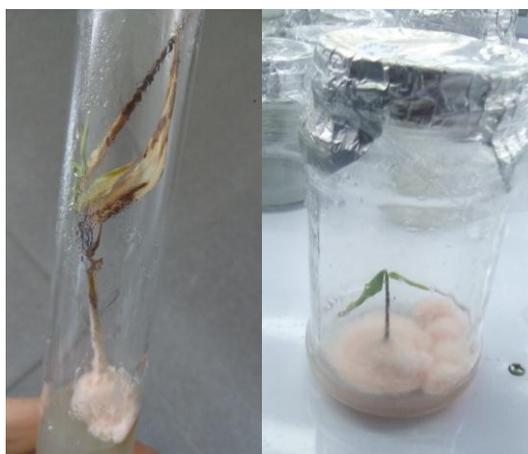


Figura 40: Vitroplantas de *G. weberbaueri* contaminadas por *Acremonium* sp.

Sanches (2017) indica que los bambúes son propensos al ataque de bacterias y hongos durante la fase de establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales y que existe un consenso en la literatura sobre la dificultad de introducción del material vegetal durante el cultivo de tejidos de bambúes a causa de una asociación epífita y endófito con microorganismos que causan manifestaciones tardías durante la multiplicación como lo observado en *G.weberbaueri*.

Morakotkarn *et al.* (2007) determina que los bambúes contienen un alto reservorio de microorganismos que deberían ser investigados al aislar 257 hongos filamentosos endofíticos procedentes de tejidos de bambúes y caracterizaron 71 de ellos por métodos moleculares. Los análisis filogenéticos mostraron que los hongos filamentosos pertenecían a los Sordariomycetes y Dothideomycetes. Los Xylariales fueron el grupo dominante. Acosta *et al.* (2008) menciona que las plantas donadoras de bambúes poseen una micobiota integrada por: *Alternaria*, *Botryotrichum*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium* y *Nigrospora*. Los géneros *Asteromella*, *Bipolaris* y *Humicola* se identificaron en fase de establecimiento, mientras que *Alternaria*, *Botryotrichum*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium* y *Nigrospora* aparecieron en plantas donadoras y en el establecimiento. En las especies *Dendrocalamus asper*, *Dendrocalamus strictus*, *Guadua angustifolia* y *Gigantochloa atter* el género *Nigrospora* fue el de mayor frecuencia de aparición, mientras que en *Bambusa vulgaris* fue *Fusarium*. En cuanto a las bacterias Ramírez *et al.* (2009) identificó para *Guadua angustifolia* los géneros: *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium* y una asociación entre *Ergunia*- *Pseudomonas*. Siendo el principal contaminante el género *Pseudomonas* para los segmentos nodales basales y la asociación *Ergunia*- *Pseudomonas* para los segmentos nodales medios. Mientras que otras investigaciones solo reportan al *Bacillus* sp. como causante de la contaminación en la fase de establecimiento *in vitro*.

Debido a lo anterior, se identifica que la procedencia del material de propagación es importante lo que es corroborado por Sanches (2017) quien usó como material de propagación plantas cultivadas en campo; plantones y plantas cultivadas en sistema hidropónico las dos últimas bajo condiciones controladas en invernadero para demostrar que la contaminación está asociada al manejo de las plantas donadores y al uso del PPM en el medio de cultivo. Es así que las plantas en campo y sin uso de PPM obtuvieron un 100% de contaminación, reduciéndose considerablemente en el caso de uso de plantas hidropónicas y con PPM. De igual manera, Neves (2017) trabajó con plantas de *Dendrocalamus asper* en

campo, las cuales no tuvieron un tratamiento previo resultando altos porcentaje de contaminación.

En la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología Vegetal de la UNALM se determinó la presencia de hongos *Fusarium oxysporum*, *Pythium sp.* y otros hongos secundarios (Anexo 16) en las plantas madres de *G.weberbaueri*. Autores como Jiménez *et al.* (2006), Yasodha *et al.* (2007) y Ramírez *et al.* (2014) resaltan en las metodologías desarrolladas para especies de bambúes como *B. nutans* y *G. angustifolia*, la importancia del establecimiento de un banco de plantas madres en condiciones de invernadero regadas 2 veces por semana con agua destilada y fumigadas con productos bacteriostáticos y fungistáticos y fertilizadas (Marulanda *et al.* 2005) para mantener en excelente estado fitosanitario tal y como se desarrolló para *G. weberbaueri*.

Las consideraciones de manejo aplicadas a las plantas madres aplicadas y el protocolo de establecimiento exitoso de (D4 con 2ml/l de PPM durante la mejor época (abril-julio) logró eliminar la presencia de casi todos hongos provenientes de las plantas donantes salvo el caso de *Acremonium sp.* cuya presencia se observó durante el establecimiento y la multiplicación.

Rahman (1985) menciona que *Acremonium strictum* fue atribuido por Rahman y Khisha (1981) citado por Rahman (1985) como un patógeno que puede causar el tizón del bambú en los cultivos de *Bambusa spp.* en Bangladesh. Asimismo, el patógeno de la pudrición de la vaina del arroz *Sarocladium orzae* también fue vinculado con esta enfermedad. Boa (1985) menciona que dado que estos hongos son muy similares a los mostrados en las descripciones de Holliday (1980) se reexaminó y se demostró que la enfermedad es causada por *Sarocladium orzae*.

Kim *et al.* (2011) en su revisión de hongos asociados a la descomposición de bambúes en Korea menciona a *Acremonium sp.* como un Ascomiceto que ha sido reportados previamente por Zhang *et al.* (1996) sin precisar el tipo de daño que produce en el bambú. Remadevi *et al.* (2017) registra a *Acremonium* en infección de semillas de *Dendrocalamus strictus* en la India.

Morakotkarn *et al.* (2007) en su estudio de diversidad molecular de hongos asociados al bambú aislados de Japón reconoce que los bambúes son una gran reserva de microorganismos y que hay poca información disponible sobre sus endófitos por lo que recomienda investigar exhaustivamente.

White *et al.* (1996) menciona que se ha demostrado el carácter endófito asintomático de *Acremonium* al localizarse intercelularmente dentro de los tejidos de las vainas foliares, culmos y semillas de varias gramíneas. Aparentemente estos hongos se han quedado atrapados dentro de las plantas huéspedes ya que la mayoría de los endófitos de *Acremonium* no forman estroma y no se sabe que produzcan ningún otro tipo de estructuras reproductivas en otros lugares. Por esta razón, se ha creído que la transmisión de semillas es el único medio de diseminación de los endófitos asintomáticos. Sin embargo, la gran mayoría de los endófitos de *Acremonium* producen conidios cuando se cultivan en un medio de Papa Dextrosa Agar (PDA) como es el caso de lo observado en *G. weberbaueri* en el MS+PPM.

Es posible que estos hongos endófitos retengan la capacidad de producir conidios en los filoplanos de las gramíneas y, por lo tanto, la extensión de los endófitos de *Acremonium* emplee etapas especiales propias de dicho tipos de hongos. Tadych y White (2007) indican que estos conidios pueden producirse en superficies de pastos y/o hojas muertas, y propagarse a través de corrientes de agua, salpicaduras de lluvia o salpicaduras de goteo a las plantas adyacentes. Para estos autores, es probable que el crecimiento de estructuras propias del endófito se estimule en las regiones de actividad meristemática de las gramíneas lo que indica que las infecciones endofíticas de los pastos puedan ocurrir en estas regiones meristemáticas donde los nutrientes son abundantes y las barreras cuticulares son mínimas o inexistentes. Lo anterior explica la razón por la cual el hongo se manifestó en el cultivo *in vitro* de *G. weberbaueri* sin embargo, se requiere de estudios futuros para evaluar experimentalmente el mecanismo de infección del huésped por endófito.

Actualmente *Acremonium coenophialum* y *Acremonium lolii* han sido reclasificados en el género *Neotyphodium*, un género asexual de la familia *Clavicipitaceae* (Glenn *et al.*, 1996 citado por Sánchez, 2009).

Neves (2017) en función a lo observado para *Dendrocalamus asper* indica que el material viene contaminado de campo por bacterias endógenas y recomienda su aislamiento para el tratamiento con antibacterianos. De igual manera Acosta *et al.* (2008) elaboró un plan de defensa fitosanitario para las plantas donantes que incluyó fungicidas sistémicos y de contacto, cuyo espectro de acción cubría los géneros de hongos que previamente identificó en las plantas donantes de *Dendrocalamus asper*, *Dendrocalamus strictus*, *Guadua angustifolia* y *Gigantochloa atterados*.

Sin embargo, para algunos autores, Sánchez *et al.* (2013), los hongos endófitos son de gran importancia para las plantas hospederas al estar relacionados con la producción de metabolitos bioactivos que modifican los mecanismos de defensa ante factores bióticos (patógenos y herbívoros) y abióticos (estrés salino, hídrico, térmico, presencia de metales, etc.). Es el caso de *Acremonium coenophialum* hongo endófito presente en los pastos de *Festuca arundinacea* que produce efectos perjudiciales sobre algunos herbívoros. Como la intoxicación del ganado: la pérdida de peso, los bajos índices de fertilidad, la baja producción de leche y la elevada temperatura corporal (Oliveira *et al.*, 1996) y la mortalidad del lepidóptero plaga *Spodoptera frugiperda* (Gamboa, 2006). Asimismo, hay indicios de su uso potencial de hongos endófitos del género *Acremonium* como vectores de genes para el mejoramiento de plantas (Gamboa, 2006).

Este hongo también presenta efectos beneficiosos sobre los pastos *Festuca sp.* y *Lolium perenne* proporcionando mayor tolerancia a los estreses abióticos como el frío y la sequía (Oliveira *et al.* 1996 y Oliveira *et al.* 2002). Lo que se podría asociar al hecho que la procedencia “Chanchamayo” que no estuvo asociada a un cuerpo de agua, se encuentra a mayor altitud y en un terreno más agreste que “Satipo 1” presentara una mayor contaminación del hongo endógeno durante el establecimiento del cultivo *in vitro*. Así como también, a la variación de contaminación en los diferentes meses del año, donde se observa que durante la temporada de menor humedad relativa y mayor temperatura, meses de verano, llegue a contaminarse todo el material.

Debido al potencial de este hongo y a que existen muy pocos estudios sobre los endófitos en zonas tropicales, la mayoría de estudios son en zonas templadas, esta investigación reconoce la necesidad de nuevos estudios que: identifiquen la especie de *Acremonium* que limita el cultivo *in vitro* de *Guadua weberbaueri*, determinen la interacción hospedero- hongo endófito, corroboren la aparente asociación del hongo endófito con la procedencia “Chanchamayo” y la posible relación con la época de establecimiento del cultivo *in vitro*. De igual manera, será necesario establecer algún tratamiento en las plantas donantes que permita culminar el protocolo de propagación *in vitro* de *Guadua weberbaueri*.

V. CONCLUSIONES

Las introducciones sucesivas durante el periodo de un año para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *Guadua weberbaueri* procedente de dos sitios de selva central realizadas en la ciudad de Lima, Perú generan las siguientes conclusiones:

1. Se optimiza el establecimiento del cultivo *in vitro* (80%) al: realizar la pre desinfección dentro de la cámara de flujo laminar; desinfectar los explantes usando el tratamiento D4: inmersión en alcohol de 70°, limpieza con NaClO al 2,5% por 10 minutos seguido de una segunda desinfección con NaClO al 1,5% por 3 minutos e inmersión en Ceftriaxona disódica hemiheptahidratada por 1 segundo, sembrar los explantes en medio de cultivo Moorashige & Skoog (1962) + PPM (2 ml/l) e incubar los explantes sembrados a una temperatura de 28°C con iluminación artificial 2.000 lux y un fotoperíodo de 12 horas luz sin necesidad de oscuridad para estimular la brotación.
2. Existe evidencia que la mejor época para el establecimiento *in vitro* de *Guadua weberbaueri* es entre abril y julio.
3. Se tiene evidencia que el germoplasma procedente del primer sitio de colecta “Satipo 1” centro poblado Rafael Gastelua Bella, Satipo, Junín (X: 542401 Y:8759275) presenta mejores resultados con respecto al procedente a los otros sitios de colecta en el desarrollo de plantas madres a nivel de invernadero, establecimiento y multiplicación del cultivo *in vitro* de *Guadua weberbaueri*.
4. La tasa de multiplicación de *Guadua weberbaueri* es de 2,5 brotes usando como medio de cultivo Moorashige & Skoog (1962) enriquecido con 2 ml/l de PPM y 5 mg/l de 6- Benzilaminopurine, la cual se ve limitada por la presencia del hongo endófito asintomático *Acremonium* sp. que se presenta desde el establecimiento hasta la multiplicación del cultivo *in vitro* de *Guadua weberbaueri*.

VI. RECOMENDACIONES

1. Es necesario identificar la especie del hongo endófito *Acremonium* sp., confirmar su presencia en las plantas madres *Guadua weberbaueri* y la interacción con las mismas para establecer algún tratamiento que permita disminuir la carga endógena.
2. Realizar una investigación que corrobore la relación entre la época de introducción y la carga endógena de *Acremonium* sp en *Guadua weberbaueri*.
3. Se requieren estudios complementarios que permitan evaluar la relación del hongo endófito *Acremonium* sp. con los sitios de colecta del germoplasma.
4. Una vez superada la contaminación del hongo endófito *Acremonium* sp. completar el protocolo de propagación *in vitro* de *Guadua weberbaueri*: ensayando mayor número de subcultivos durante la multiplicación, corroborando el enraizamiento en durante el medio de multiplicación propuesto, ensayando medios de enraizamiento y sustratos para la aclimatación de vitroplantas de *Guadua weberbaueri*.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta-Suárez, M, Alvarado-Capó Y, Cruz-Martín M, Roque B, Sánchez-García C, Leiva-Mora M, Freire-Seijo M, García-ramírez Y, Pérez Z, Salabarría T, Tejada M, González M, Hurtado O. 2008 Micobiota de plantas donadoras y contaminantes fúngicos del establecimiento *in vitro* de especies de bambúes. Biotecnología vegetal 8: 57-61. (en línea). Consultado 27 jun. 2019. Disponible en: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/336/html>

Añazco, M. 2013. Estudio de vulnerabilidad del bambú (*Guadua angustifolia*) al Cambio climático en la costa del Ecuador y norte del Perú. (en línea). INBAR. EC. Consultado 15 mar. 2018. Disponible en http://www.usmp.edu.pe/centro_bambu_peru/pdf/Estudio_de_vulnerabilidad_del_bambu.pdf

Arancibia, A. 2017. Propagación vegetativa de dos especies de bambú en la selva nororiental. Tesis Ing. For. Lima, PE de tesis. Universidad Nacional Agraria La Molina. 125 p.

Bamonte, G y Kociancich, S. 2007. Los Ese Ejja: El mundo de los hombres y el mundo de los espíritus entre los indios del río. La Paz, BO, Plural Editores. 209 p.

Barba, A; Luna, B y Romero, J. 2001. Micropropagación de plantas. Distrito Federal de México, MX. Trillas. 107 p.

Boa, E. 1985. The Occurrence and Bamboo Blight in Bangladesh with Reference to *Sarocladium oryzae*. Proceedings of the International Bamboo Workshop, October 6-14, 1985, Hangzhou, People's Republic of China, At Hangzhou, People's Republic of China. (en línea). Consultado 15 jun. 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/280528252_The_Occurrence_of_Bamboo_Blight_in_Bangladesh_with_Reference_to_Sarocladium_oryzae

Borges, M; Ros, C; Castellanos, Y; Milanes, S y Velásquez, F. 2004. Efecto de diferentes métodos de desinfección en el establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia* Kunth. *Biotecnología Vegetal* 4(4). 237 – 242. (en línea). Consultado 10 jun. 2019.

Casanova. 2017. Determinación de medios de cultivo para el establecimiento *in vitro* de bambú (*Guadua* sp.). Tesis Ing. For. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 89 p.

Castaño, F. & Moreno, R. 2004. *Guadua para todos Cultivo y aprovechamiento*. Bogotá, CO.

Catpo, J. 2017. Etnobotánica, caracterización morfológica y distribución ecológica de especies de bambú en la Región Selva Central del Perú. Tesis Mg. Sc. Conservación de Recursos Forestales. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 128 p.

Corrales, D. 2017. Establecimiento *In vitro* de Bambú (*Guadua angustifolia* Kunth) mediante segmentos nodales de ramas primarias. Tesis Ing. For. Lima, PE de tesis. Universidad Nacional Agraria La Molina. 113 p.

Estrela, C; Estrela, C, Barbin, E, Spano, J; Marchesam, M y Pécora, J. 2002. Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite. *Braz Dent J* (2002) 13(2): 113-117. (en línea). Consultado 06 jun. 2019. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402002000200007

Fernández, J. 2012. SIERRA EXPORTADORA. “Perspectivas para la industrialización de bambú en las regiones de la sierra del Perú”. (en línea) Consultado 15 en. 2018. Disponible en: www.sierraexportadora.gob.pe

Gamboa, M. 2006. Hongos endófitos tropicales: Conocimiento actual y perspectivas. (en línea). *Acta biológica colombiana* 11(supl): 3-20. Consultado 10 nov. 2019. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/27153>.

García, Y; Freire, M y Hurtado, O. 2011. Propagación *in vitro* de bambúes. (en línea). *Biología Vegetal* 11(3): 131-141. Consultado 15 may 2018. Disponible en: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/237/831>

GBIF (Global Biodiversity Information Facility). 2016. (en línea). Repositorio. Consultado el 19 feb. 2017. Disponible en: <http://www.gbif.org>

- Gielis J, Peeters H, Gillis K, Oprins J, Debergh P. 2001. Tissue culture strategies for genetic improvement of bamboo. *Acta Horti* 552:195–203. (en línea). Consultado 02 jun. 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/256693358_Tissue_Culture_strategies_for_the_genetic_improvement_of_bamboo
- Gielis, J, Oprins J. 2002. Micropropagation of temperate and tropical woody bamboos from biotechnological dream to commercial reality. En: *Bamboo for sustainable development. Proceedings of the Vth International Bamboo Congress and the VIth International Bamboo Workshop*, pp. 333–344. San José, Costa Rica. (en línea). Consultado 02 jun. 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/237776401_Micropropagation_of_tropical_and_temperate_woody_bamboos_-_from_biotechnological_dream_to_a_commercial_reality
- Griscom, B; Ashton, M. 2003. Bamboo control of the forest succession: *Guadua sarcocarpa* in Southeastern Peru. *Forest Ecology and Management*. 175: 445-454.
- INBAR (International Network for Bamboo and Rattan). 2015. Estudio de la cadena desde la producción al consume del bambú (*Guadua angustifolia*) en Perú. Quito, Ecuador.
- INRENA (Instituto Nacional de Recursos Naturales). 1995. Manejo y aprovechamiento de la paca (*Guadua sarcocarpa*). (en línea). S.l. Consultado 10 oct. 2019. Disponible en: http://www.itto.int/files/itto_project_db_input/1980/Competition/Informe%20Final%20de%20Actividades.pdf
- INRENA (Instituto Nacional de Recursos Naturales). 1996. Guía explicativa del mapa forestal 1995. Ministerio de Agricultura. INRENA. Dirección General Forestal. Lima-Perú.
- Jiménez VM, Castillo J, Tavares E, Guevara E, Montiel M. 2004. Micropropagación de *Guadua angustifolia* Kunth a partir de explantes nodales. En: Aristizábal V (ed.). *Memorias Simposio Internacional Guadua 2004*. Pereira, Colombia. . (en línea). Consultado 10 may. 2019. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10669/77945>
- Jiménez, V, Castillo J, Tavares E, Guevara E, Montiel M. 2006 *In vitro* propagation of the neotropical giant bamboo, *Guadua angustifolia* Kunth, through axillary shoot proliferation. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 86: 389–395. Consultado 09 may. 2019. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-006-9120-4>

Judziewicz, E; Clark, L; Londoño, X; Stern; M. 1999. American Bamboos. Richmond, US, Smithsonian Books. 392 p.

Kim, J-J; Lee, S-S; Ra, J-B; Lee, H; Huh, N y Kim G-H. 2011. Fungi associated with bamboo and their decay capabilities. *Holzforschung*. Vol. 65. 271–275. (en línea). Consultado 15 jun. 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/273381242_Fungi_associated_with_bamboo_and_their_decay_capabilities

Lárraga, N ; Gutiérrez, N.; López, H.; Pedraza, M; Vargas, J. ; Santos, G. y Santos, U. 2011. Propagación vegetativa de tres especies de bambú. (en línea). *Ra Ximhai*. 7 (2) : 205-218. Consultado 01 ene. 2019. Disponible en: www.redalyc.org

Londoño, X; Peterson, P. 1991. *Guadua sarcocarpa* (Poaceae: Bambuseae) a New Species os Amazonian Bamboo with Fleshy Fruit. *Systematic Botany* 16(4): 630-638.

Londoño, X; Clark, LG. 2004. Distribución, morfología, taxonomía, anatomía, silvicultura y usos de los bambúes del Nuevo Mundo. III Congreso Colombiano de Botánica, Popayán, 7 al 12 de noviembre de 2004. Material inédito. 25 p.

Londoño, X. 2010a. Genetic diversity of the bamboos of America and specifically of the genus *Guadua*. In: I International Symposium on Genetic Resources of Bamboos and Palms and III International Symposium on Ornamental Palms 1003. p. 43-50.

Londoño, X. 2010b. Identificación taxonómica de los bambúes de la región noroccidental del Perú. Lima: Ministerio de Agricultura-Dirección General Forestal y de Fauna Silvestre. 36 p.

Martínez, J. sf. Propagación in vitro de *Guadua angustifolia* (bambú), a partir de microestacas de plantas desarrolladas en invernadero. Tesis Ing. For. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 133 p.

Marulanda, M. ; Gutiérrez, L; Márquez, M. 2005. Micropropagación de *Guadua angustifolia* Kunth. (en línea). *Actualidades Biológicas* . 27 (82). (en línea). Consultado 25 mar. 2019. Disponible en: <https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/actbio/article/view/329424/20785876>

Mendiburu, F. 2019. agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.3-0. Consultado 15 jul. 2019. <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>

MINAM (Ministerio del Ambiente). 2015. Mapa Nacional de Cobertura Vegetal - Memoria descriptiva. Ministerio del Ambiente. Dirección General de Evaluación, Valoración y Financiamiento del Patrimonio Natural. Perú.

Morakotkarn, D; Kawasaki, H y Seki, T. 2007. Molecular diversity of bamboo-associated fungi isolated from Japan. FEMS Microbiol Lett 266. 10–19. . (en línea). Consultado 21 jun. 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17092298>

Murashige, T. Skoog, F. 1962. A Revised médium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures. (en línea) . *Physiologia plantarum*. Consultado 1 mar 2018. Disponible en: http://priede.bf.lu.lv/grozs/AuguFiziologijas/Augu_audu_kulturas_MAG/literatura/03_Murashige%20Skoog1962.pdf

Nelson, B. 1994. Natural forest disturbance and change in the Brazilian Amazon. Remote Sensing Rev. 10: 105-125.

Neves, A. 2017. Introdução *in vitro* de explantes de segmentos nodais de *Dendrocalamus asper*. Trabalho de conclusão de curso (graduação) -Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Agronomia , Laranjeiras do Sul, PR. Consultado 18 may. 2019. Disponible en: <https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/1658/1/NEVES.pdf>

Ndiaye, A, Mamadou S, Niang D, Gassama-Dia Y. 2006. *In vitro* regeneration of adult trees of *Bambusa vulgaris*. African Journal of Biotechnology Vol. 11, No. 3, 2011 141 Biotechnology 5(13).(en línea). Consultado 18 jun. 2019. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/43091/26639>

Oliveira, J.A.; Sleper, D.A.; West, C.P.; Bughrara S.S. y Coutts J. 1996. Efecto de dos cepas del hongo endofito *Acremonium coenophialum* sobre la respuesta al estrés hídrico en una población de festuca alta 'himag'. Revista Pastos 26(2):177-184. (en línea). Consultado 10 nov. 2019. Disponible en: <http://polired.upm.es/index.php/pastos/article/view/990>

Oliveira, J.A.; Rottinghaus, G.E.; Prego, C. y González, E. 2002. Contenido en alcaloides en semillas de poblaciones naturales de raigrás inglés del norte de España infectadas con los hongos endofitos *Neotyphodium*. Investigación agraria. Producción y protección vegetales 17(2):247-256. (en línea). Consultado 10 nov 2019. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=259132>

Ortiz, K. 2017. Caracterización y clave de identificación de los bambúes en la Región Nor-Oriental (San Martín, Amazonas y Cajamarca). Tesis Ing. For. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 209 p.

Pedroza, J. 2008. Aplicaciones de tejidos vegetales en condiciones *in vitro*. Bogotá, CO. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. 348 p.

Pérez García, N; Rueda González, M; Rojo Martínez, GE; Martínez Ruíz, R; Ramírez Valverde, B; Juárez Sánchez, JP. 2009. El bambú (*Bambusa* spp.) como sistema agroforestal: Una alternativa de desarrollo mediante el pago por servicios ambientales en la sierra nororiental del Estado de Puebla (en línea). Ra Ximhai 5(3):335-346. Consultado 3 feb. 2018. Disponible en <http://www.uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-15articulosPDF/08%20EL%20BAMBU.pdf>

PERUBAMBÚ (Asociación Peruana del Bambú). sf. Métodos de propagación del bambú (*Guadua angustifolia*) (en línea). 5 p. Consultado 4 feb. 2018. Disponible en [http://www.itto.int/files/user/pdf/PROJECT_REPORTS/pd428_06/PD%20428-06%20R.2%20\(F\)%20Propagaci%C3%B3n%20G%20Angustifolia.pdf](http://www.itto.int/files/user/pdf/PROJECT_REPORTS/pd428_06/PD%20428-06%20R.2%20(F)%20Propagaci%C3%B3n%20G%20Angustifolia.pdf)

Prutpongse P, Gavinlertvatana P. 1992. *In vitro* propagation of 54 species from 15 genera of bamboo. Hort. Sci. 27: 453–454 Rajneesh, A, Hyamal N (2009) *In vitro* Shoot Cut: A High Frequency Multiplication and Rooting Method in the Bamboo *Dendrocalamus hamiltonii*. Biotechnology 8(2): 259-263. (en línea). Consultado 04 jun. 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Salamma_Sugali3/post/What_is_the_best_medium_for_the_multiplication_of_bamboo_by_micro-propagation/attachment/59d62b1b79197b80779897d0/AS%3A341949501460500%401458538522941/download/IN+VITRO+PROPAGATION+OF+54+SPECIES+OF+GRASSES.pdf

Quispe, L. 2019. Caracterización molecular de *Guadua* spp. procedente de la selva central del Perú, utilizando marcadores ISSR. Tesis Ing. Forestal. Lima; PE; UNALM. 131 p.

R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. Consultado 16 jul. 2019. <https://www.R-project.org/>.

Rahman, M.A. 1985. Bamboo Blight in the Village Groves of Bangladesh. Recent Research on Bamboos. International Bamboo Workshop October 6-14, 1985. Hangzhou, People's Republic of China. 401 p.

Ramanayake, S, Yakandawala K. 1997. Micropropagation of the giant bamboo *Dendrocalamus giganteus* Munro) from nodal explants of field grown culms. Plant Sci. 129: 213–223. (en línea). Consultado 16 jun. 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Kapila_Yakandawala/publication/222178320_Micropropagation_of_the_giant_bamboo_Dendrocalamus_giganteus_Munro_from_nodal_explants_of_field_grown_culms/links/57ee89eb08ae280dd0ad6050/Micropropagation-of-the-giant-bamboo-Dendrocalamus-giganteus-Munro-from-nodal-explants-of-field-grown-culms.pdf

Ramanayake, S, Wanniarachchi W, Tennakoon T. 2001. Axillary shoot proliferation and *in vitro* rooting in an adult giant bamboo, *Dendrocalamus giganteus* Wall. Ex Munro. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant* 37: 667–671. (en línea). Consultado 03 jun. 2019. Disponible en: <https://page-one.springer.com/pdf/preview/10.1007/s11627-001-0116-9>

Ramírez, A; Milena, S y López, R. 2009. Identificación de Bacterias que afectan el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Guadua angustifolia* Kunth. *Revista de Investigación de la Universidad del Quindío* (19): 151- 158. Armenia – Colombia. (en línea). Consultado 09 may. 2019. Disponible en: http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/299d_n1917.pdf

Ramírez, Y; Freire, M y Hurtado, O. 2011. Propagación *in vitro* de bambúes. *Biotecnología vegetal*. 11 (3) : 131-142. (en línea) Consultado 25 nov. 2018. Disponible en : <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/download/237/213>

Ramírez, L; Granados, J y Carreño, N. 2014. Evaluación del efecto de tratamientos de desinfección con hipoclorito de sodio sobre segmentos nodales de *Guadua angustifolia* Kunth para el establecimiento del cultivo *in vitro*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 5(1). (en línea). Consultado 5 may. 2019. Disponible en: <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/944/928>

Ravikumar, R, Ananthkrishnan G, Kathiravan K, Ganapathi A. 1998. *In vitro* shoot propagation of *Dendrocalamus strictus* Nees. *Plant Cell Tiss Org Cult* 52: 189–192. (en

línea). Consultado 21 jun. 2019. Disponible en:
<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1006092620731>

Reátegui, N. 2009. Caracterización y clave de identificación de bambúes en el ámbito Chanchamayo, departamento de Junín, Perú. Tesis Ing. Forestal. Lima; PE; UNALM. 181 p.

Remadevi, O.K; Sharada, P y Nagaveni, H.C. 2017. An annotated checklist of microbes associated with bamboo in the Indian subcontinent. *Journal of Threatened Taxa*. 9(11): 10920–10947. (en línea). Consultado 15 jun. 2019. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/321303061_An_annotated_checklist_of_microbes_associated_with_bamboo_in_the_Indian_subcontinent

Sánchez, L y Sáenz, E. 2005. Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología peruana* 5(2). (en línea). Consultado 06 jun. 2019. Disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v15_n2/pdf/a02.pdf

Sánchez, M. 2009. Estudio de la microbiota endofítica asociada a las gramíneas *Dactylis glomerata*, *Holcus lanatus*, *Ammophila arenaria* y *Elymus farctus*. Tesis para optar el grado de Doctora en Ciencias Biológicas. Universidad de Salamanca. Salamanca, ES. 272 p. (en línea). Consultado 10 nov. 2019. Disponible en:
https://gedos.usal.es/bitstream/handle/10366/76314/DMG_Sanchez_Marquez_MS_Estudio_de_la.pdf;jsessionid=AA6B99FCA7534D06026590267AEF53F6?sequence=1

Sánchez, R; Sánchez, B; Monserrat, Y; Benítez, A; Armendáriz, B; García, M y Macías, M. 2013. Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2):132-146. (en línea). Consultado 10 nov. 2019. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1405888X13720849>

Sanches, T. 2017. Micropropagação do bambu americano *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño & P. M. Peterson. Dissertação de Mestrado Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais Mestre em Ciência área de concentração em Recursos Genéticos Vegetais. Florianópolis, Br. Universidade Federal de Santa Catarina. 66 p. (en línea). Consultado 15 mar. 2019. Disponible en:
<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/185638>

Saxena, S. 1990. *In vitro* propagation of the bamboo (*Bambusa tulda* Roxb.) through shoot proliferation. Plant Cell Rep. 9: 431–434. (en línea). Consultado 18 jun. 2019. Disponible en: <https://page-one.springer.com/pdf/preview/10.1007/BF00232266>

Tadych, M. y White J.F. 2007. Ecology of epiphyllous stages of endophytes and implications for horizontal dissemination. 6th International Symposium on Fungal Endophytes of Grasses, Volume: Grassland Research and Practice Series No. 13. (en línea). Consultado 15 jun. 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/234007250_Ecology_of_epiphyllous_stages_of_endophytes_and_implications_for_horizontal_dissemination

Villegas, M. s.f. Guadua: Arquitectura y Diseño. (en línea). S.l. Villegas. 213 p. Consultado 18 mar. 2018. Disponible en: books.google.com.pe

White, J; Martin, T y Cabral, D. 1996. Endophyte-host associations in grasses. XXII. Conidia formation by *Acremonium* endophytes on the phylloplanes of *Agrostis hiemalis* and *Poa rigidifolia*. Mycologia 88(2). 174-178. Consultado 15 jun. 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/327292627_Endophyte-host_associations_in_grasses_XXII_Conidia_formation_by_Acremonium_endophytes_on_the_phylloplanes_of_Agrostis_hiemalis_and_Poa_rigidifolia

Yasodha, R, Kamala S, Kumar A, Kumar D, Kalaiarasi K. 2007. Effect of glucose on *in vitro* rooting of mature plants of *Bambusa nutans*. Scientia Horticulturae 116: 113-116. Consultado 30 may. 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/223757867_Effect_of_glucose_on_in_vitro_rooting_of_mature_plants_of_Bambusa_nutans/link/5cad7b2a458515cd2b0d3fba/download

Young, S. y Judd, W. 1992. Systematics of the *Guadua angustifolia* Complex (Poaceae: Bambusoideae). Annals of the Missouri Botanical Garden: 79(4): 737-769.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Fichas técnicas de la solución hidropónica A y B

FICHA TÉCNICA

SOLUCIÓN HIDROPÓNICA LA MOLINA

La solución hidropónica La Molina, contiene todos los nutrientes que las plantas necesitan pero en concentraciones muy altas como para ser utilizados directamente sobre las plantas. Para que los nutrientes estén disponibles en concentraciones adecuadas, sólo se toman pequeños volúmenes para preparar la solución nutritiva. Son dos soluciones concentradas, denominadas A y B respectivamente. La solución concentrada A contiene N, P, K y Ca, y la solución concentrada B aporta Mg, S, Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo y Cl.

A continuación se dan los pesos de los fertilizantes necesarios para preparar ambas soluciones concentradas :

- **Solución Concentrada A:**

Cantidad de fertilizantes para 2.0 litros

nitrato de potasio 13.5% N, 45% K ₂ O	550.0 g
nitrato de amonio 33% N	350.0 g
superfosfato triple 45% P ₂ O ₅ , 20% CaO	180.0 g

- **Solución Concentrada B:**

Cantidad de fertilizantes para 2.0 litros

sulfato de magnesio 16% MgO, 13% S	220.0 g
quelato de hierro 6% Fe	17.0 g
Micronutrientes	9.5 g

- **Micronutrientes**

sulfato de manganeso (MnSO ₄ .4H ₂ O)	2.0 g
ácido bórico (H ₃ BO ₃)	1.2 g
sulfato de zinc (ZnSO ₄ .7H ₂ O)	0.7 g
sulfato de cobre (CuSO ₄ .5H ₂ O)	0.4 g
molibdato de amonio (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.1 g
EDTA	5.0 g

Peso: 1,327 g

ANEXO 2: Ficha técnica PPM

Plant Preservative Mixture (PPM) 1 Liter

Plant Preservative Mixture (PPM), is a broad-spectrum biocide/fungicide for plant tissue culture. PPM™ is the ultimate solution to the never-ending struggle against microbial airborne, waterborne and endogenous contamination.

About Plant Preservative Mixture (PPM) ^

PPM™ is a heat stable preservative/biocide which can be used to effectively prevent or reduces microbial contamination in plant tissue culture.

At optimum doses, PPM™, which stands for Plant Preservative Mixture™, is an extremely effective Preservative/Biocide, yet does not impair in vitro seed germination, callus proliferation and callus regeneration.

Despite the most stringent use of sterile techniques, the contamination of plant cell and plant tissue cultures remain a persistent problem that can result in losses ranging from small number of cultures to the loss of whole batches.

PPM™ prevents the germination of both bacteria and fungi spores. It is heat stable and therefore can be autoclaved with the media.

PPM™ can be, and should be used as a standard ingredient in plant tissue culture media, and is also substantially less expensive than commonly used antibiotics.

While PPM™ was principally designed to inhibit airborne contamination, waterborne contamination and contamination introduced from human contact, it can also -- in many cases -- be used to reduce endogenous contamination.

The principal PCT scientist involved in the development of the PPM™ application is Dr. Assaf Guri. Dr. Assaf Guri holds degrees in genetics, applied genetics and plant breeding from the Hebrew University in Jerusalem and Michigan State University in the US. Before joining Plant Cell Technology, Inc., Assaf worked with the Volcani Agricultural Research Center in Israel, Michigan State University in East Lansing, Michigan and DNAP in New Jersey.

ANEXO 3: Evaluaciones del desarrollo en el invernadero de plantas madres procedentes de “Satipo 1”

Planta	Marzo del 2018		Abril del 2018				May-18					Junio del 2018				Julio del 2018			
	22	29	5	12	19	26	3	10	17	24	31	7	14	21	28	6	13	20	27
1	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
2	S	S	B	B	B	Y	Y	Y	Y	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y
3	S	S	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M
4	S	S	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
5	S	S	B	B	B	B	B	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
7	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
8	V	S	B	B	B	B	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
9	V	S	B	B	B	B	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
10	V	S	B	B	B	B	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
11	V	S	B	B	B	B	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
12	V	S	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M
13	V	S	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y
14	V	S	B	B	B	B	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
15	V	S	B	B	B	B	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
16	V	S	B	B	B	B	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
17	V	S	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y
18	S	S	B	B	B	B	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
19	S	S	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M
20	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
21	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
22	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M

 Incidencia de Pseudococcido.

**ANEXO 3: Evaluaciones del desarrollo en el invernadero de plantas madres
procedentes de “Satipo 1” (Continuación)**

Planta	Marzo del 2018		Abril del 2018				May-18					Junio del 2018				Julio del 2018			
	22	29	5	12	19	26	3	10	17	24	31	7	14	21	28	6	13	20	27
23	S	S	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M
24	S	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y
25	S	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y
26	S	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
27	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
28	V	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
29	S	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M
30	S	S	B	B	B	B	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
31	S	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
32	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
33	V	S	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M
34	V	S	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M
35	V	S	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M
36	V	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y
37	V	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y
38	V	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y
39	V	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
40	V	S	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y
41	V	S	B	B	B	B	Y	Y	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
42	V	S	B	B	B	B	Y	Y	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y



Incidencia de Pseudococcido.

**ANEXO 3: Evaluaciones del desarrollo en el invernadero de plantas madres
procedentes de “Satipo 1” (Continuación)**

Planta	Marzo del 2018		Abril del 2018			May-18					Junio del 2018				Julio del 2018				
	22	29	5	12	19	26	3	10	17	24	31	7	14	21	28	6	13	20	27
43	V	S	B	B	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
44	V	S	B	B	B	B	B	Y	Y	Y	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
45	S	S	B	B	B	B	B	Y	Y	Y	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
46	S	S	B	B	B	B	B	Y	Y	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
47	S	S	B	B	B	B	B	Y	Y	NY	NY	NY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
48	V	S	B	B	B	Y	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	Y
49	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
50	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M

 Incidencia de Pseudococcido.

ANEXO 4: Evaluaciones del desarrollo en el invernadero de plantas madres procedentes de “Chanchamayo” (Continuación)

	<i>Agosto del 2018</i>			<i>Setiembre de 2018</i>				<i>Octubre del 2018</i>				<i>Noviembre del 2018</i>					<i>Diciembre del 2018</i>				<i>Enero del 2019</i>					<i>Febrero del 2019</i>				<i>Marzo del 2019</i>				<i>Abril del 2019</i>			
	16	23	30	6	13	20	27	4	11	18	25	1	8	15	16	23	30	6	13	20	27	3	10	17	24	31	7	14	21	28	7	14	21	28	4	11	
27	V	V	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
28	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
29	V	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
30	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	B	B	B	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y
31	V	V	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
32	V	V	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
33	V	V	V	V	V	V	V	V	V	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	
34	V	V	V	V	V	V	V	V	V	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	Y	Y
35	V	V	V	V	V	V	V	V	V	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	Y	Y
36	V	V	V	V	V	V	V	V	V	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	Y	B	
37	V	V	V	V	V	V	V	V	V	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y	
38	V	V	V	V	V	V	V	V	V	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y
39	V	V	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M

ANEXO 4: Evaluaciones del desarrollo en el invernadero de plantas madres procedentes de “Chanchamayo” (Continuación)

	<i>Agosto del 2018</i>			<i>Setiembre de 2018</i>				<i>Octubre del 2018</i>				<i>Noviembre del 2018</i>						<i>Diciembre del 2018</i>				<i>Enero del 2019</i>					<i>Febrero del 2019</i>				<i>Marzo del 2019</i>				<i>Abril del 2019</i>				
	16	23	30	6	13	20	27	4	11	18	25	1	8	15	16	23	30	6	13	20	27	3	10	17	24	31	7	14	21	28	7	14	21	28	4	11			
40	V	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
41	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	Y	Y		
42	V	V	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
43	V	V	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
44	V	V	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
45	V	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
46	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
47	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
49	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
50	V	V	V	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M

ANEXO 5: Evaluaciones del desarrollo en el invernadero de plantas madres procedentes de “Satipo 2”

	<i>Ago</i>	<i>Setiembre 2018</i>			<i>Octubre 2018</i>					<i>Noviembre 2018</i>					<i>Diciembre 2018</i>				<i>Enero 2019</i>					<i>Feb 2019</i>		
	<i>30</i>	<i>6</i>	<i>13</i>	<i>20</i>	<i>27</i>	<i>4</i>	<i>11</i>	<i>18</i>	<i>25</i>	<i>1</i>	<i>8</i>	<i>15</i>	<i>16</i>	<i>23</i>	<i>30</i>	<i>6</i>	<i>13</i>	<i>20</i>	<i>27</i>	<i>3</i>	<i>10</i>	<i>17</i>	<i>24</i>	<i>31</i>	<i>7</i>	
1	V	S	S	S	S	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
2	S	S	S	S	S	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
3	S	S	S	S	S	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
4	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M	
6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M	
7	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M	
8	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M	
9	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M	
10	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M
11	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
12	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M	

 Incidencia de Secamiento de brotes.

ANEXO 5: Evaluaciones del desarrollo en el invernadero de plantas madres procedentes de “Satipo 2” (Continuación)

	<i>Ago</i>	<i>Setiembre 2018</i>			<i>Octubre 2018</i>					<i>Noviembre 2018</i>					<i>Diciembre 2018</i>				<i>Enero 2019</i>					<i>Feb 2019</i>		
	<i>30</i>	<i>6</i>	<i>13</i>	<i>20</i>	<i>27</i>	<i>4</i>	<i>11</i>	<i>18</i>	<i>25</i>	<i>1</i>	<i>8</i>	<i>15</i>	<i>16</i>	<i>23</i>	<i>30</i>	<i>6</i>	<i>13</i>	<i>20</i>	<i>27</i>	<i>3</i>	<i>10</i>	<i>17</i>	<i>24</i>	<i>31</i>	<i>7</i>	
13	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
14	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
15	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
16	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
17	V	V	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
18	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M
19	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
20	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
21	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
22	V	V	B	B	NY	NY	NY	Y	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M

 Incidencia de Secamiento de brotes.

Anexo 5: Evaluaciones del desarrollo en el invernadero de plantas madres procedentes de “Satipo 2” (Continuación)

	<i>Ago</i> <i>2018</i>	<i>Setiembre 2018</i>			<i>Octubre 2018</i>					<i>Noviembre 2018</i>					<i>Diciembre 2018</i>				<i>Enero 2019</i>					<i>Feb 2019</i>		
	<i>30</i>	<i>6</i>	<i>13</i>	<i>20</i>	<i>27</i>	<i>4</i>	<i>11</i>	<i>18</i>	<i>25</i>	<i>1</i>	<i>8</i>	<i>15</i>	<i>16</i>	<i>23</i>	<i>30</i>	<i>6</i>	<i>13</i>	<i>20</i>	<i>27</i>	<i>3</i>	<i>10</i>	<i>17</i>	<i>24</i>	<i>31</i>	<i>7</i>	
23	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
24	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
25	V	V	B	B	NY	NY	NY	Y	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
26	V	V	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
27	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
28	B	S	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
29	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
30	B	B	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
31	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
32	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
33	S	S	B	B	NY	NY	Y	Y	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M

 Incidencia de Secamiento de brotes.

ANEXO 5: Evaluaciones del desarrollo en el invernadero de plantas madres procedentes de “Satipo 2” (Continuación)

	<i>Ago</i>	<i>Setiembre 2018</i>			<i>Octubre 2018</i>					<i>Noviembre 2018</i>					<i>Diciembre 2018</i>				<i>Enero 2019</i>					<i>Feb 2019</i>		
	<i>30</i>	<i>6</i>	<i>13</i>	<i>20</i>	<i>27</i>	<i>4</i>	<i>11</i>	<i>18</i>	<i>25</i>	<i>1</i>	<i>8</i>	<i>15</i>	<i>16</i>	<i>23</i>	<i>30</i>	<i>6</i>	<i>13</i>	<i>20</i>	<i>27</i>	<i>3</i>	<i>10</i>	<i>17</i>	<i>24</i>	<i>31</i>	<i>7</i>	
34	S	S	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
35	S	S	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
36	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
37	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
38	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
39	V	V	B	B	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
40	V	V	B	B	NY	Y	Y	NY	Y	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	NY	M	M	M
41	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
42	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
43	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M
44	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	M

 Incidencia de Secamiento de brotes.

ANEXO 5: Evaluaciones del desarrollo en el invernadero de plantas madres procedentes de “Satipo 2” (Continuación)

	<i>Ago</i>	<i>Setiembre 2018</i>				<i>Octubre 2018</i>				<i>Noviembre 2018</i>						<i>Diciembre 2018</i>				<i>Enero 2019</i>					<i>Feb 2019</i>	
	<i>30</i>	<i>6</i>	<i>13</i>	<i>20</i>	<i>27</i>	<i>4</i>	<i>11</i>	<i>18</i>	<i>25</i>	<i>1</i>	<i>8</i>	<i>15</i>	<i>16</i>	<i>23</i>	<i>30</i>	<i>6</i>	<i>13</i>	<i>20</i>	<i>27</i>	<i>3</i>	<i>10</i>	<i>17</i>	<i>24</i>	<i>31</i>	<i>7</i>	
45	S	S S		S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	M
46	S	S S		S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	S S	M
47	S	S B		B NY	NY NY	NY NY	NY NY	NY NY	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M
48	S	S B		B NY	NY NY	NY NY	NY NY	NY NY	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M
49	S	S B		B NY	Y Y	NY NY	NY NY	NY NY	NY NY	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M
50	S	S B		B NY	NY NY	NY NY	NY NY	NY NY	NY NY	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M M	M

 Incidencia de Secamiento de brotes.

ANEXO 6: Evaluaciones de tratamientos de predesinfección para *G. Weberbaueri*

	PD1																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	7	8	8	8	9	8	8	8	7	10	8	8	7	7	7	7	7	9	7	7	7	7	7	7
SIN RESPUESTA Y SANO	3	2	2	2	1	1	1	1	3	0	2	2	2	2	2	2	3	1	2	2	2	2	2	2
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	PD2																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	7	8	5	3	3	3	3	3	7	8	4	3	3	3	3	3	7	6	5	4	4	4	4	4
SIN RESPUESTA Y SANO	3	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	3	5	5	5	5	5	0	0	4	5	5	5	5	5	0	2	3	4	4	4	4	4
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO 7: Evaluaciones de tratamientos de desinfección para *G. weberbaueri*

	D1																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	8	8	8	8	8	8	8	8	7	10	9	9	8	7	7	7	7	9	7	7	7	7	7	7
SIN RESPUESTA Y SANO	2	2	2	2	2	2	2	2	3	0	1	1	1	2	2	2	3	1	2	2	2	2	2	2
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	D2																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	8	8	5	4	4	4	4	4	9	9	7	6	5	5	5	5	9	9	5	5	5	5	5	5
SIN RESPUESTA Y SANO	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	3	5	5	5	5	5	0	0	2	3	4	4	4	4	0	0	4	4	4	4	4	4
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO 7: Evaluaciones de tratamientos de desinfección para *G.weberbaueri* (Continuación)

	D3																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	3	3	2	2	2	2	2	2
SIN RESPUESTA Y SANO	8	8	8	8	8	8	8	8	9	9	8	8	8	8	8	8	7	7	7	7	7	7	7	7
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	D4																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	7	8	8	8	9	8	8	8	7	10	8	8	7	7	7	7	7	9	7	7	7	7	7	7
SIN RESPUESTA Y SANO	3	2	2	2	1	1	1	1	3	0	2	2	2	2	2	2	3	1	2	2	2	2	2	2
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO 8: Evaluaciones de medio de cultivo para *G. weberbaueri*

	MS																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	1	1	2	0	0	0	0	0	2	2	1	1	1	1	1	1	0	2	1	1	1	1	1	1
SIN RESPUESTA Y SANO	4	2	1	1	1	1	1	1	3	2	2	2	2	2	2	2	5	3	2	2	2	2	2	2
CON RESPUESTA CONTAMINADO	5	7	7	9	9	9	9	9	5	6	7	7	7	7	7	7	5	5	7	7	7	7	7	7
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	MS+PPM																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	7	8	8	8	9	8	8	8	7	10	8	8	7	7	7	7	7	9	7	7	7	7	7	7
SIN RESPUESTA Y SANO	3	2	2	2	1	1	1	1	3	0	2	2	2	2	2	2	3	1	2	2	2	2	2	2
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO 9: Evaluaciones del fotoperiodo durante la incubación de *G. weberbaueri*

	SIN OSCURIDAD																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	6	6	7	8	8	7	7	7	7	8	8	8	8	7	7	7	7	8	7	7	7	7	7	7
SIN RESPUESTA Y SANO	4	4	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	1	1	1	1	1
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	2	2	2	2	2	2
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	OSCURIDAD																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	7	8	8	8	9	8	8	8	7	10	8	8	7	7	7	7	7	9	7	7	7	6	6	6
SIN RESPUESTA Y SANO	3	2	2	2	1	1	1	1	3	0	2	2	2	2	2	2	3	1	2	2	2	2	2	2
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	2	2	2
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO 10: Evaluaciones de la época de introducción de explantes de *G. weberbaueri*

	JUNIO								JULIO								AGOSTO								SETIEMBRE							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	10	12	12	12	13	12	12	12	7	7	7	7	7	7	7	7	5	6	7	10	7	4	4	4	6	9	4	3	3	1	1	1
SIN RESPUESTA Y SANO	5	3	3	3	2	2	2	2	8	8	3	3	3	3	3	3	10	9	5	2	2	2	2	2	9	6	3	2	2	2	2	2
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	5	5	5	5	5	5	0	0	3	3	6	9	9	9	0	0	8	10	10	12	12	12
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	OCTUBRE								NOVIEMBRE								DICIEMBRE								ENERO							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	6	10	6	3	2	2	2	2	6	6	5	4	0	0	0	0	7	7	3	5	1	0	0	0	8	11	10	9	9	6	6	3
SIN RESPUESTA Y SANO	9	5	3	3	3	3	3	3	9	9	5	4	4	4	4	4	8	8	5	3	3	3	3	3	7	4	4	4	4	3	3	3
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	6	9	10	10	10	10	0	0	5	7	11	11	11	11	0	0	7	7	11	12	12	12	0	0	1	2	2	6	6	9
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO 10: Evaluaciones de la época de introducción de explantes de *G. weberbaueri* (Continuación)

	FEBRERO									MARZO									ABRIL									MAYO								
	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31			
CON RESPUESTA Y SANO	3	8	10	11	7	5	4	3	3	10	11	10	8	6	5	4	4	11	11	10	9	7	7	6	6	11	11	10	10	9	9	8	8			
SIN RESPUESTA Y SANO	3	7	5	3	3	3	3	3	3	5	4	1	1	1	1	1	1	4	4	4	4	4	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4			
CON RESPUESTA CONTAMINADO	9	0	0	1	5	7	8	9	9	0	0	4	6	8	9	10	10	0	0	1	2	4	5	6	6	0	0	1	1	1	2	3	3			
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			

ANEXO 11: Evaluaciones de *G. weberbaueri* procedente de los sitios de colecta de Selva Central

	PROCEDENCIA 1																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	8	10	12	12	12	12	12	12	7	10	8	8	7	7	7	7	7	9	7	7	7	7	7	7
SIN RESPUESTA Y SANO	7	5	3	2	2	2	2	2	3	0	2	2	2	2	2	2	3	1	2	2	2	2	2	2
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15	15	15	15	15	15	15	15	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

	PROCEDENCIA 2																							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
CON RESPUESTA Y SANO	5	6	2	3	3	3	3	3	6	8	5	3	3	3	3	3	5	9	4	4	4	4	4	4
SIN RESPUESTA Y SANO	10	9	7	4	4	4	4	4	9	7	4	4	4	4	4	4	10	6	6	4	4	4	4	4
CON RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	6	8	8	8	8	8	0	0	7	8	8	8	8	8	0	0	5	7	7	7	7	7
SIN RESPUESTA CONTAMINADO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	16	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

ANEXO 12: Evaluaciones de los tratamientos de multiplicación para *G. weberbaueri*

	M1																							
	1								2								3							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
0 BROTOS	0	0	8	6	6	6	6	6	0	0	8	6	6	6	6	6	0	0	8	6	6	6	6	6
1 BROTE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 BROTOS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
3 BROTOS	0	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	1	2	2	2	2	0	0	0	1	1	2	2	2

	M2																							
	1								2								3							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
0 BROTOS	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	1	1	1	1	0	0	2	1	1	1	1	1
1 BROTE	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
2 BROTOS	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
3 BROTOS	0	0	0	6	6	6	6	6	0	0	0	6	7	7	7	7	0	0	0	7	7	7	7	7

	M3																							
	1								2								3							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
0 BROTOS	0	0	5	5	5	5	5	5	0	0	5	5	5	5	5	5	0	0	6	6	6	6	6	6
1 BROTE	0	0	3	3	3	3	3	3	0	0	3	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2
2 BROTOS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
3 BROTOS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	M4																							
	1								2								3							
	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31	3	7	11	15	19	23	27	31
0 BROTOS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 BROTE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 BROTOS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 BROTOS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO 13: Evaluaciones de la longitud de brotes por tratamientos de multiplicación de *G. Weberbaueri*

LONGITUD DE BROTE																																				
M1						M2						M3																								
1			2			3			1			2			3			1			2			3												
E	B	L	E	B	L	E	B	L	E	B	L	E	B	L	E	B	L	E	B	L	E	B	L	E	B	L	E	B	L							
1	1	3.8	1	1	3.2	1	1	3.2	1	1	4	1	1	4.2	1	1	3.3	1	1	3	1	1	3.7	1	1	4	1	1	4							
	2	3		2	3.5		2	3.5		2	3.7		2	4		2	3.2		2	3.5		2	4		2	1		3.5	2	1	4	2	1	4		
	3	3.5		3	3.1		3	3.5		3	3.5		3	3.7		3	3.7		3	3.1		3	3.6		3	1		3.6	3	1	4	3	1	4		
2	1	3	2	1	4	2	1	4	2	1	3.6	2	1	3.8	2	1	3.8	2	1	3.8	2	1	3.7	2	1	3.7	2	1	4	2	1	4				
	2	3.7		2	3.6		2	3.8		2	3.5		2	4		2	3.7		2	3.7		2	3.7		2	3.7		2	3.7		2	3.7	2	3.7	2	3.7
	3	3		3	3.8		3	4		3	3.8		3	3.7		3	3.7		3	4		3	4		3	4		3	4		3	4	3	4	3	4
3	1	3	3	1	3.5	3	1	3.3	3	1	3.5	3	1	3.3	3	1	3.3	3	1	3.3	3	1	3.3	3	1	3.3	3	1	3.3	3	1	3.3				
	2	3.2		2	3.4		2	3.2		2	3.4		2	3.2		2	3.4		2	3.2		2	3.4		2	3.2		2	3.4		2	3.2	2	3.4	2	3.2
	3	3		3	3		3	3.5		3	3		3	3.5		3	3		3	3.5		3	3		3	3.5		3	3		3	3.5	3	3	3	3.5
4	1	4	4	1	3.5	4	1	3.7	4	1	4	4	1	3.5	4	1	3.7	4	1	3.7	4	1	3.7	4	1	3.7	4	1	3.7	4	1	3.7				
	2	3.8		2	4		2	3.5		2	4		2	3.5		2	4		2	3.5		2	4		2	3.5		2	4		2	3.5	2	4	2	3.5
	3	3.7		3	3.7		3	4		3	3.7		3	4		3	3.7		3	4		3	3.7		3	4		3	3.7		3	4	3	3.7	3	4
5	1	3.8	5	1	3	5	1	4	5	1	3.8	5	1	3	5	1	4	5	1	4	5	1	3.8	5	1	3	5	1	4	5	1	4				
	2	3.6		2	3.2		2	4.2		2	3.6		2	3.2		2	4.2		2	3.6		2	3.2		2	4.2		2	3.6		2	3.2	2	4.2	2	3.6
	3	4		3	3		3	4		3	4		3	3		3	4		3	4		3	3		3	4		3	4		3	3	3	4	3	4
6	1	3.7	6	1	4	6	1	3.2	6	1	3.7	6	1	4	6	1	3.2	6	1	3.2	6	1	3.7	6	1	3.2	6	1	3.2	6	1	3.2				
	2	3.8		2	3.6		2	3.5		2	3.8		2	3.6		2	3.5		2	3.8		2	3.6		2	3.5		2	3.8		2	3.6	2	3.5	2	3.8
	3	4		3	4		3	3.3		3	4		3	3.3		3	4		3	3.3		3	4		3	3.3		3	4		3	3.3	3	4	3	3.3
7	1	3.5	7	1	3	7	1	3	7	1	3.5	7	1	3	7	1	3	7	1	3	7	1	3.5	7	1	3	7	1	3	7	1	3				
	2	3.3		2	3.8		2	3.3		2	3.8		2	3.3		2	3.8		2	3.3		2	3.8		2	3.3		2	3.8		2	3.3	2	3.8	2	3.3
	3	4		3	3.5		3	3.5		3	4		3	3.5		3	4		3	3.5		3	4		3	3.5		3	4		3	3.5	3	4	3	3.5

ANEXO 14: Resultados de las pruebas estadísticas

Prueba de t- Student para tratamientos de pre desinfección de *G. weberbaueri*

```
Two Sample t-test

data: df$rpta by df$trat
t = 8.4853, df = 4, p-value = 0.001058
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 26.91171 53.08829
sample estimates:
mean in group pd1 mean in group pd2
   73.33333         33.33333
```

Prueba de ANOVA para tratamientos de desinfección de *G. weberbaueri*

```
Analysis of Variance Table

Response: df$rpta
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
df$trat  3 7300.0 2433.33      73 3.742e-06 ***
Residuals 8  266.7   33.33
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

ANEXO 14: Resultados de las pruebas estadísticas (Continuación)

Prueba de Tukey para tratamientos de desinfección de *G. weberbaueri*

Study: Brotes con respuesta y sanos
por tratamientos de desinfección

HSD Test for df\$rpta

Mean Square Error: 33.33333

df\$trat, means

	df.rpta	std	r	Min	Max
D1	73.33333	5.773503	3	70	80
D2	46.66667	5.773503	3	40	50
D3	13.33333	5.773503	3	10	20
D4	73.33333	5.773503	3	70	80

Alpha: 0.05 ; DF Error: 8

Critical Value of Studentized Range: 4.52881

Minimum Significant Difference: 15.09603

Treatments with the same letter are not significantly different.

	df\$rpta	groups
D1	73.33333	a
D4	73.33333	a
D2	46.66667	b
D3	13.33333	c

Prueba t- Student medio de cultivo para *G. weberbaueri*

Two Sample t-test

data: df\$rpta by df\$trat

t = -14.206, df = 4, p-value = 0.0001426

alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0

95 percent confidence interval:

-79.65634 -53.61032

sample estimates:

mean in group MS	mean in group MS+PPM
6.70000	73.33333

ANEXO 14: Resultados de las pruebas estadísticas (Continuación)

Prueba t- Student para el efecto de la oscuridad en la incubación de *G. weberbaueri*

```
Two Sample t-test

data:  df$rpta by df$trat
t = 0, df = 4, p-value = 1
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -8.632319  8.632319
sample estimates:
  mean in group OSCURIDAD mean in group SIN OSCURIDAD
                        70                        70
```

Prueba t- Student para procedencias de *G. weberbaueri*

```
Two Sample t-test

data:  df$rpta by df$trat
t = -3.0244, df = 4, p-value = 0.039
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -72.245517  -3.087817
sample estimates:
 mean in group Chanchamayo      mean in group Satipo
                20.00000                57.66667
```

ANEXO 14: Resultados de las pruebas estadísticas (Continuación)

Prueba de Kruskal- Wallis para tratamientos de multiplicación de *G. weberbaueri*

```
A $statistics
  Chisq Df    p.chisq  t.value    MSD
10.72202  3 0.01332801 2.306004 1.245385

$parameters
      test p.adjusted name.t ntr alpha
Kruskal-Wallis      none df$trat  4 0.05

$means
  df.rpta rank      std r  Min  Max   Q25  Q50  Q75
M1  0.750   8 0.0000000 3 0.75 0.750 0.7500 0.750 0.7500
M2  2.500  11 0.2165064 3 2.25 2.625 2.4375 2.625 2.6250
M3  0.375   5 0.1250000 3 0.25 0.500 0.3125 0.375 0.4375
M4  0.000   2 0.0000000 3 0.00 0.000 0.0000 0.000 0.0000

$groups
  df$rpta groups
M2     11     a
M1     8      b
M3     5      c
M4     2      d
```

ANEXO 15: Resultados de la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología Vegetal de las Vitroplantas

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA</p> <p>Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología</p> <p>Av. La Universidad s/n - La Molina Apdo. 056 L-12 Telefax: 349-6631 rpm # 9470-14023 e-mail: clinica@lamolina.edu.pe</p>	
---	--	---

La Molina, 09 de abril de 2019
FI-AF 122-2019 CCG 006
JFT 106

Sres.
Ing. MARICEL JADITH MOSTIGA RODRIGUEZ
La Molina (Tesis de Maestría en Conservación de Recursos Forestales)
Presente.-

De mi consideración:

El resultado del análisis fitopatológico de una muestra de plantitas In Vitro de Bambú (*Guadua weberbaueri*), son síntomas de amarillamiento foliar y pudrición rosada de cuello de plantitas, procedente del IBT UNAL, La Molina; Lima Metropolitana, es el siguiente:

1. ANALISIS DE TEJIDO VEGETAL.

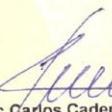
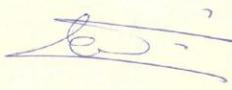
MÉTODO (Cuello)	RESULTADO
Examen Microscópico	<i>Acremonium</i> sp..
Medio PDAA	<i>Acremonium</i> sp

2. DIAGNÓSTICO.
Del cuello de plantitas de Bambú in vitro que nos envió se ha aislado *Acrecomium*, hongo que posiblemente esté ocasionando las pudriciones de esa zona y como consecuencia, el amarillamiento foliar.

3. RECOMENDACIONES.
No solamente se requiere que el medio nutritivo de enraizamiento se encuentre esterilizado, sino también las muestras vegetales a sembrar deben de ser desinfectados sumergiéndolas en una solución de hipoclorito de calcio al 0.1 %, luego de la cual hay que enjuagarlo por tres veces en agua bidestilada estéril y secarlo bien antes de sembrarlo en el medio nutritivo.

Nos despedimos de ustedes recordándoles que la Clínica de Diagnóstico está a su disposición para cualquier consulta.

Atentamente,

 Mg. Sc Carlos Cadenas Ciraldo ESPECIALISTA CLINICA DE DIAGNOSIS UNALM	 Mg. Sc Walter Apaza Tapia COORDINADOR CLINICA DE DIAGNOSIS
--	---

CCG/hmg
c.c. Archivo

ANEXO 16: Resultados de la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología Vegetal de las plantas madres



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología

Av. La Universidad s/n - La Molina Apdo. 056 L-12

Telefax: 349-6631 rpm # 9470-14023

e-mail: clinica@lamolina.edu.pe



La Molina, 28 de junio de 2019
FI-AF 270 -2019 CCG 030
JFT 205

Srta.
Ing. MARICEL MÓSTIGA RODRIGUEZ (Tesis de Maestría)
Callao
Presente.-

De nuestra consideración:

El resultado del análisis fitopatológico de una muestra de una mata de plantas en bolsa de Bambú peruano (*Guadua weberbaueri*), con síntomas de Necrosis de hojas inferiores, pudrición incolora de raicillas; hongo en un tocón muerto, procedente de Vivero Forestales, UNALM, La Molina; Lima Metropolitana, es el siguiente:

1. ANALISIS DE TEJIDO VEGETAL.

MÉTODO	RESULTADO
Examen Microscópico tocón	Basidiomicete
Medio PDAA raíces	<i>Fusarium oxysporum</i>
Medio PARB raíces	<i>Pythium sp.</i>

2. DIAGNÓSTICO.

- ✓ Las raíces de los brotes de bambú están siendo afectadas por *Pythium sp.*, oomicete de suelo que es favorecido por la alta humedad.
- ✓ Los hongos: *Fusarium oxysporum* en las raíces, y el basidiomicete en el tocón muerto, se encuentran como secundarios

3. RECOMENDACIONES.

- ✓ Controle el volumen de agua y frecuencia del riego para evitar excesos de humedad en el sustrato que favorece las infecciones por *Pythium*.
- ✓ Puede realizar una aplicación de un fungicida a base de Metalaxil, a la dosis recomendada por el fabricante, dirigido a la base de los brotes y raíces. Repetir a los 14 días.
- ✓ Los brotes pueden ser utilizados sin inconvenientes para extraer meristemas y yemas en el proceso de cultivo de tejidos para regenerar nuevas plantas.

Nos despedimos de ustedes recordándoles que la Clínica de Diagnóstico está a su disposición para cualquier consulta.

Atentamente,

Mg. Sc Carlos Cadenas Giraldo
ESPECIALISTA
CLINICA DE DIAGNOSIS

CCG/hmg
c.c. Archivo



Mg. Sc Walter Apaza Tapia
COORDINADOR
CLINICA DE DIAGNOSIS