



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGRONOMIA**

**DETERMINACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA EL  
ESTABLECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE  
*Moringa oleífera Lam* (MORINGA)**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTADO POR:**

**Br. NEPTALI CLAVIJO LÓPEZ**

**TUMBES – PERÚ**

**2019**



## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, **NEPTALI CLAVIJO LOPEZ**, declaro que los resultados reportados en esta tesis, son producto de mi trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a su concepción y análisis. Asimismo, declaro que hasta donde yo sé no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona excepto donde se reconoce como tal a través de citas y con propósitos exclusivos de ilustración o comparación. En este sentido, afirmo que cualquier información presentada sin citar a un tercero es de mi propia autoría. Declaro, finalmente que la redacción de esta tesis es producto de mi propio trabajo con la dirección y apoyo de mis asesores de tesis y jurado calificador, en cuanto a la concepción y al estilo de la presentación o a la expresión escrita.

---

Br. NEPTALI CLAVIJO LOPEZ

# ACTA DE REVISIÓN Y DEFENSA DE TESIS

## RESPONSABLES

**Br. NEPTALI CLAVIJO LOPEZ**

---

**EJECUTOR**

**Ing. M Sc. JALMER F. CAMPAÑA OLAYA**

---

**ASESOR**

## **JURADO DICTAMINADOR**

**Dr. CARLOS A. DEZA NAVARRETE**

---

**PRESIDENTE**

**Ing. Mg. NESTOR DIAZ CASTILLO**

---

**SECRETARIO**

**Ing. M Sc. FAUSTINO SANJINEZ SALAZAR**

---

**VOCAL**

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUCCION.....	13
II. MARCO DE REFERENCIA DEL PROBLEMA.....	15
2.1. Antecedentes.....	15
2.2. Base teórico – científico.....	16
2.3. Definición de términos básicos.....	25
III. MATERIAL Y METODOS.....	27
3.1. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis.....	27
3.2. Población, muestra y muestreo.....	27
3.3. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	27
3.4. Procesamiento y análisis de datos.....	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	33
4.1. Fase de Establecimiento.....	33
4.2. Fase de multiplicación.....	36
V. CONCLUSIONES.....	45
VI. RECOMENDACIONES.....	46
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
VIII. ANEXOS.....	52

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>Tabla 1</b> Análisis de varianza y prueba de Duncan para porcentaje de brotes prendidos (%), en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	33
<b>Tabla 2</b> Análisis de varianza y prueba de Duncan para porcentaje (%) de plantas normales, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)....	35
<b>Tabla 3</b> Análisis de varianza y prueba de Duncan para número promedio de brotes, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	36
<b>Tabla 4</b> Análisis de varianza y prueba de Duncan para longitud (cm) promedio de brotes, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	37
<b>Tabla 5</b> Análisis de varianza y prueba de Duncan para longitud (cm) promedio de la parte radicular de la plántula, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	39
<b>Tabla 6</b> Análisis de varianza y prueba de Duncan para número de días promedio para el inicio de la multiplicación, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	40
<b>Tabla 7.</b> Análisis de varianza y prueba de Duncan para materia seca (g) de la parte aérea a los 30 días, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	42
<b>Tabla 8</b> Análisis de varianza y prueba de Duncan para materia seca (g) de la parte radicular a los 30 días, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	43

## INDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1</b> Porcentaje de brotes prendidos (%), en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	<b>33</b>
<b>Figura 2.</b> Porcentaje (%) de plantas normales, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	<b>35</b>
<b>Figura 3.</b> Número promedio de brotes, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	<b>36</b>
<b>Figura 4</b> Longitud (cm) promedio de brotes, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	<b>38</b>
<b>Figura 5.</b> Longitud (cm) promedio de la parte radicular de la plántula, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	<b>39</b>
<b>Figura 6.</b> Número de días promedio para el inicio de la multiplicación, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	<b>41</b>
<b>Figura 7</b> Materia seca (g) de la parte aérea a los 30 días, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	<b>42</b>
<b>Figura 8</b> Materia seca (g) de la parte radicular a los 30 días, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Moringa oleífera</i> Lam (moringa)	<b>43</b>
<b>Figura 9</b> Frutos y semillas de Moringa ( <i>Moringa oleífera</i> Lam)	<b>52</b>
<b>Figura 10</b> Formulación y preparación de medios de cultivo	<b>52</b>
<b>Figura 11</b> Desinfección de material genético de propagación	<b>52</b>
<b>Figura 12</b> Siembra de material genético, fase de establecimiento	<b>53</b>
<b>Figura 13</b> Siembra de material genético, fase de multiplicación	<b>53</b>

**Figura 14** Establecimiento y multiplicación *in vitro* de Moringa oleífera **53**  
Lam

## RESUMEN

En el laboratorio de Cultivo de Tejidos, de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Tumbes, con un Diseño Completamente al Azar, se estudió la determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam (Moringa), para ello se evaluaron el porcentaje de contaminación, de brotes prendidos y de plantas normales, en fase de establecimiento; también, número y longitud de brotes, y otras características, en fase de multiplicación. La información obtenida se procesó mediante el Análisis de Varianza y las diferencias entre medias se calcularon según la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan al 0.05. El mayor porcentaje de brotes prendidos (2.81%) se logró con el tratamiento T<sub>2</sub> (MS + 2,5 mg L<sup>-1</sup> BAP). Asimismo, el mejor tratamiento con mayor porcentaje de plantas normales (87.50%), con mayor longitud de brotes (0.681 cm), con mayor longitud de la parte radicular (1.100 cm) y con 13 días para dar inicio a la multiplicación, fue el testigo T<sub>1</sub> (MS - 1962).

**Palabras clave:** Cultivo de tejidos, fase establecimiento, fase multiplicación, Moringa.

## ABSTRACT

The determination of culture media for the establishment and in vitro multiplication of *Moringa oleifera* Lam (Moringa) studied was in the tissue culture laboratory of the Faculty of Agrarian Sciences of the National University of Tumbes, with a Completely Randomized Design. ), for this the percentage of contamination, of buds lit and of normal plants, in phase of establishment were evaluated; also, number and length of shoots, and other characteristics, in the multiplication phase. The information obtained processed was through the Analysis of Variance and the differences between means calculated were according to the Duncan Multiple Range Test at 0.05. The highest percentage of outbreaks (2.81%) achieved was with the T<sub>2</sub> treatment (MS + 2.5 mg L<sup>-1</sup> BAP). Likewise, the best treatment with a higher percentage of normal plants (87.50%), with longer shoot length (0.681 cm), with a longer radicle length (1100 cm) and with 13 days to start multiplication, was the control T<sub>1</sub> (MS-1962).

**Keywords:** Tissue culture, establishment phase, multiplication phase, Moringa.

## I. INTRODUCCION

Debido al poco rendimiento de las áreas de producción tanto para animales como para humanos y a la necesidad cada día más imperante de cultivar plantas que no solamente cumplan con esas necesidades, sino que también puedan tener otros usos tales como biocombustibles, la *Moringa oleífera* constituye un cultivo alternativo, por su rápido desarrollo, fácil adaptación a diferentes suelos y climas, alto contenido energético no solamente en su sistema foliar sino también en sus semillas, de las cuales se puede obtener un aceite de alta calidad comparable solamente con el aceite de oliva por su alto porcentaje (73%) de ácidos grasos poli-insaturados (ácido linoleico) esenciales en el metabolismo humano, pues su deficiencia o ausencia produce lesiones cutáneas, retardo del crecimiento y alteraciones metabólicas).

Los beneficios de la *Moringa oleífera* parecen ser innumerables, tanto por sus hojas, frutos, semillas y raíces; sus semillas se pueden utilizar para purificar agua que va a ser usada para consumo humano. Sus hojas no dejan de ser producidas en períodos de aridez, con lo que genera un alimento vegetal que puede suplir los otros que escasean por la sequía, las hojas de este árbol pueden contener; Proteínas 42%, Calcio 125%, Magnesio 61%, Potasio 41%, Hierro 71%, Vitamina A 272%, Vitamina C 22%, increíble, las hojas también son utilizadas para paliar dolores de articulaciones, inflamaciones, para problemas digestivos, el aceite de sus semillas y hojas también es muy bueno, tanto como el de oliva.

La *Moringa oleífera* tolera amplios rangos de condiciones climáticas agroecológicas, por lo que en Tumbes, sería muy fácil su adaptación y podría representar una nueva línea de producción agrícola y una especie alternativa para la implementación de sistemas agroforestales; logrando ofrecer, no solo un producto de gran valor nutritivo, sino que aporte al restablecimiento del equilibrio ecológico (ecosistemas) evitando la erosión del suelo.

*Moringa oleífera* es un árbol al que se le atribuyen muchos beneficios y múltiples propiedades, representa un producto con gran potencial de comercialización para

diferentes aplicaciones. Las hojas y los tallos de *Moringa oleífera* son un complemento proteico muy beneficioso para la alimentación animal, las propiedades floculantes y antibacterianas del polvo de semillas de *Moringa oleífera* pueden; además, resolver el problema de salubridad de agua potable y el saneamiento de las aguas residuales. Asimismo, la sombra y la protección contra el viento que proporciona la *Moringa oleífera* pueden ser aprovechadas por otros cultivos.

Por lo anteriormente expuesto se consideró que el establecimiento y la propagación de *Moringa oleífera in vitro*, al producir masivamente con esta técnica plantines con identidad genética, uniformes y sanos, significaría un gran aporte en la introducción y producción comercial de este cultivo en Tumbes. Bajo ese contexto, se planteó los siguientes objetivos:

Determinar el medio de cultivo adecuado para el establecimiento de *Moringa oleífera Lam* (Moringa). Del mismo modo, establecer el protocolo del medio de cultivo adecuado para la multiplicación de *Moringa oleífera Lam* (Moringa), en cultivo *in vitro*.

## II. MARCO DE REFERENCIA DEL PROBLEMA

### 2.1. Antecedentes

González *et al.*, (2017), validaron la primera etapa de un sistema de micro-propagación para la especie vegetal *M. oleífera*, para lo cual en condiciones de asepsia, semillas, segmentos nodales y láminas foliares fueron sometidas a desinfección y sembradas en medio basal (MS). La incubación la realizaron en completa oscuridad a temperatura de 28°C, posteriormente se implementaron un fotoperiodo de 16 horas de luz y ocho de oscuridad (16:8). Reportan una germinación de 26.7% para semillas de las cuales tomaron nuevamente explantes sembrados asépticamente y alcanzaron un 90% de viabilidad. Asimismo, lograron obtener 34 micro-brotes, posteriormente sembraron en medio MS sin inoculación de reguladores de crecimiento y demostraron que es una especie de alta capacidad de regeneración *in vitro* y de promoción de nuevos brotes, al tiempo que posee una importante tasa de crecimiento radicular.

Figuroa (2015), en un experimento utilizó medios de cultivo complementados con fito-reguladores empleados en procesos *in vitro*. Los resultados arrojaron significancia estadística para las variables; número y longitud de raíces, altura de plántulas y número hojas, en determinadas fases de la evaluación.

Establecieron que los tratamientos con BAP y agua de coco funcionan estimulando la división celular en forma similar que las cito quininas naturales. La emisión de raíces y hojas en las plántulas de Moringa, siguieron un modelo de regresión lineal alcanzando tasa de crecimiento altas. La mejor interacción entre el BAP y el agua de coco se dio con el tratamiento T<sub>2</sub> 0,1 mg/l BAP - 150 cc/l agua de coco.

Matos *et al.*, (2016), realizaron un experimento *in vitro* con *Moringa oleífera* Lam, y lograron determinar el efecto del genotipo en el establecimiento y la multiplicación *in vitro*. La desinfección de Moringa, cultivar Supergenius fue mejor a los siete minutos, con un porcentaje de germinación del 54%. Los biorreactores de inmersión temporal incrementaron la calidad

morfológica de los brotes y el coeficiente de multiplicación aumentó de 6.2 a 16.1 para este cultivar. Lograron el enraizamiento sin auxinas y la supervivencia en aclimatización fue de un 85% a los 35 días para los brotes que se enraizaron sin reguladores del crecimiento, independientemente del explante de procedencia. Demostraron también, que el genotipo influye en el establecimiento y multiplicación de los mismos.

## **2.2. Base teórico-científico**

### **2.2.1. Origen de *Moringa oleífera* Lam.**

“Y Moisés clamó a Jehová, y Jehová le mostró un árbol y lo echó en las aguas y las aguas se endulzaron”, el libro del Éxodo hace referencia a una planta purificadora del agua, que varios autores señalan que podría ser la *Moringa oleífera*, aunque también podría tratarse de *Moringa peregrina*, (Pérez 2012).

La Moringa (*Moringa oleífera* L.) es conocida como el árbol de la vida o el árbol milagroso. La Moringa es un árbol originario del sur del Himalaya, Noreste de la India, Bangladesh, Afganistán y Pakistán. Se encuentra diseminado en una gran parte del planeta. En América Central fue introducido en los años 1920 como planta ornamental y para cercas vivas, se encuentra en áreas desde el nivel del mar hasta los 1800 metros. Se puede reproducir por estacas o semillas. El árbol alcanza de 7 a 12 m de altura y de 20 a 40 cm de diámetro, con una copa abierta, tipo paraguas, fuste generalmente recto. Las hojas son compuestas y están dispuestas en grupos de folíolos con 5 pares de estos acomodados sobre el pecíolo principal y un folíolo en la parte terminal. En los folíolos hay láminas foliares ovaladas organizadas frontalmente entre ellas en grupos de 5 a 6. Las hojas compuestas son alternas tripinadas con una longitud total de 30 a 70 cm. (Foils y Silez, 1995).

La moringa fue introducida en América por el intercambio de plantas realizado por los españoles con la Nao de Filipinas, habiéndose

encontrado referencias a esta especie en envíos de 1782, 1793, 1797 y 1872 (Pacheco, 2006).

En la actualidad el cultivo de moringa (*Moringa oleífera* L.) en Iberoamérica está en auge, abarcando desde California, hasta Argentina, pasando por Chile, Arizona y Florida (Falasca y Bernabé, 2008).

La causa que puede llevar a creer que la moringa fue introducida en América Central en los años 20, pudo deberse a que en esta época fue cuando el médico paraguayo Moisés Bertoni, le atribuyó propiedades curativas (Maíz, 2011).

Un grupo de Médicos Sin Fronteras, en una de las hambrunas del Cuerno de África en la década de los setenta, redescubrieron la planta, iniciándose los estudios sobre ella. Hoy en día, sigue investigándose sobre todo en sus propiedades nutritivas, medicinales y como especie forrajera (Pérez, 2012).

### **2.2.2. Clasificación taxonómica**

Cronquist A. (1981), Clasifica taxonómicamente a la Moringa de la siguiente manera:

<b>Reino</b>	: Plantae
<b>División</b>	: Magnoliophyta
<b>Subclase</b>	: Dilleniidae
<b>Orden</b>	: Capparales
<b>Familia</b>	: Moringaceae
<b>Género</b>	: Moringa
<b>Especie</b>	: Moringa oleífera

### **2.2.3. Manejo del cultivo**

#### **a) Suelo**

En su hábitat natural crece a lo largo de los ríos más grandes, en aluviones. Estos suelos generalmente tienen buen drenaje y bajo

contenido en materia orgánica, Prefiere los suelos bien drenados, arenosos o franco-arenosos, donde el nivel freático permanece bastante alto todo el año, dentro de la zona de mayor profundidad de sus raíces. Muchos autores coinciden en que la moringa tolera suelos francos o franco arcillosos, pero no los arcillosos ni los vertisoles. Sin embargo, un estudio realizado en Nicaragua (Alfaro, 2008) constató que la planta se desarrolló bien en suelos con porcentajes elevados de arcilla (44-46%). (Foild *et al.*, 1999).

## **b) Clima**

En su hábitat natural, la temperatura media anual suele tener grandes oscilaciones, y puede ir desde los -1 a 3 °C en los meses más fríos, tolerando heladas cortas y poco intensas, hasta los 38-48°C en los meses más cálidos. Sin embargo, crece mejor a temperaturas entre 25-35 (40) °C. (Falasca y Bernabé, 2008; Parrota, 1993; Pérez; 2012).

Por otro lado, en regiones del Sur de Asia donde moringa (*Moringa oleífera* L.) se ha introducido, tolera temperaturas medias anuales desde los 12,6 °C hasta los 40 °C, y son valores muy similares a las reportadas por Roloff *et al.* (2009); y Falasca & Bernabé (2008), quienes afirman que temperaturas medias anuales superiores a 12 °C favorecen al crecimiento de la planta.

Asimismo, para lograr una producción óptima de hojas y vainas, la *Moringa oleífera* requiere temperaturas diarias altas, y están en torno a 25-30 °C, mientras que el crecimiento se ralentiza con temperaturas por debajo de los 20 °C (Radovich, 2011).

La temperatura es un factor que influye directamente en el crecimiento y productividad de la especie, puesto que regula la velocidad de la respiración, y está directamente relacionada con la fotosíntesis (Muhl *et al.*, 2011). Estos autores realizaron diversos estudios, sometiendo a las plantas a tres regímenes de

temperatura con fluctuaciones día/noche. Los regímenes fueron 10/20 °C, 15/25 °C y 20/30 °C, y lograron observar que el crecimiento de la planta se ve favorecido de las altas temperaturas y que la planta tiene adaptaciones fisiológicas para las bajas temperaturas, lo que resulta fundamental para lograr la supervivencia de plantaciones de moringa en climas fríos (Muhl et al; 2011)

Según Radovich (2011), la temperatura media anual mínima que tolera la planta son 15 °C, y la temperatura media anual máxima son 30 °C. Los ejemplares jóvenes son sensibles a las heladas, mientras que los individuos adultos pueden sobrevivir a bajas temperaturas de hasta 0°C, durante periodos cortos de tiempo viéndose afectado su crecimiento.

En pruebas realizadas se han mostrado que la parte aérea verde de la planta resiste temperaturas mínimas de hasta 0°C, mientras que la parte lignificada llega a tolerar hasta -3°C puntuales. Sin embargo, aún no se tienen datos de resistencia a las heladas de las raíces. Del mismo modo, a temperaturas medias mensuales, sobrevive entre los 8°C y los 13 °C, pero no crece (Godino *et al.*, 2013).

La Moringa oleífera crece y se desarrolla en climas tropicales y subtropicales, en las zonas de rusticidad USDA 9b a 12. En España, Sánchez de Lorenzo, considera su cultivo como planta ornamental en la zona de rusticidad 11 (de 4 a 10°C) (Pérez, 2012).

### **c) Riego**

En climas tropicales y subtropicales, puede resistir hasta seis meses en estación seca, y si la precipitación es de al menos 500 mm/año; por lo tanto, se puede plantar en zonas con precipitaciones desde 500 a 1.500 mm/año. Con precipitaciones

superiores a los 1.500 mm anuales, puede causar la caída de las flores y disminuir la producción de semilla (nuevo). Con un prolongado período de sequía, puede provocar estrés en la planta, ante esto la planta responderá perdiendo sus hojas (Mejía y Mora, 2008; Pérez, 2012).

Moringa es resistente a la sequía y tolera una precipitación anual de 500 a 1 500 mm (Pérez *et al.*, 2010). Otros autores como Saint Sauveur & Broin (2010), amplían este intervalo, y señalan que la planta sobrevive en un rango de precipitación desde 250 hasta los 2.250 mm anuales. En cualquier caso, será necesario aplicar riegos si la precipitación es inferior a 800 mm y si el cultivo es para la producción de hojas (Reyes *et al.*, 2006).

Durante el trasplante es necesario mantener los riegos dos a tres veces por semana, dependiendo de las condiciones de lluvia en el lugar. La planta de moringa no demanda demasiado riego (1.5 litros/riego). Cuando se presenta amarillamiento de hojas viejas o bajas en la planta son señales de estrés hídrico (Concyt, 2008).

#### **d) Fertilización**

El árbol crece sin necesidad de fertilizantes. Sin embargo, se recomienda la aplicación de fuentes nitrogenadas para favorecer la formación de la proteína, que es el potencial de esta planta. En experimentos en la India se ha demostrado que una aplicación de 7.5 Kg. de estiércol más 0.37 Kg. de sulfato de amonio por árbol permite triplicar el rendimiento de vainas. La moringa sobrevive bien en suelos poco fértiles; así mismo, el alto contenido de proteínas de sus hojas hace que su crecimiento se vea muy potenciado si se aporta materia orgánica. El compost y el estiércol; es decir, la fertilización de origen orgánico dan mejores resultados en moringa que los de origen químico (Concyt, 2008).

#### **e) Morfología**

La moringa es un árbol de crecimiento rápido que puede alcanzar hasta los 12 m. de altura, con un promedio de vida de 20 años. Es perennifolio en climas tropicales y de hoja caduca en climas subtropicales, asimismo, pierde sus hojas por estrés hídrico (Muhl et al., 2011). Las ramas jóvenes son pelosas, con tricomas de hasta 0,3 mm, erectos, crespos. Las hojas son compuestas, alternas, bi-triimparipinnadas de 15-35 x 8-25 cm, foliolos de 0,4-2,4 x 0,3-1,2 cm, obovados, el haz y envés son pelosos, con tricomas de hasta 0,3 mm, erectos y crespos; estípulas interpecioculares de 1,5-2,0 mm, de lineares a subuladas. Brácteas de 1,5 a 2 mm, angostadas, deltadas a lineares (Lamarck, J-B.P.M., 1975).

#### **f) Raíz**

Las raíces de los árboles muy jóvenes (prácticamente en semillero, de poco más de un palmo de alto) son tuberosas, con una raíz principal muy gruesa, a modo de pequeña zanahoria, el sabor es picante, parecido al de los rábanos. La raíz principal es de tipo pivotante y globosa, mide varios metros lo que le permite tener cierta resistencia a la sequía. Cuando se le hacen cortes, produce una goma de color rojizo parduzco (Alfaro, 2008).

#### **g) Tallo**

En la India se usa la madera en forma limitada para lanzaderas y otros instrumentos para la industria textil. La pulpa se emplea para hacer papel prensa, papel celofán y textiles, como cuerdas, esteras y felpudos (Falasca y Bernabé, 2008). La madera de moringa no posee cualidades físicas mecánicas para ser considerada una especie maderable. Es una madera frágil y muy blanda, que se desgaja con facilidad, mostrándose fibrosa y seca. Se utiliza para la elaboración de carbón vegetal y papel (Pérez, 2012).

## **h) Hojas**

Las hojas de Moringa son compuestas alternas, doble o triplemente pinnadas, con foliolos opuestos y sin estípulas. Son características las glándulas que tienen en el ápice del foliolo y en la mayoría de las articulaciones del raquis. Las flores están dispuestas en pánulas axilares, de color rojo o blanco, irregulares, con 5 pétalos, 5 sépalos, 5 estambres funcionales y varios estaminodios. El fruto se dispone en forma de cápsula, larga y dehiscente, leñosa, que al abrirse se separa en tres valvas longitudinales, con varias semillas con tres alas o no aladas (Olson y Fahey, 2011).

## **i) Flores**

La Moringa oleífera es considerada una planta melífera, ya que las flores constituyen una excelente fuente de néctar y polen para la producción de miel (Pérez *et al.*, 2010).

Las flores son bisexuales de 1,0-3,3 x 0,4-1,0 cm, con inflorescencias racimosas; con cinco sépalos y cinco pétalos de color blanco o cremoso, frecuentemente con pequeños matices rojizos en la base; posee cinco estambres fértiles con anteras amarillas, y cinco estambres estériles sin anteras; el estilo es delgado; peciolo verde, que pueden tornarse en color morado, al igual que la vaina fresca (Pérez, 2012).

En el norte de la India y en otras regiones atemperadas, florece una sola vez al año (entre abril y junio, en el hemisferio norte), pero puede florecer dos veces al año, como sucede en el sur de la India, o durante todo el año en lugares donde no hay cambios de temperatura y precipitación a lo largo de todo el año, como ocurre en los países caribeños (Liñan, 2010).

#### **j) Fruto**

La producción de frutos de Moringa varía considerablemente en función de la variedad. En las variedades anuales (PKM-1 y PKM-2) el número de vainas oscila entre 200 y 250. Mientras que la variedad Coimbatore-1 produce hasta 1,250 vainas al año, siendo la variedad más productiva. Los frutos se consideran afrodisíacos y la decocción de la raíz se utiliza contra la viruela o la retención de líquidos; la infusión de la semilla es laxante y purgante; a las flores, hojas y raíces se le atribuyen propiedades abortivas, bactericidas, purgantes, diuréticas, estrogénicas, expectorantes, purgantes, rubefacientes, estimulantes, diuréticas y vermífugas. La corteza del tallo y la raíz, también son estimulantes, diuréticas y antiescorbúticas (Pérez, 2012).

#### **k) Semilla**

La época de producción de semillas es a partir de octubre (en el hemisferio norte), cuando comienzan a madurar, hasta el mes de abril del siguiente año. Las vainas maduras con semillas pueden permanecer en el árbol varios meses antes de abrirse y liberar las semillas. El ritmo de aumento de la producción es de 25% en el primer año, 50% en el segundo, 75% en el tercero y 100% en el cuarto. La vaina puede tener de 12 a 25 (26) semillas, de manera que si se considera una media de 20 semillas por vaina, un ejemplar maduro puede producir hasta 20,000 (32,000) semillas anualmente. Si cada semilla tiene un peso medio de 0,3-0,4 g, lo que se traduce en 3,000-4,000 semillas por kg y en algunos casos en hasta 9.000 semillas (Pérez, 2012).

### **2.2.4. Establecimiento y multiplicación *in vitro***

#### **- Establecimiento**

El objetivo de esta etapa es establecer cultivos viables y axénicos. El éxito está determinado por la calidad del explanto a utilizar. En esta etapa los principales procesos a controlar son la selección, el aislamiento y la esterilización de los explantos.

Los materiales que demuestran tener mayor capacidad regenerativa son los obtenidos de tejidos meristemáticos jóvenes, ya sean yemas axilares o adventicias, embriones o semillas en plantas herbáceas y aquellos tejidos meristemáticos que determinan el crecimiento en grosor, como el cambium en las plantas leñosas. En este sentido, es importante señalar que el empleo de yemas adventicias (también llamadas yemas formadas de novo) está asociado con una mayor probabilidad de ocurrencia de variantes somaclonales respecto de los sistemas de propagación basados en la regeneración a partir de yemas axilares o embriones somáticos.

- **Multiplicación**

El objetivo de esta etapa es mantener y aumentar la cantidad de brotes para los nuevos ciclos de multiplicación sucesivos (subcultivos) y poder destinar parte de ellos a la siguiente etapa de producción (enraizamiento, bulbificación, etc.). Ambas vías de regeneración, organogénesis y embriogénesis, pueden darse en forma directa o indirecta. Esta última implica la formación de callo. En general, la organogénesis conduce a la producción de vástagos unipolares que enraízan en etapas sucesivas, mientras que por embriogénesis somática se forman embriones bipolares a través de etapas ontogénicas similares a la embriogénesis cigótica. Es importante señalar que cualquiera sea la vía de regeneración empleada, es conveniente evitar la formación de callo para disminuir el riesgo de variación somaclonal. Los medios de cultivo, los reguladores de crecimiento como auxinas, citocininas y ácido giberélico y las condiciones de crecimiento juegan un papel crítico sobre la multiplicación clonal de los explantos.

### 2.3. Definición de términos

Según Pierik (1989), define los términos de la siguiente manera:

- **Asepsia**

Ausencia de microorganismos.

- **Auxinas**

Grupo de hormonas vegetales (naturales o sintéticas), que producen elongación celular, y en algunos casos división celular; frecuentemente inducen la aparición de raíces adventicias e inhiben el desarrollo de yemas adventicias (en los vástagos).

- **Callo**

Tejidos no organizados, formados por células diferenciadas y no diferenciadas, que se dividen de forma activa y que generalmente se originan en zonas dañadas (por heridas), o en cultivo de tejidos.

- **Cultivo *in vitro***

Es una técnica que se usa para propagar plantas a partir de plantas madres por lo que cuando se obtiene las plántulas éstas, son idénticas entre sí a la planta madre.

- **Cultivo de células**

Son células en crecimiento que se producen *in vitro*.

- **Cultivo de tejidos vegetales**

Se puede definir como el conjunto de técnicas que permiten el cultivo de órganos, tejidos, células y protoplastos, en condiciones asépticas.

- **Esterilizar**

Consiste en la eliminación de microorganismos, por ejemplo, por medio de sustancias químicas, como calor, irradiación o filtración.

- **Hormona**  
Es una sustancia orgánica que se produce en la planta y que promueve el crecimiento a bajas concentraciones, que generalmente en un lugar diferente de donde se origina lo inhibe, o lo modifica cuantitativamente.
  
- **Micro-propagación**  
Es el conjunto de técnicas y métodos de cultivo de tejidos utilizados para multiplicar plantas asexuales en forma rápida, eficiente y en grandes cantidades.
  
- **Planta normal**  
Es un ser orgánico que vive y crece, pero sin mudar de lugar por impulso voluntario. Constituye el objeto de estudio de la botánica, cuando se trata de los vegetales como los árboles o las hortalizas.
  
- **Propagación vegetativa**  
Son procedimientos sencillos, conocidos por los campesinos de todo el mundo desde tiempos inmemoriales, hasta llegar a procedimientos tecnológicamente muy avanzados, basados en la tecnología del cultivo de tejidos vegetales, mediante los cuales se puede lograr la propagación masiva de plantas genéticamente homogéneas y mejoradas.
  
- **Regulador**  
Es una sustancia que regula el crecimiento y desarrollo de células vegetales, órganos, etc.

### III. MATERIAL Y METODOS

#### 3.1. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

##### 3.1.1. Tipo de estudio.

El tipo de estudio es experimental. Asimismo, la investigación según el objeto de estudio es aplicada, según las variables en estudio es experimental y según el nivel de medición y análisis de la información es explicativa.

##### 3.1.2. Diseño de contrastación de hipótesis.

**Hipótesis alternativa ( $H_1$ ):** El medio de cultivo con 1.5 mg/l de Benzil Amino Purina (BAP) para establecimiento y 7.5 mg/l para multiplicación, son óptimos para la propagación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam.

**Hipótesis nula ( $H_0$ ):** El medio de cultivo con 1.5 mg/l de Benzil Amino Purina (BAP) para establecimiento y 7.5 mg/l para multiplicación, no son óptimos para la propagación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam.

#### 3.2. Población, muestra y muestreo

El tamaño de la población fue 64 tubos (16 pares 4 tratamientos, el tamaño de la muestra fue 16 y el muestreo utilizado fue aleatorio.

#### 3.3. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

##### 3.3.1. Lugar de ejecución del proyecto.

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Tumbes y tuvo una duración de cinco meses.

### **3.3.2. Métodos**

#### **A. Recolección y obtención de material vegetal**

En el ámbito de toda la región Tumbes, no existen áreas cultivadas de Moringa, sin embargo se ha podido ubicar plantas aisladas sembradas en los ambientes de la Dirección Regional de Agricultura de Tumbes, con semillas traídas de Israel y recolectadas por el Ingeniero Agrónomo Manuel Reyes Floriano, en campos del Caserío de Quebrada Seca, Distrito de Canoas de Punta Sal. Asimismo, se pudo ubicar plantas sembradas con fines de jardinería en otros lugares de la región, en las localidades de San Isidro, Corrales, Uña de Gato, entre otros; de estas plantas se hizo la colecta de material genético.

#### **B. Instalación del experimento**

##### **- Preparación y esterilización de la solución**

La preparación del material se realizó haciendo soluciones madres con sus volúmenes adecuados, tanto en su composición mineral (macro elementos y micro elementos) y su composición orgánica (carbohidratos, vitaminas, aminoácidos y reguladores de crecimiento). Además del agar y carbón activado.

##### **- Preparación del material vegetal**

La esterilización del material vegetal se realizó con alcohol al 96%, luego se realizará un lavado con agua destilada. Seguidamente se procedió a otra desinfección con hipoclorito de sodio (lejía) al 5,25% y el lavado con agua destilada, se empleó además frascos Gerber y tubos de ensayo autoclaveado.

##### **- Establecimiento del material vegetal**

Para el establecimiento del material se procedió con la siembra de yemas tanto apicales como axilares, en frascos Gerber y

tubos de ensayo dentro de la cámara flujo laminar hasta su germinación; estas yemas se sembraron en el medio Murashige y Skoog (1962) modificado con sus concentraciones respectivas. Se tomó también en cuenta la temperatura apropiada y las horas/luz.

Los brotes de la etapa anterior fueron colocados en el medio de cultivo para multiplicación después de 30 días de haber permanecido en la etapa de establecimiento.

## **C. Variables experimentales**

### **C.1. Variable independiente**

Medios de cultivo

### **C2. Variable dependiente**

Fase de establecimiento

Fase de multiplicación

**A) Para establecimiento;** las observaciones experimentales fueron:

**- Porcentaje de contaminación.**

Se evaluó cada uno de los explantes que se encontraban ubicados en cuarto de incubación y de esta manera determinar el porcentaje de contaminación en cada uno de los tratamientos durante las etapas del estudio *in vitro*.

**- Porcentaje de brotes prendidos.**

Después de permanecer los explantes en el cuarto de incubación, se procedió a contar el número de brotes prendidos o que lograron emitir brotes en cada tratamiento, para luego mediante una regla de tres simple llevar estos datos a porcentaje.

**- Porcentaje de plantas normales.**

Luego de sembrado los explantes en los diferentes tratamientos se esperaran dos semanas, para determinar la

cantidad de brotes que emitieron plantas normales, para llevarlos a porcentaje en cada uno de los tratamientos y en las diferentes repeticiones.

**B) Para multiplicación;** las observaciones experimentales fueron:

- **Número promedio de brotes.**

Para esta evaluación se tomó en cuenta solo los explantes que emitieron brotes, para obtener, mediante operaciones matemáticas, el promedio del número de brotes por explante en cada repetición de los tratamientos.

- **Longitud promedio de brotes.**

Con una regla graduada se tomó las medidas de cada uno de los brotes midiendo su longitud, para luego, matemáticamente obtener promedios en cada tratamiento.

- **Longitud promedio radicular de la plántula.**

Con la ayuda de la regla graduada se tomó las medidas a la parte radicular de las plántulas, midiendo la longitud para luego, obtener promedios en cada repetición en los tratamientos en estudio.

- **Número de días promedio para el inicio de la multiplicación.**

Se evaluó a los cuantos días las plántulas responden positivamente a un determinado tratamiento, en cuanto al inicio de la multiplicación para luego, obtener promedios por cada repetición en todos los tratamientos en estudio.

- **Materia seca de la parte aérea y de la parte radicular a los 30 días en la fase de multiplicación.**

Con el uso de una balanza de precisión, se procedió a pesar la parte seca de las plántulas tanto en la parte aérea como en la parte radicular, efectuando se a los 30 días en la fase de

multiplicación y de esta manera establecer el peso en gramos la materia seca.

#### D. Factores y tratamientos en estudio

##### a) Medio para establecimiento *in vitro*

Factor	Nivel	Tratamiento
Medio de cultivo	MS (1962)	T <sub>1</sub> (Testigo)
	MS + 0,5 mg L <sup>-1</sup> BAP	T <sub>2</sub>
	MS + 1,0 mg L <sup>-1</sup> BAP	T <sub>3</sub>
	MS + 1,5 mg L <sup>-1</sup> BAP	T <sub>4</sub>

- MS = Murashige y Skoog (1962) Testigo
- MS1 = Murashige y Skoog Modificado 1
- MS2 = Murashige y Skoog Modificado 2
- MS3 = Murashige y Skoog Modificado 3

##### b) Medio para multiplicación *in vitro*

Factor	Nivel	Tratamiento
Medio de cultivo	MS (1962)	T <sub>1</sub> (Testigo)
	MS + 2,5 mg L <sup>-1</sup> BAP	T <sub>2</sub>
	MS + 5,0 mg L <sup>-1</sup> BAP	T <sub>3</sub>
	MS + 7,5 mg L <sup>-1</sup> BAP	T <sub>4</sub>

- MS = Murashige y Skoog (1962) Testigo
- MS1 = Murashige y Skoog Modificado 1
- MS2 = Murashige y Skoog Modificado 2
- MS3 = Murashige y Skoog Modificado 3

#### 3.3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica utilizada para la recolección de datos fue la observación. De igual manera, los instrumentos utilizados fueron fichas de datos, base de datos computarizada y matrices para el análisis.

### **3.4. Procesamiento y análisis de datos**

Para la presente investigación se utilizó el diseño experimental Completamente al Azar (DCA) con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones.

El procesamiento de datos se realizó a través de la acumulación y manipulación de la información mediante tabulaciones y codificaciones, de manera tal que reflejara objetividad y confiabilidad en los resultados.

El análisis estadístico consistió en el análisis de varianza y la correspondiente prueba de comparación de medias de Duncan al nivel de significancia de 5%.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Fase de Establecimiento

#### 4.1.1. Porcentaje de contaminación (%)

Se cumplió con los protocolos establecidos de asepsia para la preparación de medios, para la desinfección de explantes y para la siembra en cámara de flujo laminar, esto permitió que no se produzca contaminación de medios de cultivo.

#### 4.1.2. Porcentaje de brotes prendidos (%)

En la Tabla 1 de análisis de varianza se encontró diferencias estadísticas significativas para tratamientos, implica que hay indicios de heterogeneidad entre los medios de cultivo utilizados. El coeficiente de variabilidad de 13.29%, es aceptable para las condiciones de laboratorio.

La prueba de Duncan al 5% de significación estadística (Tabla 1 y Figura 1), indica que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Se observa que los tratamientos T<sub>2</sub> (MS + 0,5 mg L<sup>-1</sup> BAP) y T<sub>3</sub> (MS + 1,0 mg L<sup>-1</sup> BAP) ocupan el lugar más alto de producción de brotes con 2.81 y 2.25, respectivamente. Asimismo, los valores más bajos en la producción de brotes lo obtuvieron los tratamientos Testigo (MS - 1962) con 1.25% y el T<sub>4</sub> (MS + 1,5 mg L<sup>-1</sup> BAP) con 1.13%. Esto puede ser atribuido al efecto del fitoregulador Benzil Amino Purina (BAP), cuyas dosis medias promueven la producción de brotes en Moringa.

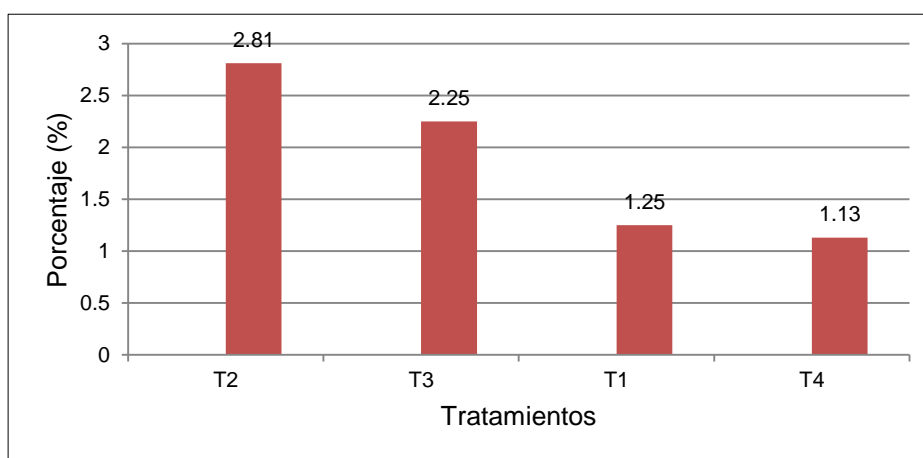
Estos resultados guardan relación a lo reportado por Figueroa (2015), quien en un experimento con Moringa los resultados arrojó significancia estadística para las variables; número y longitud de raíces, altura de plántulas y número de hojas, en determinadas fases de la evaluación. Señala que los tratamientos con BAP y agua de coco funcionan estimulando la división celular en forma similar que las citoquininas

naturales. Asimismo, encontró que la emisión de raíces y hojas en las plántulas, siguieron un modelo de regresión lineal alcanzando tasas de crecimiento altas, y concluye que la mejor interacción entre el BAP y el agua de coco, se produjo con el tratamiento T<sub>2</sub> (0,1 mg/l BAP - 150 cc/l agua de coco).

**Tabla 1.** Análisis de varianza y prueba de Duncan para porcentaje de brotes prendidos (%), en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación in vitro de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Análisis de Varianza		Prueba de Duncan		
Fuente de variación	Signif	Tratamientos	Prom (%)	Duncan (5%)
TRATAMIENTOS	*	T <sub>2</sub> (MS + 0,5 mg L <sup>-1</sup> BAP)	2.81	a
		T <sub>3</sub> (MS + 1,0 mg L <sup>-1</sup> BAP)	2.25	a
		T <sub>1</sub> (MS - 1962) Testigo	1.25	b
		T <sub>4</sub> (MS + 1,5 mg L <sup>-1</sup> BAP)	1.13	b

CV = 13.29%



**Figura 1.** Porcentaje de brotes prendidos (%), en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación in vitro de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

#### 4.1.3. Porcentaje de plantas normales (%)

La Tabla 2 presenta el análisis de varianza de los resultados de porcentaje de plantas normales (%). Se observa que existen diferencias estadísticas altamente significativas para tratamientos, lo cual indica indicios de heterogeneidad en los medios de cultivo para el crecimiento

y desarrollo. El coeficiente de variabilidad de 42.57%, en condiciones de laboratorio es posible sea muy alto; sin embargo, es probable pueda deberse a la heterogeneidad de los medios de cultivo y a la rusticidad del material genético.

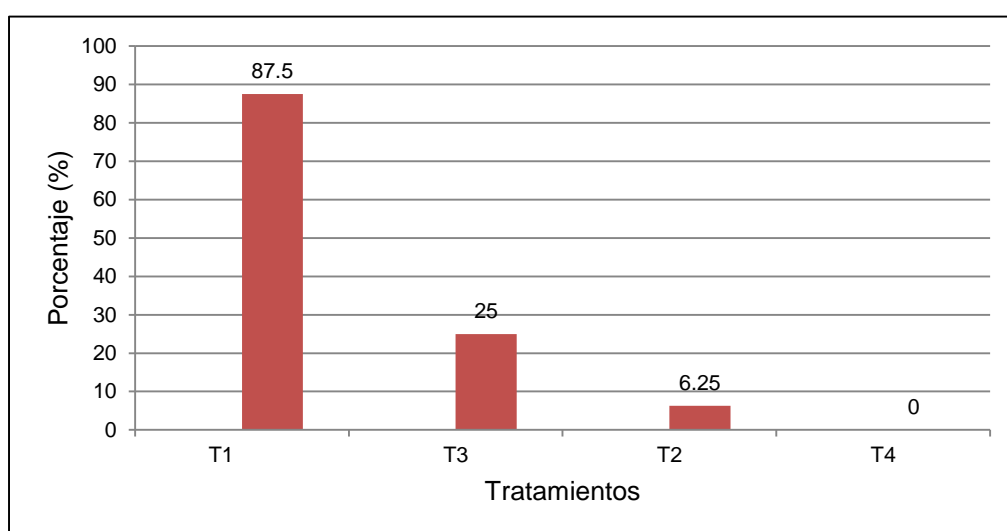
La prueba de Duncan al 5% (Tabla 2 y Figura 2), indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos. El valor más alto lo obtuvo el Testigo (MS -1962) con 87.50% de plantas normales. Los valores más bajos lo obtuvieron con 25% de plantas normales el T<sub>3</sub> (MS + 1,0 mg L<sup>-1</sup> BAP), con 6.25% el T<sub>2</sub> (MS + 0,5 mg L<sup>-1</sup> BAP) y en última ubicación, con 0% de plantas normales el T<sub>4</sub> (MS + 1,5 mg L<sup>-1</sup> BAP).

Los resultados encontrados guardan relación con lo reportado por González *et al.* (2017), quienes en un experimento de micro-propagación con Moringa (*Moringa oleífera* Lam.), lograron obtener 34 micro-brotes los cuales fueron sembrados en medio MS sin inoculación de reguladores de crecimiento. Esto corrobora que *Moringa oleífera* es una especie de alta capacidad de regeneración *in vitro* y de promoción de nuevos brotes, al tiempo que posee una importante tasa de crecimiento radicular.

**Tabla 2.** Análisis de varianza y prueba de Duncan para porcentaje (%) de plantas normales, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Análisis de varianza		Prueba de duncan		
Fuente de Variación	Signif	Tratamientos	Prom (%)	Duncan (5%)
TRATAMIENTOS	**	T <sub>1</sub> (MS -1962) Testigo	87.50	a
		T <sub>3</sub> (MS + 1,0 mg L <sup>-1</sup> BAP)	25.00	b
		T <sub>2</sub> (MS + 0,5 mg L <sup>-1</sup> BAP)	6.25	b
		T <sub>4</sub> (MS + 1,5 mg L <sup>-1</sup> BAP)	0.00	b

CV = 42.57%



**Figura 2.** Porcentaje (%) de plantas normales, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

## 4.2. Fase de multiplicación

### 4.2.1. Número promedio de brotes

El número promedio de brotes se presenta en la tabla de análisis de varianza (Tabla 3). Se observa diferencias estadísticas altamente significativas para tratamientos, lo que indica claros indicios de heterogeneidad entre los medios de cultivo utilizados. El coeficiente de variabilidad de 23.56% es aceptable para las condiciones en que se desarrolló el experimento.

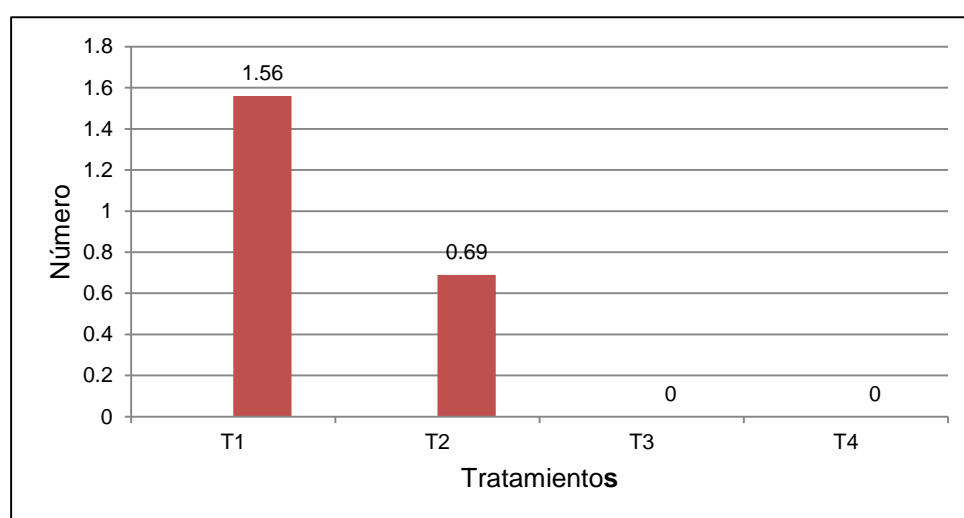
La prueba de Duncan al 5% de significación estadística (Tabla 3 y Figura 3) da cuenta de la heterogeneidad de los tratamientos. Se observa que el valor más alto lo obtuvo el Testigo (MS - 1962), con 1.56 brotes en la fase de multiplicación, le sigue el T<sub>2</sub> (MS + 2,5 mg L<sup>-1</sup> BAP) con 0.69 brotes y sin emisión de brotes los tratamientos: T<sub>3</sub> (MS + 5,0 mg L<sup>-1</sup> BAP) y T<sub>4</sub> (MS + 7,5 mg L<sup>-1</sup> BAP).

Estos resultados guardan relación con lo encontrado por González *et al.* (2017), quienes en su experimento lograron obtener 34 microbrotes, los que fueron sembrados en medio (MS) sin inoculación de reguladores de crecimiento. Este comportamiento puede deberse a la rusticidad comprobada de *Moringa oleífera* (Pérez, 2012).

**Tabla 3.** Análisis de varianza y prueba de Duncan para número promedio de brotes, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Análisis de varianza		Prueba de Duncan		
Fuente de variación	Signif	Tratamientos	Prom Brotes	Duncan (5%)
TRATAMIENTOS	**	T1 (MS - 1962) Testigo	1.56	a
		T2 (MS + 2,5 mg L <sup>-1</sup> BAP)	0.69	ab
		T3 (MS + 5,0 mg L <sup>-1</sup> BAP)	0.00	b
		T4 (MS + 7,5 mg L <sup>-1</sup> BAP)	0.00	b

CV = 23.56



**Figura 3.** Número promedio de brotes, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

#### 4.2.2. Longitud promedio de brotes (cm)

En la Tabla 4 de análisis de varianza presentan los resultados de la variable longitud promedio de brotes en la fase de multiplicación. Se observa diferencias estadísticas altamente significativas para los medios de cultivo utilizados. El coeficiente de variabilidad de 15.03% es aceptable para las condiciones de laboratorio en que se ejecutó el experimento.

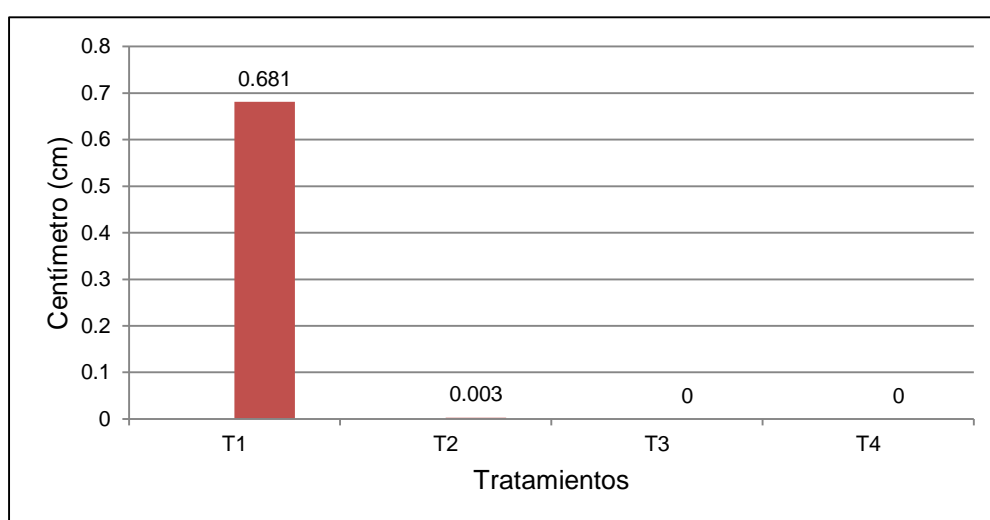
La prueba de Duncan al 5% de significación presenta los promedios de los tratamientos (Tabla 4 y Figura 4). Se observa que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos; el Testigo (MS - 1962) con 0.681 cm obtuvo el valor más alto en la longitud de brotes, siguen en el siguiente orden los tratamientos T<sub>2</sub> (MS + 2.5 mg L<sup>-1</sup> BAP), T<sub>3</sub> (MS + 5.0 mg L<sup>-1</sup> BAP) y T<sub>4</sub> (MS + 7.5 mg L<sup>-1</sup> BAP), con valores de; 0.003, 0.00 y 0.00, respectivamente. Se pudo observar que el tratamiento sin fitoregulador de crecimiento fue el mejor en longitud de brotes, superando a los tratamientos con cantidades de 2.5, 5.0 y 7.5 mg/L, de BAP.

Estos resultados guardan relación a lo encontrado por González *et al.*, (2017), quienes obtuvieron 34 microbrotes los cuales fueron sembrados en medio MS sin inoculación de reguladores de crecimiento. Este comportamiento pudo deberse a la alta rusticidad manifiesta en la especie, *Moringa oleífera* (Pérez, 2012).

**Tabla 4.** Análisis de varianza y prueba de Duncan para longitud (cm) promedio de brotes, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación in vitro de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Análisis de varianza		Prueba de Duncan		
Fuente de Variación	Signif	Tratamientos	Prom (cm)	Duncan (5%)
TRATAMIENTOS	**	T <sub>1</sub> (MS - 1962) Testigo	0.681	a
		T <sub>2</sub> (MS + 2,5 mg L-1 BAP)	0.003	b
		T <sub>3</sub> (MS + 5,0 mg L-1 BAP)	0.000	b
		T <sub>4</sub> (MS + 7,5 mg L-1 BAP)	0.000	b

CV = 15.03%



**Figura 4.** Longitud (cm) promedio de brotes, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación in vitro de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

#### 4.2.3. Longitud promedio radicular de la plántula (cm)

El análisis de varianza de la variable longitud radicular (cm) se presenta en la Tabla 5. Se observa que existen diferencias estadísticas no significativas para tratamientos, lo que indica homogeneidad entre los medios de cultivo. El coeficiente de variabilidad de 32.31%, es aceptable para las condiciones en que se ejecutó el estudio.

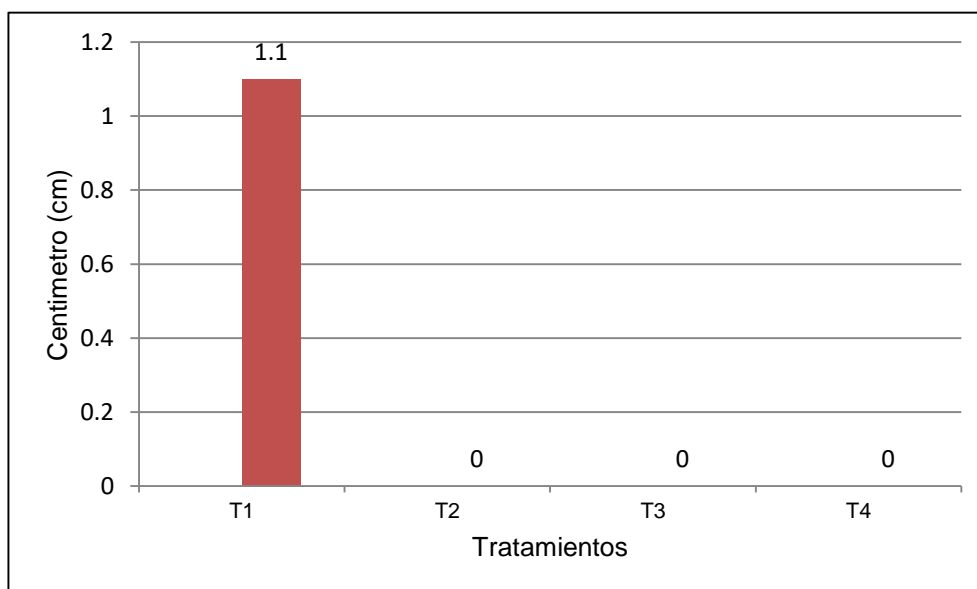
La prueba de Duncan al 5% (Tabla 5 y Figura 5), indica que existen diferencias estadísticamente no significativas entre los tratamientos. Es decir, todos los tratamientos presentan valores promedio similares, en la longitud de brotes en la fase de multiplicación de plántulas.

Sin embargo, el Testigo T<sub>1</sub> (MS - 1962) con 1.100 cm de longitud de la parte radicular, numéricamente superó significativamente al resto de tratamientos.

**Tabla 5.** Análisis de varianza y prueba de Duncan para longitud (cm) promedio radicular de la plántula, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación in vitro de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Análisis de varianza		Prueba de duncan		
Fuente de Variación	Signif	Tratamientos	Prom (cm)	Duncan (5%)
TRATAMIENTOS	ns	T <sub>1</sub> (MS - 1962) Testigo	1.100	a
		T <sub>2</sub> (MS + 2,5 mg L-1 BAP)	0.000	a
		T <sub>3</sub> (MS + 5,0 mg L-1 BAP)	0.000	a
		T <sub>4</sub> (MS + 7,5 mg L-1 BAP)	0.000	a

CV = 32.31%



**Figura 5.** Longitud (cm) promedio radicular de la plántula, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación in vitro de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

#### 4.2.4. Número de días promedio para el inicio de la multiplicación

La Tabla 6 de análisis de varianza presenta los resultado de la variable número de días al inicio de multiplicación de *Moringa oleífera*. Se observa que existen diferencias estadísticas altamente significativas para los

medios de cultivo utilizados, e indica heterogeneidad de los tratamientos. El coeficiente de variabilidad de 1.09%, es aceptable para las condiciones de laboratorio en que se llevó a cabo el estudio.

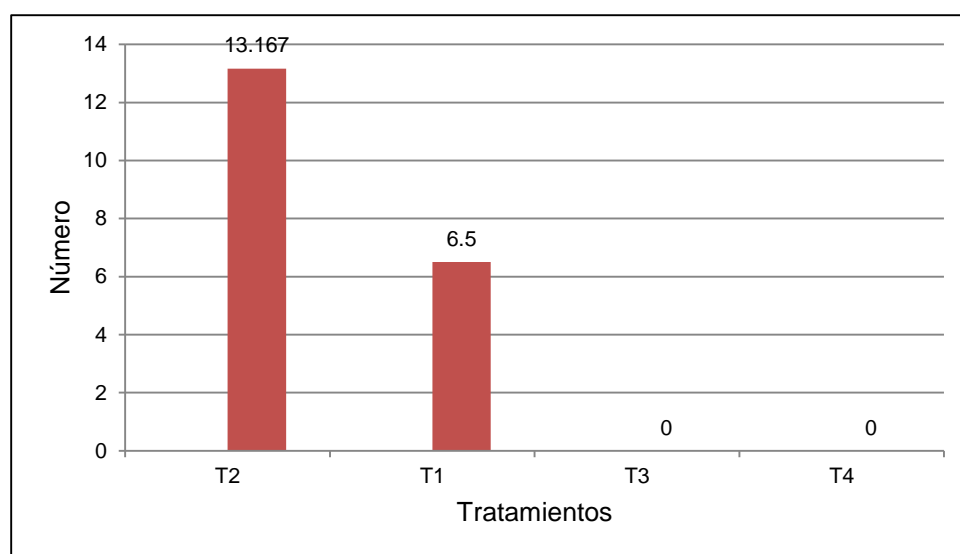
La prueba de Duncan al 5% presenta los valores promedio de número de días de inicio de la multiplicación (Tabla 6 y Figura 6), se observa diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. El tratamiento con el valor más alto con 13.17 días lo obtuvo el testigo T<sub>1</sub> (MS - 1962), a continuación le sigue el T<sub>2</sub> (MS + 2,5 mg L<sup>-1</sup> BAP), con 6.50 días para el inicio de multiplicación. Los tratamientos T<sub>3</sub> (MS + 5,0 mg L<sup>-1</sup> BAP) y T<sub>4</sub> (MS + 7,5 mg L<sup>-1</sup> BAP), carecen de información considerablemente numérica.

Los resultados encontrados en este experimento guardan relación con lo reportado por González *et al.* (2017), quienes al realizar un trabajo para el establecimiento de la etapa de micro-propagación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam., lograron obtener micro-brotes cuya prosperidad fue en medio (MS) sin inoculación de reguladores de crecimiento. Esto demuestra que *Moringa oleífera* es una especie de alta capacidad de regeneración *in vitro* y de promoción de nuevos brotes, al tiempo que posee una importante tasa de crecimiento radicular.

**Tabla 6.** Análisis de varianza y prueba de Duncan para número de días promedio para el inicio de la multiplicación, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación in vitro de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Análisis de varianza		Prueba de duncan			
Fuente de Variación	Signif	Tratamientos	Prom (días)	Duncan (5%)	
TRATAMIENTOS	**	T <sub>1</sub> (MS - 1962) Testigo	13.17	a	
		T <sub>2</sub> (MS + 2,5 mg L-1 BAP)	6.50	b	
		T <sub>3</sub> (MS + 5,0 mg L-1 BAP)	0.00	c	
		T <sub>4</sub> (MS + 7,5 mg L-1 BAP)	0.00	c	

CV = 1.09%



**Figura 6.** Número de días promedio para el inicio de la multiplicación, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación in vitro de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

#### 4.2.5. Materia seca de la parte aérea (g) a los 30 días

En la Tabla 7, se reportan los resultados de análisis de varianza de la materia seca (g) de la parte aérea a los 30 días. Se observa diferencias estadísticas no significativas para tratamientos; es decir, es probable existe homogeneidad de factores en la conformación de los medios de cultivo. El valor de 2.87% de coeficiente de variabilidad, es aceptable para las condiciones de laboratorio en el cual se ejecutó el experimento.

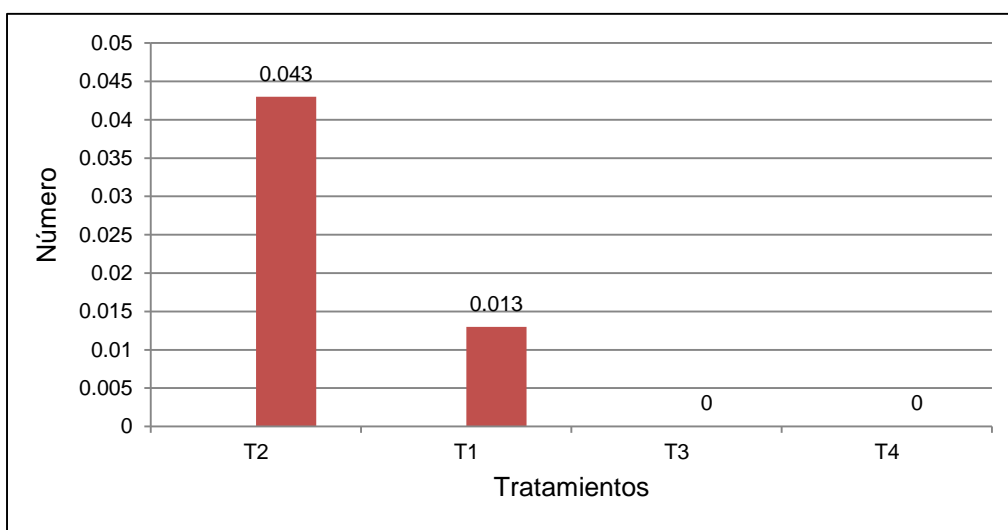
La prueba de Duncan al 5% (Tabla 7 y Figura 7), se observa que existen diferencias no significativas entre los promedios para materia seca de la

parte aérea de la planta, indica indicios de homogeneidad de los factores en los medios de cultivo. Sin embargo, se observa diferencia numérica en los tratamientos en donde el T<sub>2</sub> (MS + 2,5 mg L<sup>-1</sup> BAP) con 0.043 g, ocupa el primer lugar del conjunto de tratamientos.

**Tabla 7.** Análisis de varianza y prueba de Duncan para materia seca (g) de la parte aérea a los 30 días, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Análisis de varianza		Prueba de duncan		
Fuente de Variación	Signif	Tratamientos	Prom (g)	Duncan (5%)
TRATAMIENTOS	ns	T <sub>2</sub> (MS + 2,5 mg L <sup>-1</sup> BAP)	0.043	a
		T <sub>1</sub> (MS - 1962) Testigo	0.013	a
		T <sub>3</sub> (MS + 5,0 mg L <sup>-1</sup> BAP)	0.000	a
		T <sub>4</sub> (MS + 7,5 mg L <sup>-1</sup> BAP)	0.000	a

CV = 2.87%



**Figura 7.** Materia seca (g) de la parte aérea a los 30 días, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

#### 4.2.6. Materia seca de la parte radicular (g) a los 30 días

La tabla 8 de análisis de varianza encontró diferencias estadísticas altamente significativas para tratamientos, lo que indica que existen diferencias entre los promedios de medios de cultivo, respecto a la variable materia seca (g) de la parte radicular a los 30 días. El coeficiente de

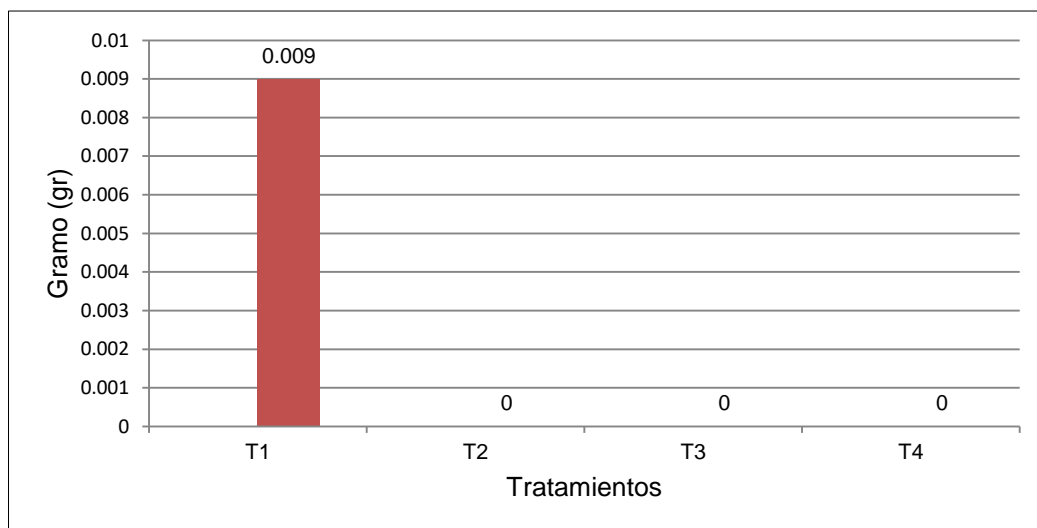
variabilidad de 0.07%, diríamos que para las condiciones de laboratorio donde se instaló el experimento es aceptable.

La prueba de rango múltiple de Duncan al 5% (Tabla 8), indica que existen diferencias significativas entre el conjunto de medios de cultivo. Se observa que el medio de cultivo T<sub>1</sub> (MS - 1962) con promedio de 0.009 g, obtuvo el promedio más alto de peso de materia seca de la parte radicular de la planta. En la Figura 8, se visualiza objetivamente el comportamiento de los tratamientos.

**Tabla 8.** Análisis de varianza y prueba de Duncan para materia seca (g) de la parte radicular a los 30 días, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

Análisis de varianza		Prueba de duncan		
Fuente de Variación	Signif	Tratamientos	Prom (g)	Duncan (5%)
TRATAMIENTOS	**	T <sub>1</sub> (MS - 1962) Testigo	0.009	a
		T <sub>2</sub> (MS + 2,5 mg L-1 BAP)	0.000	b
		T <sub>3</sub> (MS + 5,0 mg L-1 BAP)	0.000	b
		T <sub>4</sub> (MS + 7,5 mg L-1 BAP)	0.000	b

CV = 0.07%



**Figura 8.** Materia seca (g) de la parte radicular a los 30 días, en determinación de medios de cultivo para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *Moringa oleífera* Lam (moringa).

## V. CONCLUSIONES

Se llegó a las siguientes conclusiones, válidas para las condiciones en que se llevó a cabo el experimento.

- En medio de cultivo *in vitro* en fase de establecimiento de *Moringa oleífera* Lam, el mayor porcentaje de brotes prendidos se logró con el tratamiento T<sub>2</sub> (MS + 2,5 mg L<sup>-1</sup> BAP) con 2.81% brotes. Asimismo, el tratamiento que produjo el mayor porcentaje de plantas normales fue el testigo T<sub>1</sub> (MS - 1962) con 87.50% de plantas.
- En medio de cultivo *in vitro* en fase de multiplicación de *Moringa oleífera* Lam, el mayor número de brotes producidos lo obtuvo el testigo T<sub>1</sub> (MS - 1962) con 1.56 brotes. Asimismo, la mayor longitud de brotes con 0.681 cm, la mayor longitud de la parte radicular con 1.100 cm, y con 13 días para dar inicio a la multiplicación, lo obtuvo el testigo T<sub>1</sub> (MS - 1962).

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Repetir el experimento adicionando en los medios de cultivo, otras sustancias orgánicas de origen natural.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfaro, NC. 2008. Rendimiento y uso potencial de Paraíso Blanco, *Moringa oleífera* Lam, en la producción de alimentos de alto valor nutritivo para su utilización en comunidades de alta vulnerabilidad alimenticia-nutricional de Guatemala. Informe final, proyecto FODECYT, N° 26, 2006.
- Alfaro, Norma C; Martínez, W. 2008. “Uso potencial de la moringa (*Moringa oleífera* Lam.), para la producción de alimentos nutricionalmente mejorados”. INCAP, Guatemala. 31 p.
- Arias, SC. 2014. “Estudio de las posibles zonas de introducción de *la Moringa oleífera* Lam, en la Península Ibérica, Islas Baleares e Islas canarias”. Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Universitaria de Ingeniería Forestal. Madrid - España.
- Cáceres Montes, CM; Díaz Ayala, JC. 2005. Propuesta de Tratamiento de Aguas de Desecho de una Industria Química de Adhesivos utilizando Extracto Acuoso de la Semilla de *Moringa oleífera* (Teberinto), Trabajo de Grado, Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia, San Salvador, El Salvador.
- Carrillo, L E A. 1997. “Manipulación de Plantas Madres para Enraizamiento”. Consultado el 27 de Junio del 2015. Disponible en: [www.monografías.com/trabajos12/maniplan/moniplan.shtm89k-](http://www.monografías.com/trabajos12/maniplan/moniplan.shtm89k-)
- Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal “Enrique Álvarez Córdova” (CENTA), San Andrés, La Libertad, El Salvador, C.A. Accedido el 27 de diciembre del 2018, [www.centa.gob.sv](http://www.centa.gob.sv)
- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press.
- CONCYT, 2008. Uso potencial de la Moringa (*Moringa oleífera* LAM) para la producción de alimentos nutricionales y mejorados. Consultado el 28 de

septiembre de 2011. Disponible en:  
[www.sica.int/búsqueda/busqueda\\_archivo.aspx?Archivo=libr...3](http://www.sica.int/búsqueda/busqueda_archivo.aspx?Archivo=libr...3).

Cultivo de Tejidos, Accedido el 27 de diciembre del 2018  
[https://www.ecured.cu/Cultivo\\_de\\_Tejidos](https://www.ecured.cu/Cultivo_de_Tejidos)

EDUCAred, Micropropagación de plantas Accedido el 27 de diciembre del 2018,  
[https://www.ecured.cu/Micropropagaci%C3%B3n\\_de\\_plantas](https://www.ecured.cu/Micropropagaci%C3%B3n_de_plantas)

Falasca, S; Bernabé, MA. 2008. "Potenciales usos y delimitación del área de Cultivo de *Moringa oleífera* en Argentina". Redesma.

Figuroa Vera, RF. 2015. *Efectos de diferentes dosis de citoquinina en interacción con un compuesto orgánico en la germinación in vitro de semilla de moringa, Moringa oleífera Lam* (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala).

Foils y Siles, 1995. Los primeros pasos en busca de un sustituto de la proteína en la comida de las aves. Edit. Distraves S.A, Santander.

Foild, N; Mayorga, L; Vásquez, W. 1999. Utilización del marango (*Moringa oleífera*) como forraje fresco para el ganado. Conferencia electrónica de la FAO sobre agroforestería para la producción animal en América Latina.

Godino, M; Vázquez, T; Izquierdo, MI; Pérez, C. 2013. Estudio de la incidencia de los factores ecológicos abióticos (temperatura y humedad) en la germinación y desarrollo de la *Moringa oleífera* Lam. 6º Congreso Forestal de España. Vitoria-Gasteiz, País Vasco. Documento 6CFE01-523. Pp. 2-14.

González, LEA; Bedoya, LC; López, CG; Maldonado, AC. 2017. Establecimiento de la primera etapa de un cultivo in vitro de moringa (moringa oleífera Lam.). *Revista Nova*, 3, 59-69. Info Jardín, Accedido el 27 de diciembre del 2018 <http://articulos.infojardin.com/Frutales/cultivo-in-vitro-reproduccion.htm>

- Lamarck, J-BPM. 1785. Encyclopédie Méthodique Botanique 1(2): 398. París (Francia).
- La reproducción de las plantas: semillas y meristemo, Autores: carlos vázquez yanes / alma orozco / mariana rojas / maría esther sánchez / virginia cervantes Accedido el 27 de diciembre del 2018 [http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/sec\\_6.htm](http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/sec_6.htm)
- Liñan, F. 2010. *Moringa oleífera*: el árbol de la nutrición. Artículo de revisión. Ciencia y salud virtual. Vol. 2. Corporación Universitaria Rafael Núñez. Cartagena, Colombia.
- Maíz, N. 2011. *Moringa oleífera*. La planta de los mil usos. Abc Rural. 1 p.
- Matos Ruiz, A; Capote Betancourt, I; Pérez Martínez, A; Lezcano Más, Y; Aragón Abreu, CE; Pina Morgado, D; Escalona Morgado, M. 2016. Propagación in vitro de cultivares de *Moringa oleífera* Lam. *Cultivos Tropicales*, 37, 49-56.
- Mejía, LJ; Mora, AP., 2008. Efecto de la suplementación con *Moringa oleífera* sobre el comportamiento productivo de ovinos alimentados con una dieta basal de pasto guinea (*Panicum maximum* Jaqc.) Tesis. 73 p.
- Muhl, QE; Du Toit, E; Robbertse, PJ. 2011. Adaptability of *Moringa oleífera* Lam. (Horseradish) tree seedlings to three temperature regimes. *American Journal of Plant Sciences*, 2011(2): 776-780.
- Murashige, T; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15: 473-497. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii.
- Olson, M; Fahey, J. 2011. *Moringa oleífera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. *Rev. Mex. Biodiv.* 82:1071-1082.
- Pacheco, RM. 2006. Análisis del intercambio de plantas entre México y Asia de los siglos XVI al XIX. Master's Thesis. UNAM. México.

- Parrota, JA. 1993. Enzyklopädie der Holzgewächse – 40. Erg.Lfg.
- Pérez, A; Sánchez, T; Armengol, N; Reyes, F. 2010. Características y potencialidades de *Moringa oleífera* Lamark. Una alternativa para la alimentación animal. Pastos y forrajes, 33 (4): 16 p.
- Pérez, E. 2011 “Caracterización agronómica y nutricional de *Moringa oleífera* para la alimentación de bovinos en desarrollo”. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey. Matanzas, Cuba. 62 p.
- Pérez, C. 2012. “Trabajo de Fin de Carrera: *Moringa oleífera* Lam., especie forestal de usos múltiples. Revisión bibliográfica”. E.U.I.T. Forestal (U.P.M.) Madrid.
- Pierik, RLM. 1989. “Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. Editores – Prensa. España.
- Radovich, T. 2011. (Revised). Farm and forestry production and marketing profile for moringa (*Moringa oleífera*). In: Elevitch, C.R. (ed.). Specialty Crops for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii.
- Reyes, N; Ledin, S; Ledin, I. 2006. Biomass production and chemical composition of *Moringa oleífera* under different management regimes in Nicaragua. Agroforestry Systems, 66(3): 231-242.
- Roca, W; Mroginski, LA. 1993. “Cultivo de Tejidos en la Agricultura”. Unidad de Investigación en Biotecnología, Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia.
- Roloff, A; Weisgerber, H; Lang, U; Stimm, B. 2009. Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. ISBN: 978-3-527-32141-4.
- Saint Sauveur, A; Broin, M. 2010. Growing and processing moringa leaves. Moringanews/Moringa association of Ghana. 36 p.

Saldarriaga, SFE. 2007. "Determinación del medio de cultivo *in vitro* para la propagación masiva de noni (*morinda citrifolia* L.), mediante yemas". Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Tumbes.

## **VIII. ANEXOS**



Figura 9. Frutos y semillas de Moringa (*Moringa oleifera* Lam)



Figura 10. Formulación y preparación de medios de cultivo



Figura 11. Desinfección de material genético de propagación



Figura 12. Siembra de material genético, fase de establecimiento

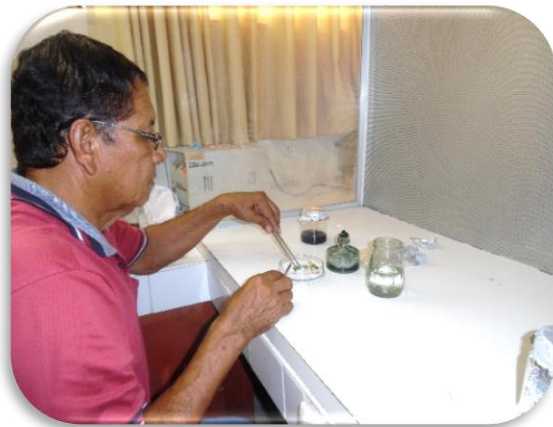


Figura 13. Siembra de material genético, fase de multiplicación

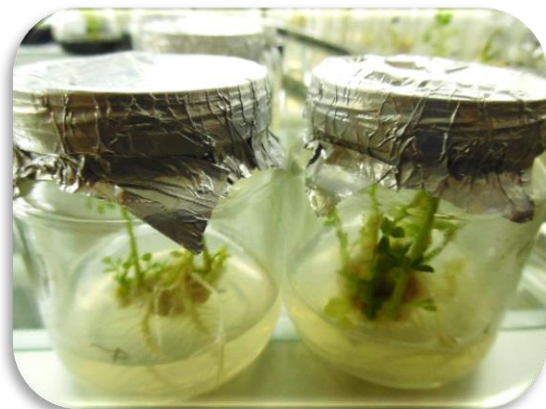


Figura 14. Establecimiento y Multiplicación *In Vitro* de *Moringa Oleifera* Lam.