

**ANÁLISIS CUANTITATIVO Y CUALITATIVO DE LA HOMOGENEIDAD
FENOTÍPICA DE PLANTAS MICROPROPAGADAS DE ESTÁTICE
(*Limonium sinuatum*) cv. MIDNIGHT BLUE.***

**Quantitative and Qualitative Analysis of the Phenotypic Homogeneity
of Micropropagated Plants of Statice (*Limonium sinuatum*) cv.
Midnight blue.**

Jaime Pedroza ¹, Germán Corchuelo ² y Antonio Angarita ²

RESUMEN

Se realizó la evaluación cuantitativa y cualitativa de la homogeneidad fenotípica, de plantas de estátice (*Limonium sinuatum* Mill.) cv. Midnight Blue propagadas mediante los sistemas *in vitro* a partir de yemas vegetativas y florales, expresada como la acumulación de materia seca, área foliar y duración de biomasa, para el primer caso, y expresión de la pigmentación en el cáliz, para el segundo, durante el primer ciclo de producción comercial. El análisis permite evidenciar que el desempeño fisiológico de las plantas multiplicadas sexual o asexualmente es similar; sin embargo, al momento de la floración, las plantas micropropagadas, independientemente del origen del explante inicial, muestran total homogeneidad en la expresión del color Azul violeta 90A en los sépalos, a diferencia de las multiplicadas sexualmente que manifiestan diferentes colores en esta estructura floral.

Palabras claves: Estátice, micropropagación, comportamiento fisiológico, pigmentación del cáliz.

SUMMARY

Field performance is described for tissue - cultured plants and conventional seed plants of statice (*Limonium sinuatum* Mill.) cv. Midnight Blue. Tissue cultured plants were produced by either regeneration of plants from vegetative buds or by micropropagation of plants from floral buds. The quantitative and qualitative evaluation of the phenotypic homogeneity was carried out as dry matter accumulation, leaf area and biomass duration for the first case, and expression of the pigmentation in the chalice for the second, during the first cycle of commercial production.

The analysis showed that the physiological performance is similar for sexually or asexually multiplied plants; however, the micropropagated plants showed total homogeneity in the expression of the violet blue color 90A in the sepals up to flowering, irrespective of the origin of the initial explant, whereas the sexually multiplied plants expressed color differences in this floral structure.

Key words: Statice, micropropagation, physiological performance.

INTRODUCCION

Una de las especies ornamentales que, en los últimos años, ha adquirido merecida importancia, desde el punto de vista económico e investigativo es el estátice (*Limonium sinuatum* Mill.), debido al incremento en su

* Recibido: Enero de 1997

1. Biólogo M. S. Apartado Aéreo 43079, Santafé de Bogotá. D. C.

2. Profesor Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. Apartado Aéreo 14496. Santafé de Bogotá, D. C.

producción con fines de exportación, aunque su rendimiento agronómico sea afectado por la alta incidencia de patógenos y la heterogeneidad fenotípica causada por la reproducción sexual (Bienkowska *et al.*, 1994; Buitrago y Saavedra., 1982; Lawson *et al.*, 1985). Esta situación ha motivado el establecimiento de nuevas metodologías de multiplicación y control fitosanitario, como es el caso de la propagación vegetativa *in vitro*, con el propósito de regenerar material libre de patógenos y fenotípicamente homogéneo (Ruiz, 1990); sin embargo, la aplicación de estos sistemas de regeneración vegetal a nivel industrial se ha visto afectada por la ausencia de adecuada información técnica en laboratorio y campo que permita su utilización, especialmente la relacionada con su estabilidad genotípica, teniendo en cuenta la variación somaclonal que se puede encontrar en las plantas regeneradas por este sistema de multiplicación asexual, máxime cuando iniciamos el cultivo a partir de diferentes tipos de explante.

Por esta razón, en este trabajo se presenta la evaluación de la homogeneidad fenotípica de forma cuantitativa, expresada como la acumulación de materia seca, área foliar y duración de biomasa y cualitativa, en términos de la expresión de la pigmentación del cáliz, de plantas multiplicadas sexual y asexualmente mediante los sistemas *in vitro*.

MATERIALES Y METODOS

El material vegetal consistió de yemas vegetativas y florales provenientes de una planta en segundo ciclo productivo y semillas de uso comercial de estática (*Limonium sinuatum* Mill. cv. Midnight Blue). La fase de adaptación a condiciones *in vitro*, micropropagación y establecimiento a condiciones de exterior se realizó según las metodologías de Bienkowska *et al.*(1994), Ovideo y Guevara (1988) y Ruiz (1990).

De igual forma, durante el crecimiento y desarrollo de las plantas de estática micropropagadas y derivadas de semilla en condiciones de invernadero, se utilizaron los procedimientos empleados tradicionalmente

por la Finca Agrícola La Fontana, localizada en la vereda Bojacá del municipio de Chía, Cundinamarca.

Las plántulas enraizadas y adaptadas a condiciones de exterior permanecieron por dos semanas bajo una cubierta de polisombra, junto con el material vegetal que provenía de semilla para ser distribuidas y sembradas, en tres camas o bloques que corrigen los gradientes de temperatura y corrientes de aire. Los tres tipos de materiales, derivados de yema vegetativa, yema floral y semilla, se establecieron aleatoriamente en el sitio definitivo o bloque, con una distancia de siembra entre plántulas e hileras de 40 y 30 cm, respectivamente. Para evitar el efecto de borde, en los extremos de cada bloque se establecieron, de forma simultánea con el material a evaluar, plantas micropropagadas de las variedades Rose light, Heaven blue y Iceberg, en este orden y dirigidas hacia el centro de las unidades experimentales.

Con el fin de evaluar cuantitativamente el desempeño fisiológico y la homogeneidad fenotípica de las plántulas micropropagadas y las regeneradas a partir de semilla sexual, se seleccionaron al azar dos plántulas de cada tratamiento y bloque cada quince días y durante 28 semanas, para un total de 14 periodos evaluados, hasta alcanzar el día 210, exactamente cuando había pasado el máximo rendimiento en producción agronómica, para determinar la siguiente información :

- Acumulación de Materia Seca: Las respuestas de las plantas se evaluaron en términos del peso seco de hojas, tallos vegetativos, tallos florales y total por planta (Gomm, 1978).

- Area Foliar: Los métodos aerímetros y analizadores de imagen se utilizaron, porque proveen la mejor precisión, menor variabilidad en los resultados y los menores tiempos para tomar las medidas, aunque utilicen equipos costosos (Beerling y Fry, 1990).

- Duración de Biomasa: Se determinó como el área bajo la curva del peso seco de cultivo vs. Tiempo y corresponde a una medida aproximada de la vitalidad del material vegetal (Hunt, 1990).

- Tasa de Crecimiento Absoluto en Tamaño (peso y longitud) y Número de Macollas.

El análisis cualitativo se realizó en términos de la expresión de la pigmentación floral, particularmente la del cáliz, que es la estructura floral de atractivo comercial, empleando la carta de colores de la Royal Horticultural Society of London.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados son evaluados y presentados de acuerdo con Steel, y Torrie (1985), en un Diseño de Bloques Completos al Azar con dos submuestreos y tres repeticiones por tratamiento, una vez evaluada la correspondiente prueba de normalidad para cada variable y en cada una de las 15 observaciones. Los tratamientos corresponden a:

- Tratamiento 1 (T1): Plantas micropropagadas a partir de yema vegetativa.
- Tratamiento 2 (T2): Plantas micropropagadas a partir de yema floral.
- Tratamiento 3 (T3): Plantas multiplicadas por semilla.

En aquellas variables respuesta donde se encontró estadísticamente diferencias significativas o altamente significativas entre los tratamientos, se emplearon, como pruebas de comparación, los Contrastes Ortogonales, considerando las siguientes comparaciones (Z_i), previamente planeadas:

- Z_1 : Propágulos Asexuales vs. Propágulos Sexuales
- Z_2 : Propágulo de Yema Vegetativa vs. Propágulo de Yema Floral

RESULTADOS Y DISCUSION

ANÁLISIS CUANTITATIVO

Acumulación de materia seca en hojas: Entre las lecturas 4 y 9, ocurre un aumento significativo, con incrementos oscilatorios y asimétricos en la pendiente, para las plantas micropropagadas y entre las 4 y 10, para las multiplicadas sexualmente (Figura 1a). Este comportamiento sugiere una actividad particular en la producción y distribución de

biomasa en el cuerpo de la planta que, durante la fase vegetativa (hasta la lectura 6) y parte de la reproductiva, presumiblemente se encuentra sintetizando biomasa en los tejidos foliares para ser exportada al principal órgano de crecimiento y, por consiguiente, de demanda en este momento del desarrollo vegetal para los tallos florales. Después de la lectura 9, se observa una marcada disminución en la acumulación de biomasa foliar que evidencia una menor inversión en hojas y mayor exportación de fotosintatos.

Acumulación de materia seca en tallos vegetativos: Entre las lecturas 6 y 9, sucede un aumento en la acumulación de biomasa en esta estructura vegetal con una mayor pendiente entre las lecturas 8 y 9 de las micropropagadas que, parcialmente, coincide con el comportamiento del tejido foliar. De esta forma, se nota que en esta fase del desarrollo, los tallos vegetativos, además de acumular materia seca involucrada en su crecimiento y desarrollo, son órganos de almacenamiento temporal de fotosintatos que, después de la semana 18 (Lectura 9), serán exportados, principalmente, hacia los tallos florales (Figura 1b).

Acumulación de materia seca en tallos florales: Para los tres tipos evaluados, es característico el comportamiento ascendente y homogéneo de esta variable, a partir de la lectura 8 y hasta la 13, donde se evidencia que el principal órgano de crecimiento y, por consiguiente, de demanda de fotoasimilados, en esta fase del desarrollo vegetal, es el tallo floral (Figura 1c). De otra parte, es importante destacar que, además de la fuerte demanda de fotosintatos desde los tejidos foliares y tallos vegetativos, los tallos florales tratan de solventar sus necesidades metabólicas, utilizando una estrategia, seguramente exitosa evolutivamente, que consiste en producir tejido fotosintético sobre una superficie que geoméricamente ofrece buenas ventajas funcionales.

Acumulación de materia seca total por planta: A través de las 28 semanas evaluadas, existen diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0,05$) entre las plantas micropropagadas y las derivadas de se-

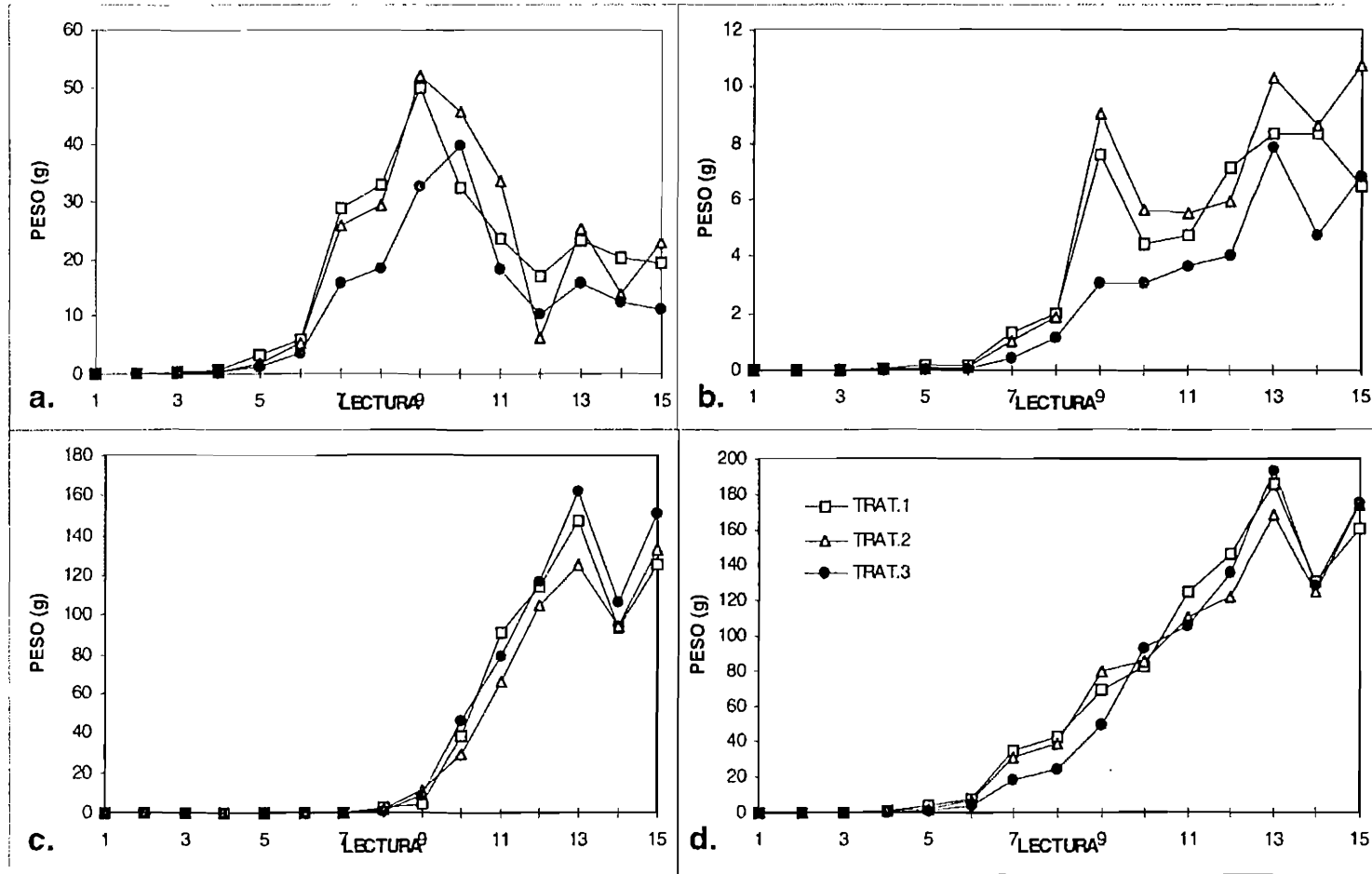


Figura 1. Acumulación de materia seca por tratamiento y lectura. a. En hojas; b. En tallos vegetativos; c. Total por planta.

milla en las lecturas 1; 2; 5; 7; 8 y 9, que favorecen a las multiplicadas *in vitro*. En términos generales, se puede afirmar que, durante el crecimiento vegetativo (seis primeros periodos) y parte del reproductivo (hasta la semana 18), las plantas multiplicadas asexualmente presentan una mayor acumulación de materia seca que las obtenidas sexualmente; sin embargo, a partir de la semana 19, ocurre un efecto compensatorio, ocasionado por el desarrollo de tallos florales que causa, para los tres tipos de plantas, una acumulación de materia seca total por planta estadísticamente semejante (Figura 1d). Es importante destacar que las diferencias obtenidas en esta variable son influidas, simultánea y de forma constante, durante las primeras 18 semanas, por la acumulación de biomasa en los tallos vegetativos y, principalmente, en las hojas. De igual forma, el comportamiento oscilatorio y asimétrico que presenta la pendiente en la acumulación de materia seca total por planta, donde se alternan pulsos pequeños y grandes, va a incidir de forma directa en las fluctuaciones de la información derivada, particularmente la relacionada con los índices de crecimiento.

Area foliar

Con respecto al área foliar, se observa un notable incremento a partir de la lectura 4, como consecuencia del aporte simultáneo, tanto de las hojas como de los tallos florales, el cual trata de mantenerse ligeramente constante desde la lectura 10 hasta la 13, posiblemente por un efecto compensatorio, donde las hojas con distribución horizontal exportan y disminuyen en biomasa y número, mientras que los tallos florales aumentan su crecimiento y desarrollo con superficies fotosintéticas distribuidas verticalmente, presumiblemente como una respuesta adaptativa desde el punto de vista evolutivo.

De otra parte, las diferencias estadísticas encontradas en el área foliar entre los tres tipos de plantas, favorecen a las plantas micropropagadas con respecto a las provenientes de semilla (Figura 2) y, posiblemente, ocurren como consecuencia de la previa actividad metabólica en condiciones *in vitro* de estas plantas, que ha provocado la síntesis

y acumulación parcial de biomasa, acompañada de una mayor eficiencia en el mantenimiento de la superficie asimiladora durante más tiempo, tal como se evidencia en la Duración de Biomasa; además, la respuesta total de crecimiento incrementa en una tasa muy baja durante esta fase hasta el inicio y desarrollo de la fase reproductiva, situación que sugiere un cambio en la actividad fisiológica del material vegetal (Saldivar *et al.*, 1992) que, a partir de este momento, y probablemente por un efecto compensatorio, los tres tipos de plantas incrementan la tasa de biosíntesis y acumulación de materia seca en los tallos florales en forma similar. Así, a medida que los tallos florales inician su desarrollo, estos se convierten en fuertes demandas de fotoasimilados sintetizados en las hojas que son movilizados y acumulados como materia seca o utilizados en el crecimiento y diferenciación de sus partes. La falta de un control de retroalimentación entre las hojas y los tallos florales provoca la senescencia foliar, antes y durante la floración y determina una actividad fotosintética en la superficie de los tallos florales (Egli y Leggett, 1976; Fiez *et al.*, 1991), que trata de compensar la ausencia de las hojas en esta fase del desarrollo vegetal con el fin de mantener un área foliar que intercepte suficiente energía solar, buscando que sean potencialmente más productivos (Valencia, 1973), aunque las plantas con mayor área foliar en el periodo reproductivo presenten un menor rendimiento (Aguilar *et al.*, 1984).

Duración de la Biomasa: Existen diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0,01$) en la fase vegetativa y las dos primeras etapas de la reproductiva que favorecen a las plantas micropropagadas sobre las regeneradas a partir de semilla.

Bajo la concepción de que este índice es una medida aproximada de la vitalidad del material vegetal (Hunt, 1990), se destaca el buen estado de desarrollo en que se encuentran las plantas micropropagadas durante la fase de transición de semillero a sitio definitivo y de la fase vegetativa a reproductiva, comparadas con las regeneradas sexualmente (Figura 2); sin embargo, por efectos compensatorios de tipo metabólico, la dura-

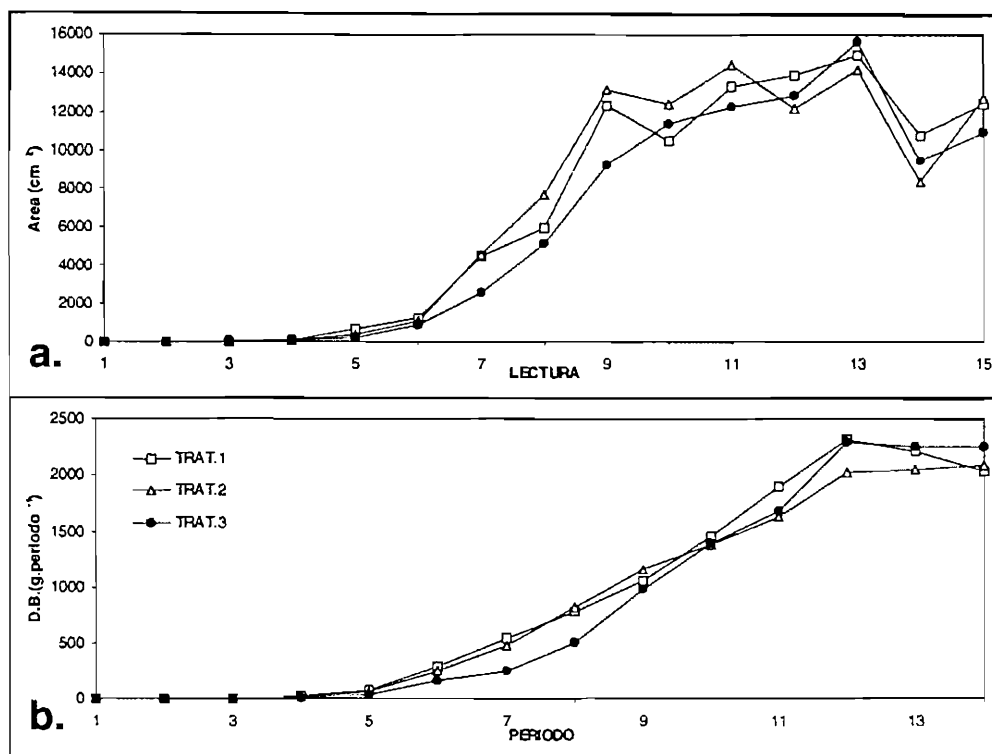


Figura 2. a. Area Foliar Promedio por Tratamiento; b. Duración promedio por Tratamiento.

ción de biomasa y el estado fisiológico de las plantas evaluadas es similar a lo largo de las 28 semanas de observación.

Tasa Absoluta de Crecimiento: Únicamente, se presentaron diferencias estadísticas altamente significativas entre las plantas micropropagadas y las regeneradas a partir de semilla en los periodos 4 y 6, con respecto a la tasa absoluta de crecimiento en peso, mientras que la tasa absoluta de crecimiento en número de macollas y longitud de tallo floral no presentó diferencias.

Considerando que, en el crecimiento vegetal, el tejido fotosintético realiza la principal contribución en la producción de materia seca y que la tasa absoluta de crecimiento (TAC), en cualquier momento, es el producto de la tasa de incremento en peso por unidad de área foliar y la cantidad de hojas presentes (Jackson, 1963), se nota que esta última variable afecta seriamente el comportamien-

to de la TAC en el material evaluado durante la fase vegetativa, particularmente, en la lectura cinco, que incide tanto al periodo cuatro como al seis, donde las reproducidas asexualmente son ligeramente favorecidas, especialmente, las derivadas de yemas vegetativas.

ANÁLISIS CUALITATIVO

A pesar de la homogeneidad fisiológica que, desde el punto de vista cuantitativo, presentó el material evaluado, especialmente durante la fase reproductiva, al momento de la floración se evidenciaron diferencias contundentes en la expresión de la pigmentación floral entre las plantas analizadas, donde las multiplicadas *in vitro* mostraron una gran estabilidad fenotípica (color azul violeta, 90 A), independientemente del tipo de explante utilizado en la etapa inicial, a diferencia de las reproducidas sexualmente que presentaron un am-

plio espectro de variación entre plantas para esta variable (17 colores diferentes), que iba desde el color azul violeta hasta el violeta, pasando por varios subgrupos (Cuadro 1).

Estos resultados evidencian, una vez más, la gran estabilidad genotípica manifestada a través del fenotipo y presentada por el tejido meristemático que, gracias a su estructuración tisular, le favorecen continuar con el proceso morfogénico en condiciones de cultivo aséptico; así, se sabe que los meristemas preexistentes en las yemas guardan un estricto control de su expresión, en términos de estabilidad genética como resultado de dos factores, a saber:

En primer lugar, se ha sugerido que este tejido embrional posee más mecanismos de reparación del ácido desoxirribonucleico (ADN) que los presentes en tejidos desorganizados, promoviendo que las mutaciones sean menos probables de acumularse. Segundo, los ápices apicales presentan una estructura compleja consistente en dos capas multicelulares que se mantienen en los meristemas axilares subsecuentes (Hanson y Kenny, 1985; Stafford y Warren, 1991 ; Vasil, 1984). Por ello, se ha establecido que la estabilidad meristemática está gobernada por un mecanismo sencillo, que controla la tasa de incremento de división celular

Cuadro 1. Porcentaje de la Expresión de Colores en el Cáliz de *Limonium sinuatum* Mill. cv. Midnight Blue Micropropagadas y Derivadas de Semilla.

MATERIAL VEGETAL	COLOR *	PORCENTAJE (%)
• MICROPROPAGADO		
YEMA VEGETATIVA	Azul Violeta 90 A	100
YEMA FLORAL	Azul Violeta 90 A	100
• DE SEMILLA		
	1. Azul Violeta 90 A	18
	2. Azul violeta 90 B	16
	3. Azul Violeta 91 C	4
	4. Azul Violeta 92 B	2
	5. Azul violeta 92 C	1
	6. Azul Violeta 93 A	3
	7. Azul violeta 93 B	2
	8. Violeta 81 B	1
	9. Violeta 83 B	6
	10. Violeta 83 C	5
	11. Violeta 85 A	7
	12. Violeta 85 C	9
	13. Violeta 86 A	7
	14. Violeta 86 B	6
	15. Violeta 86 C	7
	16. Violeta 88 A	3
	17. Violeta 88 B	3

desde la parte más superior del ápice hasta el anillo inicial, facultando a toda la zona meristemática para reinducir una copia exacta de la planta (Brown y Lörz, 1984).

De esta forma, y como era de esperar, las plantas derivadas de la multiplicación asexual presentaron, independientemente de la fuente del explante (yema vegetativa o floral), una gran homogeneidad fenotípica, a diferencia de las multiplicadas sexualmente que mostraron variabilidad en la expresión de la pigmentación de los sépalos como consecuencia de la segregación de caracteres heredados, propia de este sistema de reproducción.

En términos de crecimiento, las plantas micropropagadas, además de mostrar un desarrollo similar a las reproducidas por semilla, se destacan por la gran uniformidad de la floración, sin duda, de gran importancia con fines para la programación de la cosecha, particularmente, cuando se busca satisfacer ventajas de mercadeo tal como se ha presentado en otras especies de interés económico (Arias y Valverde, 1990 ; Toshihiko, 1986).

De otra parte y aunque algunos cultivos regenerados a partir de yemas florales son más precoces (Hartmann *et al.*, 1990), en este trabajo, se evidenció que no existieron diferencias en el desarrollo de las plantas derivadas a partir de estos dos tipos de explante (Yema Vegetativa y Yema Floral). Sin embargo, la posición de estos tejidos en el cuerpo de la planta favorece la selección de las yemas florales, por encontrarse en un ambiente con menor presión de potenciales contaminantes superficiales que disminuyen el éxito en el establecimiento a condiciones *in vitro* de esta especie y, por consiguiente, su masiva multiplicación.

Dadas las características vegetativas y de producción de las plantas obtenidas *in vitro* así como la ausencia de variación somaclonal, se puede afirmar que este tipo de material de siembra es una excelente alternativa fitosanitaria y de homogeneidad genotípica para la renovación de plantaciones de estátice, particularmente el cv. Midnight Blue.

CONCLUSIONES

- Las plantas micropropagadas inician la fase vegetativa con mayor biomasa, posiblemente como consecuencia del previo crecimiento *in vitro* a diferencia de las multiplicadas sexualmente que dependen, en este momento, de las reservas en la semilla y del proceso morfogenético de diferenciación.

- Las plantas micropropagadas muestran un mejor desempeño cuantitativo, en términos de crecimiento, que las producidas por semilla; sin embargo, en la fase reproductiva, el desarrollo de los tres tipos de plantas es homogéneo.

- En la fase vegetativa, las hojas son el principal órgano de crecimiento, mientras que, en la reproductiva, son los tallos florales, caracterizados por la fuerte demanda de fotosintatos.

- Desde el punto de vista cualitativo, los tres tipos de plantas presentaron un desempeño homogéneo durante la fase vegetativa y reproductiva hasta el momento previo a la apertura de los botones florales.

- Al momento de la apertura floral, las plantas micropropagadas muestran gran uniformidad fenotípica en la expresión de la coloración del cáliz, a diferencia de la variabilidad manifestada en las plantas multiplicadas sexualmente, para esta característica de interés económico.

- Teniendo en cuenta la calidad fitosanitaria y homogeneidad fenotípica, independientemente del tipo de explante utilizado en la micropropagación, la propagación masiva empleando la proliferación de brotes axilares es una buena alternativa en el establecimiento de cultivos de estátice cv. Midnight blue.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la empresa de flores Agrícola la Fontana del grupo Farm Fresh Flowers por su colaboración técnica y logística. A los doctores Juan Manuel Herrera y Jairo Clavijo, por sus valiosos aportes.

BIBLIOGRAFIA

AGUILAR, E., DÍAZ, F. y LAING, D. 1984. Efecto de la densidad de siembra sobre algunas características morfológicas y el rendimiento en frijol común (*P. vulgaris* L.). Turrialba 34 (1): 55-61.

ARIAS, O. y VALVERDE, M. 1990. Producción y variación somaclonal de plantas de banano variedad grand naine producidas por cultivo de tejidos. ASBANA: 6-11.

BEERLING, A. y FRY, J. 1990. A comparison of the accuracy, variability and speed of five different methods for estimating leaf area. Annals of Botany 65:483-488.

BIENKOWSKA, E. y NORWA, M. 1994. The environmental factors affecting growth and development of *Limonium sinuatum* in mother stock and *in vitro* culture. Abstracts VIIth International Congress of Plant Tissue and Cell Culture. Firenze, Italy.

BROWN, P. y LÖRZ, H. 1984. Molecular changes and possible origins of somaclonal variation. Páginas 148-159 en: Advances in agricultural biotechnology: Somaclonal variation and crop improvement. J. Semal, ed. Netherlands.

BUITRAGO, J. y SAAVEDRA, L. 1982. Pudrición de las flores de la corona del estático (*Limonium sinuatum* Mill) causado *Botrytis cinerea*. Tesis. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá, D.C.

EGLI, D. y LEGGETT, J. 1976. Rate of dry accumulation in soybean seeds with varying source - sink ratios. Agronomy Journal 68: 371-374.

FIEZ, T., NORBERG, O. y JOLLIFF, G. 1991. Dry matter production and carbohydrate accumulation in three meadowfoam lines. Crop Science 32: 1008-1014.

GOMM, F. 1978. Growth and development of meadow plants as affected by environmental variables. Agronomy Journal 70: 1061-1065.

HANSON, W. y KENNY, S. 1985. Genotypic differences in soybean affecting the rates of assimilate transport from the leaf. Crop Science 25: 229-234.

HARTMANN, H., KESTER, D. y DAVIES, F. 1990. Plant propagation: Principles and practices, 5^a. Edición. Prentice - Hall International Inc, New Jersey, E.U.A.

HUNT, R. 1990. Basic growth analysis: plant growth analysis for beginners, 1^a edición. Unwin Hyman Ltd., London, U.K.

LAWSON, R., BRANNIGAN, M. y FOSTER, J. 1985. Clover yellow vein virus in *Limonium sinuatum*. Phytopatology 75(8): 899-906.

OVIDEO, Y. y GUEVARA, E. 1988. Propagación *in vitro* de la estatícia (*Limonium sinuatum* c.v. Midnight blue). Agronomía Costarricense 12(1): 113-122.

RUIZ, O. 1990. Propagación vegetativa *in vitro* del estático (*Limonium sinuatum* Mill). Trabajo de grado para obtener el título de Biólogo. Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá, D.C.

SALDIVAR, A., OCUMPAUGH, W., GILDERLEEVE, R. y PRINE, G. 1992. Growth analysis of florigraze rhizoma peanut: Shoot and rizome dry matter production. Agronomy Journal 84: 444-449.

STAFFORD, A. y WARREN, G. 1991. Plant cell and tissue culture, 1^a edición. Open University Press, London, U.K.

STEEL, R. y TORRIE, J. 1985. Bioestadística: Principios y procedimientos, 2^a edición. McGraw - Hill. Santafé de Bogotá, D.C., Colombia.

TOSHIHIKO, H. 1986. Growth of individuals in plant populations. Annals of Botany 57: 57-68.

VALENCIA, G. 1973. Relación entre el índice de área foliar y la productividad del café. CENICAFE. Octubre - diciembre: 79-89.

VASIL, I. 1984. Cell culture and somatic cell genetics of plants, 1^a edición. Academic Press, Inc, New York, E.U.A.