

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGIA

Estudio preliminar sobre la inducción de poliploidía en
Bactris gasipaes H. B. K. por medio de la colchicina.

*Tesis de grado para optar al título
de Licenciada en Biología.*

MARIANELA ROJAS GONZALEZ

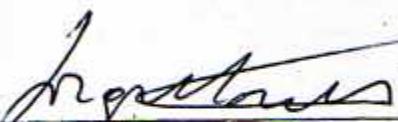
1982

Estudio preliminar de la inducción de poliploidía en
Bactris gasipaes H.B.K.

TESIS

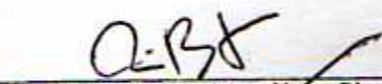
Presentada a la Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica

APROBADA



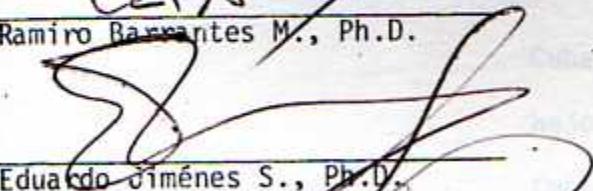
Jorge Mora Urpí, Ph.D.

Director de Tesis



Ramiro Barrantes M., Ph.D.

Miembro del Tribunal



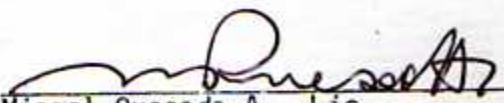
Eduardo Jiménez S., Ph.D.

Miembro del Tribunal



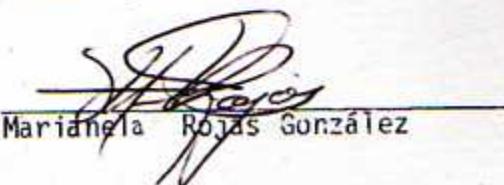
José Miguel Jiménez S., Ph.D.

Miembro del Tribunal



Misael Quesada A., Lic.

Miembro del Tribunal



Mariánela Rojas González

Sustentante

DEDICATORIA

A:

Cuba, mi Patria de nacimiento que sufre
bajo la opresión del comunismo.

Costa Rica, mi verdadera Patria.

La memoria de mi padre, quien dedicó
su vida a la superación de sus hijos.

Mi esposo, a quien le he quitado horas
de amor y compañerismo para dedicarme
al estudio.

Mi madre, mi hermano y mis hijos.

AGRADECIMIENTO

A Dios, el Biólogo perfecto

Al Dr. Jorge Mora Urpí, Director de esta Tesis.

INDICE GENERAL

	<u>Página</u>
INDICE DE FIGURAS-----	3
INDICE DE CUADROS-----	6
INDICE DE GRAFICOS-----	8
INTRODUCCION-----	9
1. REVISION DE LITERATURA-----	14
1.1. Importancia del cultivo-----	14
1.2. Descripción botánica-----	15
1.3. Origen-----	16
1.4. Distribución geográfica-----	16
1.5. Poliploidía en el género <u>Bactris</u> y en la familia Palmae-----	17
1.6. Propagación-----	17
2. MATERIALES Y METODOS-----	10
3. RESULTADOS-----	25
3.1. Número de estomas en la superficie abaxial y adaxial en la tercera hoja en plántulas testigo-----	25
3.2. Diámetro longitudinal del ostíolo y diámetro trans- versal de las células guardianas en estomas de plán- tulas testigo y con colchicina-----	26
3.3. Efecto de la poliploidía inducida por la colchicina en los tamaños de los estomas y células basales de los tricomas de la superficie abaxial de la tercera hoja en plántulas diploides (testigo) y tetraploi- des-----	30

3.4. Número de células basales de los tricomas abaxiales en la tercera hoja cronológica de plántulas diploides (testigo) y tetraploides-----	32
3.5. Observaciones sobre las superficies abaxial y de la tercera hoja (testigo) en plántulas diploides (testigo) y tetraploides-----	32
3.6. Mortalidad-----	41
a. Primera prueba-----	42
b. Segunda prueba-----	46
3.7. Características morfológicas-----	47
3.8. Observaciones agronómicas en plántulas testigo y tratadas con colchicina-----	56
3.9 Poliploidía inducida-----	59
4. DISCUSION -----	60
5. LITERATURA CITADA-----	63
6. ANEXO N° 1.	

INDICE DE FIGURAS

<u>Figura N°</u>		<u>Página N°</u>
1	Inyección de colchicina en la plántula cuando la cubierta del epicótilo aún estaba cerrada.....	19
2	Corte longitudinal en la base del epicótilo cuando la cubierta aún estaba cerrada, para introducir un algodón impregnado con la solución respectiva.....	20
3	Corte transversal en la base del epicótilo cuando la cubierta aún estaba cerrada, para colocar un algodón impregnado con la solución correspondiente.....	20
4	Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula testigo. Nótese el número de tricomas y estomas con respecto a la Fig. 5. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 50X.....	34
5	Superficie adaxial de la tercera hoja de una plántula testigo. Nótese el menor número de tricomas y estomas con respecto a la Fig. 4. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 50X.....	34
6	Superficie adaxial de la tercera hoja de una planta testigo. Nótese el menor tamaño de los estomas con respecto a la Fig. 7 a pesar de tener mayor aumento. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 500X.....	35
7	Superficie adaxial de la tercera hoja de una plántula tetraploide. Nótese el mayor tamaño de los estomas con respecto a la Fig. 6 a pesar de tener menor aumento. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 400X.....	35

8	Superficies abaxiales yuxtapuestas de las terceras hojas. Montaje compuesto de dos epidermis de dos plántulas diferentes, la superior testigo diploide y la inferior poliploide. Nótese el mayor tamaño y menor número de los estomas de la sección inferior (poliploides). Microscopio de luz. Aumento 200X.....	36
9	Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula testigo. Nótese el mayor número de estomas por campo y mayor número de células basales del tricoma con respecto a la Fig. 10. Microscopio de luz. Aumento 400X.....	37
10	Superficie adaxial de la tercera hoja de una plántula poliploide. Nótese el mayor tamaño de los estomas, tricomas y el menor número de células de los tricomas con respecto a la Fig. 9. Microscopio de luz. Aumento 400X.....	37
11	Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula tetraploide. Nótese las protuberancias de las células subsidiarias de los estomas. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 400X.....	38
12	Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula tetraploide. Nótese las protuberancias de las células subsidiarias del estoma. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 1000X.....	38
13	Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula testigo diploide. Nótese las protuberancias en las células subsidiarias terminales de los estomas, las cuales son menores que en la Fig. 14. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 1000X.....	39
14	Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula tetraploide. Nótese las protuberancias de las células subsidiarias del estoma. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 1000X.....	39
15	Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula autotetraploide. Nótese los diámetros longitudinales y transversales del estoma. Microscopio electrónico de luz. Aumento 1000X.....	40
16	Plántulas de 180 días de edad. Testigos. Nótese las diferentes tonalidades de verde en las hojas.....	57

17	Plántulas que recibieron el sub-sub tratamiento de corte longitudinal más colchicina al 0,1% por 20 horas. Nótese su vigor y altura y ángulos de las hojas respecto al tallo al compararlas con la Fig. 16. Plántulas de 180 días de edad.....	57
18	Plántulas que recibieron el sub-sub tratamiento de corte transversal más colchicina al 0,1% por 2,5 horas. Nótese las tonalidades de verde más oscuro y los ángulos de las hojas respecto al tallo son mayores que en el Fig. 16, a pesar de tener menor edad. Plántulas de 120 días de edad.....	50
19	Plántulas que recibieron el sub-sub tratamiento de corte longitudinal más colchicina al 0,1% por 2,5 horas. Nótese su mayor altura y el ángulo de las hojas respecto al tallo, a pesar de tener menos edad al compararlas con la Fig. 16. Plántulas de 120 días de edad.....	50

INDICE DE CUADROS

<u>Cuadro N°</u>		<u>Página N°</u>
1	Número de estomas en las superficies abaxial y adaxial de la tercera hoja. Promedios de 10 observaciones/plántula testigo.....	25
2	Diámetros longitudinales del ostiolo y diámetro transversal de las células guardianas de los estomas medidos al término del tercer mes de tratamiento. Promedio de 10 observaciones, 10 estomas/hoja/10 plántulas.....	27
3	Análisis de varianza para los tamaños promedio de los estomas.....	29
4	Tamaño de las células basales de los tricomas abaxiales de la tercera hoja cronológica en plántulas diploides y tetraploides inducidas. Promedio de 10 observaciones (1 célula basal/tricoma/plántula).....	31
5	Número de células basales de los tricomas abaxiales en la tercera hoja cronológica en plántulas diploides y tetraploides inducidas. Promedio de 20 observaciones (1 tricoma/hoja/plántula).....	32
6	Mortalidad de las plántulas medida al término del tercer mes a causa del tratamiento con colchicina a diferentes tiempos de exposición, concentraciones y métodos de aplicación. Muestra de 100 plántulas.....	41
7	Porcentaje de mortalidad de las plántulas medidas al término del tercer mes después del tratamiento con diferentes tiempos de exposición. Aplicación de la colchicina al 0,1% al corte transversal de 100 plántulas.....	43

8	Altura de las plántulas, grosor del tallo y largo y ancho de la tercera hoja. promedio de 10 plántulas tratadas con 0,1% de colchicina a los 180 días de sembradas pero con diferentes tiempos de exposición a la droga.....	40
9	Angulo de inserción de la tercera hoja respecto al tallo. Promedio de 10 plántulas tratadas con colchicina al 0,1% a los 180 días de sembradas con diferentes tiempos de exposición.....	40
10	Análisis de varianza pra las características morfológicas.....	51
11	Prueba de Duncan al 5% para los tratamientos y características que mostraron diferencias significativas en el Cuadro N° 11.....	51
12	Tetraploidía inducida por la colchicina. La determinación se hizo a la aparición de la tercera hoja cronológica. Muestra de 5 plántulas por subtratamiento.....	50

INDICE DE GRAFICOS

Figura N°

Página N°

- 1 Mortalidad inducida por la aplicación de la solución de colchicina al 0,1% con distintos tiempos de exposición sobre un corte transversal en la base del epicótilo. Porcentaje calculado con base en muestras de 100 plántulas por tratamiento al momento de la aparición de la tercera hoja cronológica..... 46
- 2 Grosor del tallo, largo y ancho de la tercera hoja cronológica y altura de las plántulas. Promedio obtenido de 10 plántulas por sub tratamiento a los 280 días de sembradas..... 53
- 3 Angulos de inserción de la tercera hoja cronológica en el tallo. Promedio obtenido de 10 plántulas por sub tratamiento a los 180 días de sembradas..... 55

INTRODUCCION

El pejibaye (Bactris gasipaes H.B.K.) es una especie con considerable potencial económico. Su fruto fue muy apreciado por muchas civilizaciones indígenas en la época precolombina, pero su importancia disminuyó posteriormente a la conquista (Camacho, 1972). Sin embargo, en la actualidad ha renacido como un cultivo de alta rentabilidad en los trópicos húmedos (Mora-Urpí, 1979b).

Esta planta ofrece grandes posibilidades económicas ya que su fruto constituye una fuente de carbohidratos, proteínas, calcio, hierro, vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico. Del tallo se obtiene palmito comestible y aún las cáscaras del fruto las comen las aves (Camacho, 1972).

Sin embargo, esta planta es casi desconocida biológica y agrónomicamente. No se conocen poliploides, ni se han descrito mutantes, pero se reconoce el alto vigor híbrido cuando se cruzan poblaciones diferentes de pejibaye, por lo cual es posible obtener nuevos fenotipos con características de especial valor (Mora-Urpí, 1979b).

La poliploidía produce un aumento del tamaño de las células. Esto se puede constatar fácilmente observando las células guardianas de los estomas y en los granos de polen maduros (Stebbins, 1957). Debido al mayor tamaño de sus células, los autopoliploides producen flores, frutos y hojas más grandes. Además, en el caso de ser usados para conseguir hibridaciones interespecíficas, tienen una ventaja importante porque superan posibles barreras genéticas de esterilidad en híbridos interespecíficos.

La colchicina es un alcaloide tóxico que se obtiene del Colchicum autumnale, que induce fácilmente la poliploidía debido a que acumula metafases, pues impide la polimerización de las proteínas que forman los microtúbulos del huso acromático (Dustin, 1980). La exposición a la colchicina por tiempo prolongado produce células multinucleadas (Sáenz, 1978).

La colchicina se aisló y purificó en 1883 e inicialmente su estudio se relacionó con la enfermedad llamada gota, ya que este alcaloide se usaba para mitigar el dolor producido por los cristales de urato que se depositaban en las articulaciones. En 1889, B. Pernice informó que la colchicina produce cambios notables en las zonas germinales del intestino en perros. Actualmente se sabe que la colchicina detiene la prometafas de la división celular, por desintegración del aparato fibrilar encargado de mover los juegos de cromosomas a las zonas polares. En células en división bajo el efecto de esta droga se puede demostrar la aparición de muchas figuras mitóticas, lo cual no es debido a un estímulo de la división celular, sino a que la colchicina bloquea este proceso, como se indicó antes pero sin impedir que en otras células continúe iniciándose la mitosis. En efecto, en 1950 Taylor y otros de la Universidad de Chicago, estudiaron la acción de la colchicina marcada con tritio; reportaron que la droga se combina con un componente estructural del huso acromático. Sugirieron que la colchicina se liga a una proteína y forma una unidad en los microtúbulos celulares. Este mecanismo se demostró posteriormente por Florent-Duronto y

Dustin (1980) cuando investigaron el transporte de gránulos a través de fibras de células nerviosas. Dustin utilizó microtúbulos marcados y observó su desintegración en pocos minutos, aún cuando se alteraron con colchicina, se reconstituyeron rápidamente. El mecanismo de esta rápida regeneración constituye un misterio. (Dustin, 1980) ha sugerido que la droga interfiera con la acción de una proteína contráctil que actúa en la superficie de los microtúbulos (Schwartz, 1980). Margolis y Wilson investigaron el mecanismo mediante el cual, la colchicina inhibe el crecimiento de los microtúbulos. Un pequeño complejo de colchicina se une a uno de los extremos del microtúbulo impidiendo su polimerización (s.a.i, 1982).

En 1937 se observó que la colchicina provoca la aparición de juegos múltiples de cromosomas en células vegetales, lo cual ha sido utilizado como una herramienta importante para producir híbridos fértiles (Dustin, 1980).

Pope (1974) encontró un grado considerable de asinapsis en la producción de poliploides con colchicina en Triticum aestivum, y Agropyron elongatum. Por otra parte, en la especie Ekarta erecta el tratamiento con colchicina produce autotetraploides fértiles de un 75% a un 80%. Está ampliamente demostrado que la colchicina es un agente muy eficaz para obtener poliploides inducidos en gran escala (Stebbins, 1957), aunque hay especies que no responden fácilmente a su acción.

La poliploidía produce generalmente un aumento del tamaño de las células y con ello de sus órganos y de la planta. También induce cambios cuantitativos en la composición química, lo que podría tener importancia económica en el pejibaye ya que del tallo se obtiene palmito comestible y el fruto es un valioso alimento, por su contenido de vitaminas, carbohidratos y proteínas principalmente.

Con base en lo anterior y la consideración de que el pejibaye es un cultivo económicamente importante y adaptado a las zonas tropicales húmedas, se decidió realizar el presente trabajo para su aplicación posterior en el programa de mejoramiento genético, con el fin de producir plantas más vigorosas y de mayor rendimiento tanto desde el punto de vista de producción de palmito como de frutos.

Los objetivos principales de esta investigación son:

1. Determinar si el pejibaye responde al tratamiento con colchicina.
2. Determinar cuál es el método más eficaz para inducir poliploidía en pejibaye.
3. Comprobar si la medición de los estomas de la superficie abaxial de las hojas de pejibaye es un método de diagnóstico de poliploidía más expedito y de mayor confiabilidad que el conteo de cromosomas en los meristemas.

1. REVISION DE LITERATURA

1.1. Importancia del cultivo:

El pejibaye es un cultivo que tuvo gran importancia en varias civilizaciones pre-colombinas del trópico húmedo americano. El aprecio por esta especie decayó paulatinamente a partir de la conquista, hasta el punto de llegar a encontrarse en vías de extinción en algunos países.

Nunca se sembró en áreas extensas, pero en el traspatio de las casas se le intercaló con el banano y el café (Morán, 1980); esta fue la forma tradicional de cultivarlo en todo el trópico americano. Hoy puede decirse que el pejibaye es un cultivo industrializable con gran porvenir en zonas que por sus condiciones ecológicas son difíciles de explotar con otros cultivos.

Los estudios que diversas organizaciones han llevado a cabo sobre la alimentación humana en América Latina, ponen de manifiesto que un alto porcentaje de la población no tiene una dieta adecuada (Camacho, 1972). Por una parte la cantidad de alimentos es insuficiente y en segundo lugar los alimentos que corrientemente consume el campesino no están balanceados desde el punto de vista dietético. Conviene por lo tanto estudiar

cuidadosamente todos los productos vegetales de nuestro medio, para aprovechar los que tengan mayor valor alimenticio, especialmente en las familias campesinas, de escasos recursos económicos (Camacho, 1969).

La capacidad de producción del pejibaye sobrepasa las 25 toneladas (500 qq) de fruta por hectárea y resulta razonable esperar que con la introducción de variedades genéticamente mejoradas se puede doblar dicho rendimiento. Con referencia al palmito el rendimiento es de 4 toneladas (80 qq) por hectárea.

Aunque es rústico, requiere cuidado esmerado para dar su máxima producción. Su recién adquirida importancia agroindustrial está provocando el resurgimiento de su cultivo aunque todavía es una planta acerca de la cual se conoce muy poco biológica y agrónomicamente (Mora-Urpí, 1980).

En las regiones tropicales muy húmedas ofrece la ventaja de ser un cultivo perenne bien adaptado.

Su rentabilidad depende, por otro lado, del nivel de desarrollo que alcance su industrialización, pues el mercado es amplio para un producto debidamente procesado (Mora-Urpí, 1979).

1.2. Descripción botánica:

División: Spermatophyta, Clase: Angiospermae, Subclase: Monocotyledoneae
Orden: Palmales, Familia: Palmae (Arecaceae), Sub-familia: Coccoideae, Género: Bactris, Especie: gasipaes.

El pejibaye ha sido clasificado bajo dos nombres genéricos Bactris Jacquin y Guillielma Martius. Aunque la tendencia moderna es considerar lo bajo Bactris ignorando la existencia de Guillielma, esta ambigüedad aún no se ha resuelto adecuadamente. Se han descrito 187 especies en el género Bactris, de las cuales 14 han sido situadas en alguna ocasión bajo el nombre genérico de Guillielma. Varios de estos 14 nombres son considerados por diversos autores como sinónimos. Aquellos que resulten no ser sinónimos deben constituir las especies más cercanas filogenéticamente al pejibaye cultivado y por lo tanto deben considerarse de valor potencial en el mejoramiento genético del cultivo (Mora-Urpí y Clement, 1980a).

La planta es una palma que alcanza una altura hasta de 25 m y diámetro de 20 a 30 cm, con el estípote cubierto de espinas coriáceas y negras. En la base nacen hijos que sirven de material de propagación asexual.

Purseglove, hace una descripción botánica de la semilla y Tomlinson (1961) Mac Bride (1960), Clement y Mora Urpí (1982) la hacen de las frondas. Con respecto a los meristemos apicales no existen referencias bibliográficas.

La microsporogénesis es normal en esta especie que posee 14 cromosomas bivalentes ($2n = 28$). Los cromosomas son muy largos y bien definidos, durante los primeros estados de la meiosis se asemejan a los de Zea mays (Graminae) (Mora-Urpí y Solís, 1980).

1.3. Origen:

El pejibaye cultivado actualmente es un híbrido que se originó probablemente hace 2000 a 4000 años; también posiblemente la hibridación se produjo en más de una ocasión. En su origen han participado posiblemente diferentes especies, dado que existen diferencias genéticas considerables entre poblaciones cultivadas en las distintas regiones neotropicales (Mora-Urpí, 1980).

1.4. Distribución geográfica:

La distribución geográfica del pejibaye cubre un inmenso territorio que va desde el paralelo 15°N , hasta el $17,5^{\circ}\text{S}$ aproximadamente o sea desde Honduras (Stone, 1951) hasta el Chapare de Bolivia (Antenaza, 1972). Se excluyen de esta área probablemente las regiones secas, pantanosas, praderas y alturas mayores de 1000 m sobre el nivel del mar. Requiere una precipitación superior a los 2000 mm. Se adapta a los climas cálidos y lluviosos. Crece bien en diferentes tipos de suelos.

1.5. Poliploidía en el género Bactris y en la familia Palmae:

No se han descrito poliploides naturales ni inducidos en los miembros del género Bactris, ni en la familia Palmae.

1.6. Propagación:

La propagación de este cultivo es un problema difícil, si se propaga por semilla, aunque es un método eficiente la descendencia muestra una segregación amplia por ser una planta alógama (Mora-Urpí, 1979a), en tanto que la propagación vegetativa por hijos es poco exitosa (León, Golbash y Engels, 1979) y la reproducción por medio de cultivos de tejidos está aún en desarrollo, pero promete llegar a ser un sistema práctico (Huete, Arias y Alán, 1981).

2. MATERIALES Y METODOS

Se utilizó semilla fresca de pejibaye (Bactris gasipaes H.B.K.), la cual fue pelada, lavada y tratada con el fungicida Benlate, antes de ser puesta a germinar en bolsas de polietileno (Mora-Urpí, 1978).

Se hicieron dos pruebas para la inducción de poliploidía.

La primera consistió de tres tratamientos, tres sub-tratamientos y cuatro sub-sub tratamientos. Por cada sub-sub tratamiento se trataron lotes de 100 semillas con diferentes concentraciones de colchicina en solución acuosa y diferentes tiempos de exposición a la droga. La combinación de estos factores dio un total de 28 sub-sub tratamientos que comprendió 2800 semillas. De esta manera la lista completa que incluye los tratamientos, sub-tratamientos y sub-sub tratamientos se da a continuación.

Tratamientos.

Se probaron tres métodos de aplicación de la colchicina, y son los siguientes:

- a) Inyección de colchicina dentro del epicótilo (Fig. N° 1).
- b) Corte longitudinal en la base del epicótilo y aplicación de la colchicina dentro del corte con un algodón humedecido con la solución respectiva. (Fig. N° 2).

- c) Corte transversal en la base del epicótilo y aplicación de la colchicina sobre el corte con un algodón humedecido con la solución respectiva. (Fig. N° 3).

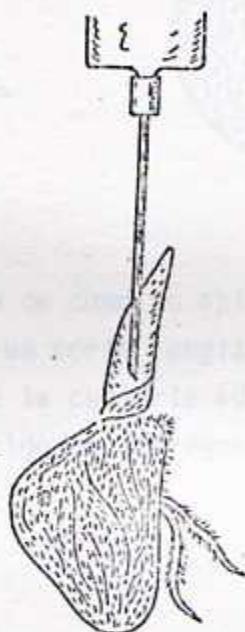


Fig. 1. Diagrama ilustrativo de cómo se aplica la solución de colchicina mediante inyección en la planta cuando la cubierta del epicótilo aún estaba cerrada.

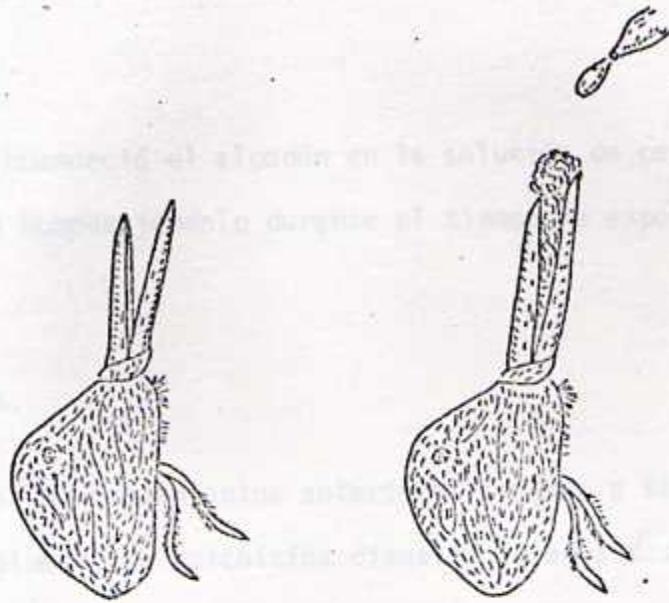


Fig. 2. Diagrama ilustrativo de como se aplica la solución de colchicina mediante un corte longitudinal en la base del epicótilo cuando la cubierta aún estaba cerrada, para introducir un algodón impregnado con la solución respectiva.

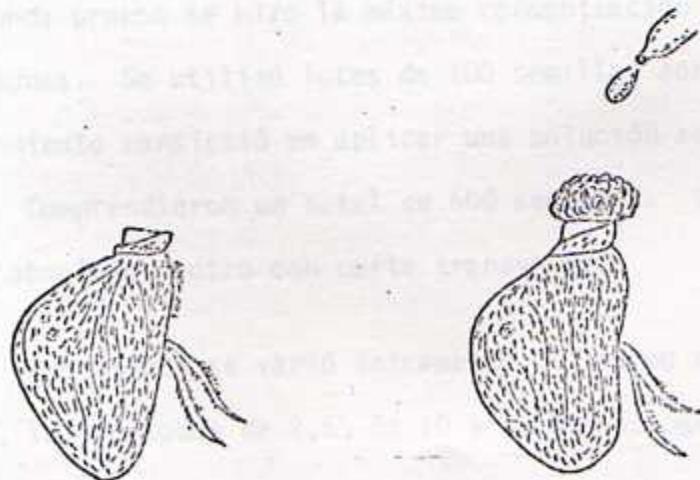


Fig. 3. Diagrama ilustrativo de cómo se aplica la solución de colchicina mediante un corte transversal en la base del epicótilo cuando la cubierta aún estaba cerrada para colocar un algodón impregnada con la solución correspondiente.

Primero se humedeció el algodón en la solución de colchicina, luego se siguió humedeciéndolo durante el tiempo de exposición correspondiente.

Sub-tratamiento.

Cada uno de los tratamientos anteriores se hizo a tres concentraciones (peso/volumen) de colchicina disuelta en agua destilada: 0,25; 0,05 y 0,1%.

Sub-sub tratamientos:

Dentro de los tratamientos (b) y (c) y sus correspondientes sub-tratamientos se emplearon los siguientes tiempos de exposición a la droga: 2,5; 5; 10 y 20 horas.

En la segunda prueba se hizo la máxima concentración de colchicina, con 6 repeticiones. Se utilizó lotes de 100 semillas con 6 repeticiones. El tratamiento consistió en aplicar una solución acuosa de colchicina al 0,1%. Comprendieron un total de 600 semillas. Se utilizó dos testigos, uno absoluto y otro con corte transversal.

Como este experimento se varió únicamente el tiempo de exposición a la colchicina, los períodos de 2,5; 5; 10 y 20 horas, pasaron a ser los tratamientos.

Atención postratamiento.

Luego de aplicados los tratamientos en las dos pruebas respectivas las plántulas fueron envueltas en papel secante húmedo durante 8 días, en este tiempo cicatrizaron las heridas y se reinició el crecimiento. Antes de la siembra, se lavó la semilla con solución del fungicida Benlate. Posteriormente, se utilizaron vasos plásticos de 240 cc de capacidad con tierra para sembrar a razón de una plántula por vaso. Las plántulas se mantuvieron en el invernadero de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica, durante año y medio. Cada 15 días se tomó nota de su comportamiento general.

Estudios sobre estomas y tricomas

Para estudiar el efecto de cada sub-sub tratamiento a nivel tisular se esperó hasta la aparición de la tercera hoja; entonces se escogió al azar 10 plántulas de cada grupo, se aplicó esmalte transparente sobre la epidermis de dicha hoja y se separó la película obteniéndose una copia exacta de ambas caras foliares. Se contó el número de estomas, tanto en la superficie abaxial como en la adaxial.

Además, se midió el diámetro longitudinal del ostíolo y el diámetro transversal de las células guardianas, y se contó y midió el tamaño de las células basales de los tricomas.

Se tomó microfotografías con diferentes aumentos para comparar los datos obtenidos y documentar las características observadas.

Citología:

Se observó los cromosomas para comprobar la poliploidía en las células meristemáticas de la parte apical del tallo, para lo cual se utilizó la técnica de la Orceína acética, después de fijar el material en Carnoy 3:1. (Mora Urfí, 1977).

Otras características estudiadas:

El porcentaje de mortalidad y los cambios ocurridos en las siguientes características morfológicas: grosor, color, tamaño, distribución de las hojas, ángulo de la tercera hoja respecto al tallo y altura de las plántulas, se calculó a los 180 días de sembradas.

Tratamiento estadístico:

Las pruebas estadísticas aplicadas en los diferentes grupos de datos, fueron las siguientes:

Conjunto de Datos

Número de estomas en las superficies adaxiales y abaxiales en la tercera hoja. Promedio de 10 plántulas.

Tamaño de los estomas abaxiales de la tercera hoja. Promedio de 10 plántulas por tratamiento. 28 tratamientos.

Tamaño de los estomas y las células basales de los tricomas abaxiales. Promedio de 10 plántulas por tratamiento. 6 tratamientos.

Mortalidad a los 180 días de causada por los diferentes tratamientos. Promedio de 100 plántulas por tratamiento. 28 tratamientos.

Mortalidad a los 180 días atribuible a diferencias en tiempo de exposición a la colchicina al 0,1% P/V. Promedio de 100 plántulas por tratamiento.

Características morfológicas de las plántulas a los 180 días de sembradas. Promedio de 10 plántulas por tratamiento. 6 tratamientos.

Prueba Estadística

Prueba de "t" de Student

Análisis de Varianza
Prueba de Tukey al 5%

Prueba de contraste de Sckeffé

Análisis de Varianza
Gráficos.

Análisis de Varianza
Gráficos.
Regresión simple de 2do. grado

Análisis de Varianza.
Prueba de Duncan al 5%.
Gráficos.

3. RESULTADOS

1. Número de estomas en la superficie abaxial y adaxial en la tercera hoja en plántulas testigo.

El Cuadro N° 1 y las Figs. N° 4 y 5, muestran el número de estomas de las superficies abaxial y adaxial en la tercera hoja, los datos son promedios de diez observaciones por plántula. Se encontró un mayor número de estomas en la superficie abaxial (relación 1.5:1) con respecto a la adaxial.

CUADRO N° 1

Número de estomas en las superficies abaxial y adaxial en la tercera hoja.
Promedios de 100 observaciones/plántula testigo.

Superficie foliar	Número promedio de estomas por campo visual (Aumento 10X). $\bar{X} \pm ES$
Abaxial	90 \pm
Adaxial	60 \pm

Esta diferencia es significativa a nivel de probabilidades del 1%.

3.2. Diámetro longitudinal del ostíolo y diámetro transversal de las células guardianas, en estomas de plántulas testigo y tratadas con colchicina.

El Cuadro N° 2 muestra los promedios de dos mediciones estomáticas para distintos sub-sub tratamientos.

En general las plántulas tetraploides inducidas presentan estomas y células epidermales con diámetros longitudinales y transversales mayores que los de las plántulas testigo (Figs. 4 y 19).

El Análisis de Varianza correspondiente (Cuadro N° 3), indica que las diferencias atribuibles a las diferentes concentraciones de colchicina, métodos de aplicación y tiempos de exposición son significativas o altamente significativas.

CUADRO N° 2

Diámetro longitudinal del ostíolo y diámetro transversal de las células guardianas de los estomas, medidos al término del tercer mes del tratamiento. Promedio de 10 observaciones, 10 estomas/hoja/10 plántulas.

Tratamiento	Concentración colchicina (% P/V)	Tiempo de exposición (horas)	Diámetro longitudinal del ostíolo (u)	Diámetro transversal de las células guardianas (u)
1) Testigo	0,025	-	21,03	28,0
2) Inyección dentro del epicotilo.	0,025	-	20,93	26,60
3)	0,05	-	20,38	25,70
4)	0,01	-	21,18	26,00
5) Corte longitudinal.	0,025	2,5	20,37	30,70
6)	0,05	2,5	20,42	28,70
7)	0,1	2,5	23,44	29,70
8)	0,025	5	21,29	30,40
9)	0,05	5	18,23*	22,30
10)	0,1	5	19,53*	25,00
11)	0,025	10	22,62	29,00
12)	0,05	10	18,80*	30,00
13)	0,1	10	18,97*	28,40
14)	0,025	20	20,95	25,72
15)	0,05	20	21,02	32,80
16)	0,1	20	21,93	31,50*
17) Corte transversal.	0,025	2,5	19,48*	28,70
18)	0,05	2,5	19,68*	28,60
19)	0,1	2,5	22,66	30,30
20)	0,025	5	23,17	28,00
21)	0,05	5	18,91*	26,77
22)	0,1	5	20,01	26,83
23)	0,025	10	22,58	25,70*
24)	0,05	10	21,01	30,60
25)	0,1	10	19,57*	27,00

Continuación Cuadro N° 2

26)	0,025	20	20,25	26,62*
27)	0,05	20	18,50	28,00
28)	0,1	20	21,74*	31,10*

* Al aplicar la prueba de Tukey al 5% mostraron ser significativamente diferentes del Testigo.

Sólo el tratamiento N° 28 produjo una significancia tanto para el diámetro longitudinal como para el transversal del estoma.

CUADRO N° 3

Análisis de varianza para los tamaños promedios de los estomas

Fuente de variación.	CUADRADOS MEDIOS					
	Inyección		Corte longitudinal		Corte transversal	
	Diámetro long. del estoma.	Diámetro transversal del estoma.	Diámetro longitudinal del estoma.	Diámetro transversal del estoma.	Diámetro longitudinal del estoma.	Diámetro transversal del estoma.
Tratamiento	0,19208833	0,18300	0,17018606	0,65347436	0,1614938	0,24325926
Error	0,0587764	0,69683333	0,055331748	0,65848718	0,04439320	0,0845317
F.V.	3,63*	1,89*	3,03*	11,17*	3,61**	2,87*

* Significativo al nivel de $P = 0,05$

** Altamente significativo.

En el Anexo N°1 se incluyen los resultados obtenidos para cada uno de los sub-sub tratamientos considerando el número de estomas que presentan diámetros longitudinales del ostíolo y diámetros transversales de las células guardianas, superiores a las medidas promedio del testigo.

3.3. Efecto de la colchicina en el tamaño de los estomas y células basales de los tricomas de la superficie abaxial de la tercera hoja en plántulas diploides (testigo) y tetraploides.

En cuanto al tamaño de los estomas se observan diferencias significativas entre plántulas diploides (testigo) y tetraploides inducidos con colchicina (Cuadro N° 5).

Asimismo, las células basales de los tricomas son mayores en las plántulas tetraploides que en las diploides, pero esta diferencia no es tan conspicua como la que se presentó en cuanto al tamaño de los estomas (Cuadros N°s 2 y 4, Figs. 9 y 10).

Las plántulas tetraploides muestran unas protuberancias en las células subsidiarias de los estomas más notorios que en las plántulas testigo (Figs. 6, 7, 11 y 17).

Estas medidas se efectuaron en plántulas diploides y tetraploides inducidas, condición que se constató mediante la observación de los chromosomas meristemáticos.

CUADRO N° 4

Tamaño de las células basales de los tricomas abaxiales de la tercera hoja cronológica en plántulas diploides y tetraploides inducidas. Pro medio de 10 observaciones (1 célula basal/tricoma/plántula).

	PLANTULAS	
	Diploides (u)	Tetraploides (u)
Diámetro transversal de la primera célula basal del tricoma	0,10	0,20
Diámetro longitudinal de la primera célula basal del tricoma	0,50	0,55

Al aplicar la prueba de Contraste de Scheffé, los contrastes empleados fueron:

- 1) Diámetro transversal de los estomas de plántulas poliploides vs diámetro transversal de los estomas de plántulas diploides.
- 2) Diámetro longitudinal de los estomas de plántulas poliploides vs diámetro longitudinal de los estomas de plántulas testigo diploides.
- 3) Diámetro transversal de las primeras células de los tricomas de plántulas poliploides vs diámetro transversal de las primeras células basales de los tricomas de plántulas testigo diploides.
- 4) Diámetro longitudinal de las primeras células basales de los tricomas de plántulas poliploides vs diámetro transversal de las primeras células basales de los tricomas de plántulas testigo diploides.

Mostraron diferencias significativas al 1% los contrastes 1 y 2. Los contrastes 3 y 4 no mostraron diferencias significativas.

3.4. Número de células basales de los tricomas abaxiales en la tercera hoja cronológica de plántulas diploides (testigo) y tetraploide inducidas.

El Cuadro N° 5 y las Figs. 9 y 10 muestran que en las plántulas tetraploides inducidas con colchicina al 0,1%, el número de células basales de los tricomas disminuye con respecto a las plántulas diploides.

CUADRO N° 5

Número de células de los tricomas abaxiales en la tercera hoja cronológica en plántulas diploides y tetraploides inducidas. promedio de 20 observaciones (un tricoma/hoja/plántula).

	Número de células basales del tricoma
Plantas diploides	10 y 12*
Plantas tetraploides inducidas	6 y 8*

* No se presentan ni 11 ni 7 células, sólo números pares.

3.5. Observaciones sobre las superficies adaxial y abaxial de la tercera hoja en plántulas diploides (testigo) y tetraploides.

En las microfotografías de las Figs. 4-15 se observa con diferentes aumento- células epidermales, estomas, tricomas, y tejidos de conducción de las superficies adaxial y abaxial de la tercera hoja cronológica de

plántulas diploides (testigo) y tetraploides inducidas, con una concentración de 0,1% de colchicina sobre un corte transversal durante 20 horas de exposición a dicha solución. En la superficie abaxial de las plántulas tetraploides, se observan estomas más grandes y con protuberancias en las células subsidiarias y en cuanto a las células basales de los tricomas presentan menor cantidad y mayor tamaño.

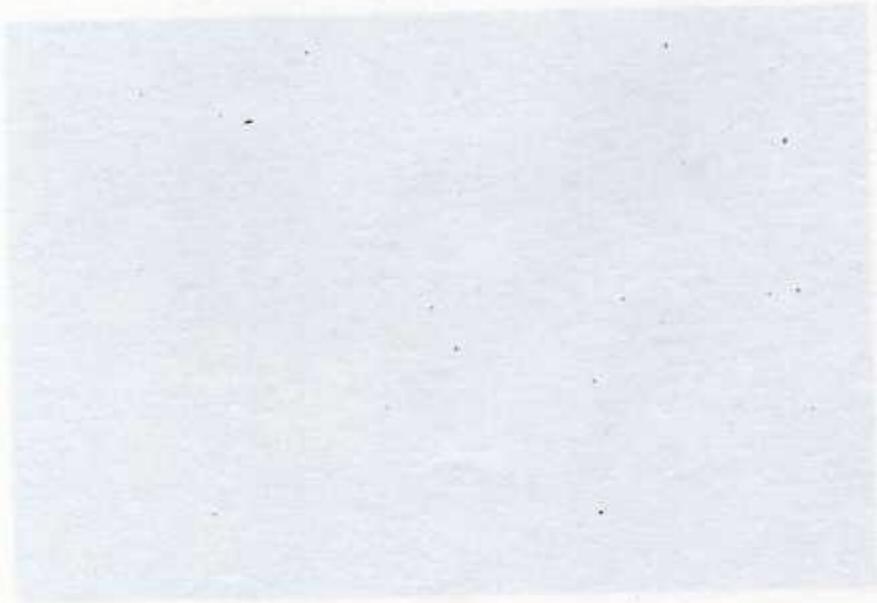
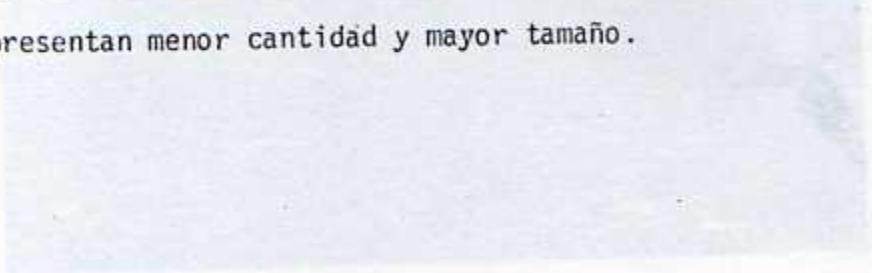




Figura 4. Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula testigo. Nótese el mayor número de tricomas y estomas con respecto a la Fig. 5. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 50X.



Figura 5. Superficie adaxial de la tercera hoja de una plántula testigo. Nótese el menor número de tricomas y estomas con respecto a la Fig. 4. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 50X.



Fig. 6. Superficie adaxial de la tercera hoja de una plántula testigo. Nótese el menor tamaño de los estomas con respecto a la Fig. 7, a pesar de tener mayor aumento. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 500X.



Fig. 7. Superficie adaxial de la tercera hoja de una plántula tetraploide. Nótese el mayor tamaño de los estomas con respecto a la Fig. 6, a pesar de tener menor aumento. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 400X.



Fig. 8. Superficies abaxiales yuxtapuestas de las terceras hojas. Montaje compuesto de dos epidermis de dos plántulas diferentes, la superior testigo diploide y la inferior poliploide. Nótese el mayor tamaño y menor número de los estomas de la sección inferior (poliploide). Microscopio de luz. Aumento 200X.



Fig. 9. Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula testigo. Nótese el mayor número de estomas por campo y mayor número de células basales del tricoma con respecto a la Fig. 10. Microscopio de luz. Aumento 400X.



Fig. 10. Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula poliploide. Nótese el mayor tamaño de los estomas, tricomas y el menor número de células de los tricomas con respecto a la Fig. 9. Microscopio de luz. Aumento 400X.



Fig. 11. Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula tetraploide. Nótese las protuberancias de las células subsidiarias de los estomas. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 400X.



Fig. 12. Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula tetraploide. Nótese las protuberancias de las células subsidiarias del estoma. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 1000X.



Fig. 13. Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula testigo diploide. Nótese las protuberancias en las células subsidiarias terminales de los estomas, las cuales son menores que en la Fig. 14. Microscopio de barrido. Aumento 1000X.



Fig. 14. Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula tetraploide. Nótese las protuberancias de las células subsidiarias del estoma. Microscopio electrónico de barrido. Aumento 1000X.



Fig. 15. Superficie abaxial de la tercera hoja de una plántula autotetraploide. Nótese los diámetros longitudinales y transversales del estoma. Microscopio de luz. Aumento 1000X.

3.6. Mortalidad.

a. Primera prueba:

El Cuadro N° 6 muestra los porcentajes de mortalidad que se obtuvieron en los distintos sub-sub tratamientos.

CUADRO N° 6

Mortalidad de las plántulas medidas al término del tercer mes, observadas con los diferentes tratamientos con colchicina a diferentes tiempos de exposición, concentraciones y métodos de aplicación. Muestra de 100 plántulas.

N° de sub-sub tratamientos.	Método de aplicación	Concentración colchicina %	Tiempo de exposición (horas)	Mortalidad %
1	Testigo absoluto	-	-	4
2	Inyección	0,025	-	57
3	"	0,05	-	38
4	"	0,1	-	53
5	Corte longitudinal	0,025	2,5	48
6	"	0,025	5	24
7	"	0,025	10	13
8	"	0,025	20	11
9	"	0,05	12,5	38
10	"	0,05	5	13
11	"	0,05	10	33
12	"	0,05	20	26
13	"	0,1	2,5	16
14	"	0,1	5	54
15	"	0,1	10	82
16	"	0,1	20	10
17	Corte transversal	0,025	2,5	14
18	"	0,025	5	76
19	"	0,025	10	64
20	"	0,025	20	19
21	"	0,05	2,5	55

Continuación del Cuadro N° 7.

22	"	0,05	5	91
23	"	0,05	10	75
24	"	0,05	20	20
25	"	0,1	2,5	58
26	"	0,1	5	91
27	"	0,1	10	79
28	"	0,1	20	21

Los datos de mortalidad tomados hasta la aparición de la tercera hoja cronológica no mostraron diferencias significativas cuando se utilizaron los métodos de la inyección y del corte longitudinal, pero cuando se utilizó el método del corte transversal las diferencias mostraron ser altamente significativas.

b. Segunda prueba:

El Cuadro N° 7 muestra los porcentajes de mortalidad registrados en los diferentes sub tratamientos.

Al comparar los datos de los porcentajes de mortalidad obtenidos por el testigo absoluto y el testigo con corte transversal, este último muestra un aumento de un 46%.

CUADRO N° 7

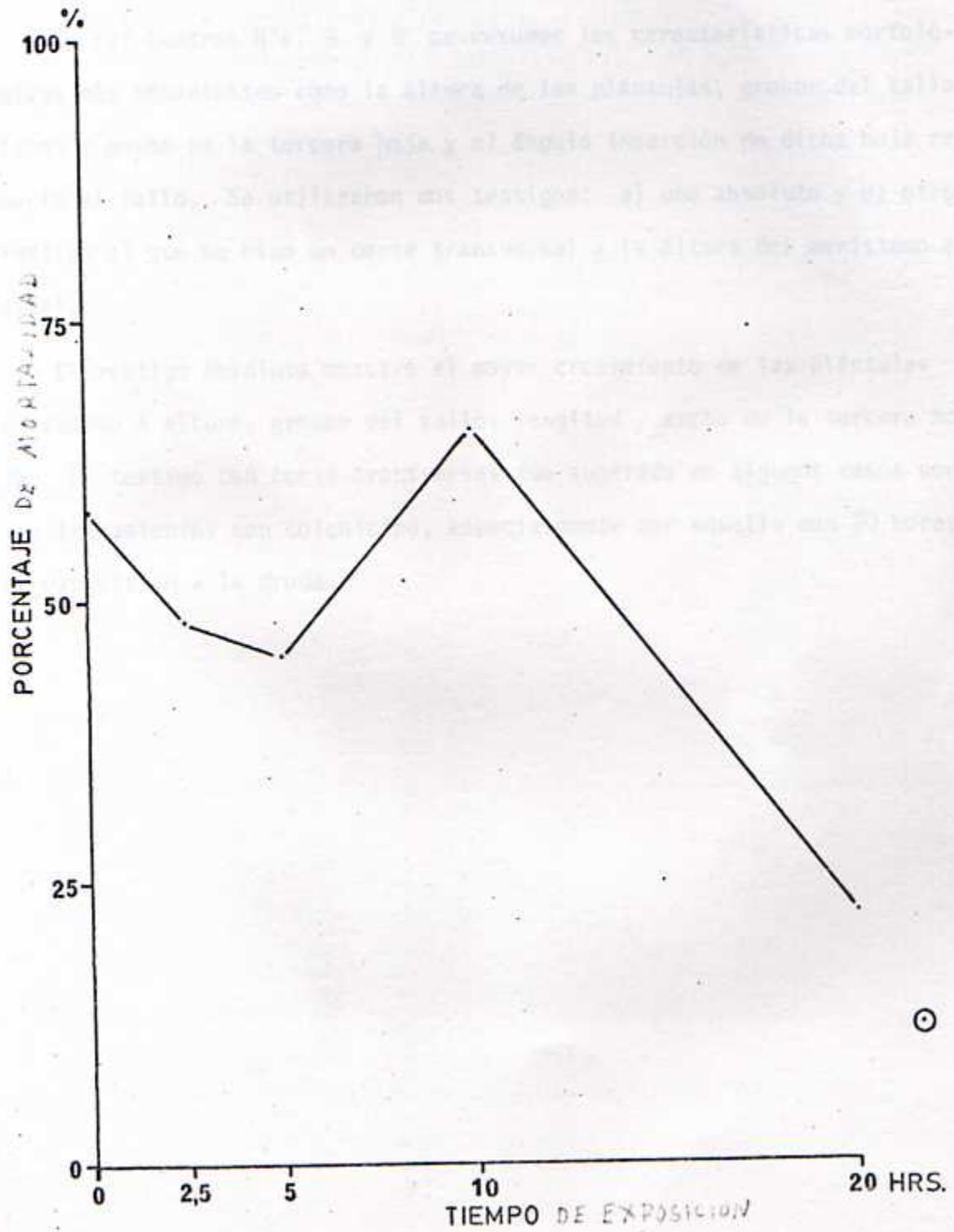
Porcentaje de mortalidad de las plántulas medida al término del tercer mes después del tratamiento con diferentes tiempos de exposición. Aplicación de la colchicina al 0,1% al corte transversal. Lotes de 100 plántulas.

Método de aplicación	Concentración colchicina.	Tiempo de exposición.	Mortalidad hasta la aparición de la tercera hoja cronológica.
	%	(horas)	%
A. Testigo absoluto	0	0	12
B. Testigo, corte transversal.	0	0	58
Corte transversal.	0,1	2,5	48
Corte transversal.	0,1	5	45
Corte transversal.	0,1	10	65
Corte transversal.	0,1	20	22

Las diferencias entre los sub tratamientos y el testigo con corte transversal resultaron todas significativas.

Al observar el Gráfico N° 1 se nota que la mayor mortalidad se obtuvo cuando se utilizó la concentración de colchicina al 0,1% durante 10 horas de exposición y la menor mortalidad con 20 horas de exposición a dicha solución.

Gráfico N° 1. Mortalidad hasta la aparición de la tercera hoja cronológica, inducida por la aplicación de la solución de colchicina al 0,1% con distintos tiempos de exposición, sobre un corte transversal en la base del epicótilo. Porcentajes obtenidos con base en 100 plántulas por tratamiento.



3.7. Características morfológicas.

En los Cuadros N^os. 8 y 9 se resumen las características morfológicas más importantes como la altura de las plántulas, grosor del tallo, largo y ancho de la tercera hoja y el ángulo inserción de dicha hoja respecto al tallo. Se utilizaron dos testigos: a) uno absoluto y b) otro testigo al que se hizo un corte transversal a la altura del meristemo apical.

El testigo absoluto muestra el mayor crecimiento de las plántulas en cuanto a altura, grosor del tallo, longitud y ancho de la tercera hoja. El testigo con corte transversal fue superado en algunos casos por los tratamientos con colchicina, especialmente por aquella con 20 horas de exposición a la droga.

CUADRO N° 8

Altura de las plántulas, grosor del tallo y largo y ancho de la tercera hoja. Promedio de 10 plántulas tratadas con 0,1% de colchicina a los 180 días de sembradas pero con diferentes tiempos de exposición a la droga.

	Tiempo de exposición (horas)	Altura de la planta (cm)	Diámetro del tallo (4 cm de altura) (cm)	Largo de la tercera hoja (cm)	Ancho de la tercera hoja (cm)
Testigo absoluto	0	18,75	0,58	11,72	2,68
Testigo con corte transversal	0	12,79	0,47	8,32	1,83
Corte transversal más colchicina 0,1%	2,50	11,70	0,58	8,15	2,06
"	5,00	14,46	0,58	9,00	2,23
"	10,00	14,67	0,57	9,47	3,81
"	20,00	16,47	0,61	9,97	2,50

CUADRO N° 9

Angulo de inserción de la tercera hoja respecto al tallo. Promedio de 10 plántulas tratadas con colchicina al 0,1% a los 180 días de sembradas con diferentes tiempos de exposición.

Tratamientos	Tiempo de exposición (horas)	Angulo de inserción foliar (grados)
Testigo absoluto	0	17,60
Testigo con corte transversal	0	10,90
Corte transversal más colchicina.	2,50	13,40
"	5,00	11,50
"	10,00	16,00
"	20,00	14,00

Al efectuar el análisis de varianza las variables altura de la planta, ancho de la tercera hoja cronológica y el ángulo de dicha hoja respecto al tallo mostraron diferencias significativas (Cuadro N°. 10).

Entre el testigo absoluto (1) y el testigo con corte transversal a la altura del meristemo apical (2) hay diferencias significativas para las tres variables agronómicas que mostraron diferencias significativas, según la prueba de Duncan al 5% (Cuadros N°. 10 y 11).

Al aplicar el análisis de varianza para las variables agronómicas y la prueba de Duncan al 5%, la altura de las plántulas testigos con corte transversal muestran diferencias significativas con respecto a los sub tratamientos con

CUADRO N° 10

Análisis de varianza para las características morfológicas

Fuente de variabilidad.	CUADRADOS MEDIOS				
	Altura de planta	Grosor del tallo	Largo de 3era. hoja	Ancho de la hoja	Angulo de 3era hoja
Tratamiento	32.6227*	0,0102 ns	17,2409 ns	1,0078**	67,6567*

* Significativa

** Altamente significativo.

CUADRO N° 11

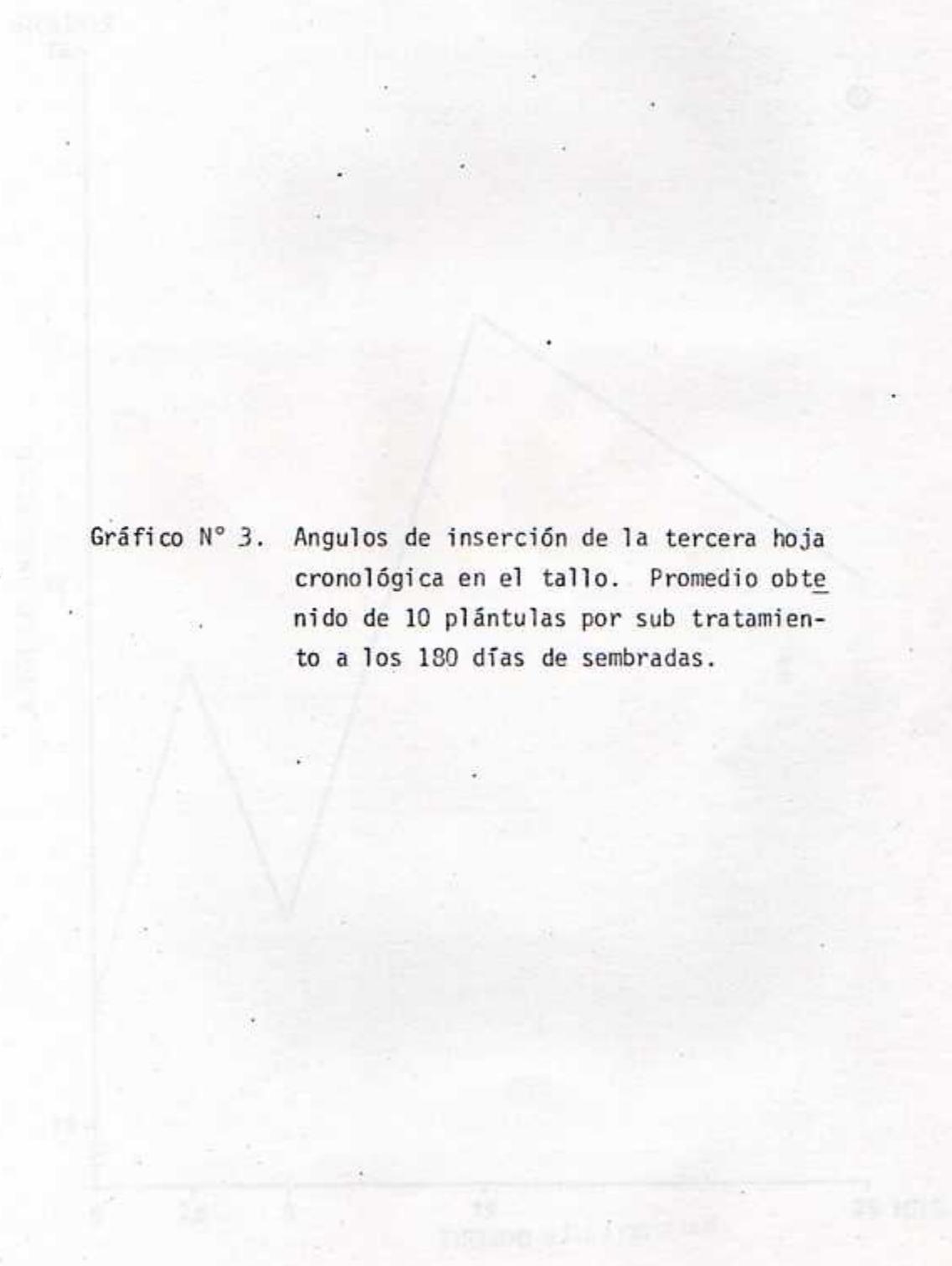
Prueba de Duncan al 5% para los tratamientos y características que mostraron diferencias significativas en el Cuadro N° 10.

N° tratamientos	Tiempo exposición. (horas)	MEDIAS DE TRATAMIENTO		
		Altura de la planta (cm)	Ancho de la tercera hoja cronológica.	Angulo de la tercera hoja.
1 Testigo absol.		18,86(a)	2,685(b)	17,60(b)
2 Corte transversal a la altura del meristemo apical (testigo)	-	12,79(b)	1,83 (c)	10,90(b)
3 "	2,5	12,50(b)	2,05 (b,c)	12,90(a,b)
4 "	5	16,47(a)	2,505(a,b)	14,00(a,b)
5 "	10	14,47(a,b)	2,460(a,b)	16,00(a,b)
6 "	20	14,46(a,b)	2,230(a,b,c)	11,50(b)

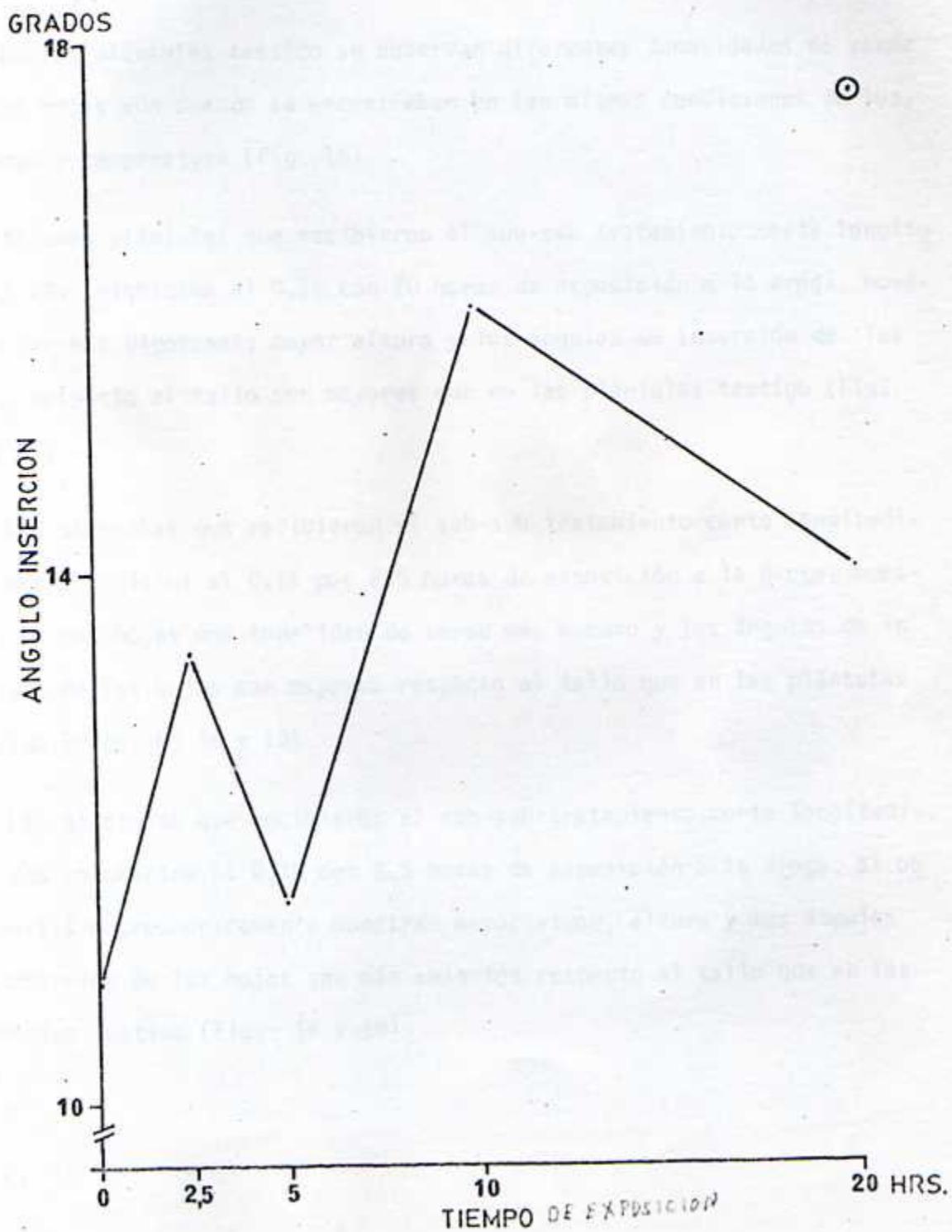
Tratamientos con igual letra indican que no son diferentes entre sí, de acuerdo con la Prueba de Duncan al 5%.

Gráfico N° 2. Grosor del tallo, largo y ancho de la tercera hoja cronológica y altura de las plántulas. Promedio obtenido de 10 plántulas por sub tratamiento a los 180 días de sembradas.

Gráfico N° 3. Angulos de inserción de la tercera hoja cronológica en el tallo. Promedio obtenido de 10 plántulas por sub tratamiento a los 180 días de sembradas.



O Testigo absoluto



3.8. Observaciones agronómicas en plántulas testigo absoluto y testigo con corte transversal y tratadas con colchicina.

En las plántulas testigo se observan diferentes tonalidades de verde en las hojas aún cuando se encontraban en las mismas condiciones de luz, humedad y temperatura (Fig. 16).

Algunas plántulas que recibieron el sub-sub tratamiento corte longitudinal más colchicina al 0,1% con 20 horas de exposición a la droga, muestran ser más vigorosas, mayor altura y los ángulos de inserción de las hojas respecto al tallo son mayores que en las plántulas testigo (Figs. 16 y 17).

Las plántulas que recibieron el sub-sub tratamiento corte longitudinal más colchicina al 0,1% por 2,5 horas de exposición a la droga, muestran en sus hojas una tonalidad de verde más oscuro y los ángulos de inserción de las hojas son mayores respecto al tallo que en las plántulas testigo (Figs. N° 16 y 18).

Las plántulas que recibieron el sub-sub tratamiento corte longitudinal más colchicina al 0,1% con 2,5 horas de exposición a la droga, al observarlas macroscópicamente muestran mayor vigor, altura y los ángulos de inserción de las hojas son más abiertos respecto al tallo que en las plántulas testigo (Figs. 16 y 19).



Fig. 16. Plántulas de 180 días de edad. Testigo. Nótese las diferentes tonalidades de verde en las hojas.



Fig. 17. Plántulas que recibieron el sub-sub tratamiento de corte longitudinal más colchicina al 0,1% por 20 horas. Nótese su vigor y altura y ángulos de las hojas respecto al tallo, al compararla con las Figura 16. Plántulas de 180 días de edad.



Fig. 18. Plántulas que recibieron el sub-sub tratamiento de corte transversal más colchicina al 0,1% por 2,5 horas. Nótese las tonalidades de verde más oscuro y los ángulos de las hojas respecto al tallo son mayores que en la Figura 16, a pesar de tener menor edad. Plántulas de 120 días de edad.



Fig. 19. Plántulas que recibieron el sub-sub tratamiento de corte longitudinal más colchicina al 0,1% por 2,5 horas. Nótese su mayor altura y el ángulo de las hojas respecto al tallo, a pesar de tener menos edad al compararlas con la Figura 16. Plántulas de 120 días de edad.

3.9 . Poliploidía inducida:

Entre las plántulas que sobrevivieron hasta la aparición de la tercera hoja cronológica, habiendo recibido los tratamientos con colchicina al 0,1% se escogieron al azar 5 por tratamiento y se les determinó el cariotipo de las células meristemáticas del ápice del tallo.

Al analizar el Cuadro N° 12, se observa que la mayor cantidad de autotetraploides se obtuvo utilizando la combinación de 0,1% de colchicina por 20 horas de exposición. Sin embargo, se encontró poliploides con sólo 2,5 o 5 horas de exposición a la droga.

CUADRO N° 12

Tetraploidía inducida por la colchicina. La determinación se hizo a la aparición de la tercera hoja cronológica. Muestra de 5 plántulas por sub tratamiento.

Método de aplicación	Concentración colchicina % (P/V)	Tiempo de exposición (horas)	Diploides N°	Tetraploides N°
Testigo absoluto	0	0	5	0
Testigo con corte transversal en la base del epicótilo.	0	0	5	0
Corte transversal	0,1	2,5	4	1
" "	0,1	5	5	0
" "	0,1	10	3	2
" "	0,1	20	1	4

DISCUSION

En este trabajo se trató de inducir poliploidía en Bactris gasipaes H.B.K. por medio de colchicina, dado que se conoce que la poliploidía produce un aumento del tamaño de las células y por lo tanto, los autopoliploides producen flores, frutos y hojas más grandes (Brawer, 1973, y Stebbins, 1957). En vista de que la literatura consultada en este campo es muy escasa y que no hay descritos poliploides ni en Bactris ni en plameras, fue que se realizó esta investigación, ya que se hacía necesario aumentar el conocimiento para su aplicación posterior en los programas de mejoramiento genético.

La identificación de la poliploidía mediante el análisis de cariotipos en las células meristemáticas de la parte apical del tallo (Mora-Urpí, 1972) se dificulta debido a que no se encuentran con facilidad metafases, en las cuales los cromosomas estén bien separados para lograr su identificación, entonces se recurrió al método indirecto de poliploidía, el cual consiste en medir los estomas (Stebbins, 1957).

En cuanto al examen de cariotipo en las células meristemáticas en la parte apical del tallo se encontró 4 tetraploides por 5 plántulas analizadas.

Se confirma el método mediante el cual las medidas de los estomas es un indicador indirecto para medir poliploides (Stebbins, 1957), ya que las medidas promedio de los estomas de plántulas tetraploides fueron

significativamente mayores para el diámetro longitudinal del estíolo (21,74 u) y en especial para el diámetro transversal de las células guardianas del estoma (31,14 u) las medidas respectivas del testigo fueron 21,03 u y 28 u. Lo anterior indica que las medidas de los estomas en la superficie abaxial de la tercera hoja cronológica es un método indirecto apropiado para determinar la condición de poliploidía.

Debido a que la superficie abaxial presenta un 33% más de estomas que la superficie adaxial en la tercera hoja en las plántulas testigo, se escogió la superficie abaxial para realizar la medición de los estomas, ya que se observan mayor cantidad de estomas por campo visual.

Se probaron diferentes tratamientos tales como inyección dentro del epicótilo y cortes longitudinales y transversales en la base en la base del epicótilo, diferentes concentraciones de colchicina y diferentes tiempos de exposición a la droga. El tratamiento aparentemente más eficaz fue efectuar un corte transversal en la base del epicótilo y aplicar en la superficie del mismo un algodón humedecido con una solución de colchicina 0,1 % durante 20 horas. Se observó baja mortalidad (22%) en el tratamiento considerado más eficaz. Por otra parte, la mortalidad en el testigo con corte transversal fue del 58%. Al emplear diferentes tiempos de exposición a la solución 0,1% de colchicina, se obtuvo los siguientes porcentajes de mortalidad: 48% con 2,5 horas, 45% con 5 horas, 65% con 10 horas y 22% con 20 horas. Esta disminución en la mortalidad al aplicar la colchicina podría deberse a un efector "regenerador", anti-

biótico o exclusivamente al ambiente que mantiene el algodón humedecido ya que la mortalidad aumentó y después disminuyó al aumentar el tiempo de exposición a la colchicina, este fenómeno se presentó en las dos pruebas de inducción presentadas.

Al observar algunas características morfológicas se obtuvieron medidas promedios significativamente mayores tales como: grosor del tallo 0,61 cm, longitud de la tercera hoja 9,97 cm ancho de la tercera hoja 2,50 cm, altura de la plántula 16,47 cm, y las medidas respectivas en el testigo con corte transversal son las siguientes: 0,47 cm, 8,32 cm, 1,83 cm y 12,79 cm.

Otros logros de esta investigación, no descritos en la literatura consultada, son los siguientes criterios en el diagnóstico indirecto de poliploides:

1. La observación de las protuberancias de las células subsidiarias de los estomas.
2. La relación en el número de las células basales del tricoma.

BIBLIOGRAFIA

- Antenaza, L.
1972 Palmeras nativas de Bolivia de valor económico. In Simposio Internacional sobre plantas de interés económico de la flora amazónica. IICA. Turrialba, Costa Rica, pp. 87-97.
- Brawer, O.
1973 Fitogenética aplicada. Ed. Limusa. México, pp. 337-362.
- Camacho, E.
1969 El pejibaye como un alimento potencial de gran importancia para las familias campesinas de los trópicos americanos. Proceeding of the American Society for Horticultural Science. Tropical Region, 13: 275-284.
- Camacho, E.
1972 El pejibaye (Guillielma gasipaes H.K.K.) L.H. Bailey. In Simposio Int. sobre plantas de interés económico de la flora amazónica. IICA. Turrialba, pp. 101-106.
- Clement, Ch. R. y Mora-Urpí, J.
1982 On the leaf architecture of the Pejibaye palm (Bactris gasipaes H.B.K.). En prensa.
- Dustin, P.
1980 Microtúbulos. Sci. Amer., 243: 58-68.
- Esquivel, & Soría, J.
1968 Algunos resultados del programa de mejoramiento genético en cacao. Cacao, 13: 1-9.
- Huete, F., Arias, O. y J.J. Alán.
1981 Evaluación de medios de cultivo y concentraciones hormonales para la propagación vegetativa "in vitro" de pejibaye (Bactris gasipaes H.B.K.). Primera Jornada de Investigación E. Universidad de Costa Rica, Costa Rica. pp. 23-24.
- León, G., Goldbash, H. and Engels, J.
1979 Los recursos genéticos de las plantas cultivadas de América Central. Ed. San Juan de Tibás, Costa Rica.
- Mc Bride, J.J.
1960 Bactris gasipaes H.B.K. In: Flora of Perú. Field Mus. Nat. Hist. Bot. Series Vol. 13, pt. 1, N° 2, Publ. 895.

- Martius, C.F.P. von
1824 Historia Naturalis. Palmarum. 2: 81-83.
- Mora-Urpí, J.
1972 Manual de Laboratorio Genética General. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica, pp. 25-26.
- Mora, J.
1979a. Método práctico para la germinación de semillas de pejibaye. ASBANA. 10: 14-15.
- Mora Urpí, J.
1979b. ¿Tiene futuro en Costa Rica el cultivo y la industrialización del pejibaye? ASBANA. 7: 16-17.
- Mora Urpí, J. & G. Clement.
1980a. Aspectos taxonómicos relativos al pejibaye. Primera reunión técnica sobre recursos genéticos en pejibaye. Octubre. CATIE, Turrialba, Costa Rica, pp. 1-4.
- Mora Urpí, J. & E. Solís.
1980b. Polinización en *Bactris gasipaes* H.B.K. (Palmae) Rev. Biol. Trop. Universidad de Costa Rica. 28: 153-174.
- Morán, B.
1980 El cultivo del Pixbae en Panamá. Primera reunión técnica sobre recursos genéticos en pejibaye. Octubre. CATIE, Turrialba, Costa Rica, pp. 1-3.
- Purseglove, J.W.
1972 Tropical crops. Monocotyledons. John Wiley & Sons Inc. New York, pp. 607.
- Sáenz, F.A.
1978 Citogenética básica y biología de los cromosomas. Depto. Asuntos Científicos, OEA. pp. 73-97.
- Schwartz, J.H.
1980 The transport of substances in nerve cells. Sci. Amer., 242. 122-135.
- Stebbins, L.
1957 Variation and evolution in plants, Columbia University Press. New York, pp. 277, 299, 301-308 y 370.
- Stone, D.
1961 La definición de dos culturas distintas vistas en antropología de América Central. In: Homenaje al Dr. Alfonso Caso. Imprenta Mundo, S.A. México, D.F., 353-361.

Tomlinson, P.B.
1961

Anatomy of the monocotyledons. II. Palmae Clarendon Press. Oxford, England. pp. 30.

Zubizgeki, H.M. & van der Pahlen.
1972

Comparación entre los efectos del etilmetosulfonato y los rayos X en la inducción de mutaciones en Capsicum annum L. Induced Mutations and plant improvement. IAEA, Austria, p. 387.

s.a.i.
1982

Science and the citizen. Sci. Amer., 246: 36-38.

ANEXO N° 1

Resultados individuales obtenidos para cada uno de los sub-sub tratamientos considerando el número de estomas que presentaron diámetros longitudinales del ostiolo y diámetros transversales de las células guardianas superiores a las medidas promedios del testigo.

CUADRO N° 1: Tratamiento: Testigo

Plántulas N°	Número de estomas con medi de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	1	0
2	0	0
3	4	4
4	3	0
5	3	0
6	2	0
7	0	1
8	6	1
9	6	4
10	1	0

CUADRO N°2: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento. Sol
colchicina 0,025%. Sub-sub tratamiento. 2,5 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	0
2	0	2
3	0	1
4	0	1
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	1
9	1	3
10	6	4

CUADRO N° 3: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento: colchicina 0,05%, sub-sub tratamiento: 2,5 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	0
2	4	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

CUADRO N° 4: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento: Colchicina 0,1%, sub-sub-tratamiento: 2,5 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	1	1
2	1	4
3	0	3
4	0	0
5	0	2
6	0	1
7	2	0
8	0	0
9	0	1
10	0	2

CUADRO N° 5: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento: colchicina 0,025%, sub-sub-tratamiento: 5 horas. 69

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	1	1
2	0	0
3	0	0
4	1	1
5	2	1
6	1	0
7	0	1
8	1	1
9	0	2
10	0	3

CUADRO N° 6: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento: colchicina 0,05%, sub-sub-tratamiento: 5 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	1	0
2	0	0
3	0	0
4	0	4
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

CUADRO N° 7: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento:
colchicina 0,01%, sub-sub-tratamiento: 5 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	1
9	0	0
10	0	0

CUADRO N° 8: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento:
colchicina 0,025%, sub-sub tratamiento: 10 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	0
2	1	1
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	1	1
10	0	0

CUADRO N° 9: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento: colchicina 0,05%, sub-sub-tratamiento: 10 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	1
2	1	2
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	1	0
7	0	0
8	0	0
9	1	1
10	0	0

CUADRO N° 10: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento: colchicina 0,1%, sub-sub-tratamiento: 10 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	2	1
9	0	0
10	0	1

CUADRO N° 11: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento:
colchicina 0,025%, sub-sub-tratamiento: 20 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo
	X	X
1	2	0
2	0	0
3	1	1
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	1
8	0	0
9	0	0
10	1	2

CUADRO N° 12: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento:
colchicina 0,05%, sub-sub-tratamiento: 20 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	2	2
2	0	0
3	0	2
4	0	1
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	2
9	0	0
10	1	0

CUADRO N° 13: Tratamiento: Corte longitudinal, sub-tratamiento:
colchicina 0,01%, sub-sub-tratamiento: 20 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que los del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	2	0
2	2	5
3	1	1
4	0	4
5	0	0
6	2	2
7	0	2
8	1	1
9	1	3
10	2	4

CUADRO N° 14: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina 0,025%, sub-sub-tratamiento: 2,5 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	5	2
5	0	0
6	0	0
7	1	1
8	0	0
9	3	5
10	0	0

CUADRO N° 15: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina, sub-sub-tratamiento: 2,5 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	2
5	0	0
6	0	2
7	0	0
8	0	2
9	0	0
10	1	2

CUADRO N° 16: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina 0,1%, sub-sub-tratamiento: 2,5 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo:	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	2
2	0	0
3	3	3
4	0	0
5	0	1
6	0	0
7	0	0
8	0	8
9	0	0
10	0	2

CUADRO N° 17: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina 0,025%, sub-sub-tratamiento: 5 horas

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo
	X	X
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	1
5	0	0

CUADRO N° 18: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina 0,05%, sub-sub tratamiento: 5 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

CUADRO N° 19: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina 0,1%, sub-sub-tratamiento: 5 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo. X	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo. X
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0

CUADRO N° 20: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina 0,025%, sub-sub-tratamiento: 10 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo. X	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo. X
1	0	0
2	1	0
3	2	3
4	0	0
5	0	4
6	0	2
7	0	0
8	0	0
9	4	6
10	0	0

CUADRO N° 21: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina 0,05%, sub-sub-tratamiento: 10 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo
	X	X
1	0	2
2	0	2
3	0	1
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	2	3
8	2	3
9	2	3
10	0	1

CUADRO N° 22: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina 0,1%, sub-sub-tratamiento: 10 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	0	0
2	0	0
3	1	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

CUADRO N° 23: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina 0,025%, sub-sub-tratamiento: 20 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	2	2
2	0	0
3	0	1
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

CUADRO N° 24: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento:
colchicina 0,05%, sub-sub-tratamiento: 20 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	1	0
2	3	3
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	2	1
7	0	1
8	5	4
9	3	0
10	0	0

CUADRO N° 25: Tratamiento: Corte transversal, sub-tratamiento: colchicina 0,1%, sub-sub-tratamiento: 20 horas.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que el testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que el testigo
	X	X
1	0	0
2	2	4
3	2	6
4	2	2
5	6	8
6	1	0
7	2	2
8	4	4
9	2	4
10	0	0

CUADRO N° 26: Tratamiento: Inyección, sub-tratamiento: colchicina 0,025%.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que el testigo.
	X	X
1	0	0
2	0	0
3	3	4
4	4	4
5	0	0
6	0	0
7	3	3
8	0	0
9	1	3
10	0	0

CUADRO N° 27: Tratamiento: Inyección, sub-tratamiento: colchicina 0,05%.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo
	X	X
1	2	1
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	2	2
7	3	4
8	0	0
9	0	0
10	0	0

CUADRO N° 28: Tratamiento: Inyección, sub-tratamiento: colchicina 0,1%.

Plántulas N°	Número de estomas con medidas de diámetros longitudinales mayores que las del testigo.	Número de estomas con medidas de diámetros transversales mayores que las del testigo.
	X	X
1	2	2
2	0	0
3	0	0
4	3	4
5	4	1
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0