

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 Cultivo de embriones

El estudio del cultivo de embriones de piñón se llevó a cabo a través de diferentes etapas, que incluyen la fase de desinfección, pruebas de viabilidad mediante tinción, tratamientos pregerminativos y evaluación de medios de cultivo.

3.1.1 Fase de desinfección

En el proceso de desinfección se evaluó la contaminación bacteriana, fúngica y la viabilidad de los mismos, a partir de tratamientos con hipoclorito de sodio en distintas concentraciones y tiempos de inmersión.

3.1.1.1 Contaminación bacteriana

a) Evaluación por tratamiento de desinfección

Se analizó cada tratamiento de desinfección planteado en el DCA con respecto a la contaminación bacteriana mediante una prueba chi cuadrado, donde el valor de significancia obtenido fue muy bajo (Tabla 3.1), lo que indica que existe dependencia entre los tratamientos de desinfección y la contaminación. Además se observó una buena desinfección con los tratamientos D8 a D13 (hipoclorito de sodio al 0,3 y 0,4% de 5 a 15h) (Tabla 3.2 y figura 3.1).

Tabla 3.1 Prueba chi cuadrado para la contaminación bacteriana en embriones de piñón con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	80,297	12	0,000
Razón de verosimilitudes	86,659	12	0,000
N de casos válidos	260		

Tabla 3.2 Recuento de datos y porcentajes de contaminación bacteriana en embriones de piñón con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

		Contaminación bacteriana				Total
		Sin contaminación		Contaminación		
NaClO * tiempo	(D1) 2,5% - 10 min	8	40%	12	60%	20
	(D2) 2,5% - 15 min	13	65%	7	35%	20
	(D3) 2,0% - 10 min	5	25%	15	75%	20
	(D4) 2,0% - 15 min	11	55%	9	45%	20
	(D5) 0,2% - 5 h	16	80%	4	20%	20
	(D6) 0,2% - 10 h	16	80%	4	20%	20
	(D7) 0,2% - 15 h	15	75%	5	25%	20
	(D8) 0,3% - 5 h	18	90%	2	10%	20
	(D9) 0,3% - 10 h	19	95%	1	5%	20
	(D10) 0,3% - 15 h	19	95%	1	5%	20
	(D11) 0,4% - 5 h	20	100%	0	0%	20
	(D12) 0,4% - 10 h	20	100%	0	0%	20
	(D13) 0,4% - 15 h	20	100%	0	0%	20
Total		200	76,92%	60	23,08%	260

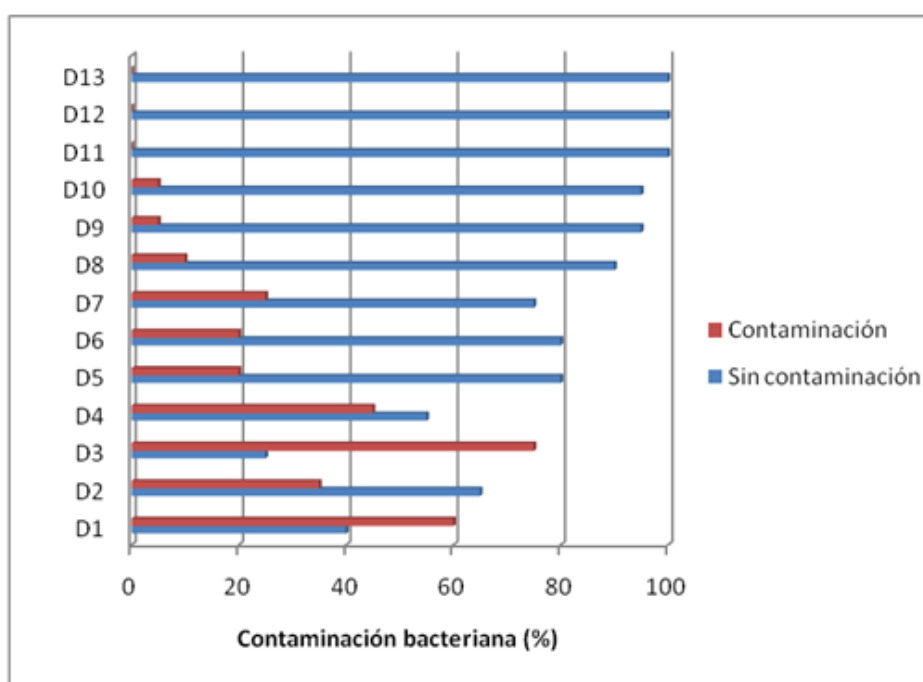


Figura 3.1 Gráfico de porcentajes de contaminación bacteriana encontrados mediante la utilización de diferentes tratamientos de desinfección en embriones.

b) Concentración de hipoclorito de sodio y tiempo de inmersión

Se evaluó separadamente la concentración de hipoclorito de sodio y el tiempo de inmersión con respecto a la contaminación bacteriana mediante una prueba chi cuadrado, debido a que son variables dicotómicas. Para la

concentración bacteriana se encontró un valor de significancia bajo (Tabla 3.3), lo que indica que existe dependencia entre estas dos variables. Se evidenció que concentraciones bajas de hipoclorito de sodio (0,3 y 0,4%) resultan en porcentajes de descontaminación altos (93,33 y 100% respectivamente) (Tabla 3.4 y figura 3.2).

Tabla 3.3 Prueba chi cuadrado para la contaminación bacteriana en embriones de piñón con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio utilizada.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	71,330	4	0,000
Razón de verosimilitudes	79,603	4	0,000
N de casos válidos	260		

Tabla 3.4 Recuento de datos y porcentajes de descontaminación bacteriana en embriones de piñón con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio y tiempos de inmersión.

Sin contaminación bacteriana	Concentración de NaClO					N	%
	0,20%	0,30%	0,40%	2,00%	2,50%		
Tiempo de inmersión							
0,166 h	-	-	-	5/20	8/20	13/40	32,50
0,25 h	-	-	-	11/20	13/20	24/40	60,00
5 h	16/20	18/20	20/20	-	-	54/60	90,00
10 h	16/20	19/20	20/20	-	-	55/60	91,67
15 h	15/20	19/20	20/20	-	-	54/60	90,00
N	47/60	56/60	60/60	16/40	21/40	260	
%	78,33	93,33	100,00	40,00	52,50		

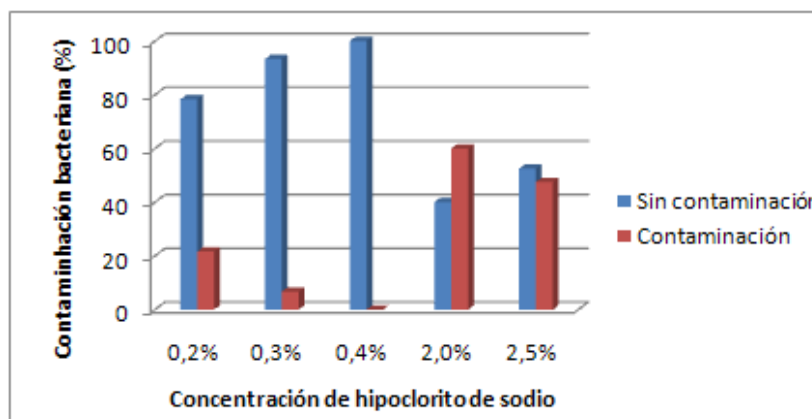


Figura 3.2 Gráfico de porcentajes de contaminación bacteriana encontrados mediante la utilización de diferentes concentraciones hipoclorito de sodio en embriones.

Para el tiempo de inmersión y la contaminación bacteriana se encontró una significancia muy baja (Tabla 3.5), lo que indica una relación de dependencia entre estas dos variables. Los resultados muestran que tiempos de inmersión prolongados (5 – 15h) favorecen una buena descontaminación bacteriana (90%) (Tabla 3.5 y figura 3.3).

Tabla 3.5 Prueba chi cuadrado para la contaminación bacteriana en embriones de piñón con respecto a los diferentes tiempos de inmersión en hipoclorito de sodio.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	69,828	4	0,000
Razón de verosimilitudes	64,179	4	0,000
N de casos válidos	260		

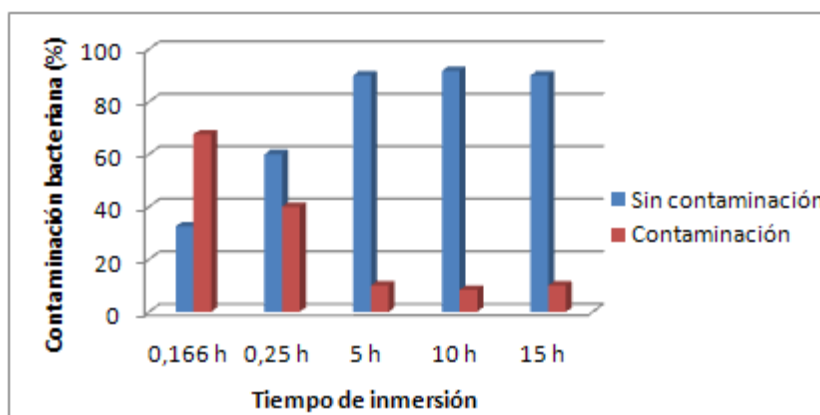


Figura 3.3 Gráfico de porcentajes de contaminación bacteriana encontrados mediante la utilización de diferentes tiempos de inmersión en hipoclorito de sodio en embriones.

3.1.1.2 Contaminación fúngica

a) Evaluación por tratamiento de desinfección

El análisis de la contaminación fúngica y los diferentes tratamientos de desinfección del DCA se realizó con una prueba chi cuadrado, la cual resultó en un valor muy alto de significancia (0,442) (Tabla 3.6), esto demuestra que no existe dependencia entre la contaminación por hongos y el tratamiento de desinfección utilizado. Además el mayor porcentaje de contaminación encontrado fue muy bajo (5%) (Tabla 3.7).

Tabla 3.6 Prueba chi cuadrado para la contaminación fúngica en embriones de piñón con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	12,046	12	0,442
Razón de verosimilitudes	5,177	12	0,952
N de casos válidos	260		

Tabla 3.7 Recuento de datos y porcentajes de contaminación fúngica en embriones de piñón con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

	Contaminación fúngica				Total	
	Sin contaminación		Contaminación			
NaClO * tiempo	(D1) 2,5% - 10 min	20	100%	0	0%	20
	(D2) 2,5% - 15 min	20	100%	0	0%	20
	(D3) 2,0% - 10 min	20	100%	0	0%	20
	(D4) 2,0% - 15 min	19	95%	1	5%	20
	(D5) 0,2% - 5 h	20	100%	0	0%	20
	(D6) 0,2% - 10 h	20	100%	0	0%	20
	(D7) 0,2% - 15 h	20	100%	0	0%	20
	(D8) 0,3% - 5 h	20	100%	0	0%	20
	(D9) 0,3% - 10 h	20	100%	0	0%	20
	(D10) 0,3% - 15 h	20	100%	0	0%	20
	(D11) 0,4% - 5 h	20	100%	0	0%	20
	(D12) 0,4% - 10 h	20	100%	0	0%	20
	(D13) 0,4% - 15 h	20	100%	0	0%	20
Total		259	99,62%	1	0,38%	260

b) Concentración de hipoclorito de sodio y tiempo de inmersión

La concentración de hipoclorito de sodio y tiempo de inmersión se evaluó por separado con respecto a la contaminación fúngica. Para la concentración de hipoclorito de sodio se obtuvo un valor alto de significancia mediante una prueba chi cuadrado (Tabla 3.8), lo que podría demostrar que no existe una relación clara de dependencia entre estas dos variables, es decir la contaminación fúngica no depende de la concentración de hipoclorito de sodio utilizada en la desinfección (Tabla 3.9).

Tabla 3.8 Prueba chi cuadrado para la contaminación fúngica en embriones de piñón con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio utilizada.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	5,521	4	0,238
Razón de verosimilitudes	3,765	4	0,439
N de casos válidos	260		

Tabla 3.9 Recuento de datos y porcentajes de descontaminación fúngica en embriones de piñón con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio y tiempos de inmersión.

Sin contaminación fúngica	Concentración de NaClO					N	%
	0,20%	0,30%	0,40%	2,00%	2,50%		
Tiempo de inmersión							
0,166 h	-	-	-	20/20	20/20	40	100,00
0,25 h	-	-	-	19/20	20/20	40	97,50
5 h	20/20	20/20	20/20	-	-	60	100,00
10 h	20/20	20/20	20/20	-	-	60	100,00
15 h	20/20	20/20	20/20	-	-	60	100,00
N	60	60	60	40	40	260	
%	100,00	100,00	100,00	97,50	100,00		

La evaluación de la contaminación fúngica con respecto a los tiempos de inmersión resultó en una significancia alta mediante una prueba chi cuadrado (Tabla 3.10), esto indica que la contaminación fúngica no depende del tiempo de inmersión al que se sometían los embriones (Tabla 3.9).

Tabla 3.10 Prueba chi cuadrado para la contaminación fúngica en embriones de piñón con respecto a los diferentes tiempos de inmersión en hipoclorito de sodio.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	5,521	4	0,238
Razón de verosimilitudes	3,765	4	0,439
N de casos válidos	260		

3.1.1.3 Viabilidad

a) Evaluación por tratamiento de desinfección

Es muy importante tener en cuenta la viabilidad de los embriones luego de la desinfección, ya que se pretende obtener la mayor cantidad de embriones viables sin contaminación alguna.

Se evaluaron los diferentes tratamientos de desinfección con respecto a la viabilidad de los embriones mediante una prueba chi cuadrado, donde se obtuvo un valor de significancia muy bajo (0,002) (Tabla 3.11), esto indica que la viabilidad de los embriones depende del tratamiento de desinfección que se utilice. Los resultados muestran que los mayores porcentajes de viabilidad se obtuvieron con los tratamientos D5 (95%) y D8 (75%), es decir con

concentraciones bajas de hipoclorito de sodio (0,2 – 0,3%) y un tiempo de inmersión relativamente prolongado (5 horas) (Tabla 3.12 y figura 3.4).

Tabla 3.11 Prueba chi cuadrado para la viabilidad de los embriones de piñón con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	30,631	12	0,002
Razón de verosimilitudes	34,187	12	0,001
N de casos válidos	260		

Tabla 3.12 Recuento de datos y porcentajes de viabilidad en embriones de piñón con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección utilizados.

		Viabilidad del embrión				Total
		No viable		Viable		
NaClO * tiempo	(D1) 2,5% - 10 min	9	45%	11	55%	20
	(D2) 2,5% - 15 min	16	80%	4	20%	20
	(D3) 2,0% - 10 min	7	35%	13	65%	20
	(D4) 2,0% - 15 min	8	40%	12	60%	20
	(D5) 0,2% - 5 h	1	5%	19	95%	20
	(D6) 0,2% - 10 h	8	40%	12	60%	20
	(D7) 0,2% - 15 h	6	30%	14	70%	20
	(D8) 0,3% - 5 h	5	25%	15	75%	20
	(D9) 0,3% - 10 h	10	50%	10	50%	20
	(D10) 0,3% - 15 h	11	55%	9	45%	20
	(D11) 0,4% - 5 h	8	40%	12	60%	20
	(D12) 0,4% - 10 h	8	40%	12	60%	20
	(D13) 0,4% - 15 h	11	55%	9	45%	20
Total		108	41,54%	152	58,46%	260

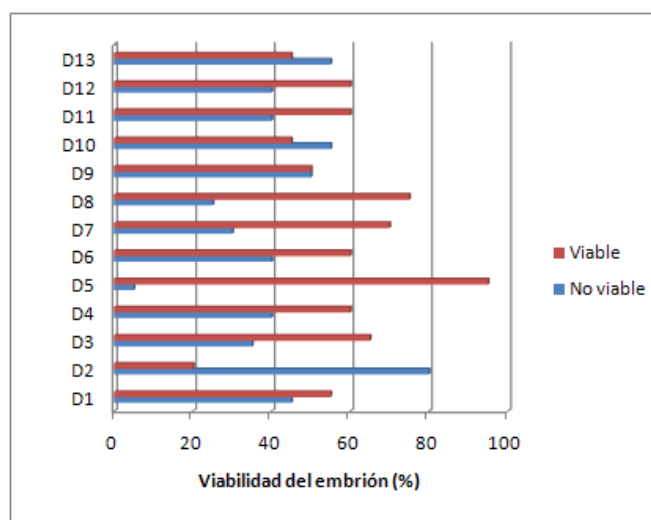


Figura 3.4 Gráfico de porcentajes de viabilidad del embrión encontrados mediante la utilización de diferentes tratamientos de desinfección.

b) Concentración de hipoclorito de sodio y tiempo de inmersión

Se evaluó separadamente la concentración de hipoclorito de sodio y tiempo de inmersión con respecto a la viabilidad del embrión mediante una prueba chi cuadrado. En la concentración de hipoclorito de sodio el valor obtenido fue muy bajo (Tabla 3.13), por lo que se presume que la concentración de hipoclorito de sodio en la desinfección afectaría de alguna manera la viabilidad de los embriones. Los resultados muestran que el tratamiento con menor concentración de hipoclorito de sodio (0,2%) produjo el mayor porcentaje de embriones viables (75%), siendo éste el tratamiento menos agresivo (Tabla 3.14 y figura 3.5).

Tabla 3.13 Prueba chi cuadrado para la viabilidad de los embriones de piñón con respecto a las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	14,640	4	0,006
Razón de verosimilitudes	14,940	4	0,005
N de casos válidos	260		

Tabla 3.14 Recuento de datos y porcentajes de viabilidad en embriones de piñón con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio y tiempos de inmersión evaluados.

Viabilidad	Concentración de NaClO					N	%
	0,20%	0,30%	0,40%	2,00%	2,50%		
Tiempo de inmersión							
0,166 h	-	-	-	13/20	11/20	40	60,00
0,25 h	-	-	-	12/20	4/20	40	40,00
5 h	19/20	15/20	12/20	-	-	60	76,67
10 h	12/20	10/20	12/20	-	-	60	56,67
15 h	14/20	9/20	9/20	-	-	60	53,33
N	60	60	60	40	40	260	
%	75,00	56,67	55,00	62,50	37,50		

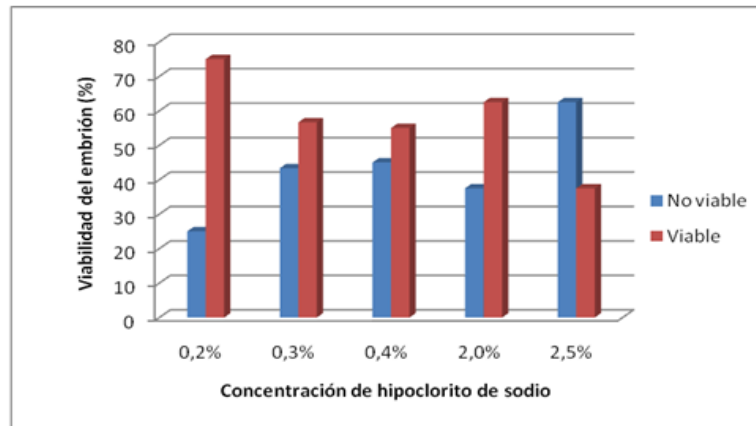


Figura 3.5 Gráfico de porcentajes de viabilidad del embrión encontrados mediante la utilización de diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio.

En la evaluación de la viabilidad de los embriones y el tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio se encontró una significancia muy baja (Tabla 3.15), por lo que se tiene evidencia de que el tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio influye en la viabilidad de los embriones. Además con los resultados obtenidos se pudo establecer que a las cinco horas de inmersión en hipoclorito de sodio ese obtiene la mayor cantidad de embriones viables (76,67%) (Tabla 3.14 y figura 3.6).

Tabla 3.15 Prueba chi cuadrado para la viabilidad de los embriones de piñón con respecto a los diferentes tiempos de inmersión en hipoclorito de sodio.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	14,571	4	0,006
Razón de verosimilitudes	15,061	4	0,005
N de casos válidos	260		

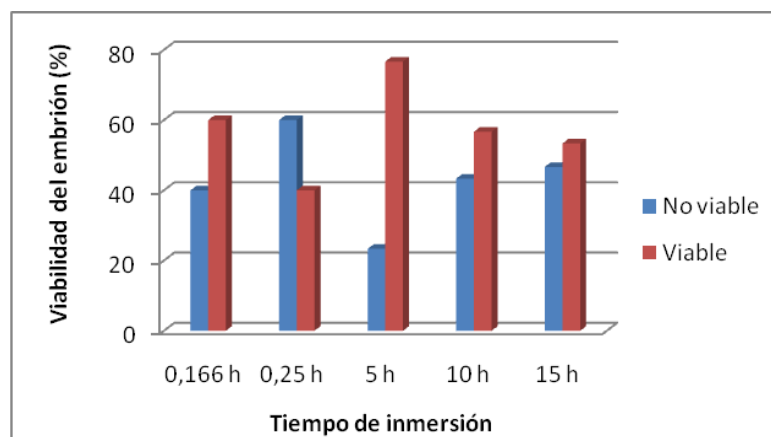


Figura 3.6 Gráfico de porcentajes de viabilidad del embrión encontrados mediante la utilización de diferentes tiempos de inmersión en hipoclorito de sodio.

3.1.2 Prueba de viabilidad mediante tinción

Al realizar la prueba de viabilidad de los embriones, con ayuda de la tinción en cloruro de trifenil tetrazolio (TZ), y de acuerdo a la escala propuesta (Tabla 2.2), no se obtuvieron embriones no viables, ya que antes y después de la desinfección no se encontraron casos de embriones con grandes zonas no coloreadas, ni embriones con ausencia de tinción (Figura 3.7 y tabla 3.16).

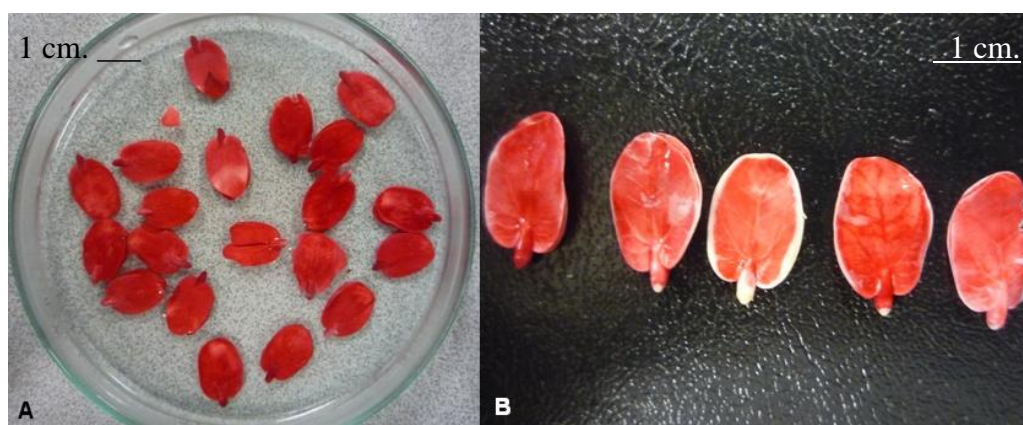


Figura 3.7 Tinción con TZ de embriones de piñón. A. Antes de la desinfección, y B. Después de la desinfección.

Tabla 3.16 Recuento de datos y porcentajes obtenidos en la prueba de viabilidad de embriones de piñón con la tinción con TZ antes y después de la desinfección.

	Tinción del embrión				Total
	Antes de desinfección		Después de desinfección		
0	0	0%	0	0%	0
1	0	0%	0	0%	0
2	0	0%	0	0%	0
3	4	10%	5	12,5%	9
4	10	25%	12	30%	22
5	26	65%	23	57,5%	49
Total	40	100%	40	100%	80

De acuerdo al análisis de varianza (ADEVA) realizado, se encontró un valor alto de significancia (0,522) (Tabla 3.17), lo cual es evidencia de que no existe diferencia estadística entre los tratamientos evaluados, es decir que, no se puede afirmar que la viabilidad de los embriones se ve afectada al momento de realizarse la desinfección.

Tabla 3.17 ADEVA para la viabilidad de los embriones antes y después de la desinfección.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,2	1	0,200	0,413	0,522
Intra-grupos	37,8	78	0,485		
Total	38,0	79			

3.1.3 Tratamientos pregerminativos

Para la evaluación de los tratamientos pregerminativos en los embriones de piñón, se realizó una prueba chi cuadrado, donde se obtuvo un valor de significancia muy bajo (Tabla 3.18), lo cual demuestra que existe una relación de dependencia entre la viabilidad de los embriones y las horas de oscuridad a las que fueron expuestos luego de la siembra.

Tabla 3.18 Prueba de chi-cuadrado para la viabilidad de los embriones en los diferentes tratamientos pregerminativos en oscuridad.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	19,009	2	0,000
Razón de verosimilitudes	21,690	2	0,000
N de casos válidos	90		

El tratamiento pregerminativo que mostró el mayor porcentaje de embriones viables (93,33 %) fue a las 24 horas sin exposición a la luz luego de la siembra (Tabla 3.19 y figura 3.8).

Tabla 3.19 Porcentaje de viabilidad de los embriones luego de los diferentes tratamientos pregerminativos en oscuridad.

		Viabilidad del embrión (%)	
		No viable	Viable
Pretratamiento en oscuridad	0 horas	60 ^b	40 ^b
	24 horas	6,67 ^a	93,33 ^a
	48 horas	40 ^b	60 ^b

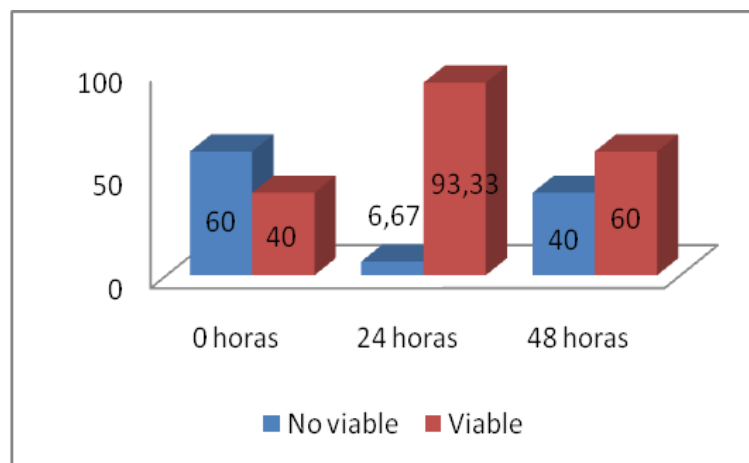


Figura 3.8 Gráfico de porcentajes de embriones viables y no viables en los diferentes tratamientos pregerminativos en oscuridad.

3.1.4 Evaluación del desarrollo embrionario

3.1.4.1 Nutrientes y carbón activado

La evaluación de los efectos del agua de coco, carbón activado y azúcar en el desarrollo embrionario se llevó a cabo mediante un ADEVA para cada variable evaluada en el DCA con arreglo factorial, y pruebas de Tukey con el 95% de confianza en los factores e interacciones que resultaron tener significancias inferiores al 5%. También se realizaron pruebas previas donde se determinó la normalidad de los datos. A continuación se detallan los resultados para cada variable evaluada.

3.1.4.1.1 Germinación y desarrollo inicial de los embriones

a) Desarrollo del eje embrionario

Los resultados de la evaluación de este desarrollo embrionario se muestran en el ADEVA realizado (Tabla 3.20).

Tabla 3.20 ADEVA realizada en la evaluación del desarrollo del eje embrionario para los diferentes tratamientos utilizados.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	89,97	12	7,49	1,79	0,058
Agua de coco	5,55	2	2,77	0,62	0,540
Carbón activado	12,03	1	12,03	2,68	0,104
Azúcar	2,70	1	2,70	0,60	0,439
Agua de coco * Carbón activado	11,02	2	5,51	1,23	0,297
Agua de coco * Azúcar	6,65	2	3,32	0,74	0,479
Carbón activado * Azúcar	2,70	1	2,70	0,60	0,439
Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	42,65	2	21,32	4,75	0,010
Control	6,67	1	6,67	1,48	0,225
Error	491,30	117	4,19		
Total	581,27	129			

Se encontró una sola interacción que presentó una significancia muy baja (0,0105) en la prueba realizada; ésta fue la interacción agua de coco * carbón activado * azúcar; por lo que al realizar la prueba de Tukey, resultaron dos subconjuntos (Tabla 3.21) donde se puede observar grupos muy parecidos, que solo difieren en un solo valor, y no se puede establecer una tendencia clara con respecto a las diferentes concentraciones de nutrientes utilizadas en los tratamientos, aunque se obtuvo un desarrollo más temprano del eje embrionario con el tratamiento E4 (2,2 días).

Tabla 3.21 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco, carbón activado y azúcar en la evaluación del desarrollo del eje embrionario.

Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
(E4) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	2,20 ^a
(E6) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	3,00 ^{a,b}
(E1) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	3,50 ^{a,b}
(E8) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	3,70 ^{a,b}
(E7) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	4,10 ^{a,b}
(E9) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	4,10 ^{a,b}
(E10) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	4,20 ^{a,b}
(E12) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	4,40 ^{a,b}
(E3) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	4,50 ^{a,b}
(E11) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	4,50 ^{a,b}
(E2) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	4,90 ^{a,b}
(E5) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	5,50 ^b

b) Embrión completamente fotosintético

La evaluación de esta variable se llevó a cabo mediante un ADEVA (Tabla 3.22).

Tabla 3.22 ADEVA realizada en la evaluación de embriones completamente verdes para los diferentes tratamientos utilizados.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	174,77	12	14,56	6,23	0,0000
Agua de coco	49,65	2	24,82	10,04	0,0001
Carbón activado	0,01	1	0,01	0,004	0,954
Azúcar	10,21	1	10,21	4,13	0,045
Agua de coco * Carbón activado	13,12	2	6,56	2,65	0,075
Agua de coco * Azúcar	47,57	2	23,76	9,61	0,0001
Carbón activado * Azúcar	0,07	1	0,07	0,03	0,862
Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	35,45	2	17,72	7,17	0,001
Control	18,74	1	18,74	5,59	0,019
Error	273,30	117	2,33		
Total	448,07	129			

La evaluación del factor concentración de agua de coco mediante la prueba de Tukey, resultó en dos subconjuntos (Tabla 3.23), donde se observa que el tratamiento con 50 mL L⁻¹ de agua de coco favorece en la obtención de embriones completamente verdes en menor tiempo (5,23 días). Además se observa la tendencia de que a mayor concentración de agua de coco, más se tardan los embriones en volverse verdes totalmente.

Tabla 3.23 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de agua de coco en la evaluación de embriones completamente verdes.

Agua de coco	N	Subconjuntos encontrados
50 mL L ⁻¹	40	5,23 ^a
100 mL L ⁻¹	40	6,05 ^{a,b}
150 mL L ⁻¹	40	6,80 ^b

Para el factor concentración de azúcar se realizó un análisis de los estadísticos descriptivos, donde se observa que el tratamiento con 30 g L⁻¹ de azúcar produce la obtención de embriones completamente verdes en menor tiempo (5,73 días) (Tabla 3.24).

Tabla 3.24 Estadísticos descriptivos en la obtención de embriones completamente verdes, calculados para los tratamientos con azúcar.

Azúcar	N	Media	Desviación típica
30 g/L	60	5,73 ^a	1,388
60 g/L	60	6,32 ^b	2,251
Total	120	6,03	1,885

La prueba de Tukey para la interacción agua de coco * azúcar diferenció dos grupos (Tabla 3.25), donde se observa que concentraciones bajas de agua de coco y azúcar, resultan en la obtención de embriones completamente verdes en un menor tiempo, aunque se observa que el tratamiento con 50 mL L⁻¹ de agua de coco y 60 g L⁻¹ de azúcar induce embriones completamente verdes en el menor tiempo (4,65 días).

Tabla 3.25 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco y azúcar en la evaluación de la obtención de embriones completamente verdes.

Agua de coco * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
50 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	4,65 ^a
100 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	5,50 ^{a,b}
50 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	5,80 ^{a,b}
150 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	5,90 ^{a,b}
100 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	6,60 ^{b,c}
150 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	7,70 ^c

Se realizó una prueba de Tukey para la interacción agua de coco * carbón activado * azúcar, donde se encontró cuatro grupos diferentes (Tabla 3.26), aquí se verificó que una obtención rápida de embriones completamente verdes se logra en concentraciones bajas de agua de coco y azúcar. Los mejores tratamientos que se encontraron fueron E4 y E6. Además se evidencia que el tratamiento E12, que contiene concentraciones altas de los nutrientes mencionados, corresponde a los embriones que se tardaron más tiempo en volverse completamente verdes (8 días).

Tabla 3.26 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco, carbón activado y azúcar en la obtención de embriones completamente verdes.

Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
(E4) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	3,50 ^a
(E6) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	5,10 ^{a,b}
(E1) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	5,60 ^{a,b,c}
(E7) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	5,70 ^{a,b,c,d}
(E3) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	5,80 ^{a,b,c,d}
(E9) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	5,80 ^{a,b,c,d}
(E5) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	5,90 ^{b,c,d}
(E2) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	6,00 ^{b,c,d}
(E10) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	6,00 ^{b,c,d}
(E11) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	7,40 ^{b,c,d}
(E8) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	7,50 ^{c,d}
(E12) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	8,00 ^d

Para el análisis del tratamiento adicional con respecto al resto del arreglo factorial se compararon sus estadísticos descriptivos, donde se observa que el adicional produce embriones totalmente verdes en menor tiempo (4,6 días) (Tabla 3.27); cabe resaltar que este tratamiento no contiene agua de coco ni carbón activado en ninguna concentración.

Tabla 3.27 Estadísticos descriptivos de la obtención de embriones completamente verdes, calculados para el tratamiento adicional y el diseño factorial evaluado.

Tratamientos	N	Media	Desviación típica
factorial	120	6,03 ^a	1,885
adicional	10	4,60 ^b	0,843
Total	130	5,92	1,864

c) Área foliar cotiledonar

Se realizó en ADEVA para el área foliar cotiledonar, medida en centímetros cuadrados, evaluando así el arreglo factorial planteado, donde se encontraron valores de significancia muy bajos en algunos factores e interacciones (Tabla 3.28).

Tabla 3.28 ADEVA realizada para la evaluación del área foliar cotiledonar de los embriones con respecto a los tratamientos utilizados para su desarrollo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	75,88	12	6,32	9,86	0,000
Agua de coco	29,61	2	14,81	25,28	0,000
Carbón activado	2,21	1	2,21	3,78	0,054
Azúcar	5,17	1	5,17	8,82	0,004
Agua de coco * Carbón activado	1,85	2	0,93	1,58	0,210
Agua de coco * Azúcar	5,61	2	2,81	4,79	0,010
Carbón activado * Azúcar	13,00	1	13,00	22,20	0,000
Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	13,02	2	6,51	11,12	0,000
Control	5,390	1	5,390	4,741	0,031
Error	75,049	117	0,641		
Total	150,926	129			

En la evaluación del agua de coco, mediante la prueba de Tukey se obtuvo dos subconjuntos (Tabla 3.29), donde se observa que concentraciones de 50 y 100 mL L⁻¹ favorecen en la obtención de áreas foliares más grandes.

Tabla 3.29 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de agua de coco en relación al área foliar cotiledonar.

Agua de coco	N	Subconjuntos encontrados
150 mL L ⁻¹	40	5,440 ^a
50 mL L ⁻¹	40	6,400 ^b
100 mL L ⁻¹	40	6,568 ^b

Con respecto al factor concentración de azúcar, el mejor resultado se encontró con 30 g L⁻¹, ya que favorece una mayor área foliar cotiledonar (6,343 cm²) según los estadísticos descriptivos obtenidos (Tabla 3.30).

Tabla 3.30 Estadísticos descriptivos del área foliar cotiledonar calculados para las diferentes concentraciones de azúcar en el medio.

Azúcar	N	Media	Desviación típica
30 g/L	60	6,343 ^a	0,8398
60 g/L	60	5,928 ^b	1,2141
Total	120	6,136	1,0601

Para la interacción agua de coco * carbón activado, la prueba de Tukey encontró dos grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.31) donde se

observa que las concentraciones bajas de agua de coco y 1 g L^{-1} de carbón activado resultan en un área foliar cotiledonar más grande ($6,62 - 6,79 \text{ cm}^2$).

Tabla 3.31 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco y carbón activado en la evaluación del área foliar cotiledonar.

Agua de coco * Carbón activado	N	Subconjuntos encontrados
$150 \text{ mL L}^{-1} * 1 \text{ g L}^{-1}$	20	5,400 ^a
$150 \text{ mL L}^{-1} * 2 \text{ g L}^{-1}$	20	5,480 ^a
$50 \text{ mL L}^{-1} * 2 \text{ g L}^{-1}$	20	6,180 ^{a,b}
$100 \text{ mL L}^{-1} * 2 \text{ g L}^{-1}$	20	6,340 ^b
$50 \text{ mL L}^{-1} * 1 \text{ g L}^{-1}$	20	6,620 ^b
$100 \text{ mL L}^{-1} * 1 \text{ g L}^{-1}$	20	6,795 ^b

La prueba de Tukey para la interacción agua de coco * azúcar diferenció dos grupos (Tabla 3.32), donde se puede observar que concentraciones altas de agua de coco y azúcar, no permiten un buen desarrollo de área foliar cotiledonar, ya que muestran un área más pequeña.

Tabla 3.32 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco y azúcar en la evaluación del área foliar cotiledonar.

Agua de coco * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
$150 \text{ mL L}^{-1} * 60 \text{ g L}^{-1}$	20	4,955 ^a
$150 \text{ mL L}^{-1} * 30 \text{ g L}^{-1}$	20	5,925 ^b
$50 \text{ mL L}^{-1} * 60 \text{ g L}^{-1}$	20	6,220 ^b
$100 \text{ mL L}^{-1} * 30 \text{ g L}^{-1}$	20	6,525 ^b
$50 \text{ mL L}^{-1} * 30 \text{ g L}^{-1}$	20	6,580 ^b
$100 \text{ mL L}^{-1} * 60 \text{ g L}^{-1}$	20	6,610 ^b

La interacción carbón activado * azúcar fue evaluada mediante una prueba de Tukey, que resultó en dos subconjuntos (Tabla 3.33) donde se puede observar que concentraciones altas de carbón activado y azúcar en el medio conlleva a un área foliar de menor extensión.

Tabla 3.33 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre carbón activado y azúcar en la evaluación del área foliar cotiledonar.

Carbón activado * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	30	5,463 ^a
1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	30	6,150 ^b
1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	30	6,393 ^b
2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	30	6,537 ^b

Se realizó una prueba de Tukey para la interacción agua de coco * carbón activado * azúcar, y se encontró cuatro grupos diferentes (Tabla 3.34), donde se verifica que un área foliar de menor tamaño (6,94 cm²) corresponde a concentraciones altas de agua de coco, carbón activado y azúcar; y concentraciones bajas de agua de coco y carbón activado, junto con azúcar a 30 y 60 g L⁻¹, favorecen áreas foliares más grandes (6,5 - 7,63 cm²).

Tabla 3.34 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco, carbón activado y azúcar en la evaluación del área foliar cotiledonar.

Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
(E12) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	4,940 ^a
(E11) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	4,970 ^a
(E8) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	5,590 ^{a,b}
(E9) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	5,830 ^{a,b}
(E4) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	5,860 ^{a,b}
(E5) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	5,960 ^{a,b,c}
(E10) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	6,020 ^{a,b,c}
(E2) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	6,500 ^{b,c,d}
(E3) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	6,580 ^{b,c,d}
(E1) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	6,660 ^{b,c,d}
(E6) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	7,090 ^{c,d}
(E7) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	7,630 ^d

La significancia obtenida en el ADEVA para el adicional, fue menor a 0,05, por lo que se realizó un análisis entre los estadísticos descriptivos del adicional y el arreglo factorial. Los resultados muestran que el adicional produce áreas foliares más grandes (6,9 cm²) (Tabla 3.35); cabe resaltar que este tratamiento tienen una concentración de 30 g L⁻¹ de azúcar y no contiene agua de coco ni carbón activado.

Tabla 3.35 Estadísticos descriptivos del área foliar cotiledonar calculados para el tratamiento adicional y el arreglo factorial evaluado.

Tratamiento	N	Media	Desviación típica
Factorial	120	6,136 ^a	1,0601
Adicional	10	6,900 ^b	1,1450
Total	130	6,195	1,0817

d) Longitud del tallo

La evaluación de la longitud del tallo en embriones germinados de piñón se llevó a cabo mediante un ADEVA (Tabla 3.36), donde se indica los factores e interacciones que resultaron tener una significancia baja.

Tabla 3.36 ADEVA realizada para la evaluación de la longitud del tallo en los embriones de piñón con respecto a los tratamientos utilizados para su desarrollo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	80,25	12	6,69	8,30	0,000
Agua de coco	0,81	2	0,40	0,51	0,601
Carbón activado	0,99	1	0,99	1,25	0,266
Azúcar	7,75	1	7,75	9,80	0,002
Agua de coco * Carbón activado	22,42	2	11,21	14,18	0,000
Agua de coco * Azúcar	15,23	2	7,61	9,63	0,0001
Carbón activado * Azúcar	10,27	1	10,27	12,98	0,0005
Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	17,50	2	8,75	11,07	0,000
Control	5,27	1	5,27	3,99	0,048
Error	94,20	117	0,81		
Total	174,46	129			

El análisis del factor concentración de azúcar se realizó mediante la comparación de los estadísticos descriptivos, donde la concentración de 30 g L⁻¹ favorece una mayor longitud del tallo (3,67 cm) (Tabla 3.37).

Tabla 3.37 Estadísticos descriptivos del área foliar cotiledonar calculados para las diferentes concentraciones de azúcar en el medio.

Azúcar	N	Media	Desviación típica
30 g/L	60	3,670 ^a	1,3914
60 g/L	60	3,162 ^b	0,8068
Total	120	3,416	1,1609

En la evaluación de la interacción agua de coco * carbón activado, se obtuvo dos subconjuntos mediante la prueba de Tukey (Tabla 3.38), donde se observa que los tratamientos con agua de coco y carbón activado en concentraciones de 150 mL L⁻¹ y 1 g L⁻¹ respectivamente y 100 mL L⁻¹ y 2 g L⁻¹, favorecen la obtención de tallos más grandes (3,8 - 4,165 cm).

Tabla 3.38 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco y carbón activado en la evaluación de la longitud del tallo.

Agua de coco * Carbón activado	N	Subconjuntos encontrados
150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹	20	2,895 ^a
100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹	20	2,955 ^a
50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹	20	3,280 ^{a,b}
50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹	20	3,400 ^{a,b}
100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹	20	3,800 ^{a,b}
150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹	20	4,165 ^b

La prueba de Tukey para la interacción agua de coco * azúcar diferenció dos grupos (Tabla 3.39), donde se puede observar que cualquier concentración de agua de coco combinada con la concentración de 30 g L⁻¹ de azúcar, permiten un buen desarrollo del tallo en los embriones desarrollados (3,48 - 4,25 cm).

Tabla 3.39 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco y azúcar en la evaluación de la longitud del tallo.

Agua de coco * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
150 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	2,810 ^a
100 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	3,190 ^a
50 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	3,195 ^a
50 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	3,485 ^{a,b}
100 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	3,565 ^{a,b}
150 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	4,250 ^b

El análisis de la interacción carbón activado * azúcar, mediante la prueba de Tukey resultó en dos subconjuntos (Tabla 3.40) donde se observa que una concentración baja de carbón activado (1 g L⁻¹) y azúcar (30 g L⁻¹) en el medio de cultivo conlleva al desarrollo de un tallo de mayor extensión (4,053 cm).

Tabla 3.40 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre carbón activado y azúcar en la evaluación de la longitud del tallo.

Carbón activado * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	30	2,960 ^a
2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	30	3,287 ^a
2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	30	3,363 ^{a,b}
1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	30	4,053 ^b

La prueba de Tukey realizada para la interacción agua de coco * carbón activado * azúcar, encontró tres grupos diferentes (Tabla 3.41), aquí se verificó que el tallo más largo encontrado (5,55 cm) corresponde al tratamiento E9, y no se evidencia ninguna tendencia con respecto a las concentraciones de nutrientes y el tamaño del tallo.

Tabla 3.41 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco, carbón activado y azúcar en la evaluación de la longitud del tallo.

Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
(E2) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	2,690 ^a
(E11) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	2,780 ^a
(E12) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	2,840 ^a
(E5) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	2,910 ^{a,b}
(E10) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	2,950 ^{a,b}
(E7) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	3,000 ^{a,b}
(E3) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	3,100 ^{a,b}
(E8) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	3,380 ^{a,b}
(E1) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	3,700 ^{a,b}
(E4) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	3,870 ^{a,b}
(E6) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	4,220 ^b
(E9) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	5,550 ^c

3.1.4.1.2 Desarrollo del sistema radical

a) Aparición del sistema radical

La evaluación de este desarrollo radicular se llevó a cabo mediante un ADEVA realizado para el arreglo factorial utilizado (Tabla 3.42).

Tabla 3.42 ADEVA realizada en la evaluación del desarrollo del sistema radical para los diferentes tratamientos utilizados.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	733,1231	12	61,0936	4,3612	0,0000
Agua de coco	110,8167	2	55,4083	4,1401	0,0185
Carbón activado	154,1333	1	154,1333	11,5168	0,0010
Azúcar	20,8333	1	20,8333	1,5567	0,2149
Agua de coco * Carbón activado	7,3167	2	3,6583	0,2733	0,7614
Agua de coco * Azúcar	217,7167	2	108,8583	8,1339	0,0005
Carbón activado * Azúcar	182,5333	1	182,5333	13,6389	0,0003
Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	13,6167	2	6,8083	0,5087	0,6027
Control	26,1564	1	26,1564	1,4271	0,2344
Error	1639,0000	117	14,0085		
Total	2372,1231	129			

En la evaluación del factor concentración de agua de coco se encontró dos subconjuntos homogéneos mediante la prueba de Tukey (Tabla 3.43), donde se observa que el tratamiento con 50 mL L⁻¹ de agua de coco favorece la obtención más rápida de raíces (7,78 días).

Tabla 3.43 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de agua de coco en la evaluación del desarrollo del sistema radicular.

Agua de coco	N	Subconjuntos encontrados
50 mL L ⁻¹	40	7,78 ^a
150 mL L ⁻¹	40	9,60 ^{a,b}
100 mL L ⁻¹	40	9,98 ^b

El factor concentración de carbón activado se analizó mediante la comparación de los estadísticos descriptivos de la concentraciones utilizadas, y se encontró que la concentración de 2 g L⁻¹ favorece a desarrollo más temprano del sistema radicular (7,98 días) (Tabla 3.44).

Tabla 3.44 Estadísticos descriptivos del desarrollo del sistema radicular calculados para las diferentes concentraciones de carbón activado en el medio.

Carbón activado	N	Media	Desviación típica
1 g L ⁻¹	60	10,25 ^a	4,099
2 g L ⁻¹	60	7,98 ^b	4,131
Total	120	9,12	4,253

Para la interacción agua de coco * azúcar se diferenciaron dos grupos mediante una prueba de Tukey (Tabla 3.45), donde se observa que una concentración de agua de coco de 50 y 100 mL L⁻¹ combinada con concentraciones de 30 y 60 g L⁻¹ de azúcar respectivamente, permiten un desarrollo temprano del sistema radicular en embriones germinados de piñón (6,9 - 7,7 días).

Tabla 3.45 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco y azúcar en la evaluación del desarrollo del sistema radicular.

Agua de coco * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
50 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	6,90 ^a
100 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	7,70 ^a
50 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	8,65 ^{a,b}
150 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	9,45 ^{a,b}
150 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	9,75 ^{a,b}
100 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	12,25 ^b

El análisis de la interacción carbón activado * azúcar resultó en dos subconjuntos al realizar una prueba de Tukey (Tabla 3.46) donde se observa que el tratamiento que presenta la inducción del sistema radicular más tardía (11,9 días) tiene una concentración baja de carbón activado (1 g L⁻¹) y 60 g L⁻¹ de azúcar en el medio de cultivo.

Tabla 3.46 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre carbón activado y azúcar en la evaluación del desarrollo del sistema radicular.

Carbón activado * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	30	7,17 ^a
1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	30	8,60 ^a
2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	30	8,80 ^a
1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	30	11,90 ^b

b) Longitud del sistema radicular

La evaluación de este desarrollo radicular se llevó a cabo mediante un ADEVA para los tratamientos aplicados en el arreglo factorial (Tabla 3.47).

Tabla 3.47 ADEVA realizada en la evaluación de la longitud del sistema radicular para los diferentes tratamientos utilizados.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	42,7692	12	3,5641	6,6720	0,0000
Agua de coco	2,7167	2	1,3583	2,5077	0,0862
Carbón activado	12,6750	1	12,6750	23,4000	0,0000
Azúcar	0,2083	1	0,2083	0,3846	0,5364
Agua de coco * Carbón activado	0,3500	2	0,1750	0,3231	0,7246
Agua de coco * Azúcar	11,3167	2	5,6583	10,4462	0,0001
Carbón activado * Azúcar	0,0750	1	0,0750	0,1385	0,7105
Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	6,9500	2	3,4750	6,4154	0,0023
Control	8,4776	1	8,4776	11,2110	0,0011
Error	62,5000	117	0,5342		
Total	105,2692	129			

Para el factor concentración de carbón activado se realizó la comparación de los estadísticos descriptivos, donde se observa que la concentración de 1 g L⁻¹ favorece la formación de raíces de mayor tamaño (nivel 3,28 según la escala de cero a cuatro) (Tabla 3.48).

Tabla 3.48 Estadísticos descriptivos de la longitud del sistema radicular calculados para las diferentes concentraciones de carbón activado en el medio.

Carbón activado	N	Media	Desviación típica
1 g/L	60	3,28 ^a	0,691
2 g/L	60	2,63 ^b	0,938
Total	120	2,96	0,883

La prueba de Tukey para la interacción agua de coco * azúcar diferenció dos grupos (Tabla 3.49), donde se puede observar que concentraciones bajas de agua de coco y azúcar, resultan en raíces más cortas (nivel 2,55), aunque se observa que el tratamiento con 50 mL L⁻¹ de agua de coco y 60 g L⁻¹ de azúcar permiten un mayor desarrollo del sistema radicular (nivel 3,5).

Tabla 3.49 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco y azúcar en la evaluación del desarrollo del sistema radicular.

Agua de coco * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
50 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	2,55 ^a
100 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	2,60 ^a
100 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	2,90 ^{a,b}
150 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	2,90 ^{a,b}
150 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	3,30 ^{a,b}
50 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	3,50 ^b

También se realizó una prueba de Tukey para la interacción agua de coco * carbón activado * azúcar, donde se encontró tres grupos diferentes (Tabla 3.50). Se puede verificar que el sistema radical más largo encontrado corresponde al tratamiento E9 (nivel 3,8), y el más corto al tratamiento E2 (nivel 2); además se evidencia una tendencia con respecto a la concentración de carbón activado, ya que, una menor concentración presenta raíces más largas.

Tabla 3.50 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco, carbón activado y azúcar en la evaluación de la longitud del sistema radicular.

Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
(E2) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	2,00 ^a
(E8) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	2,00 ^a
(E12) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	2,60 ^{a,b}
(E10) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	2,80 ^{a,b,c}
(E5) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	2,90 ^{a,b,c}
(E6) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	2,90 ^{a,b,c}
(E1) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	3,10 ^{b,c}
(E7) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	3,20 ^{b,c}
(E11) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	3,20 ^{b,c}
(E3) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	3,50 ^{b,c}
(E4) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	3,50 ^{b,c}
(E9) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	3,80 ^c

Se realizó el análisis de los estadísticos descriptivos entre el tratamiento adicional y el arreglo factorial, donde se observa que el tratamiento adicional produce raíces más cortas y en menor cantidad (nivel 2) (Tabla 3.51), cabe resaltar que este tratamiento no contiene agua de coco ni carbón activado en ninguna concentración.

Tabla 3.51 Estadísticos descriptivos del área foliar cotiledonar calculados para el tratamiento adicional y el diseño factorial evaluado.

Tratamiento	N	Media	Desviación típica
factorial	120	2,96 ^a	0,883
adicional	10	2,00 ^b	0,667
Total	130	2,88	0,903

3.1.4.1.3 Desarrollo apical y foliar

a) Aparecimiento de la yema apical

El análisis de los datos se llevó a cabo mediante un ADEVA para los tratamientos aplicados en el diseño experimental (Tabla 3.52).

Tabla 3.52 ADEVA realizada en la evaluación del aparecimiento de la yema apical para los diferentes tratamientos utilizados.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	354,4308	12	29,5359	7,0698	0,0000
Agua de coco	117,6500	2	58,8250	13,8623	0,0000
Carbón activado	0,2083	1	0,2083	0,0491	0,8251
Azúcar	0,2083	1	0,2083	0,0491	0,8251
Agua de coco * Carbón activado	2,8167	2	1,4083	0,3319	0,7183
Agua de coco * Azúcar	210,0167	2	105,0083	24,7456	0,0000
Carbón activado * Azúcar	18,4083	1	18,4083	4,3380	0,0396
Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	1,5167	2	0,7583	0,1787	0,8366
Control	3,6058	1	3,6058	0,5497	0,4598
Error	488,8000	117	4,1778		
Total	843,2308	129			

El factor agua de coco se analizó mediante una prueba de Tukey, donde se obtuvieron tres subconjuntos diferentes (Tabla 3.53). El tratamiento con 50 mL L⁻¹ de agua de coco favorece la aparición más temprana de la yema apical (10,65 días). Además se observó que a mayor concentración de agua de coco, más se tardan los embriones en desarrollar la yema apical.

Tabla 3.53 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de agua de coco en la evaluación del aparecimiento de la yema apical.

Agua de coco	N	Subconjuntos encontrados
50 mL L ⁻¹	40	10,65 ^a
100 mL L ⁻¹	40	11,90 ^b
150 mL L ⁻¹	40	13,08 ^c

La prueba de Tukey para la interacción agua de coco * azúcar diferenció tres grupos (Tabla 3.54), donde se puede observar que concentraciones bajas de agua de coco y azúcar, resultan en el desarrollo temprano de la yema apical, aunque se observa que el tratamiento con 50 mL L⁻¹ de agua de coco y 60 g L⁻¹ de azúcar induce la diferenciación de la yema apical en un menor tiempo (8,75 días).

Tabla 3.54 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco y azúcar en la evaluación del aparecimiento de la yema apical.

Agua de coco * Azúcar	N	Subconjuntos encontrados
50 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	8,75 ^a
100 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	11,20 ^b
150 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	12,00 ^b
50 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	12,55 ^{b,c}
100 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	12,60 ^{b,c}
150 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	14,15 ^c

Al realizar una prueba de Tukey para la interacción carbón activado * azúcar, no se obtuvieron subconjuntos diferentes, a pesar de que el ADEVA realizado muestre una significancia menor al 5% (3.96%), por esta razón no se muestran estos resultados.

b) Aparecimiento de hojas no cotiledonares

El análisis de estos resultados se llevó a cabo mediante un ADEVA para los tratamientos aplicados (Tabla 3.55).

Tabla 3.55 ADEVA para el aparecimiento de las cuatro primeras hojas no cotiledonares en embriones germinados de piñón para los diferentes tratamientos utilizados.

Fuente de variación	gl	Primera hoja		Segunda hoja		Tercera hoja		Cuarta hoja	
		SC	Sig.	SC	Sig.	SC	Sig.	SC	Sig.
Modelo	12	609,51	0,000	351,11	0,000	397,29	0,000	459,08	0,000
Agua de coco	2	283,65	0,000	144,80	0,000	98,72	0,000	90,82	0,000
Carbón activado	1	15,41	0,126	10,80	0,155	0,67	0,719	32,03	0,004
Azúcar	1	11,41	0,188	10,80	0,155	102,67	0,000	104,53	0,000
Agua de coco * Carbón activado	2	300,27	0,000	192,20	0,000	162,54	0,001	139,66	0,001
Agua de coco * Azúcar	2	235,62	0,000	117,80	0,000	33,75	0,043	28,12	0,026
Carbón activado * Azúcar	1	50,22	0,201	27,23	0,320	110,36	0,002	160,87	0,000
Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	2	589,43	0,000	350,9	0,000	376,29	0,000	459,06	0,000
Control	1	20,083	0,168	0,21	0,869	21,00	0,101	0,01	0,969
Error	117	746,50		634,50		612,10		435,20	
Total	129	1356,01		985,61		1009,39		894,28	

El factor agua de coco resultó tener baja significancia en el aparecimiento de todas las cuatro primeras hojas, y mediante la prueba de Tukey se encontraron de dos a tres subconjuntos para este factor (Tabla 3.56). Se observa que el tratamiento con 50 mL L⁻¹ de agua de coco favorece la aparición más temprana de las primeras hojas no cotiledonares. Además resulta que a mayor concentración de agua de coco, más se tardan los embriones en desarrollar las hojas no cotiledonares.

Tabla 3.56 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de agua de coco en la evaluación del aparecimiento de las cuatro primeras hojas no cotiledonares.

Agua de coco	N	Subconjuntos obtenidos con la prueba de Tukey			
		Primera hoja	Segunda hoja	Tercera hoja	Cuarta hoja
50 mL L ⁻¹	40	17,90 ^a	22,35 ^a	26,83 ^a	30,73 ^a
100 mL L ⁻¹	40	19,48 ^b	24,25 ^b	28,55 ^b	31,93 ^b
150 mL L ⁻¹	40	21,65 ^c	24,95 ^b	28,90 ^b	32,85 ^b

Debido a que la significancia obtenida para el factor concentración de carbón activado en la obtención de la cuarta hoja fue menor a 0,05; se realizó el análisis de los estadísticos descriptivos, y la concentración de 1 g L⁻¹ favorece al desarrollo más temprano de la cuarta hoja (31,32 días) (Tabla 3.57).

Tabla 3.57 Estadísticos descriptivos del aparecimiento de las hojas cotiledonares, calculados para las diferentes concentraciones de carbón activado en el medio.

Carbón activado	Primera hoja		Segunda hoja		Tercera hoja		Cuarta hoja	
	Media	Desviación típica	Media	Desviación típica	Media	Desviación típica	Media	Desviación típica
1 g/L	20,03	3,513	24,15	2,570	28,02	2,521	31,32 ^a	2,703
2 g/L	19,32	3,045	23,55	2,965	28,17	3,087	32,35 ^b	2,603
Total	19,68	3,293	23,85	2,779	28,09	2,808	31,83	2,692

La significancia obtenida en el ADEVA para la concentración de azúcar en el aparecimiento de la tercera y cuarta hoja fue menor a 0,05; por lo que se realizó el análisis de los estadísticos descriptivos, que resultaron en que el tratamiento con 30 g L⁻¹ de azúcar, produce la obtención más temprana de la tercera y cuarta hoja (27,17 y 30,9 días respectivamente) (Tabla 3.58).

Tabla 3.58 Estadísticos descriptivos calculados en el desarrollo de las hojas no cotiledonares para las concentraciones de azúcar.

Azúcar	Primera hoja		Segunda hoja		Tercera hoja		Cuarta hoja	
	Media	Desviación típica	Media	Desviación típica	Media	Desviación típica	Media	Desviación típica
30 g/L	19,37	3,350	23,55	2,890	27,17 ^a	2,981	30,90 ^a	2,582
60 g/L	19,98	3,234	24,15	2,654	29,02 ^b	2,296	32,77 ^b	2,486
Total	19,68	3,293	23,85	2,779	28,09	2,808	31,83	2,692

En la evaluación de la interacción agua de coco * carbón activado, se obtuvo significancias bajas para las cuatro primeras hojas. La prueba de Tukey realizada mostró varios subconjuntos en cada prueba (Tabla 3.59). Se observa que los tratamientos con 50 mL L⁻¹ de agua de coco presentan un desarrollo más temprano, aunque no se encuentra una tendencia específica en lo que se refiere a la concentración de carbón activado.

Tabla 3.59 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco y carbón activado en la evaluación del aparecimiento de las cuatro primeras hojas.

Agua de coco * Carbón activado	N	Subconjuntos obtenidos con la prueba de Tukey			
		Primera hoja	Segunda hoja	Tercera hoja	Cuarta hoja
50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹	20	17,60 ^a	21,40 ^a	26,35 ^a	31,40 ^{a,b}
50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹	20	18,20 ^a	23,30 ^{a,b}	27,30 ^{a,b}	30,05 ^a
100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹	20	19,75 ^{a,b}	23,85 ^b	27,45 ^{a,b}	31,05 ^{a,b}
150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹	20	21,15 ^{b,c}	24,60 ^b	28,50 ^{a,b}	32,85 ^b
100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹	20	19,20 ^{a,b}	24,65 ^b	29,65 ^b	32,80 ^b
150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹	20	22,15 ^c	25,30 ^b	29,30 ^b	32,85 ^b

La interacción agua de coco * azúcar resultó tener baja significancia en el apareamiento de todas las cuatro primeras hojas, por lo que se realizó una prueba de Tukey para cada variable donde se diferenciaron de tres a cuatro grupos (Tabla 3.60). Se puede observar que concentraciones bajas de agua de coco y azúcar, resultan en el desarrollo temprano de las primeras hojas, además el tratamiento con 50 mL L⁻¹ de agua de coco y 30 g L⁻¹ de azúcar induce la diferenciación de la tercera y cuarta hoja en el menor tiempo.

Tabla 3.60 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco y azúcar en la evaluación del apareamiento de las primeras cuatro hojas.

Agua de coco * Azúcar	N	Subconjuntos obtenidos con la prueba de Tukey			
		Primera hoja	Segunda hoja	Tercera hoja	Cuarta hoja
50 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	16,30 ^a	21,25 ^a	27,00 ^a	31,00 ^a
100 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	17,75 ^{a,b}	23,20 ^{a,b}	27,25 ^a	30,50 ^a
50 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	19,50 ^{b,c}	23,45 ^b	26,65 ^a	30,45 ^a
150 mL L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	20	20,85 ^{c,d}	24,00 ^{b,c}	27,60 ^{a,b}	31,75 ^{a,b}
100 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	21,20 ^{c,d}	25,30 ^{b,c}	29,85 ^{b,c}	33,35 ^{b,c}
150 mL L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	20	22,45 ^d	25,90 ^c	30,20 ^c	33,95 ^c

La interacción carbón activado * azúcar en la obtención de la tercera y cuarta hoja presentaron significancia muy baja, por lo que al realizar una prueba de Tukey resultaron dos subconjuntos (Tabla 3.61) donde se observa que el tratamiento que presenta el desarrollo más tardío (29, 33 y 33,73 días) tiene una concentración alta de carbón activado y azúcar en el medio de cultivo. Además se observa que la concentración de 30 g L⁻¹ de azúcar favorece el desarrollo temprano de estas hojas.

Tabla 3.61 Prueba DHS de Tukey realizada para la interacción carbón activado y azúcar en la evaluación del apareamiento de las hojas no cotiledonares.

Carbón activado * Azúcar	N	Subconjuntos obtenidos con la prueba de Tukey			
		Primera hoja	Segunda hoja	Tercera hoja	Cuarta hoja
1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	30	20,17	24,07	27,33 ^a	30,83 ^a
2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	30	18,57	23,03	27,00 ^a	30,97 ^a
1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	30	19,90	24,23	28,70 ^{a,b}	31,80 ^a
2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	30	20,07	24,07	29,33 ^b	33,73 ^b

La interacción agua de coco * carbón activado * azúcar para la obtención de las cuatro primeras hojas tuvo valores muy bajos de significancia,

por lo que se aplicó una prueba de Tukey, donde se encontró varios grupos diferentes (Tabla 3.62), aquí se puede verificar que la aparición más temprana de estas hojas, se logra con concentraciones bajas de agua de coco y azúcar. Los mejores tratamientos que se encontraron fueron E2, E3 y E5. Además se evidencia que los tratamientos que contienen concentraciones altas de los nutrientes mencionados (E12 y E11), corresponden a los embriones que se tardaron más tiempo en desarrollar sus hojas no cotiledonares.

Tabla 3.62 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes interacciones entre agua de coco, carbón activado y azúcar en la evaluación de la aparición de las cuatro primeras hojas.

Agua de coco * Carbón activado * Azúcar	N	Subconjuntos obtenidos			
		Primera hoja	Segunda hoja	Tercera hoja	Cuarta hoja
(E2) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	18,20 ^{a,b,c,d}	21,70 ^{a,b}	25,00 ^a	29,10 ^{a,b}
(E3) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	15,60 ^a	21,40 ^a	26,30 ^{a,b}	28,30 ^a
(E5) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	18,20 ^{a,b,c,d}	22,50 ^{a,b,c}	26,40 ^{a,b}	29,70 ^{a,b}
(E9) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	21,50 ^{d,e}	24,50 ^{a,b,c,d}	27,30 ^{a,b}	31,00 ^{a,b}
(E4) 50 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	17,00 ^{a,b}	21,10 ^a	27,70 ^{a,b}	33,70 ^{d,e,f}
(E10) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	20,20 ^{b,c,d,e}	23,50 ^{a,b,c,d}	27,90 ^{a,b,c}	32,50 ^{c,d,e,f}
(E6) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	17,30 ^{a,b,c}	23,90 ^{a,b,c,d}	28,10 ^{a,b,c}	31,30 ^{b,c,d}
(E1) 50 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 30 g L ⁻¹	10	20,80 ^{b,c,d,e}	25,20 ^{b,c,d}	28,30 ^{a,b,c}	31,80 ^{b,c,d,e}
(E7) 100 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	21,30 ^{d,e}	25,20 ^{b,c,d}	28,50 ^{b,c}	32,40 ^{c,d,e,f}
(E12) 150 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	22,10 ^e	25,70 ^{c,d}	29,10 ^{b,c}	33,20 ^{d,e,f}
(E8) 100 mL L ⁻¹ * 2 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	21,10 ^{c,d,e}	25,40 ^{c,d}	31,20 ^c	34,30 ^{e,f}
(E11) 150 mL L ⁻¹ * 1 g L ⁻¹ * 60 g L ⁻¹	10	22,80 ^e	26,10 ^d	31,30 ^c	34,70 ^f

3.1.4.2 Evaluación de reguladores de crecimiento

Se evaluó el uso de reguladores de crecimiento en el desarrollo embrionario aplicando un ADEVA para los tratamientos dispuestos en el DCA. Los factores que demostraron tener una significancia menor al 5%, se analizaron con pruebas de Tukey (95% de confianza), las mismas que se mostrarán más adelante.

3.1.4.2.1 Germinación y desarrollo inicial de los embriones

La evaluación de la germinación y desarrollo inicial de los embriones de piñón se realizó en primera instancia con un ADEVA para cada regulador evaluado (Tabla 3.63).

Tabla 3.63 ADEVA realizada para los distintos reguladores utilizados en la germinación y desarrollo inicial embrionario de piñón.

Variable	Fuente de variación	BAP		AIB		GA ₃		Brasinolida	
		SC	Sig.	SC	Sig.	SC	Sig.	SC	Sig.
Desarrollo del eje embrionario	Inter-grupos	7,41	0,086	53,77	0,000	22,93	0,000	16,56	0,000
	Intra-grupos	93,57		47,22		78,06		84,43	
	Total	100,99		100,99		100,98		100,98	
Embrión completamente fotosintético	Inter-grupos	0,90	0,567	5,13	0,007	6,27	0,002	2,43	0,060
	Intra-grupos	38,00		33,78		32,63		36,47	
	Total	38,90		38,90		38,90		38,90	
Área foliar cotiledonar	Inter-grupos	19,99	0,005	24,75	0,001	57,80	0,000	23,08	0,001
	Intra-grupos	126,83		122,06		89,02		123,73	
	Total	146,82		146,81		146,81		146,81	
Longitud del tallo	Inter-grupos	11,23	0,000	6,50	0,001	8,07	0,000	9,57	0,000
	Intra-grupos	23,99		28,73		27,16		25,66	
	Total	35,23		35,23		35,23		35,23	

a) Evaluación del uso de BAP

En la evaluación del regulador de crecimiento bencilaminopurina (BAP), para el área foliar cotiledonar, se diferenció dos grupos mediante una prueba de Tukey (Tabla 3.64), donde se observa que una concentración de 0,5 mg L⁻¹, induce el desarrollo de un mayor área foliar cotiledonar (6,63 cm²), además se evidenció un crecimiento del área foliar inversamente proporcional a la concentración de BAP; es decir, a menor concentración de BAP, mayor será el área foliar. En lo que se refiere a la longitud del tallo, se diferenciaron dos grupos mediante una prueba de Tukey (Tabla 3.64). Los resultados mostrados evidencian que la ausencia de BAP induce el desarrollo de tallos más largos (3,185 cm), además no se encontró una tendencia clara en lo que se refiere a la concentración de BAP en y la longitud del tallo.

Tabla 3.64 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de BAP en la germinación y desarrollo inicial embrionario.

Concentración de BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos para alfa = 0,05	
		Área foliar cotiledonar	Longitud del tallo
2	40	5,173 ^a	2,283 ^a
1	20	5,810 ^{a,b}	2,740 ^{a,b}
0,5	10	6,630 ^b	2,650 ^a
0	20	5,850 ^{a,b}	3,185 ^b

b) Evaluación del uso de AIB

En uso del regulador de crecimiento ácido indol butírico (AIB) fue evaluado para el desarrollo del eje embrionario mediante una prueba de Tukey, la misma que diferenció dos grupos (Tabla 3.65), se puede observar que la ausencia de AIB, promueve el desarrollo inicial del eje embrionario en un mayor tiempo (4,9 días), además con la presencia de AIB, el eje embrionario se desarrolla tempranamente, siendo la concentración de 0,1 mg L⁻¹ la que obtiene el desarrollo más rápido (2,3 días). En cuanto a la obtención de embriones completamente fotosintéticos se encontraron dos grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.65), se observa que la concentración de 0,5 mg L⁻¹ de AIB logra su obtención en un menor tiempo (4,4 días). Además con una concentración de 1 mg L⁻¹ de AIB se obtiene embriones completamente verdes en un mayor tiempo (5 días). La evaluación del área foliar cotiledonar determinó dos grupos diferentes (Tabla 3.65). Aquí se observa que la ausencia de AIB, promueve un mayor desarrollo del área foliar cotiledonar (6,90 cm²), además se observa que a menor concentración de AIB, mayor será el área foliar. Para la evaluación de la longitud del tallo, se encontró dos grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.65). Se observa que la concentración de 0 y 0,1 mg L⁻¹ de AIB, promueven un mayor desarrollo del tallo (2,66 - 2,98 cm).

Tabla 3.65 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de AIB en la germinación y desarrollo inicial embrionario.

Concentración de AIB (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos para alfa = 0,05			
		Desarrollo del eje embrionario	Embrión completamente fotosintético	Área foliar cotiledonar	Longitud del tallo
1	20	2,85 ^a	5,00 ^b	5,840 ^a	2,450 ^a
0,5	30	2,53 ^a	4,40 ^a	5,127 ^a	2,370 ^a
0,1	30	2,30 ^a	4,83 ^{a,b}	5,560 ^a	2,987 ^b
0	10	4,90 ^b	4,60 ^{a,b}	6,900 ^b	2,660 ^{a,b}

c) Evaluación del uso de GA₃

En la evaluación del regulador de crecimiento ácido giberélico (GA₃) para el desarrollo del eje embrionario, se utilizó una prueba de Tukey que

encontró dos grupos diferentes (Tabla 3.66). Se observa que una concentración de 2 mg L⁻¹, induce el desarrollo inicial del eje embrionario en menor tiempo (2,11 días). En lo que se refiere a la obtención de embriones completamente fotosintéticos, resultaron dos grupos diferentes (Tabla 3.66), donde se puede observar que la ausencia de este regulador promueve su desarrollo temprano (4,45 días). Además 2 mg L⁻¹ inducen el desarrollo de embriones completamente verdes en el mayor tiempo (5 días). El área foliar cotiledonar se evaluó mediante una prueba de Tukey, que encontró dos grupos diferentes. Los resultados muestran 1 mg L⁻¹, induce el desarrollo de un área foliar cotiledonar más grande (6,482 cm²). En la evaluación de la longitud del tallo, resultaron dos grupos diferentes (Tabla 3.66), donde se observa que 2 mg L⁻¹, inducen el desarrollo de tallos más largos (3,18 cm), además se evidenció que el aumento en las concentraciones de GA₃ es directamente proporcional a la longitud del tallo.

Tabla 3.66 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de GA₃ en la germinación y desarrollo inicial embrionario.

Concentración de GA ₃ (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos para alfa = 0,05			
		Desarrollo del eje embrionario	Embrión completamente fotosintético	Área foliar cotiledonar	Longitud del tallo
2	19	2,11 ^a	5,00 ^b	5,026 ^a	3,189 ^b
1	11	2,64 ^{a,b}	4,55 ^{a,b}	6,482 ^b	2,636 ^a
0,5	20	2,45 ^a	5,00 ^b	4,465 ^a	2,495 ^a
0	40	3,33 ^b	4,45 ^a	6,258 ^b	2,420 ^a

d) Evaluación del uso de brasinolida

El regulador de crecimiento brasinolida fue evaluado en el desarrollo del eje embrionario mediante una prueba de Tukey, que resultó en dos grupos estadísticos (Tabla 3.67), donde se observa que 0,5 mg L⁻¹, inducen el desarrollo del eje embrionario en menor tiempo (2,05 días). Además la ausencia de brasinolida retrasa el desarrollo del eje embrionario (3,12 días). Con respecto al área foliar cotiledonar, resultaron dos grupos diferentes (Tabla 3.67), donde se observa que 1 mg L⁻¹, induce el desarrollo de un área foliar cotiledonar mayor (6,50 cm²). Para evaluar la longitud del tallo, se utilizó una

prueba de Tukey, que diferenci3 tres grupos (Tabla 3.67). Se observa que una concentraci3n de 0,5 mg L⁻¹, induce el desarrollo de un tallo m3s grande (3,155 cm), no se evidenci3 una tendencia clara con respecto a las concentraciones de brasinolida.

Tabla 3.67 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de brasinolida en la germinaci3n y desarrollo inicial embrionario.

Concentraci3n de Brasinolida (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos para alfa = 0,05		
		Desarrollo del eje embrionario	3rea foliar cotiledonar	Longitud del tallo
1	20	2,70 ^{a,b}	6,500 ^b	2,765 ^b
0,5	20	2,05 ^a	5,025 ^a	3,155 ^c
0	50	3,12 ^b	5,518 ^a	2,358 ^a

e) Evaluaci3n de los tratamientos en el DCA

Los diferentes tratamientos con reguladores de crecimiento planteados en el DCA se evaluaron en la germinaci3n y desarrollo inicial de embriones de pi3n3n mediante un ADEVA (Tabla 3.68) para observar su significancia.

Tabla 3.68 ADEVA realizada para los distintos tratamientos con reguladores de crecimiento utilizados en la germinaci3n y desarrollo inicial embrionario.

Variable	Fuente de variaci3n	Suma de cuadrados	gl	Media cuadr3tica	F	Sig.
Desarrollo del eje embrionario	Inter-grupos	65,089	8	8,136	18,357	0,000
	Intra-grupos	35,900	81	0,443		
	Total	100,989	89			
Embri3n completamente fotosint3tico	Inter-grupos	13,200	8	1,650	5,200	0,000
	Intra-grupos	25,700	81	0,317		
	Total	38,900	89			
3rea foliar cotiledonar	Inter-grupos	114,884	8	14,361	36,427	0,000
	Intra-grupos	31,932	81	0,394		
	Total	146,816	89			
Longitud del tallo	Inter-grupos	22,720	8	2,840	18,387	0,000
	Intra-grupos	12,511	81	0,154		
	Total	35,231	89			

En la evaluaci3n del desarrollo del eje embrionario, se diferenciaron cuatro grupos mediante una prueba de Tukey (Tabla 3.69). Se puede observar que el tratamiento que promueve el desarrollo del eje embrionario en menor tiempo (1,7 d3as) es el tratamiento R2, y el tratamiento R1 result3 ser el que se

demora más en producir este desarrollo (4,9 días). Con respecto a la obtención de embriones completamente fotosintéticos, se encontraron dos grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.69). Los resultados muestran que el tratamiento que promueve el desarrollo más temprano es el tratamiento 6 (4,1 días). Además el tratamiento control (tratamiento R9, sin reguladores de crecimiento) produce embriones completamente verdes en un mayor tiempo (5,5 días). En la evaluación del área foliar cotiledonar, se estableció seis grupos diferentes (Tabla 3.69). Se observa que el tratamiento que promueve un mayor desarrollo del área foliar cotiledonar es el tratamiento R1 (6,90 cm²). Por otro lado el tratamiento R7 resultó ser el que produjo áreas foliares de menor dimensión (2,95 cm²). Para la evaluación de la longitud del tallo, los tratamientos se agruparon en cinco grupos (Tabla 3.69), donde se observa que el tratamiento que promueve un mayor desarrollo del tallo es el tratamiento R2 (3,71 cm). Además, el tratamiento R8 produjo tallos de menor tamaño (1,98 cm).

Tabla 3.69 Prueba DHS de Tukey realizada para los diferentes tratamientos con reguladores de crecimiento en la evaluación de la germinación y desarrollo inicial embrionario.

Tratamiento de germinación	N	Subconjuntos para alfa = 0,05			
		Desarrollo del eje embrionario	Embrión completamente fotosintético	Área foliar cotiledonar	Longitud del tallo
Tratamiento R1	10	4,90 ^d	4,60 ^{a,b}	6,900 ^f	2,660 ^{c,d}
Tratamiento R2	10	1,70 ^a	5,00 ^{b,c}	4,800 ^b	3,710 ^e
Tratamiento R3	10	2,80 ^{b,c}	4,50 ^{a,b}	6,630 ^{e,f}	2,650 ^{c,d}
Tratamiento R4	10	2,40 ^{a,b,c}	5,00 ^{b,c}	5,250 ^{b,c}	2,600 ^{b,c,d}
Tratamiento R5	10	2,60 ^{a,b,c}	4,60 ^{a,b}	6,370 ^{d,e,f}	2,880 ^d
Tratamiento R6	10	3,00 ^c	4,10 ^a	6,060 ^{c,d,e,f}	2,160 ^{a,b,c}
Tratamiento R7	10	2,00 ^{a,b}	4,50 ^{a,b}	2,950 ^a	2,070 ^{a,b}
Tratamiento R8	10	2,80 ^{b,c}	4,50 ^{a,b}	5,700 ^{c,d}	1,980 ^a
Tratamiento R9	10	2,90 ^{b,c}	5,50 ^c	5,980 ^{c,d,e}	2,920 ^d

3.1.4.2.2 Desarrollo del sistema radical

La evaluación del desarrollo del sistema radical en embriones de piñón se realizó por medio de un ADEVA para cada regulador evaluado (Tabla 3.70).

Tabla 3.70 ADEVA realizada para los distintos reguladores utilizados en el desarrollo del sistema radical en embriones de piñón.

Variable	Fuente de variación	BAP		AIB		GA ₃		Brasinolida	
		SC	Sig.	SC	Sig.	SC	Sig.	SC	Sig.
Aparición del sistema radical	Inter-grupos	1033,23	0,000	972,02	0,000	155,59	0,017	89,31	0,056
	Intra-grupos	360,55		421,77		1238,18		1304,47	
	Total	1393,78		1393,79		1393,78		1393,78	
Longitud del sistema radical	Inter-grupos	37,37	0,000	33,35	0,000	5,69	0,010	3,37	0,037
	Intra-grupos	8,95		12,96		40,63		42,95	
	Total	46,32		46,32		46,32		46,32	

a) Evaluación del uso de BAP

En la evaluación del aparecimiento del sistema radical se encontraron dos grupos diferentes mediante una prueba de Tukey (Tabla 3.71), donde se evidencia que en ausencia de BAP, el desarrollo del sistema radical se da en 8,15 días, y con la presencia de este regulador, no se obtiene crecimiento alguno del sistema radical en los embriones. En la evaluación de la longitud del sistema radical se pudieron diferenciar dos (Tabla 3.71). Se puede observar que la presencia de BAP no induce desarrollo radical. Es así que, la ausencia de este regulador produce raíces de nivel 1,55 de acuerdo a la escala planteada en la tabla 2.5 de la metodología.

Tabla 3.71 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de BAP en la evaluación del desarrollo del sistema radical.

Concentración de BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos para alfa = 0,05	
		Aparición del sistema radical	Longitud del sistema radical
0,5	10	0,00 ^a	0,00 ^a
1	20	0,00 ^a	0,00 ^a
2	40	0,00 ^a	0,00 ^a
0	20	8,15 ^b	1,55 ^b

b) Evaluación del uso de AIB

La aparición del sistema radical se evaluó con una prueba de Tukey, donde se diferenció dos grupos (Tabla 3.72). Aquí se observa que la ausencia de AIB en el medio de cultivo promueve el desarrollo del sistema radical en

10,8 días, y la presencia de este regulador no promueve el desarrollo de raíces. Al analizar la longitud del sistema radical, también se encontraron dos grupos (Tabla 3.72), se observa que la ausencia de AIB promueve un desarrollo del sistema radical de nivel 2; y en presencia de este regulador no se obtiene casi ningún desarrollo radical.

Tabla 3.72 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de AIB en la evaluación del desarrollo del sistema radical.

Concentración de AIB (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos para alfa = 0,05	
		Aparición del sistema radical	Longitud del sistema radical
0,5	30	0,00 ^a	0,00 ^a
1	20	0,00 ^a	0,00 ^a
0,1	30	1,83 ^a	0,37 ^b
0	10	10,80 ^b	2,00 ^c

c) Evaluación del uso de GA₃

A pesar de que en el ADEVA realizado se encontró baja significancia en las variables evaluadas, mediante la prueba de Tukey no se obtuvieron grupos diferentes estadísticamente, lo cual nos indica que no existe diferencia en las concentraciones de ácido giberélico utilizado.

d) Evaluación del uso de brasinolida

En la evaluación de la aparición del sistema radical se agruparon en dos subconjuntos con la ayuda de una prueba de Tukey (Tabla 3.73), donde se observa que el uso de 1 mg L⁻¹, no induce desarrollo radical, en cambio concentraciones bajas de brasinolida permiten su mejor desarrollo. El análisis realizado para la longitud de las raíces, mostró dos grupos estadísticos (Tabla 3.73), donde se observa que 1 mg L⁻¹, no induce desarrollo radical. Además concentraciones bajas de brasinolida (0 y 0,5 mg L⁻¹) permiten un desarrollo pobre de raíces (nivel 0,4 y 0,55 respectivamente).

Tabla 3.73 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de brasinolida en la evaluación del desarrollo del sistema radical.

Concentración de Brasinolida (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos para alfa = 0,05	
		Aparición del sistema radical	Longitud del sistema radical
1	20	0,00 ^a	0,00 ^a
0	50	2,16 ^{a,b}	0,40 ^{a,b}
0,5	20	2,75 ^c	0,55 ^c

e) Evaluación de los tratamientos en el DCA

Los diferentes tratamientos con reguladores de crecimiento planteados en el DCA se evaluaron en el desarrollo del sistema radical de embriones de piñón mediante un ADEVA (Tabla 3.74) para observar su significancia.

Tabla 3.74 ADEVA realizada para los distintos tratamientos con reguladores de crecimiento utilizados en la evaluación del desarrollo del sistema radical.

Variable	Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Aparición del sistema radical	Inter-grupos	1173,689	8	146,711	53,992	0,000
	Intra-grupos	220,100	81	2,717		
	Total	1393,789	89			
Longitud del sistema radical	Inter-grupos	41,422	8	5,178	85,592	0,000
	Intra-grupos	4,900	81	0,060		
	Total	46,322	89			

La evaluación del apareamiento de raíces mediante una prueba de Tukey estableció tres grupos estadísticos (Tabla 3.75), Aquí se observa que el tratamiento que promueve el desarrollo del sistema radical en menor tiempo (5,5 días) es el tratamiento R2; aunque con el tratamiento R1 se demora más tiempo en su desarrollo (10,8 días), se puede observar que el resto de tratamientos no producen crecimiento de raíces. Con respecto a la longitud de raíces, se encontraron tres grupos diferentes (Tabla 3.75), donde se observa que el tratamiento que promueve el sistema radical de mayor longitud (nivel 2) es el tratamiento R1. Aunque el tratamiento R2 tiene un nivel considerable de 1,10. El resto de tratamientos no produjeron crecimiento radical.

Tabla 3.75 Prueba DHS de Tukey realizada para los diferentes tratamientos con reguladores de crecimiento utilizados en la evaluación del desarrollo del sistema radical.

Tratamiento de germinación	N	Subconjuntos para alfa = 0,05	
		Aparición del sistema radical	Longitud del sistema radical
Tratamiento R3	10	0,00 ^a	0,00 ^a
Tratamiento R4	10	0,00 ^a	0,00 ^a
Tratamiento R5	10	0,00 ^a	0,00 ^a
Tratamiento R6	10	0,00 ^a	0,00 ^a
Tratamiento R7	10	0,00 ^a	0,00 ^a
Tratamiento R8	10	0,00 ^a	0,00 ^a
Tratamiento R9	10	0,00 ^a	0,00 ^a
Tratamiento R2	10	5,50 ^b	1,10 ^b
Tratamiento R1	10	10,80 ^c	2,00 ^c

3.1.4.2.3 Desarrollo apical y foliar

La evaluación del desarrollo apical y foliar en embriones germinados de piñón se realizó con un ADEVA para cada regulador evaluado (Tabla 3.76).

Tabla 3.76 ADEVA realizada para los distintos reguladores utilizados en el desarrollo apical y foliar en embriones germinados de piñón.

Variable	Fuente de variación	BAP		AIB		GA ₃		Brasinolida	
		SC	Sig.	SC	Sig.	SC	Sig.	SC	Sig.
Desarrollo de yema apical	Inter-grupos	256,056	0,00	303,489	0,00	220,587	0,00	382,026	0,00
	Intra-grupos	547,500		500,067		582,969		421,530	
	Total	803,556		803,556		803,556		803,556	
Desarrollo de la primera hoja	Inter-grupos	775,475	0,00	632,217	0,00	604,125	0,00	385,380	0,00
	Intra-grupos	415,425		558,683		586,775		805,520	
	Total	1190,90		1190,90		1190,90		1190,90	
Desarrollo de la segunda hoja	Inter-grupos	325,925	0,00	156,533	0,00	259,872	0,00	157,470	0,00
	Intra-grupos	404,175		573,567		470,228		572,630	
	Total	730,100		730,100		730,100		730,100	
Desarrollo de la tercera hoja	Inter-grupos	394,031	0,00	96,489	0,003	221,960	0,00	186,936	0,00
	Intra-grupos	246,425		543,967		418,496		453,520	
	Total	640,456		640,456		640,456		640,456	
Desarrollo de la cuarta hoja	Inter-grupos	244,475	0,00	48,217	0,036	169,597	0,00	108,150	0,00
	Intra-grupos	269,125		465,383		344,003		405,450	
	Total	513,600		513,600		513,600		513,600	

a) Evaluación del uso de BAP

Las concentraciones de BAP en el desarrollo apical y foliar fueron evaluadas con pruebas de Tukey, donde se determinaron grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.77). En el apareamiento de la yema apical se puede observar que 1 mg L⁻¹ de BAP promueve su apareamiento en menor tiempo (9 días) y 2 mg L⁻¹ promueven este desarrollo en 12,65 días. En lo que se refiere al desarrollo foliar se observa que 0,5 mg L⁻¹ de BAP promueve el apareamiento de las primeras hojas en menor tiempo; por otro lado, una concentración de 2 mg L⁻¹ promueve este desarrollo en un mayor tiempo.

Tabla 3.77 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de BAP en la evaluación del desarrollo apical y foliar en embriones germinados de piñón.

Concentración de BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos obtenidos con la prueba de Tukey				
		Yema apical	Primera hoja	Segunda hoja	Tercera hoja	Cuarta hoja
0,5	10	9,20 ^a	14,90 ^a	20,40 ^a	23,90 ^a	27,60 ^a
1	20	9,00 ^a	18,35 ^b	22,90 ^b	26,10 ^b	30,25 ^b
0	20	9,60 ^a	20,00 ^b	25,50 ^c	30,45 ^d	33,30 ^c
2	40	12,65 ^b	23,53 ^c	25,98 ^c	28,93 ^c	31,68 ^b

b) Evaluación del uso de AIB

El uso de diferentes concentraciones de AIB en el desarrollo apical y foliar se evaluó mediante pruebas de Tukey, donde se encontraron diferentes grupos (Tabla 3.78). Con la concentración de 0,1 mg L⁻¹ de AIB se obtiene el apareamiento de la yema apical en el menor tiempo (8,77 días). Además 1 mg L⁻¹ de AIB obtiene este desarrollo en el mayor tiempo (13,5 días). Con respecto al desarrollo foliar, se observa que con 0,1 mg L⁻¹ de AIB se obtiene el apareamiento de las primeras hojas en un menor tiempo. Además, la diferenciación de los subconjuntos se va reduciendo con el tiempo, ya que para el apareamiento de la cuarta hoja se obtuvo un solo grupo de acuerdo a la prueba de Tukey.

Tabla 3.78 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de AIB en la evaluación del desarrollo apical y foliar en embriones germinados de piñón.

Concentración de AIB (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos obtenidos con la prueba de Tukey				
		Yema apical	Primera hoja	Segunda hoja	Tercera hoja	Cuarta hoja
0,1	30	8,77 ^a	17,53 ^a	23,17 ^a	26,80 ^a	30,55 ^a
0	10	12,50 ^b	18,20 ^a	23,70 ^a	29,60 ^b	30,67 ^a
1	20	13,50 ^b	22,45 ^b	24,50 ^{a,b}	27,90 ^{a,b}	31,80 ^a
0,5	30	10,40 ^a	23,33 ^b	26,30 ^b	28,97 ^{a,b}	32,17 ^a

c) Evaluación del uso de GA₃

El análisis de los tratamientos (GA₃) para el desarrollo apical y foliar mediante pruebas de Tukey, encontró grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.79). Se puede observar que 2 mg L⁻¹ de este regulador promueve un desarrollo temprano de la yema apical (8,47 días), y una concentración de 0,5 mg L⁻¹ induce su desarrollo en el mayor tiempo (12,85 días). Además una concentración de 1 mg L⁻¹ de este regulador promueve un desarrollo temprano de las primeras hojas no cotiledonares. Al igual que en el desarrollo apical, una concentración de 0,5 mg L⁻¹ induce el desarrollo de las hojas tardíamente.

Tabla 3.79 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de GA₃ en la evaluación del desarrollo apical y foliar en embriones germinados de piñón.

Concentración de GA ₃ (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos obtenidos con la prueba de Tukey				
		Yema apical	Primera hoja	Segunda hoja	Tercera hoja	Cuarta hoja
1	11	9,27 ^{a,b}	15,00 ^a	20,36 ^a	23,91 ^a	27,73 ^a
2	19	8,47 ^a	19,00 ^b	24,79 ^b	28,47 ^b	32,37 ^b
0	40	11,25 ^{b,c}	21,48 ^c	24,73 ^b	28,55 ^b	31,40 ^b
0,5	20	12,85 ^c	23,60 ^c	26,35 ^b	29,05 ^b	31,90 ^b

d) Evaluación del uso de brasinolida

Los tratamientos con brasinolida en la evaluación del desarrollo apical y foliar, se evaluaron a través de pruebas de Tukey, las mismas que resultaron en la diferenciación de grupos homogéneos (Tabla 3.80). Aquí se observa que 1 mg L⁻¹ induce el desarrollo temprano de la yema apical (8,4 días). También que a menor concentración de brasinolida, mayor es el tiempo en el que se

desarrolla la yema apical. Por esta razón, con la ausencia de este regulador en el medio su desarrollo es más tardío (12,62 días). Con respecto al desarrollo foliar, se puede observar que 1 mg L⁻¹, induce el desarrollo temprano de las primeras hojas. Igualmente, la ausencia de este regulador en el medio retrasa el apareamiento de las hojas no cotiledonares.

Tabla 3.80 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de brasinolida en la evaluación del desarrollo apical y foliar en embriones germinados de piñón.

Concentración de Brasinolida (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos obtenidos con la prueba de Tukey				
		Yema apical	Primera hoja	Segunda hoja	Tercera hoja	Cuarta hoja
1	20	8,40 ^a	17,85 ^a	22,20 ^a	25,45 ^a	29,25 ^a
0,5	20	8,55 ^a	18,85 ^a	24,55 ^b	28,25 ^b	32,20 ^b
0	50	12,62 ^b	22,46 ^b	25,52 ^b	29,06 ^b	31,70 ^b

e) Evaluación de los tratamientos en el DCA

Los diferentes tratamientos con reguladores de crecimiento planteados en el DCA se evaluaron para el desarrollo apical y foliar de embriones de piñón mediante un ADEVA (Tabla 3.81) para observar su significancia.

Tabla 3.81 ADEVA realizada para los distintos tratamientos con reguladores de crecimiento utilizados en el desarrollo apical y foliar en embriones germinados de piñón.

Variable	Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Desarrollo de yema apical	Inter-grupos	572,356	8	71,544	25,065	0,000
	Intra-grupos	231,200	81	2,854		
	Total	803,556	89			
Desarrollo de la primera hoja	Inter-grupos	1066,800	8	133,350	87,037	0,000
	Intra-grupos	124,100	81	1,532		
	Total	1190,900	89			
Desarrollo de la segunda hoja	Inter-grupos	572,600	8	71,575	36,810	0,000
	Intra-grupos	157,500	81	1,944		
	Total	730,100	89			
Desarrollo de la tercera hoja	Inter-grupos	482,956	8	60,369	31,047	0,000
	Intra-grupos	157,500	81	1,944		
	Total	640,456	89			
Desarrollo de la cuarta hoja	Inter-grupos	363,800	8	45,475	24,589	0,000
	Intra-grupos	149,800	81	1,849		
	Total	513,600	89			

Los tratamientos se evaluaron mediante pruebas de Tukey para el desarrollo apical y foliar, se encontraron varios grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.82), se puede observar que el tratamiento que promueve el desarrollo más temprano de la yema apical (6,7 días) es el tratamiento R2. Con los tratamientos 7 y 8 se obtiene este desarrollo en un mayor tiempo (14,7 días). Además el tratamiento control (sin reguladores) también induce un desarrollo tardío de la yema apical (12,3 días). En el desarrollo foliar, se observa que los tratamientos que promueven un desarrollo foliar más temprano son los tratamientos R3 y R4. Por otra parte, los tratamientos R2 y R7 aparentemente son los que muestran un retraso en el desarrollo de las hojas.

Tabla 3.82 Prueba DHS de Tukey realizada para los tratamientos con reguladores de crecimiento en la evaluación del apareamiento de las primeras cuatro hojas no cotiledonares.

Tratamiento de germinación	N	Subconjuntos obtenidos con la prueba de Tukey				
		Yema apical	Primera hoja	Segunda hoja	Tercera hoja	Cuarta hoja
Tratamiento R3	10	9,20 ^{b,c}	14,90 ^a	20,40 ^a	23,90 ^a	27,60 ^a
Tratamiento R4	10	10,40 ^{c,d}	15,90 ^a	21,80 ^{a,b}	25,20 ^{a,b}	29,60 ^b
Tratamiento R1	10	12,50 ^{d,e}	18,20 ^b	23,70 ^{b,c}	29,60 ^{e,f,g}	31,80 ^{c,d}
Tratamiento R5	10	7,60 ^{a,b}	20,80 ^c	24,00 ^{c,d}	27,00 ^{b,c}	30,90 ^{b,c}
Tratamiento R9	10	12,30 ^{d,e}	21,30 ^c	23,60 ^{b,c}	27,40 ^{c,d}	30,20 ^{b,c}
Tratamiento R2	10	6,70 ^a	21,80 ^{c,d}	27,30 ^{e,f}	31,30 ^g	34,80 ^e
Tratamiento R6	10	10,20 ^{c,d}	23,30 ^{d,e}	25,80 ^{d,e}	29,20 ^{d,e,f}	32,00 ^{c,d}
Tratamiento R8	10	14,70 ^e	23,60 ^e	25,40 ^{c,d,e}	28,40 ^{c,d,e}	30,90 ^{b,c}
Tratamiento R7	10	13,40 ^e	25,90 ^f	29,10 ^f	30,70 ^{f,g}	33,60 ^{d,e}

3.1.4.2.4 Evaluación de formación callosa

La evaluación de la formación callosa en embriones de piñón se realizó por medio de un ADEVA para cada regulador evaluado (Tabla 3.83).

Tabla 3.83 ADEVA realizada para los distintos reguladores utilizados para la formación callosa en embriones de piñón.

Variable	Fuente de variación	BAP		AIB		GA ₃		Brasinolida	
		SC	Sig.	SC	Sig.	SC	Sig.	SC	Sig.
Grosor del tallo	Inter-grupos	12,350	0,00	9,600	0,00	4,884	0,006	4,230	0,004
	Intra-grupos	23,650		26,400		31,116		31,770	
	Total	36,000		36,000		36,000		36,000	
Formación de callo	Inter-grupos	51,150	0,00	43,533	0,00	19,857	0,000	15,120	0,000
	Intra-grupos	25,750		33,367		57,043		61,780	
	Total	76,900		76,900		76,900		76,900	

a) Evaluación del uso de BAP

La evaluación del uso de BAP en la formación callosa diferenció varios grupos estadísticos mediante una prueba de Tukey (Tabla 3.84), donde se puede observar que la ausencia de BAP induce el desarrollo de tallos más delgados (nivel 1,35) de acuerdo a la escala planteada en la metodología de uno a tres (Tabla 2.7 y figura 2.11). Además a mayor concentración de BAP, mayor es el grosor del tallo. En lo que se refiere a la formación de callo, se observa que una concentración elevada de BAP (2 mg L^{-1}) induce una mayor formación de callo (nivel 2) de acuerdo a la escala planteada en la metodología de 0 a 3 (Tabla 2.8 y figura 2.12). Además se evidenció que a mayor concentración de BAP, la formación de callo es mayor.

Tabla 3.84 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de BAP en la evaluación de la formación callosa.

Concentración de BAP (mg L^{-1})	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		Grosor del tallo	Formación de callo
0	20	1,35 ^a	0,05 ^a
0,5	10	1,90 ^b	1,20 ^b
1	20	2,10 ^b	1,20 ^b
2	40	2,30 ^b	2,00 ^c

b) Evaluación del uso de AIB

El uso del regulador de crecimiento AIB se evaluó para la formación callosa, y se encontraron grupos estadísticamente diferentes mediante una prueba de Tukey (Tabla 3.85), donde se puede observar que la concentración de 1 mg L^{-1} de AIB, promueve tallos de mayor grosor (nivel 2,40), además se evidenció que a menor concentración de AIB, menor será el grosor del tallo. En cuanto a la formación de callo, se logró observar que 1 mg L^{-1} de AIB, promueve una mayor formación de callo (nivel 2,30); también se observó que a mayor concentración de AIB, mayor es la formación de callo.

Tabla 3.85 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de AIB en la evaluación de la formación callosa.

Concentración de AIB (mg L ⁻¹)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		Grosor del tallo	Formación de callo
0	10	1,50 ^a	0,10 ^a
0,1	30	1,70 ^a	0,80 ^b
0,5	30	2,20 ^b	1,53 ^c
1	20	2,40 ^b	2,30 ^d

c) Evaluación del uso de GA₃

La evaluación del regulador de crecimiento GA₃ mediante una prueba de Tukey, encontró grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.86), donde se observa que la ausencia del regulador, induce tallos de mayor grosor (nivel 2,18), además a menor concentración de GA₃, se encuentran tallos de mayor grosor. Con respecto a la formación de callo, se puede observar que una concentración de 0,5 mg L⁻¹, induce la mayor formación de callo (nivel 2,00), además se muestra que concentraciones altas de GA₃ no promueven la formación abundante de callo.

Tabla 3.86 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de GA₃ en la evaluación de la formación callosa.

Concentración de GA ₃ (mg L ⁻¹)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		Grosor del tallo	Formación de callo
2	19	1,58 ^a	0,58 ^a
1	11	1,91 ^{a,b}	1,18 ^{a,b}
0,5	20	2,10 ^b	2,00 ^c
0	40	2,18 ^b	1,33 ^{b,c}

d) Evaluación del uso de brasinolida

El uso de brasinolida en la formación callosa resultó en grupos estadísticamente diferentes mediante una prueba de Tukey (Tabla 3.87). Aquí se pudo observar que 0,5 mg L⁻¹, inducen la formación de un tallo de menor grosor (nivel 1,60) y una menor formación de callo (nivel 0,60); aunque no se evidenció una tendencia clara con respecto a las concentraciones de

brasinolida, se observa que la inducción de callo en todos los tratamientos es relativamente baja (nivel 0,6 a 1,62)

Tabla 3.87 Prueba DHS de Tukey realizada para las diferentes concentraciones de brasinolida en la evaluación de la formación callosa.

Concentración de Brasinolida (mg L ⁻¹)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		Grosor del tallo	Formación de callo
0,5	20	1,60 ^a	0,60 ^a
1	20	2,05 ^b	1,20 ^b
0	50	2,14 ^b	1,62 ^b

e) Evaluación de los tratamientos en el DCA

Los diferentes tratamientos con reguladores de crecimiento planteados en el DCA se evaluaron en la formación callosa de embriones de piñón mediante un ADEVA (Tabla 3.88) para observar su significancia.

Tabla 3.88 ADEVA realizada para los distintos tratamientos con reguladores de crecimiento utilizados en la formación callosa de embriones de piñón.

Variable	Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Grosor del tallo	Inter-grupos	15,000	8	1,875	7,232	0,000
	Intra-grupos	21,000	81	0,259		
	Total	36,000	89			
Formación de callo	Inter-grupos	56,400	8	7,050	27,856	0,000
	Intra-grupos	20,500	81	0,253		
	Total	76,900	89			

Los tratamientos fueron evaluados mediante una prueba de Tukey, donde se establecieron grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.89). Se puede observar que el tratamiento, donde se promueve un mayor grosor del tallo (nivel 2,6), es el tratamiento R8, y además es donde se produjo la mayor formación de callo (nivel 2,5). Por otro lado, el tratamiento R2 produjo tallos de menor grosor (nivel 1,2) y promueve una formación mínima o nula de callo (nivel 0 - 0,1). En general, se puede observar que una mayor concentración de BAP en el medio conlleva una mayor formación de callo.

Tabla 3.89 Prueba DHS de Tukey realizada para los diferentes tratamientos con reguladores de crecimiento en la evaluación de la formación callosa.

Tratamiento de germinación	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		Grosor del tallo	Formación de callo
Tratamiento R2	10	1,20 ^a	0,00 ^a
Tratamiento R1	10	1,50 ^{a,b}	0,10 ^a
Tratamiento R3	10	1,90 ^{a,b}	1,20 ^b
Tratamiento R4	10	2,00 ^{b,c}	1,20 ^b
Tratamiento R7	10	2,00 ^{b,c}	1,90 ^{b,c}
Tratamiento R5	10	2,20 ^{b,c}	1,20 ^b
Tratamiento R9	10	2,20 ^{b,c}	2,10 ^{c,d}
Tratamiento R6	10	2,40 ^c	1,50 ^{b,c}
Tratamiento R8	10	2,60 ^c	2,50 ^d

3.2 Micropropagación de yemas apicales adultas de piñón

3.2.1 Fase de desinfección

En la etapa de desinfección de yemas se evaluó la viabilidad, contaminación bacteriana y fúngica de explantes obtenidos directamente de campo y de estacas mantenidas en invernadero.

3.2.1.1 Desinfección de yemas a partir de plantas de campo

La evaluación del efecto que tienen los tratamientos de desinfección en la viabilidad y contaminación de las yemas de piñón se llevó a cabo mediante un ADEVA para cada variable evaluada en el arreglo factorial, además se realizaron análisis con pruebas chi cuadrado, gráficos de porcentajes y comparación de los estadísticos descriptivos donde se obtuvo baja significancia.

3.2.1.1.1 Viabilidad de la yema

Para la evaluación de la viabilidad en las yemas desinfectadas de piñón, en la metodología se estableció una escala de cero a cuatro (Tabla 2.11) donde se detallan los diferentes niveles que se evaluaron (Figura 2.16). Su análisis se realizó mediante el ADEVA del arreglo factorial aplicado (Tabla 3.90).

Tabla 3.90 ADEVA realizada para la evaluación de la viabilidad de las yemas de piñón con respecto a los tratamientos de desinfección utilizados en el arreglo factorial.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	125,0667	8	15,6333	9,3642	0,0000
NaClO	84,0167	1	84,0167	49,3548	0,0000
Tiempo de inmersión	10,4167	1	10,4167	6,1192	0,0141
Lavado Amp	6,0167	1	6,0167	3,5344	0,0614
NaClO * Tiempo de inmersión	2,4000	1	2,4000	1,4099	0,2363
NaClO * Lavado Amp	0,6000	1	0,6000	0,3525	0,5533
Tiempo de inmersión * Lavado Amp	0,0000	1	0,0000	0,0000	1,0000
NaClO * Tiempo de inmersión * Lavado Amp	0,0167	1	0,0167	0,0098	0,9213
Adicional	21,6000	1	21,6000	10,7359	0,0012
Error	435,7333	261	1,6695		
Total	560,8000	269			

a) Concentración de hipoclorito de sodio

La evaluación del factor de la concentración de hipoclorito de sodio muestra que la concentración de 2% produce altos niveles de necrosis total en el material vegetal (51,67%), y muy pocos explantes con nivel cuatro (3,33%), es decir totalmente verdes. Además con una concentración de 1,5% se obtuvo un mayor porcentaje de explantes de nivel tres (36,67%), y un número considerable de nivel dos (18,33%) y cuatro (17,5%) (Figura 3.9 y anexo B).

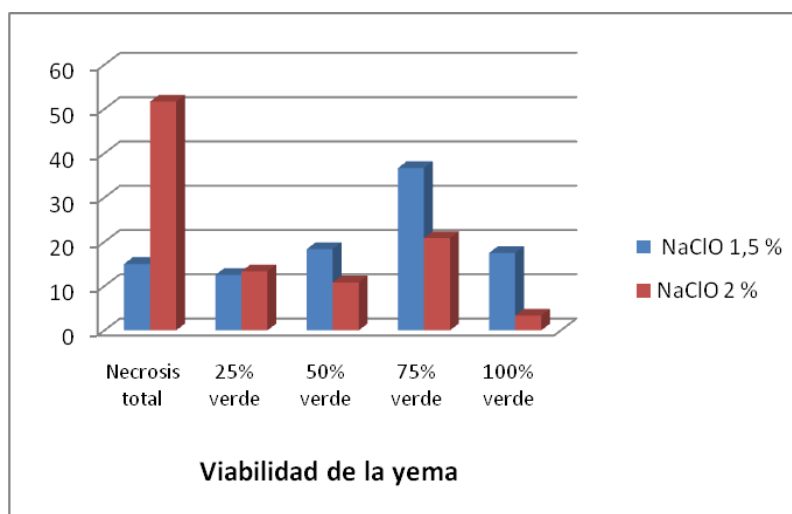


Figura 3.9 Gráfico de porcentajes para la viabilidad de las yemas con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio utilizado en la desinfección.

b) Tiempo de inmersión

El factor del tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio en su evaluación muestra que un tiempo de 20 minutos produce altos niveles de necrosis total en el material vegetal (36,67%), y muy pocos explantes con nivel cuatro (7,5%), es decir totalmente verdes. Con un tiempo de 15 minutos se obtuvo un mayor porcentaje de explantes de nivel tres (34,17%), y un número considerable de nivel dos (12,5%) y cuatro (13,33%) (Figura 3.10 y anexo C)

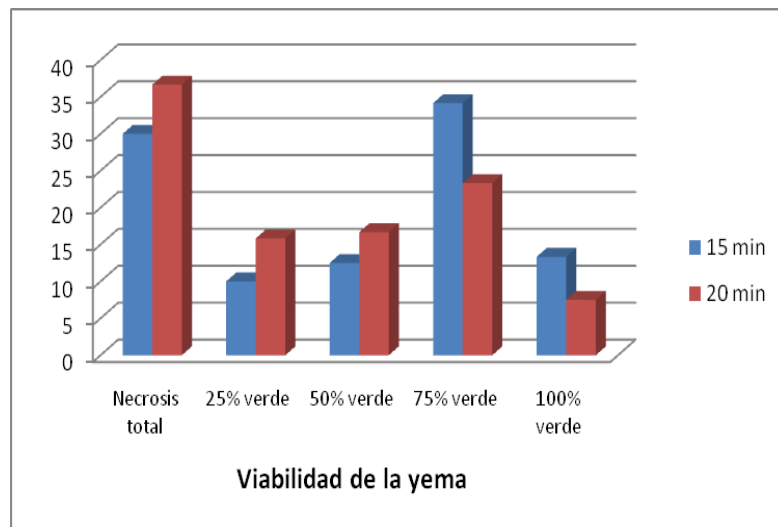


Figura 3.10 Gráfico de porcentajes para la viabilidad de las yemas con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio utilizado en la desinfección.

c) Tratamiento adicional

El tratamiento adicional resultó ser diferente al arreglo factorial analizado, y mediante el análisis de los estadísticos descriptivos se observa que el tratamiento adicional produce un nivel de necrosis más pronunciado (0,8) (Tabla 3.91); cabe resaltar que este tratamiento tienen una concentración de 2,5% de hipoclorito de sodio. Además los tratamientos del arreglo factorial producen una viabilidad de 1,7.

Tabla 3.91 Estadísticos descriptivos de viabilidad de las yemas para el tratamiento adicional y el diseño factorial evaluado en la desinfección.

Tratamientos	N	Media	Desviación típica
factorial	240	1,70 ^a	1,444
adicional	30	0,80 ^b	1,186
Total	270	1,60	1,444

3.2.1.1.2 Contaminación bacteriana

a) Concentración de hipoclorito de sodio

Para la evaluación de la contaminación bacteriana se realizó la prueba chi cuadrado con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio utilizada en la desinfección, obteniendo un valor de significancia bajo (Tabla 3.92), esto parece indicar que existe dependencia entre estas dos variables. Se evidencia también que una concentración de 2% de hipoclorito de sodio resulta en un mayor porcentaje de descontaminación (75,83%) (Figura 3.11 y anexo D).

Tabla 3.92 Prueba chi cuadrado para la contaminación bacteriana en yemas de piñón con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio utilizada.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,288	2	0,016
Razón de verosimilitudes	8,423	2	0,015
N de casos válidos	270		

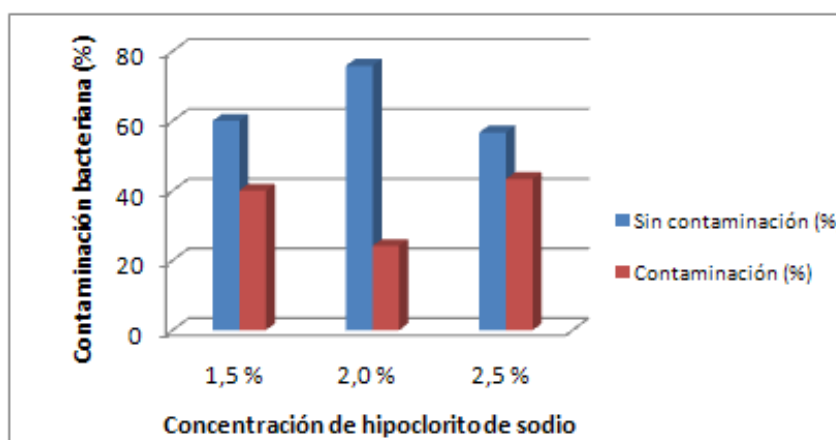


Figura 3.11 Gráfico de porcentajes de contaminación bacteriana encontrados mediante la utilización de diferentes concentraciones hipoclorito de sodio en yemas.

b) Tiempo de inmersión

Para evaluar la contaminación bacteriana con respecto al tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio, se utilizó una prueba chi cuadrado donde se obtuvo una significancia baja (Tabla 3.93), lo cual indica que existe dependencia entre estas variables. Se evidencia que un tiempo de inmersión de 20 minutos en hipoclorito de sodio resulta en un mayor porcentaje de descontaminación (78,33%) (Figura 3.12 y anexo E).

Tabla 3.93 Prueba chi cuadrado para la contaminación bacteriana en yemas de piñón con respecto al tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	13,230	1	0,000
Razón de verosimilitudes	13,574	1	0,000
N de casos válidos	270		

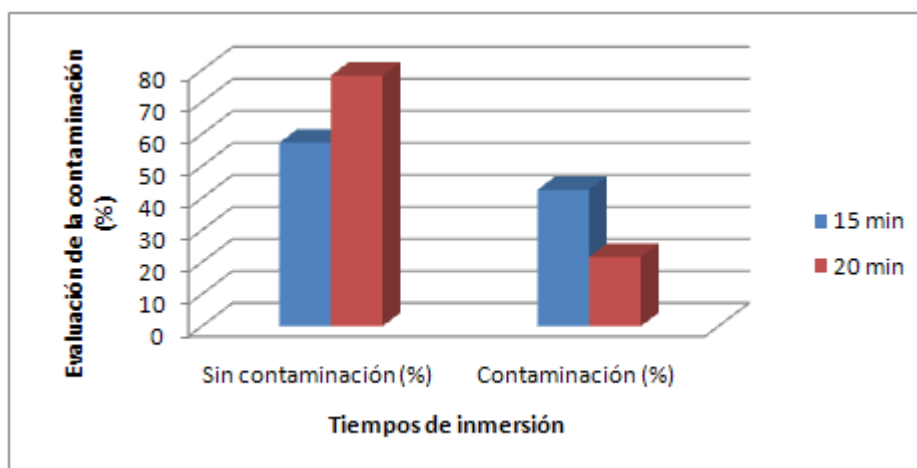


Figura 3.12 Gráfico de porcentajes de contaminación bacteriana encontrados mediante la utilización de diferentes concentraciones hipoclorito de sodio en yemas.

c) Uso de ampicilina

Para evaluar la contaminación bacteriana con respecto al uso de ampicilina como lavado final, se realizó una prueba chi cuadrado, que obtuvo un valor de significancia alto (Tabla 3.94), es decir que probablemente no exista una dependencia entre estas variables. Se observó además que el uso

de este antibiótico no produce un efecto positivo con respecto a la contaminación (Tabla 3.95).

Tabla 3.94 Prueba chi cuadrado para la contaminación bacteriana en yemas de piñón con respecto al uso de ampicilina como lavado final.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1,080	1	0,299
Razón de verosimilitudes	1,085	1	0,298
N de casos válidos	270		

Tabla 3.95 Recuento de datos y porcentajes de contaminación bacteriana en yemas de piñón con respecto al uso de ampicilina como lavado final.

		Contaminación bacteriana				Total
		Sin contaminación		Contaminación		
Lavado en ampicilina	No	96	53,33%	54	60%	150
	Si	84	46,67%	36	40%	120
Total		180	100%	90	100%	270

d) Evaluación por tratamiento de desinfección

Para relacionar los resultados mostrados anteriormente, se evaluaron los tratamientos de desinfección con respecto a la contaminación bacteriana mediante una prueba chi cuadrado. El valor de significancia obtenido fue muy bajo (0,008) (Tabla 3.96), lo que significa que existe una relación de dependencia con respecto a cada tratamiento de desinfección y la contaminación. Se observó una tendencia a una buena desinfección con los tratamientos C1 a C6, que incluyeron concentraciones de 1,5% y 2% de hipoclorito de sodio y tiempo de inmersión de 20 minutos. Una concentración de 1,5% y tiempo de inmersión de 15 minutos produce una mayor contaminación (53,33%) (Tabla 3.97 y figura 3.13). Además el mayor porcentaje de desinfección se encontró en el tratamiento C2 y C1 (86,67 y 83,33% respectivamente)

Tabla 3.96 Prueba chi cuadrado para la contaminación bacteriana en yemas de piñón con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	20,700	8	0,008
Razón de verosimilitudes	21,497	8	0,006
N de casos válidos	270		

Tabla 3.97 Recuento de datos y porcentajes de contaminación bacteriana en yemas de piñón con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

	Tratamiento de desinfección	Contaminación bacteriana				Total
		Sin contaminación		Contaminación		
	(C9) NaClO 2,5% - 15 min	17	56,67%	13	43,33%	30
	(C1) NaClO 2% - 20 min	25	83,33%	5	16,67%	30
	(C2) NaClO 2% - 20 min + Amp	26	86,67%	4	13,33%	30
	(C3) NaClO 2% - 15 min	19	63,33%	11	36,67%	30
	(C4) NaClO 2% - 15 min + Amp	21	70,00%	9	30,00%	30
	(C5) NaClO 1,5% - 20 min	21	70,00%	9	30,00%	30
	(C6) NaClO 1,5% - 20 min + Amp	22	73,33%	8	26,67%	30
	(C7) NaClO 1,5% - 15 min	14	46,67%	16	53,33%	30
	(C8) NaClO 1,5% - 15 min + Amp	15	50,00%	15	50,00%	30
	Total	180	66,67%	90	33,33%	270

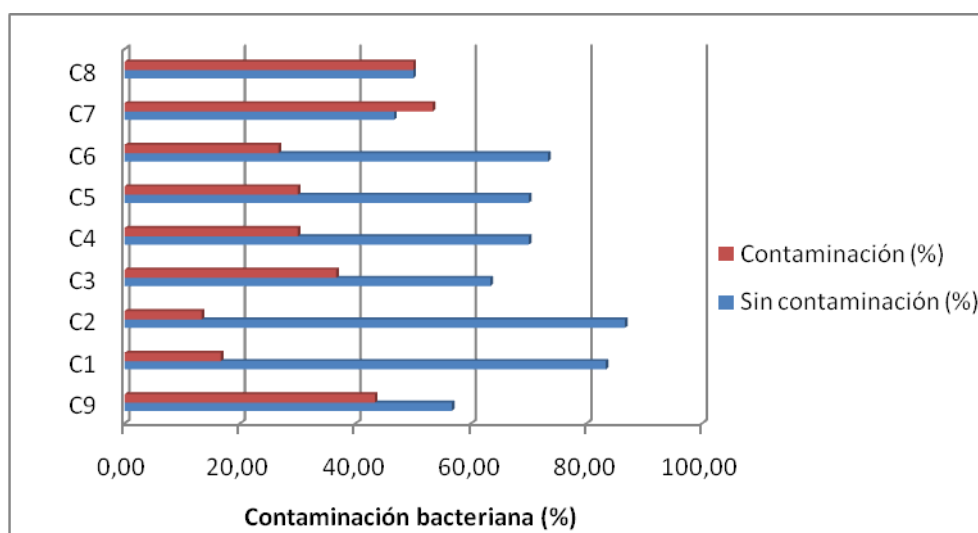


Figura 3.13 Gráfico de porcentajes de contaminación bacteriana encontrados mediante la utilización de diferentes tratamientos de desinfección en yemas de piñón.

3.2.1.1.3 Contaminación fúngica

a) Concentración de hipoclorito de sodio

La concentración de hipoclorito de sodio utilizada en la desinfección fue evaluada para la contaminación fúngica mediante una prueba chi cuadrado, donde se obtuvo una significancia alta (Tabla 3.98), lo cual indica que no existe dependencia entre estas dos variables. Es decir que la contaminación fúngica no depende de la concentración de hipoclorito de sodio utilizada (Tabla 3.99).

Tabla 3.98 Prueba chi cuadrado para la contaminación fúngica en yemas de piñón con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio utilizada.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,909	2	0,233
Razón de verosimilitudes	2,999	2	0,223
N de casos válidos	270		

Tabla 3.99 Recuento de datos y porcentajes de contaminación fúngica en yemas de piñón con respecto a la concentración de hipoclorito de sodio utilizada.

	Contaminación fúngica				Total
	Sin contaminación		Contaminación		
% NaClO 1.5%	97	80,83%	23	19,17%	120
2%	89	74,17%	31	25,83%	120
2.5%	26	86,67%	4	13,33%	30
Total	212	78,52%	58	21,48%	270

b) Tiempo de inmersión

En la evaluación de la contaminación fúngica con respecto al tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio se obtuvo un valor de significancia superior al 5% mediante una prueba chi cuadrado (Tabla 3.100), lo cual indica que no existe una dependencia clara entre estas dos variables. Es decir no influye el tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio, en la obtención de contaminación fúngica (Tabla 3.101).

Tabla 3.100 Prueba chi cuadrado para la contaminación bacteriana en yemas de piñón con respecto al tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,443	1	0,064
Razón de verosimilitudes	3,425	1	0,064
N de casos válidos	270		

Tabla 3.101 Recuento de datos y porcentajes de contaminación fúngica en yemas de piñón con respecto al tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio.

		Contaminación fúngica				Total
		Sin contaminación		Contaminación		
Tiempo de inmersión	15 min	124	82,67%	26	17,33%	150
	20 min	88	73,33%	32	26,67%	120
Total		212	78,52	58	21,48%	270

c) Uso de ampicilina

Para evaluar la contaminación fúngica con respecto a un lavado final con ampicilina se utilizó una prueba chi cuadrado, donde se obtuvo un valor de significancia alto (Tabla 3.102), lo que indica que no existe dependencia clara entre estas variables. Se puede decir que el uso de este antibiótico no produce un efecto positivo con respecto a la contaminación (Tabla 3.103).

Tabla 3.102 Prueba chi cuadrado para la contaminación fúngica en yemas de piñón con respecto al uso de ampicilina como lavado final.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	0,004	1	0,947
Razón de verosimilitudes	0,004	1	0,947
N de casos válidos	270		

Tabla 3.103 Recuento de datos y porcentajes de contaminación fúngica en yemas de piñón con respecto al uso de ampicilina como lavado final.

		Contaminación fúngica				Total
		Sin contaminación		Contaminación		
Lavado en ampicilina	No	118	78,67%	32	21,33%	150
	Si	94	78,33%	26	21,67%	120
Total		212	78,52	58	21,48%	270

d) Evaluación por tratamiento de desinfección

Para cada tratamiento de desinfección con respecto a la contaminación fúngica se obtuvo un valor de significancia de 5,1% mediante la prueba chi cuadrado. También se tomó en cuenta el valor de razón de verosimilitudes, que resultó más bajo (2,8%) (Tabla 3.104). Con este resultado se puede decir que existe una relación de dependencia con respecto a cada tratamiento de desinfección y la contaminación. Se observó una buena desinfección con los tratamientos C7 y C8, que incluyen concentraciones de 1,5% de hipoclorito de sodio y tiempo de inmersión de 15 minutos (Tabla 3.105 y figura 3.14).

Tabla 3.104 Prueba chi cuadrado para la contaminación bacteriana en yemas de piñón con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	15,459	8	0,051
Razón de verosimilitudes	17,225	8	0,028
N de casos válidos	270		

Tabla 3.105 Recuento de datos y porcentajes de contaminación bacteriana en yemas de piñón con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

	Contaminación fúngica				Total
	Sin contaminación		Contaminación		
(C9) NaClO 2,5% - 15 min	26	86,67%	4	13,33%	30
(C1) NaClO 2% - 20 min	23	76,67%	7	23,33%	30
(C2) NaClO 2% - 20 min + Amp	24	80,00%	6	20,00%	30
(C3) NaClO 2% - 15 min	21	70,00%	9	30,00%	30
(C4) NaClO 2% - 15 min + Amp	21	70,00%	9	30,00%	30
(C5) NaClO 1,5% - 20 min	20	66,67%	10	33,33%	30
(C6) NaClO 1,5% - 20 min + Amp	21	70,00%	9	30,00%	30
(C7) NaClO 1,5% - 15 min	28	93,33%	2	6,67%	30
(C8) NaClO 1,5% - 15 min + Amp	28	93,33%	2	6,67%	30
Total	212	78,52%	58	21,48%	270

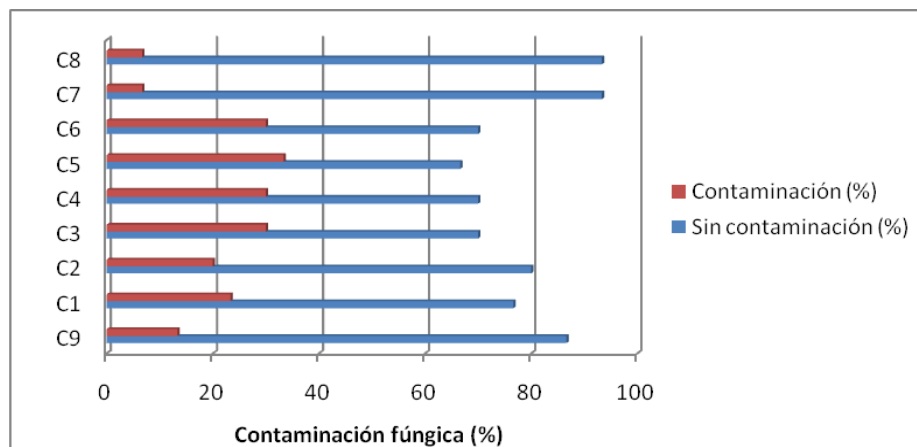


Figura 3.14 Gráfico de porcentajes de contaminación fúngica encontrados mediante la utilización de diferentes tratamientos de desinfección en yemas de piñón.

3.2.1.2 Desinfección de yemas a partir de estacas en invernadero

De acuerdo a los resultados obtenidos en los tratamientos de desinfección, y evaluando la contaminación bacteriana, fúngica, y sobre todo la viabilidad de las yemas; se estableció que el tratamiento C7 (1,5% de NaClO por 15 minutos) es el método de desinfección más apto para realizar la introducción de yemas de piñón desde el campo al laboratorio. El mismo método fue utilizado con yemas extraídas de estacas mantenidas en invernadero, para evaluar si existe alguna diferencia estadística. Esta evaluación se llevó a cabo mediante un ADEVA para la variable de viabilidad, y pruebas de chi cuadrado para la contaminación bacteriana y fúngica.

3.2.1.2.1 Viabilidad de la yema

Para la evaluación de viabilidad en yemas desinfectadas de piñón, y de acuerdo a la escala planteada (Tabla 2.11), se realizó un ADEVA, donde se obtuvo una significancia menor baja (Tabla 3.106). Se observa que cuando se usa estacas en invernadero como fuente de material vegetal, no se obtienen explantes con nivel cero y uno de viabilidad (100 y 75% de necrosis), a diferencia de las yemas obtenidas de campo. Además se obtiene un 66,67% de explantes con nivel cuatro (100% verdes), que es el doble de lo que se obtiene con yemas extraídas de campo (33,33%) (Tabla 3.107 y figura 3.15).

Tabla 3.106 ADEVA realizada para la viabilidad de las yemas de piñón en la evaluación de la fuente del material vegetal.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	7,350	1	7,350	6,242	0,015
Intra-grupos	68,300	58	1,178		
Total	75,650	59			

Tabla 3.107 Recuento de datos y porcentajes de viabilidad en yemas de piñón en la evaluación de la fuente de material vegetal.

		Fuente de yemas				Total
		Campo		Estacas invernadero		
Viabilidad de la yema	Necrosis total	4	13,33%	0	0%	4
	25% verde	1	3,33%	0	0%	1
	50% verde	2	6,67%	5	16,67%	7
	75% verde	13	43,33%	5	16,67%	18
	100% verde	10	33,33%	20	66,67%	30
Total		30	100%	30	100%	60

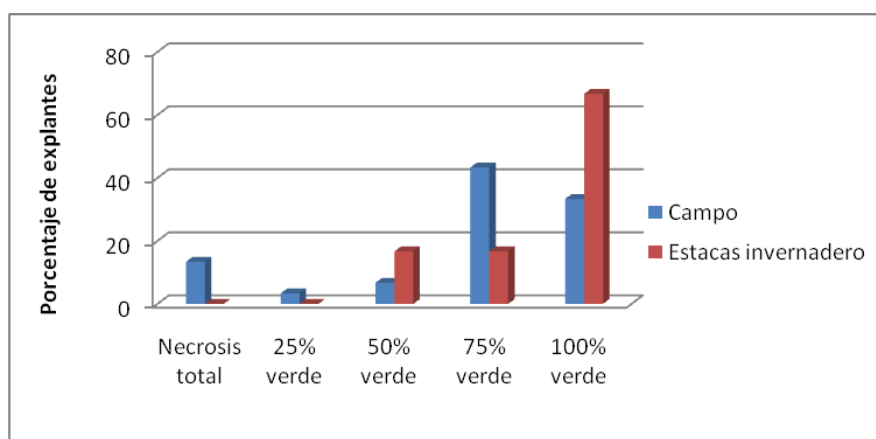


Figura 3.15 Gráfico de porcentajes de viabilidad en yemas de piñón evaluados con respecto a la fuente de material vegetal.

3.2.1.2.2 Contaminación bacteriana

Para evaluar la contaminación bacteriana y la fuente de material vegetal utilizado en la desinfección se realizó una prueba chi cuadrado, donde se obtuvo una baja significancia (0,003) (Tabla 3.108), lo cual indica que existe una dependencia entre estas dos variables. Se evidencia que se obtiene un mayor porcentaje de explantes no contaminados a partir de yemas de

invernadero (83,33%) con respecto a la contaminación bacteriana de yemas obtenidas de plantas de campo (46,67%) (Tabla 3.109 y figura 3.16)

Tabla 3.108 Prueba chi cuadrado para la contaminación bacteriana en yemas de piñón en la evaluación de la fuente de material vegetal.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,864	1	0,003
Razón de verosimilitudes	9,205	1	0,002
N de casos válidos	60		

Tabla 3.109 Recuento de datos y porcentajes de contaminación bacteriana de yemas de piñón en la evaluación de la fuente de material vegetal.

		Fuente de yemas				Total
		Campo		Estacas invernadero		
Contaminación bacteriana	Sin contaminación	14	46,67%	25	83,33%	39
	Contaminación	16	53,33%	5	16,67%	21
Total		30	100%	30	100%	60

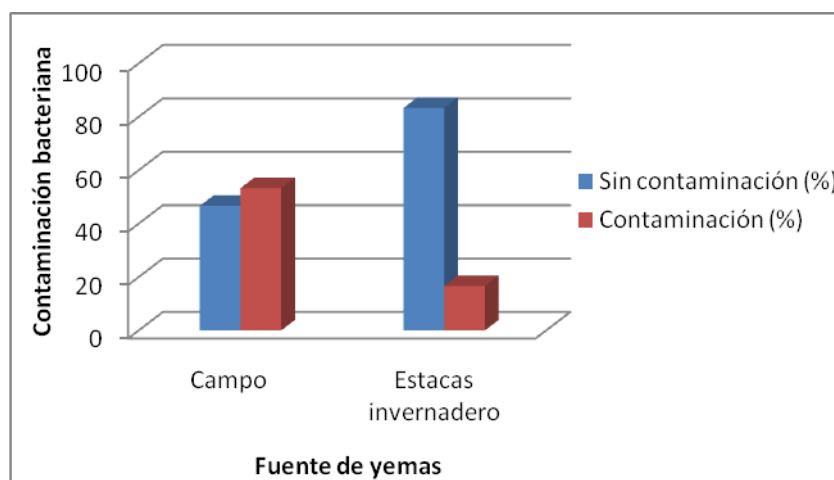


Figura 3.16 Gráfico de porcentajes de contaminación bacteriana encontrados mediante la utilización de diferentes concentraciones hipoclorito de sodio en yemas.

3.2.1.2.2 Contaminación fúngica

En la evaluación de la contaminación fúngica con respecto a la fuente de material vegetal se obtuvo una significancia muy alta con la prueba chi cuadrado realizada (0,554) (Tabla 3.110), lo cual indica que no existe

dependencia alguna entre estas dos variables, se puede decir que la fuente del material vegetal no influye en la contaminación fúngica (Tabla 3.111).

Tabla 3.110 Prueba chi cuadrado para la contaminación fúngica en yemas de piñón en la evaluación de la fuente de material vegetal.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	0,351	1	0,554
Razón de verosimilitudes	0,357	1	0,550
N de casos válidos	60		

Tabla 3.111 Recuento de datos y porcentajes de contaminación fúngica en yemas de piñón para la evaluación de la fuente de material vegetal.

		Fuente de yemas				Total
		Campo		Estacas invernadero		
Contaminación fúngica	Sin contaminación	28	93,33%	29	96,67%	57
	Contaminación	2	6,67%	1	3,33%	3
Total		30	100%	30	100%	60

3.2.2 Fase de inducción de brotes

Mediante el uso de los reguladores de crecimiento BAP y AIB, se evaluó la inducción de brotes y callo en yemas de plantas adultas de piñón, para luego, con los mejores tratamientos, evaluar el efecto de brasinólida en el número de brotes, longitud de brote y formación de callo.

3.2.2.1 Evaluación del uso de BAP y AIB

En la evaluación del uso de reguladores de crecimiento para la inducción de brotes y callo, se utilizó pruebas de chi cuadrado, ya que las variables analizadas se refieren a presencia o ausencia en el explante.

3.2.2.1.1 Inducción de brotes

Para esta variable, la evaluación de los tratamientos de reguladores de crecimiento planteados en el DCA encontró una significancia muy baja (Tabla 3.112), lo que significa que existe dependencia entre estas variables. Se

observa que se logra un buen porcentaje de inducción con los tratamientos I10 a I13, donde la concentración de BAP y AIB son bajas. El mejor tratamiento resultó ser el I10 con un 66,67% de brotes inducidos. Concentraciones altas de los reguladores no favorecen la inducción de brotes, lo mismo que sucede con el tratamiento control (sin reguladores) (Tabla 3.113 y figura 3.17).

Tabla 3.112 Prueba chi cuadrado para la inducción de brotes en yemas de piñón con respecto a los diferentes tratamientos.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	45,584	13	0,000
Razón de verosimilitudes	55,890	13	0,000
N de casos válidos	210		

Tabla 3.113 Recuento de datos y porcentajes de inducción de brotes en yemas de piñón para la evaluación de los diferentes tratamientos.

	Inducción de brote				Total
	No		Si		
(I1) 4 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB	14	93,33%	1	6,67%	15
(I2) 4 mg L ⁻¹ BAP - 0,5 mg L ⁻¹ AIB	15	100,00%	0	0,00%	15
(I3) 4 mg L ⁻¹ BAP - 1 mg L ⁻¹ AIB	14	93,33%	1	6,67%	15
(I4) 3 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB	8	53,33%	7	46,67%	15
(I5) 3 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB	10	66,67%	5	33,33%	15
(I6) 3 mg L ⁻¹ BAP - 1 mg L ⁻¹ AIB	11	73,33%	4	26,67%	15
(I7) 2 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB	8	53,33%	7	46,67%	15
(I8) 2 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB	9	60,00%	6	40,00%	15
(I9) 2 mg L ⁻¹ BAP - 1 mg L ⁻¹ AIB	12	80,00%	3	20,00%	15
(I10) 1 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB	5	33,33%	10	66,67%	15
(I11) 1 mg L ⁻¹ BAP - 0,5 mg L ⁻¹ AIB	6	40,00%	9	60,00%	15
(I12) 0,5 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB	8	53,33%	7	46,67%	15
(I13) 0,5 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB	7	46,67%	8	53,33%	15
(I14) 0 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB	15	100,00%	0	0,00%	15
Total	142	67,62%	68	32,38%	210

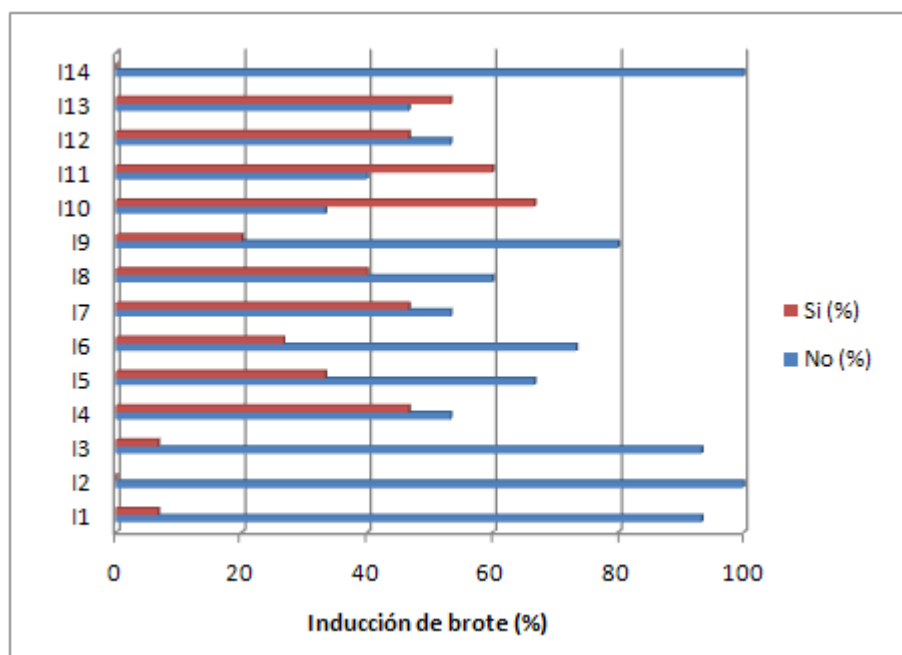


Figura 3.17 Gráfico de porcentajes de inducción de brotes en yemas encontrados mediante la utilización de diferentes tratamientos con reguladores de crecimiento.

Se evaluó separadamente cada regulador mediante una prueba chi cuadrado. Para el regulador BAP, la significancia encontrada fue muy baja (Tabla 3.114), lo que significa que existe dependencia entre estas variables. Se puede observar que se logra un buen porcentaje de inducción con las concentraciones bajas de BAP: 0,5 y 1 mg L⁻¹ (50 y 63,33% respectivamente); concentraciones más altas no favorecen la inducción de brotes, al igual que la ausencia de este regulador (Tabla 3.115 y figura 3.18).

Tabla 3.114 Prueba chi cuadrado para la inducción de brotes en yemas de piñón con respecto a las diferentes concentraciones de BAP.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	41,017	5	0,000
Razón de verosimilitudes	49,948	5	0,000
N de casos válidos	210		

Tabla 3.115 Recuento de datos y porcentajes de inducción de brote en yemas de piñón con respecto a la concentración de BAP y AIB en el medio.

Inducción de brote		Concentración de AIB				N	%
		0 mg L ⁻¹	0,1 mg L ⁻¹	0,5 mg L ⁻¹	1 mg L ⁻¹		
Concentración de BAP	0 mg L ⁻¹	0/15	-	-	-	0/15	0,00
	0,5 mg L ⁻¹	7/15	8/15	-	-	15/30	50,00
	1 mg L ⁻¹	-	10/15	9/15	-	19/30	63,33
	2 mg L ⁻¹	7/15	6/15	-	3/15	16/45	35,56
	3 mg L ⁻¹	7/15	5/15	-	4/15	16/45	35,56
	4 mg L ⁻¹	1/15	-	0/15	1/15	2/45	4,44
	N	22/75	29/60	9/30	8/45	210	
%		29,33	48,33	30,00	17,78		

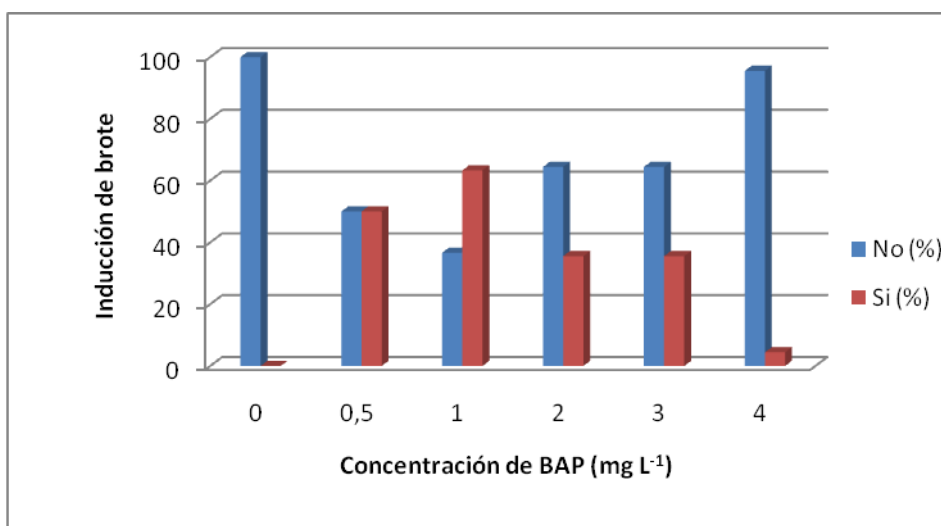


Figura 3.18 Gráfico de porcentajes de inducción de brotes en yemas encontradas mediante la utilización de diferentes concentraciones de BAP.

Para el regulador AIB, se encontró una significancia muy baja (Tabla 3.116), lo que significa que existe dependencia entre estas variables. Se observa que se logra un buen porcentaje de inducción con la concentración de 0,1 mg L⁻¹ de AIB (48,33%). Concentraciones más altas no favorecen la inducción de brotes, aunque una respuesta similar se obtiene con la ausencia de este regulador (Tabla 3.115 y figura 3.19).

Tabla 3.116 Prueba chi cuadrado para la inducción de brotes en yemas de piñón con respecto a las diferentes concentraciones de AIB.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	11,752	3	0,008
Razón de verosimilitudes	11,827	3	0,008
N de casos válidos	210		

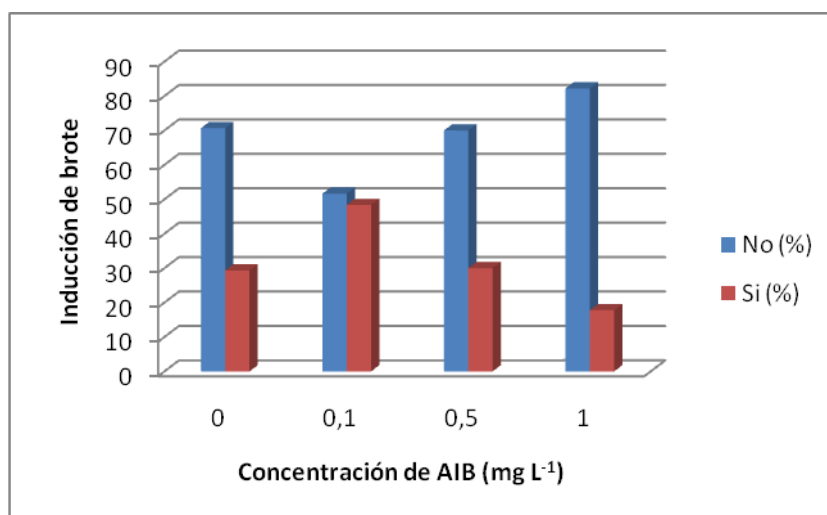


Figura 3.19 Gráfico de porcentajes de inducción de brotes en yemas encontrados mediante la utilización de diferentes concentraciones de AIB.

3.2.2.1.2 Inducción de callo

Para los diferentes tratamientos de reguladores en el DCA, se encontró una significancia muy baja (0,015) (Tabla 3.117), lo que indica que existe dependencia entre estas variables. Se puede observar que un buen porcentaje de inducción de callo se logra con los tratamientos I8 e I9, donde la concentración de BAP es 2 mg L⁻¹. Los tratamientos que resultaron en el menor porcentaje de callo inducido fueron del I12 al I14, que contienen concentraciones muy bajas de reguladores (tabla 3.118 y figura 3.20).

Tabla 3.117 Prueba chi cuadrado para la inducción de callo en yemas de piñón con respecto a los diferentes tratamientos.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	26,425	13	0,015
Razón de verosimilitudes	26,117	13	0,016
N de casos válidos	210		

Tabla 3.118 Recuento de datos y porcentajes de inducción de callo en yemas de piñón para la evaluación de los diferentes tratamientos.

		Inducción de callo				Total
		No		Si		
Tratamientos de inducción de brotes	(I1) 4 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB	10	66,67%	5	33,33%	15
	(I2) 4 mg L ⁻¹ BAP - 0,5 mg L ⁻¹ AIB	9	60,00%	6	40,00%	15
	(I3) 4 mg L ⁻¹ BAP - 1 mg L ⁻¹ AIB	12	80,00%	3	20,00%	15
	(I4) 3 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB	11	73,33%	4	26,67%	15
	(I5) 3 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB	13	86,67%	2	13,33%	15
	(I6) 3 mg L ⁻¹ BAP - 1 mg L ⁻¹ AIB	11	73,33%	4	26,67%	15
	(I7) 2 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB	12	80,00%	3	20,00%	15
	(I8) 2 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB	7	46,67%	8	53,33%	15
	(I9) 2 mg L ⁻¹ BAP - 1 mg L ⁻¹ AIB	6	40,00%	9	60,00%	15
	(I10) 1 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB	12	80,00%	3	20,00%	15
	(I11) 1 mg/L BAP - 0,5 mg/L AIB	12	80,00%	3	20,00%	15
	(I12) 0,5 mg/L BAP - 0 mg/L AIB	14	93,33%	1	6,67%	15
	(I13) 0,5 mg/L BAP - 0,1 mg/L AIB	13	86,67%	2	13,33%	15
	(I14) 0 mg/L BAP - 0 mg/L AIB	14	93,33%	1	6,67%	15
Total		156	74,29%	54	25,71%	210

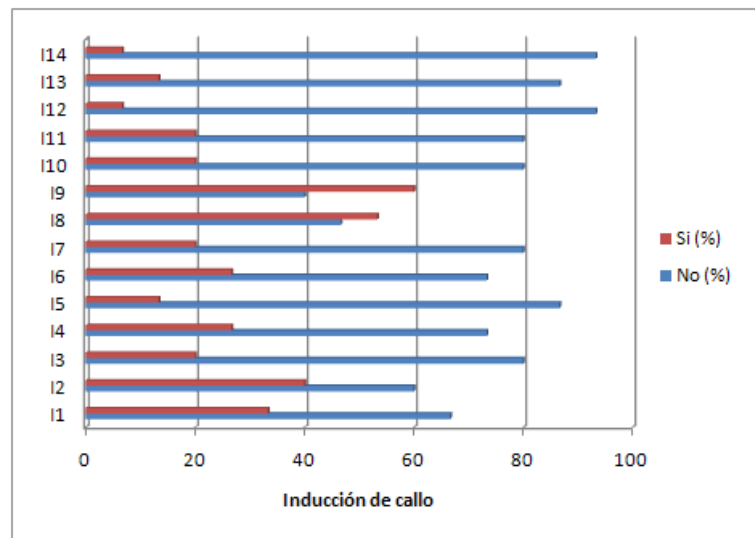


Figura 3.20 Gráfico de porcentajes de inducción de callo en yemas encontrados mediante la utilización de diferentes tratamientos con reguladores de crecimiento.

Con respecto al regulador BAP, la significancia encontrada fue muy baja (Tabla 3.119), lo que significa que existe una dependencia entre estas variables. Se puede observar que se logra un buen porcentaje de inducción de callo con concentraciones altas de BAP. Con una concentración de 2 mg L⁻¹ se obtiene el mayor porcentaje de callo (44,44%). Además, concentraciones bajas

de este regulador no favorecen la inducción de callo, y la menor tasa de inducción se observó en el tratamiento sin BAP (Tabla 3.120 y figura 3.21).

Tabla 3.119 Prueba chi cuadrado para la inducción de callo en yemas de piñón con respecto a las diferentes concentraciones de BAP.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	16,478	5	0,006
Razón de verosimilitudes	17,244	5	0,004
N de casos válidos	210		

Tabla 3.120 Recuento de datos y porcentajes de inducción de brote en yemas de piñón con respecto a la concentración de BAP y AIB en el medio.

Inducción de callo		Concentración de AIB				N	%
		0 mg L ⁻¹	0,1 mg L ⁻¹	0,5 mg L ⁻¹	1 mg L ⁻¹		
Concentración de BAP	0 mg L ⁻¹	1/15	-	-	-	1/15	6,67
	0,5 mg L ⁻¹	1/15	2/15	-	-	3/30	10,00
	1 mg L ⁻¹	-	3/15	3/15	-	6/30	20,00
	2 mg L ⁻¹	3/15	8/15	-	9/15	20/45	44,44
	3 mg L ⁻¹	4/15	2/15	-	4/15	10/45	22,22
	4 mg L ⁻¹	5/15	-	6/15	3/15	14/45	31,11
N		14/75	15/60	9/30	16/45	210	
%		18,67	25	30	35,55		

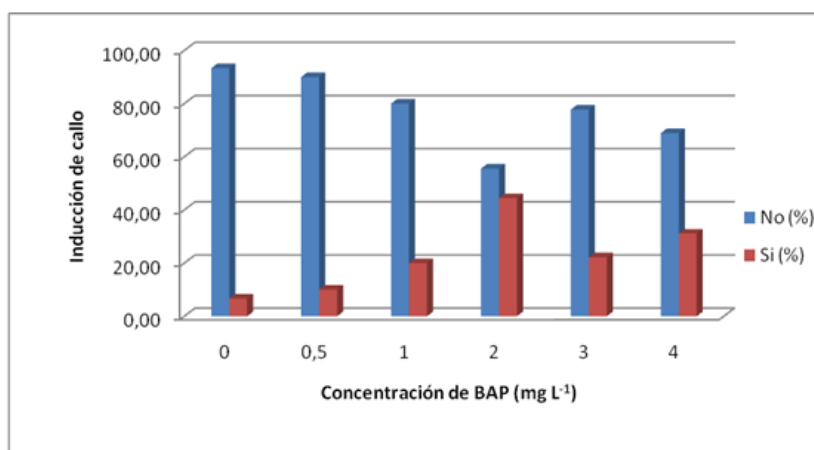


Figura 3.21 Gráfico de porcentajes de inducción de callo en yemas encontrados mediante la utilización de diferentes concentraciones de BAP.

La evaluación del regulador AIB encontró una alta significancia (0,209) (Tabla 3.121), lo que puede indicar que no existe una dependencia clara entre

estas dos variables. Se observa que la inducción de callo en yemas de piñón no depende mucho de la concentración de AIB en el medio (Tabla 3.120).

Tabla 3.121 Prueba chi cuadrado para la inducción de callo en yemas de piñón con respecto a las diferentes concentraciones de AIB.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	4,536	3	0,209
Razón de verosimilitudes	4,511	3	0,211
N de casos válidos	210		

3.2.2.2 Evaluación del uso de brasinolida

Una vez seleccionados los mejores tratamientos para la inducción de brotes, es decir los que produjeron el mayor porcentaje de brotes con el menor porcentaje de callo (tratamientos I10 a I13). Se evaluó el uso de 0,5 mg L⁻¹ de brasinolida en el número de brotes formados, longitud del brote e inducción de callo. Para esto se realizó un ADEVA (Tabla 3.122), donde se observaron las significancias inter - grupos bajas, para aplicar una prueba de Tukey e identificar los subgrupos diferentes.

Tabla 3.122 ADEVA realizados para la evaluación de distintas variables en la inducción de brotes con el uso de brasinolida.

Variable evaluada	Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Número de brotes formados	Inter-grupos	28,900	3	9,633	24,423	0,000
	Intra-grupos	14,200	36	0,394		
	Total	43,100	39			
Longitud del brote (cm)	Inter-grupos	13,811	3	4,604	104,693	0,000
	Intra-grupos	1,583	36	0,044		
	Total	15,394	39			
Inducción de callo (escala)	Inter-grupos	5,875	3	1,958	7,121	0,001
	Intra-grupos	9,900	36	0,275		
	Total	15,775	39			

3.2.2.2.1 Número de brotes

Para el número de brotes formados, la prueba de Tukey identificó tres grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.123), donde se observa que el

tratamiento B3 produce un mayor número de brotes por explante (3,5 brotes). Por otra parte el tratamiento B1 produce la menor cantidad de brotes (1,2 brotes). Se puede observar que a menores concentraciones de reguladores de crecimiento se producen menos brotes en las yemas de piñón.

Tabla 3.123 Prueba DHS de Tukey realizada para los diferentes tratamientos con brasinolida en la evaluación del número de brotes obtenidos por explante.

Tratamientos de inducción brotes	N	Subconjuntos encontrados
(B1) 0,5 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	1,20 ^a
(B2) 0,5 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	2,00 ^b
(B4) 1 mg L ⁻¹ BAP - 0,5 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	2,70 ^b
(B3) 1 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	3,50 ^c

3.2.2.2.2 Longitud del brote

Para la longitud de los brotes formados, la prueba de Tukey identificó tres grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.124), donde se puede observar que el tratamiento B4 produce brotes de mayor longitud (2,87 cm). Por otra parte el tratamiento B1 produce la menor cantidad de brotes (1,41 brotes). Se puede observar que a mayores concentraciones de AIB se producen brotes de mayor longitud.

Tabla 3.124 Prueba DHS de Tukey realizada para los diferentes tratamientos con brasinolida en la evaluación de la longitud de brotes obtenidos.

Tratamientos de inducción brotes	N	Subconjuntos encontrados
(B1) 0,5 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	1,410 ^a
(B3) 1 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	1,460 ^a
(B2) 0,5 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	2,010 ^b
(B4) 1 mg L ⁻¹ BAP - 0,5 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	2,870 ^c

3.2.2.2.3 Inducción de callo

Para la inducción de callo, se evaluó el nivel de callo que presentaron las yemas, de acuerdo a la escala propuesta en la metodología que va de cero a tres (Tabla 2.14); se identificó tres grupos diferentes mediante una prueba de Tukey (Tabla 3.125), donde se puede observar que el tratamiento B3 produce

una mayor cantidad de callo (nivel 2). Por otra parte el tratamiento B1 produce una menor cantidad de callo (nivel 1,1). Se puede observar que a mayores concentraciones de BAP se produce mayor cantidad de callo.

Tabla 3.125 Prueba DHS de Tukey realizada para los diferentes tratamientos con brasinolida en la evaluación de la inducción de callo.

Tratamientos de inducción de brotes	N	Subconjuntos encontrados
(B1) 0,5 mg L ⁻¹ BAP - 0 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	1,10 ^a
(B2) 0,5 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	1,30 ^{a,b}
(B4) 1 mg L ⁻¹ BAP - 0,5 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	1,90 ^{b,c}
(B3) 1 mg L ⁻¹ BAP - 0,1 mg L ⁻¹ AIB + 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	2,00 ^c

3.2.3 Fase de multiplicación de brotes

Los brotes obtenidos en la fase de inducción y que fueron trasplantados en medios para inducción de múltiples brotes, se evaluaron el número de brotes formados por explante, inducción de callo y rompimiento de la dominancia apical. Para esto se realizó un ADEVA en las dos primeras variables (Tabla 3.126) y prueba de chi cuadrado para la tercera variable por ser una variable dicotómica.

Tabla 3.126 ADEVA realizados para la evaluación de distintas variables en la multiplicación de brotes de piñón.

Variable evaluada	Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Número de brotes formados	Inter-grupos	65,888	7	9,413	7,964	0,000
	Intra-grupos	85,100	72	1,182		
	Total	150,988	79			
Inducción de callo	Inter-grupos	16,400	7	2,343	8,519	0,000
	Intra-grupos	19,800	72	0,275		
	Total	36,200	79			

3.2.3.1 Número de brotes

Para el número de brotes formados, la prueba de Tukey realizada identificó cuatro grupos estadísticamente diferentes (Tabla 3.127), donde se observa que los tratamientos M7 y M6 producen un mayor número de brotes

por explante (4,4 y 4,6 brotes). Por otra parte el tratamiento M4 produce la menor cantidad de brotes (1,6 brotes). Se puede observar que los tratamientos con brasinolida y bajas concentraciones de BAP y AIB producen una mayor cantidad de brotes (Figura 3.22).

Tabla 3.127 Prueba DHS de Tukey realizada para el número de brotes de piñón obtenidos en la evaluación de los tratamientos de multiplicación de brotes.

Tratamientos para multiplicación de brotes	N	Subconjuntos encontrados
(M4) 2 mg L ⁻¹ BAP, 1 mg L ⁻¹ AIB, 0,5 mg L ⁻¹ GA	10	1,60 ^a
(M5) 1 mg L ⁻¹ BAP, 0,5 mg L ⁻¹ AIB, 1 mg L ⁻¹ brasinolida	10	2,70 ^{a,b}
(M8) 1 mg L ⁻¹ BAP, 0,25 mg L ⁻¹ AIB, 0,25 mg L ⁻¹ GA, 0,5 mg L ⁻¹ kinetina	10	3,00 ^{a,b,c}
(M2) 2 mg L ⁻¹ BAP, 0,5 mg L ⁻¹ AIB, 0,5 mg L ⁻¹ GA	10	3,40 ^{b,c,d}
(M1) 2 mg L ⁻¹ BAP, 0,5 mg L ⁻¹ AIB	10	3,50 ^{b,c,d}
(M3) 2 mg L ⁻¹ BAP, 1 mg L ⁻¹ AIB	10	3,90 ^{b,c,d}
(M7) 0,5 mg L ⁻¹ BAP, 0,1 mg L ⁻¹ AIB, 1 mg L ⁻¹ brasinolida	10	4,40 ^{c,d}
(M6) 1 mg L ⁻¹ BAP, 0,1 mg L ⁻¹ AIB, 2 mg L ⁻¹ GA, 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	4,60 ^d

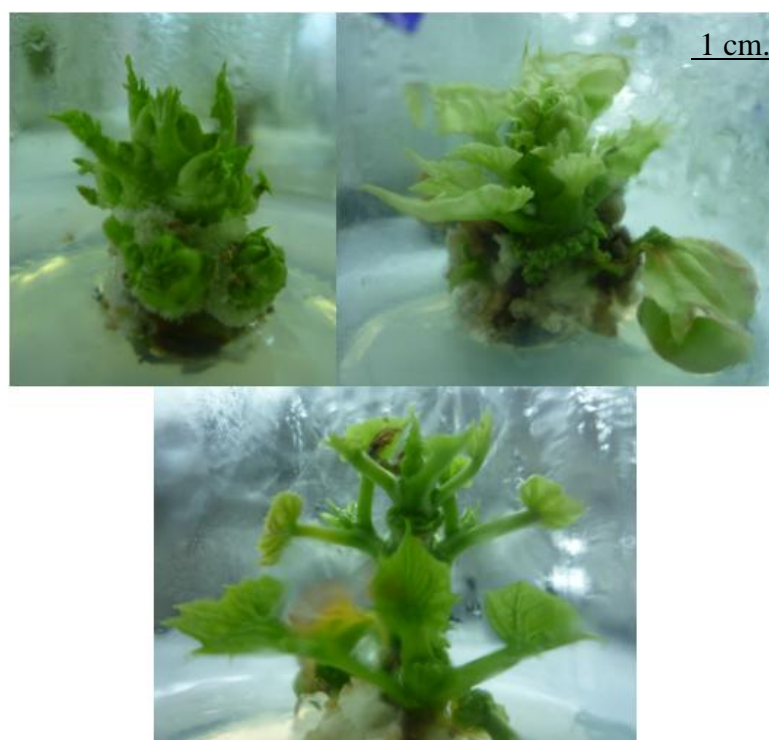


Figura 3.22 Inducción de múltiples brotes en yemas de piñón luego del tres semanas del trasaso a nuevos medios.

3.2.3.2 Inducción de callo

Para la inducción de callo, se evaluó el nivel de callo que presentaron las yemas de acuerdo a la escala propuesta en la metodología (Tabla 2.14). Se identificaron cuatro grupos diferentes según una prueba de Tukey (Tabla 3.128), donde se puede observar que los tratamientos M8, M5 y M6 producen la menor cantidad de callo (nivel 1,3, 1,7 y 2 respectivamente). Por otra parte los tratamientos que contienen mayores concentraciones de BAP produjeron una mayor cantidad de callo.

Tabla 3.128 Prueba DHS de Tukey realizada para la evaluación de la inducción de callo en los tratamientos de multiplicación de brotes.

Tratamientos para multiplicación de brotes	N	Subconjuntos encontrados
(M8) 1 mg L ⁻¹ BAP, 0,25 mg L ⁻¹ AIB, 0,25 mg L ⁻¹ GA, 0,5 mg L ⁻¹ kinetina	10	1,30 ^a
(M5) 1 mg L ⁻¹ BAP, 0,5 mg L ⁻¹ AIB, 1 mg L ⁻¹ brasinolida	10	1,70 ^{a,b}
(M6) 1 mg L ⁻¹ BAP, 0,1 mg L ⁻¹ AIB, 2 mg L ⁻¹ GA, 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	10	2,00 ^{a,b,c}
(M2) 2 mg L ⁻¹ BAP, 0,5 mg L ⁻¹ AIB, 0,5 mg L ⁻¹ GA	10	2,10 ^{b,c,d}
(M7) 0,5 mg L ⁻¹ BAP, 0,1 mg L ⁻¹ AIB, 1 mg L ⁻¹ brasinolida	10	2,30 ^{b,c,d}
(M1) 2 mg L ⁻¹ BAP, 0,5 mg L ⁻¹ AIB	10	2,50 ^{c,d}
(M4) 2 mg L ⁻¹ BAP, 1 mg L ⁻¹ AIB, 0,5 mg L ⁻¹ GA	10	2,50 ^{c,d}
(M3) 2 mg L ⁻¹ BAP, 1 mg L ⁻¹ AIB	10	2,80 ^d

3.2.3.3 Dominancia apical

Los diferentes tratamientos de reguladores de crecimiento planteados en el DCA se evaluaron con una prueba de chi cuadrado, donde se encontró una significancia muy baja (menor a 0,05) (Tabla 3.129), lo que indica que probablemente exista dependencia entre estas variables. Se puede observar que el rompimiento de la dominancia apical (70 a 90%) se da en los tratamientos M5 a M8, donde la concentración de BAP y AIB es baja (0,5 y 1 mg L⁻¹), además en estos tratamientos existe la presencia de brasinolida. El tratamiento que resultó en el mayor porcentaje de rompimiento de dominancia apical fue el M6 (90%) (Tabla 3.130 y figura 3.23).

Tabla 3.129 Prueba chi cuadrado para el rompimiento de dominancia apical con respecto a los tratamientos de multiplicación de brotes en yemas de piñón.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	51,771	7	0,000
Razón de verosimilitudes	65,874	7	0,000
N de casos válidos	80		

Tabla 3.130 Recuento de datos y porcentaje de brotes con rompimiento de dominancia apical con respecto a los tratamientos de multiplicación de brotes en yemas de piñón.

Tratamientos para multiplicación de brotes	Dominancia apical				Total
	Presencia		Rompimiento		
(M1) 2 mg L ⁻¹ BAP, 0,5 mg L ⁻¹ AIB	10	100%	0	0%	10
(M2) 2 mg L ⁻¹ BAP, 0,5 mg L ⁻¹ AIB, 0,5 mg L ⁻¹ GA	10	100%	0	0%	10
(M3) 2 mg L ⁻¹ BAP, 1 mg L ⁻¹ AIB	10	100%	0	0%	10
(M4) 2 mg L ⁻¹ BAP, 1 mg L ⁻¹ AIB, 0,5 mg L ⁻¹ GA	10	100%	0	0%	10
(M5) 1 mg L ⁻¹ BAP, 0,5 mg L ⁻¹ AIB, 1 mg L ⁻¹ brasinolida	3	30%	7	70%	10
(M6) 1 mg L ⁻¹ BAP, 0,1 mg L ⁻¹ AIB, 2 mg L ⁻¹ GA, 0,5 mg L ⁻¹ brasinolida	1	10%	9	90%	10
(M7) 0,5 mg L ⁻¹ BAP, 0,1 mg L ⁻¹ AIB, 1 mg L ⁻¹ brasinolida	2	20%	8	80%	10
(M8) 1 mg L ⁻¹ BAP, 0,25 mg L ⁻¹ AIB, 0,25 mg L ⁻¹ GA, 0,5 mg L ⁻¹ kinetina	3	30%	7	70%	10
Total	49	61,25%	31	38,75%	80

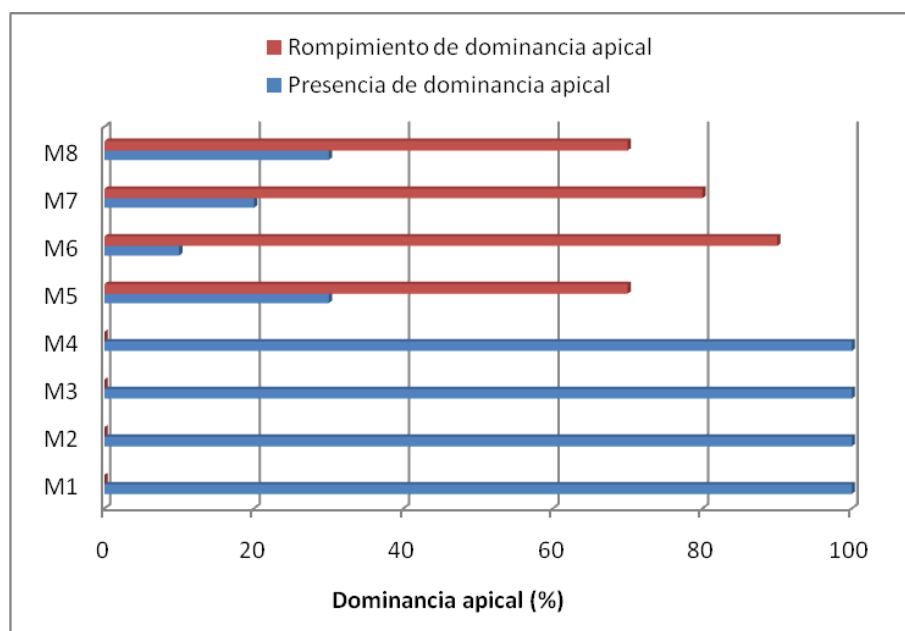


Figura 3.23 Gráfico de porcentajes encontrados en la variable de dominancia apical mediante la utilización de diferentes tratamientos para la multiplicación de brotes.