

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 Etapa de Establecimiento

La etapa de establecimiento para la especie estudiada, *Solanum betaceum* se llevó a cabo en diferentes fases, donde se establecieron los medios de cultivo más apropiados para su introducción al sistema de cultivo *in vitro*, las concentraciones de hipoclorito de sodio, fungicidas y los tiempos de inmersión que se necesitan para ejercer su acción desinfectante generando la menor necrosis de tejido en la especie.

3.1.1 Establecimiento del medio nutritivo para cultivo *in vitro*.

Se evaluó el uso de hipoclorito de sodio y el medio nutritivo con respecto a la contaminación bacteriana; Observando que no existe relación de dependencia entre estas variables, y que los tratamientos presentaron similitud en sus resultados, se obtuvo mínima contaminación bacteriana, (Tabla 3.1).

Tabla 3.1 Recuento de datos de contaminación con respecto a los tratamientos de desinfección utilizados

		Contaminación		Total
		no contaminado	contaminado	
Tratamientos	2% cloro + MS	27	0	27
	2% cloro + N6	23	2	25
	1,2% cloro + MS	23	2	25
	1,2% cloro + N6	27	0	27
Total		100	4	104

Por otra parte, se realizó la evaluación de la oxidación de los explantes sembrados en los diferentes tratamientos del arreglo factorial (Tabla 3.2), en donde se observa que las variables cloro y la interacción cloro*medio presentaron resultados significativamente estadísticos al 5 %, determinando que el tratamiento compuesto por una concentración de 2% de cloro con medio MS generó la menor oxidación de los explantes sembrados. (Tabla 3.3)

Tabla 3.2 ADEVA de la oxidación obtenida en los diferentes tratamientos utilizados.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	408,401	4	102,100	210,089 **	0,000
Cloro	2,245	1	2,245	4,620 *	0,034
Medio	0,553	1	0,553	1,138 ^{ns}	0,289
Cloro * Medio	1,599	1	1,599	3,289*	0,047
Error	48,599	100	0,486		
Total	457,000	104			

Tabla 3.3. Prueba de Tukey realizada para los diferentes tratamientos de establecimiento en la evaluación de la oxidación.

Tratamientos	N	Subconjuntos encontrados	Porcentaje de oxidación
2% cloro + MS	27	1,78 ^a	59,33%
2% cloro + N6	25	1,88 ^{a b}	62,66%
1,2% cloro + N6	27	1,93 ^{a b}	64,33%
1,2% cloro + MS	25	2,32 ^b	77,33%

3.1.2 Establecimiento del tratamiento de desinfección más apropiado para la especie

En base a los resultados obtenidos, se observó que la contaminación bacteriana fue controlada, pero la concentración de cloro utilizada en los largos tiempos de inmersión originó que los explantes sembrados *in vitro*, por una semana, presentasen necrosamiento, es decir se perdió viabilidad de las muestras; por lo cual se decidió aplicar en el protocolo de desinfección fungicidas, y así disminuir el efecto del hipoclorito de sodio en los explantes para obtener mayor sobrevivencia.

Se analizó cada tratamiento de desinfección planteado en el DCA con respecto a la contaminación bacteriana mediante una prueba chi cuadrado, donde se obtuvo significancia estadística menor al 1% (Tabla 3.4), lo que indica que existe dependencia entre los fungicidas utilizados y la contaminación obtenida. Se observó una buena desinfección con el tratamiento que incluye Score 250EC, donde se obtuvo una contaminación del 6,67% (Tabla 3.5 y Figura 3.1). Por otro lado se observó que la utilización de los distintos fungicidas es independiente de la sobrevivencia que

presenten los explantes sembrados, debido a que no se encontró diferencia significativa estadística menor al 5%. (Tabla 3.6).

Tabla 3.4 Prueba de chi cuadrado para la contaminación generada con respecto al fungicida bactericida utilizado

	Valor	Gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	20,103	2	0,000
Razón de verosimilitudes	22,652	2	0,000
N de casos válidos	153		

Tabla 3.5 Recuento de datos y porcentajes de contaminación bacteriana con respecto a los diferentes tratamientos con fungicidas.

		Contaminación				Total
		no contaminado		contaminado		
Fungicida	Captan-Benomil	50	54,95%	41	45,05%	91
	Phyton	27	84,38%	5	15,62%	32
	Score 250EC	28	93,33%	2	6,67%	30
Total		105	68,63%	48	31,37%	153

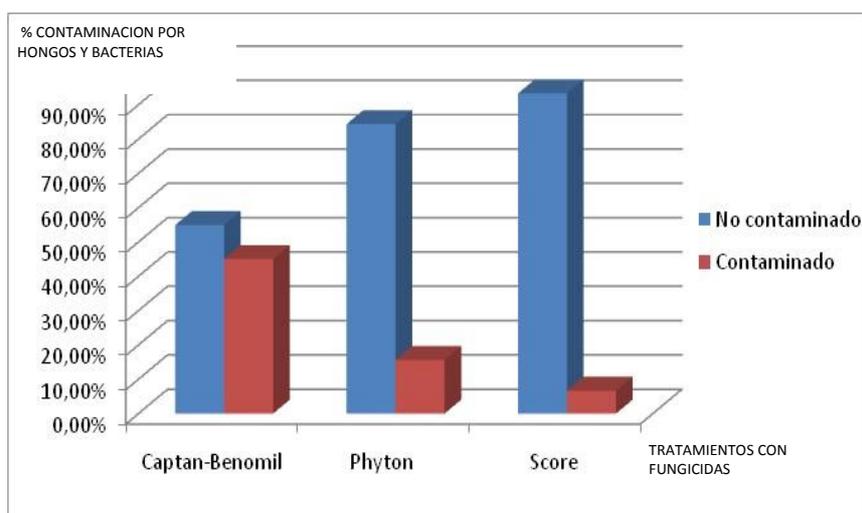


Figura 3.1 Representación gráfica de porcentajes de contaminación fúngica - bacteriana encontrados mediante la utilización de diferentes tratamientos de desinfección.

Tabla 3.6 Prueba de chi cuadrado para el fungicida empleado con respecto a la sobrevivencia.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	5,540	2	0,063
Razón de verosimilitudes	5,486	2	0,064
N de casos válidos	153		

El porcentaje de cloro utilizado en los tratamientos de desinfección planteados en el diseño factorial se analizó con respecto a las variables de contaminación y

sobrevivencia obtenidas. En cuanto a la contaminación, el valor estadístico fue altamente significativo (Tabla 3.7), lo que indica que existe dependencia entre el porcentaje de cloro utilizado y la contaminación obtenida; acorde a estos resultados se observó el tratamiento con 1,2% de hipoclorito de sodio obtuvo la menor contaminación (8,47%) (Tabla 3.8 y Figura 3.2); caso contrario sucedió con la variable sobrevivencia, pues no se obtuvo un valor significativo estadísticamente, lo que indica que el porcentaje de cloro utilizado es independiente de la sobrevivencia que se obtenga al introducir la especie al sistema de cultivo *in vitro* (Tabla 3.9).

Tabla 3.7 Prueba de chi cuadrado para el porcentaje de hipoclorito de sodio utilizado con respecto a la contaminación encontrada.

	Valor	Gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	33,468	2	0,000
Razón de verosimilitudes	35,388	2	0,000
N de casos válidos	153		

Tabla 3.8 Recuento de datos y porcentajes de contaminación bacteriana con respecto a los diferentes porcentajes de hipoclorito de sodio utilizados.

		Contaminación				Total
		no contaminado		Contaminado		
% cloro	0,6	20	40,00%	30	60,00%	50
	0,8	31	70,45%	13	29,55%	44
	1,2	54	91,53%	5	8,47%	59
Total		105	68,63%	48	31,37%	153

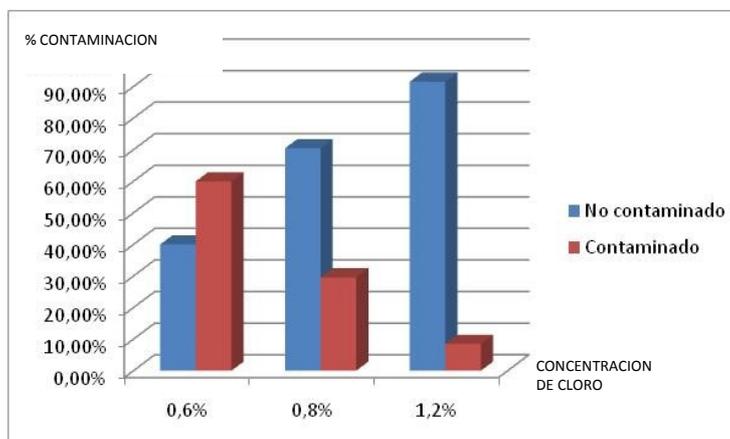


Figura 3.2 Porcentajes de contaminación bacteriana encontrados mediante la utilización de diferentes porcentajes de hipoclorito de sodio.

Tabla 3.9 Prueba de chi cuadrado para el porcentaje de cloro utilizado con respecto a la sobrevivencia de los explantes en su introducción al sistema de cultivo *in vitro*.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	0,904	2	0,636
Razón de verosimilitudes	0,900	2	0,638
N de casos válidos	153		

Se analizó el tiempo de inmersión de los explantes en el hipoclorito de sodio con respecto a las variables de contaminación y sobrevivencia. Con respecto a la variable contaminación se obtuvo significancia estadística al 5%, señalando que la contaminación obtenida en la siembra de los explantes sí depende del tiempo de inmersión aplicado a los explantes (Tabla 3.10), obteniendo que una inmersión de diez minutos genera menor contaminación (21,15%) (Tabla 3.11 y Figura 3.3). Igual que en apartados anteriores la variable sobrevivencia se presenta independiente de la variable estudiada debido a su no significancia estadística (Tabla 3.12), lo que indica que el tiempo de inmersión no influye directamente con la viabilidad de los explantes sembrados.

Tabla 3.10 Prueba de chi cuadrado realizada para el tiempo de inmersión con respecto a la contaminación generada.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,820	1	0,051
Razón de verosimilitudes	3,975	1	0,046
N de casos válidos	153		

Tabla 3.11 Recuento de datos y porcentajes de contaminación bacteriana encontrada en los diferentes tiempos de inmersión del hipoclorito de sodio.

	Contaminación		Total
	no contaminado	Contaminado	

Tiempo de inmersión	10 min	41	78,85%	11	21,15%	52
	15 min	64	63,37%	37	36,63%	101
Total		105	68,63%	48	31,37%	153

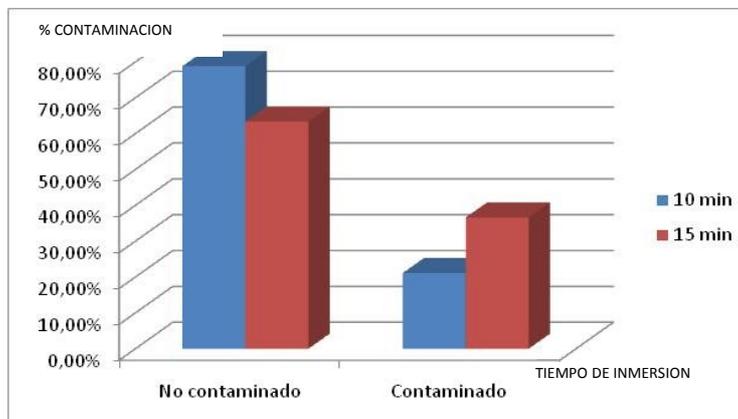


Figura 3.3 Porcentajes de contaminación bacteriana encontrados mediante la utilización de diferentes tiempos de inmersión del hipoclorito de sodio.

Tabla 3.12 Prueba de chi cuadrado para el tiempo de inmersión del hipoclorito de sodio con respecto a la variable sobrevivencia.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	0,625	1	0,429
Razón de verosimilitudes	0,622	1	0,430
N de casos válidos	153		

Por último se analizó las interacciones de los factores utilizados, donde se los evaluó con respecto a las variables contaminación, sobrevivencia y oxidación. El análisis con la variable contaminación demostró una alta significancia (Tabla 3.13), lo que indica que la contaminación observada en el desarrollo de los explantes *in vitro* sí depende del tratamiento de desinfección utilizado, demostrando los tratamientos 7, 10 y 12 no presentaron contaminación (Tabla 3.14 y Figura 3.4). La variable sobrevivencia en este análisis presentó diferencia significativa estadística al 5% acorde al tratamiento evaluado, lo que indica que depende del tratamiento de desinfección aplicado la viabilidad o no viabilidad de los explantes sembrados (Tabla 3.15), de lo cual se rescata que los tres primeros tratamientos presentan mejor viabilidad para la especie al introducirla al sistema de cultivo *in vitro* (Tabla 3.16 y Figura 3.5).

Tabla 3.13 Prueba de chi cuadrado para evaluar los tratamientos de desinfección con respecto a la contaminación generada en el sistema de cultivo *in vitro*.

	Valor	GI	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	45,838	12	0,000
Razón de verosimilitudes	52,957	12	0,000
N de casos válidos	153		

Tabla 3.14 Recuento de datos y porcentajes de contaminación bacteriana con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección

#	Tratamientos	Contaminación				Total
		no contaminado		contaminado		
1	CB - Cloro 0,8% - 10 min	2	28,57%	5	71,43%	7
2	CB - Cloro 0,8% - 15 min	3	50,00%	3	50,00%	6
3	CB - Cloro 1,2% - 10 min	11	84,62%	2	15,38%	13
4	CB - Cloro 1,2% - 15 min	14	93,33%	1	6,67%	15
5	Ph - Cloro 0,8% - 10 min	5	71,43%	2	28,57%	7
6	Ph - Cloro 0,8% - 15 min	6	75,00%	2	25,00%	8
7	Ph - Cloro 1,2% - 10 min	10	100,00%	0	0,00%	10
8	Ph - Cloro 1,2% - 15 min	6	85,71%	1	14,29%	7
9	Sc - Cloro 0,8% - 10 min	7	87,50%	1	12,50%	8
10	Sc - Cloro 0,8% - 15 min	8	100,00%	0	0,00%	8
11	Sc - Cloro 1,2% - 10 min	6	85,71%	1	14,29%	7
12	Sc - Cloro 1,2% - 15 min	7	100,00%	0	0,00%	7
13	CB - Cloro 0,6% - 15 min	20	40,00%	30	60,00%	50
	Total	105	68,63%	48	31,37%	153

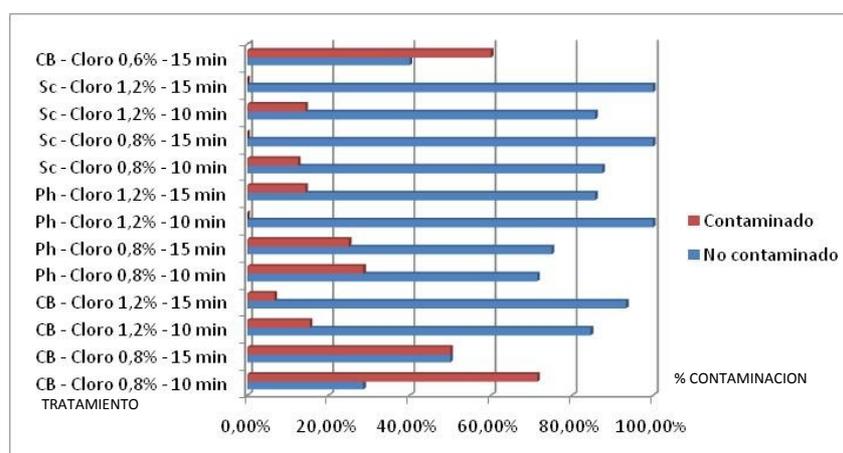


Figura 3.4. Representación gráfica de porcentajes de contaminación bacteriana encontrados mediante la aplicación de los distintos tratamientos de desinfección

Tabla 3.15 Prueba de chi cuadrado que determina la dependencia de los tratamientos con respecto a la variable sobrevivencia.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	20,412	12	0,060
Razón de verosimilitudes	21,546	12	0,043
N de casos válidos	153		

Tabla 3.16 Recuento de datos y porcentajes de la viabilidad obtenida con la siembra *in vitro* de los explantes con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

#	Tratamientos	Sobrevivencia				Total
		viable		no viable		
1	CB - Cloro 0,8% - 10 min	6	85,71%	1	14,29%	7
2	CB - Cloro 0,8% - 15 min	5	83,33%	1	16,67%	6
3	CB - Cloro 1,2% - 10 min	11	84,62%	2	15,38%	13
4	CB - Cloro 1,2% - 15 min	7	46,67%	8	53,33%	15
5	Ph - Cloro 0,8% - 10 min	3	42,86%	4	57,14%	7
6	Ph - Cloro 0,8% - 15 min	4	50,00%	4	50,00%	8
7	Ph - Cloro 1,2% - 10 min	6	60,00%	4	40,00%	10
8	Ph - Cloro 1,2% - 15 min	5	71,43%	2	28,57%	7
9	Sc - Cloro 0,8% - 10 min	1	12,50%	7	87,50%	8
10	Sc - Cloro 0,8% - 15 min	5	62,50%	3	37,50%	8
11	Sc - Cloro 1,2% - 10 min	2	28,57%	5	71,43%	7
12	Sc - Cloro 1,2% - 15 min	5	71,43%	2	28,57%	7
13	CB - Cloro 0,6% - 15 min	32	64,00%	18	36,00%	50
	Total	92	60,13%	61	39,87%	153

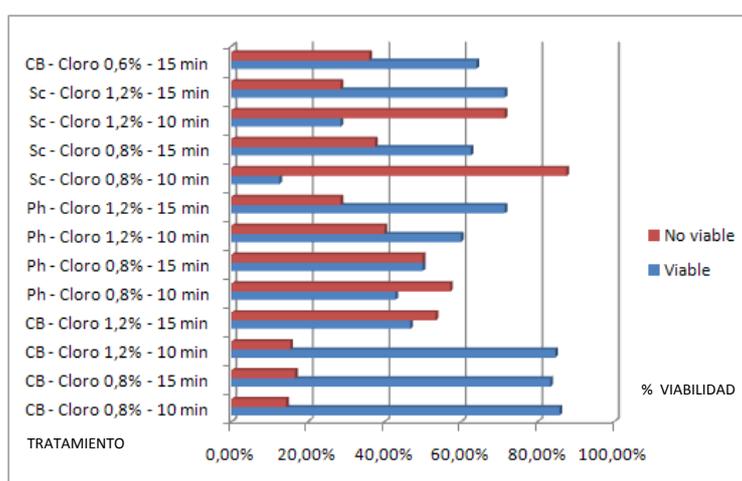


Figura 3.5 Porcentajes de viabilidad obtenida en la siembra *in vitro* de los explantes con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

Los resultados que se obtuvo con respecto a la oxidación de los explantes sembrados en base a los diferentes factores en el tratamiento de desinfección se analizaron por medio del siguiente ADEVA (Tabla 3.17).

Tabla 3.17 ADEVA realizada para evaluar la oxidación obtenida en los diseño factorial de desinfección utilizado

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	145,085	12	12,090	2,807**	0,0018
Fungicida	25,631	2	12,815	2,967 ^{ns}	0,0564
Cloro %	12,325	1	12,325	2,854 ^{ns}	0,0946
Tiempo de inmersión	10,061	1	10,061	2,330 ^{ns}	0,1304
Fungicida * Cloro %	25,387	2	12,694	2,939 ^{ns}	0,0580
Fungicida* Tiempo de inmersión	17,506	2	8,753	2,027 ^{ns}	0,1377
Cloro % * Tiempo de inmersión	12,919	1	12,919	2,991 ^{ns}	0,0871
Fungicida * % Cloro * Tiempo de inmersión	2,441	2	1,220	0,283 ^{ns}	0,7545
Adicional	40,370	1	40,370	8,613**	0,0039
Error	603,033	140	4,307		
Total	748,118	152			

Según los resultados del ADEVA expuesto se encontró que la variable fungicida presentó un valor estadísticamente no significativo; por lo que al realizar la evaluación de los estadísticos descriptivos (Tabla 3.18) se observa que el empleo del fungicida Score 250EC genera menor oxidación que los otros dos químicos. En un análisis general los tratamientos conformados por un porcentaje de hipoclorito de sodio de 1,2% y la utilización de Score 250EC y Phyton generaron los menores índices de oxidación (Tabla 3.19).

Tabla 3.18 Estadísticos descriptivos con respecto a la oxidación obtenida acorde al fungicida utilizado

Fungicida	Media	Error típ.
Captan-Benomil	2,916	0,350
Phyton	3,531	0,371
Score	4,174	0,380

Tabla 3.19 Recuento de diferencia de medias en la variable oxidación obtenida de los explantes con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección.

Fungicida	% cloro	Media	Error típ.

Captan-Benomil	0,8	2,643	0,578
	1,2	3,190	0,394
Phyton	0,8	4,491	0,538
	1,2	2,571	0,512
Score	0,8	4,563	0,520
	1,2	3,786	0,555

En este ensayo también se evaluó un tratamiento adicional de desinfección extraído de bibliografía que consistía en aplicar una dosis de 0,6% de hipoclorito de sodio evaluado por Espinosa y colaboradores (2001); el cual presentó una menor oxidación que los tratamientos anteriores por su poca concentración de hipoclorito de sodio. (Tabla 3.20)

Tabla 3.20 Estadísticos descriptivos de la variable oxidación entre los tratamientos evaluados y el tratamiento adicional.

	N	Media	Desviación típica	Error típico
Factorial	103	3,50	2,209	0,218
Adicional	50	2,40	2,070	0,293
Total	153	3,14	2,219	0,179

3.1.3 Establecimiento del fungicida más apropiado para la especie

En base a los resultados que brindaron los distintos fungicidas, se repitió el ensayo con los dos mejores químicos en cuanto a resultados generales, los cuales fueron los compuestos comerciales Phyton y Score 250EC; no se escogió a la mezcla de químicos Captan Benomil porque no presentó buenos resultados en cuanto a contaminación sobre los explantes sembrados. Este ensayo comprobó los resultados de los fungicidas escogidos y se investigó el tiempo de inmersión necesario para su uso, es así que el DCA aplicó analizó los químicos con respecto a la variable contaminación y sobrevivencia. Al relacionar las variables sobrevivencia y contaminación con el tipo de fungicida se encontró que no existe una diferencia estadística (Tabla 3.21), lo cual demuestra que la contaminación que se expresa en los medios de cultivo y la viabilidad de éstos no depende del químico utilizado.

Tabla 3.21 Pruebas de chi cuadrado para el tipo de fungicida bactericida con respecto a la contaminación y sobrevivencia observada en la siembra de los explantes.

Variable		Valor	gl	Sig. asintótica
Contaminación	Chi-cuadrado de Pearson	2,710	1	0,100
	Razón de verosimilitudes	2,739	1	0,098
	N de casos válidos	102		
Sobrevivencia	Chi-cuadrado de Pearson	2,962	1	0,085
	Razón de verosimilitudes	2,986	1	0,084
	N de casos válidos	102		

Otro factor evaluado fue el tiempo de inmersión de los explantes en el químico con respecto a la contaminación y sobrevivencia. Los resultados demostraron que las dos variables son dependientes del tiempo de inmersión, pues se obtuvo estadísticamente diferencia altamente significativa (Tabla 3.22 y Tabla 3.24). La mayor contaminación se dio al utilizar 15 minutos de inmersión de los explantes en los químicos (79,59%) (Tabla 3.23 y Figura 3.6). Cabe resaltar que este tratamiento de 15 minutos de inmersión presentó la mejor viabilidad para los explantes (63,27%) (Tabla 3.25 y Figura 3.7).

Tabla 3.22 Prueba de chi cuadrado para el tiempo de inmersión en relación a la contaminación obtenida

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	13,994	1	0,000
Razón de verosimilitudes	14,484	1	0,000
N de casos válidos	102		

Tabla 3.23 Recuento de datos y porcentajes de la contaminación obtenida en la siembra *in vitro* de los explantes con respecto a los diferentes tiempos de inmersión.

		Contaminación				Total
		no contaminado		contaminado		
Tiempo de inmersión	15	10	20,41%	39	79,59%	49
	20	30	56,60%	23	43,40%	53
Total		40	39,22%	62	60,78%	102

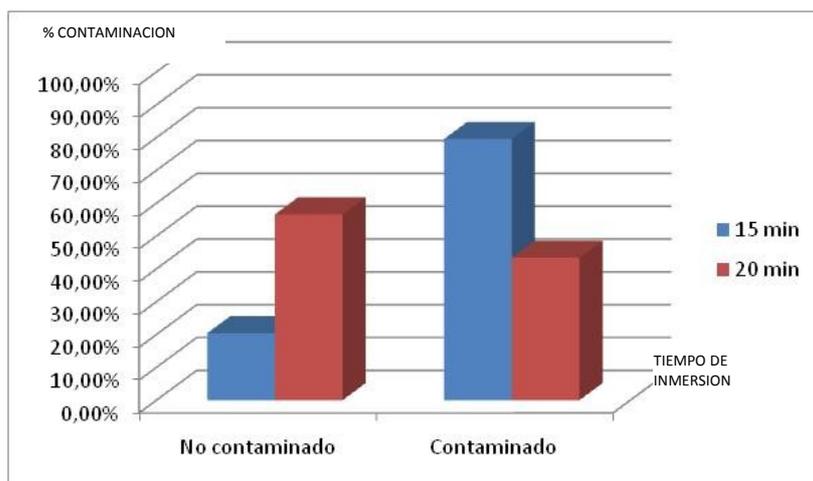


Figura 3.6 Porcentajes de la contaminación obtenida en la siembra *in vitro* de los explantes con respecto a los diferentes tiempos de inmersión.

Tabla 3.24 Prueba de chi cuadrado para evaluar el tiempo de inmersión con respecto a la variable sobrevivencia

	Valor	Gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	14,024	1	0,000
Razón de verosimilitudes	14,350	1	0,000
N de casos válidos	102		

Tabla 3.25 Recuento de datos y porcentajes de la sobrevivencia obtenida de los explantes con respecto a los diferentes tiempos de inmersión

		Sobrevivencia				Total
		viable		no viable		
Tiempo de inmersión	15	31	63,27%	18	36,73%	49
	20	14	26,42%	39	73,58%	53
Total		45	44,12%	57	55,88%	102

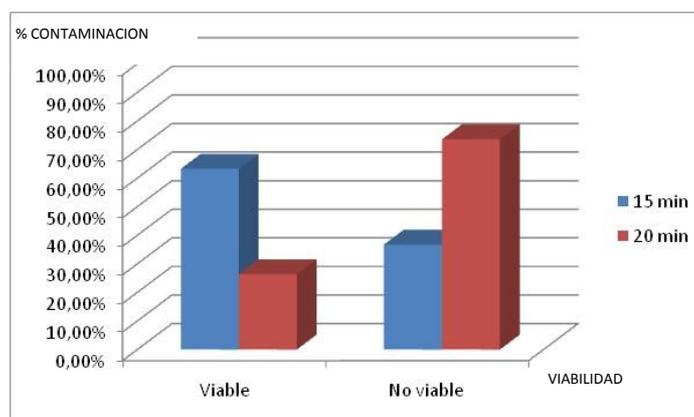


Figura 3.7 Gráfico de porcentajes de la sobrevivencia obtenida de los explantes con respecto a los diferentes tiempos de inmersión.

Con la evaluación de los resultados obtenidos de la aplicación de los tratamientos de desinfección con las variables contaminación y sobrevivencia existe evidencia de la dependencia de éstos hacia los tratamientos utilizados, pues se halló un valor altamente significativo en ambas variables (Tabla 3.26 y tabla 3.28). La variable contaminación demostró que al utilizar el fungicida Phyton por 15 minutos se obtuvo la mayor contaminación (80,95%) y que al utilizar el químico Score 250EC se encontró la menor contaminación (71,43%) (Tabla 3.27 y Figura 3.8). La variable sobrevivencia que también es dependiente de los tratamientos utilizados demostró que al utilizar el químico Phyton por 15 minutos de inmersión generó la mayor viabilidad de los explantes sembrados (66,67%) (Tabla 3.29 y Figura 3.9).

Tabla 3.26 Prueba de chi cuadrado para los tratamientos con relación a la contaminación obtenida

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	19,495	3	0,000
Razón de verosimilitudes	19,919	3	0,000
N de casos válidos	102		

Tabla 3.27 Recuento de datos y porcentajes de la contaminación bacteriana con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección empleados.

	Contaminación				Total
	no contaminado		Contaminado		
Tratamientos Phyton - 15 min	4	19,05%	17	80,95%	21
Phyton - 20 min	10	40,00%	15	60,00%	25
Score - 15 min	6	21,43%	22	78,57%	28
Score - 20 min	20	71,43%	8	28,57%	28
Total	40	39,22%	62	60,78%	102

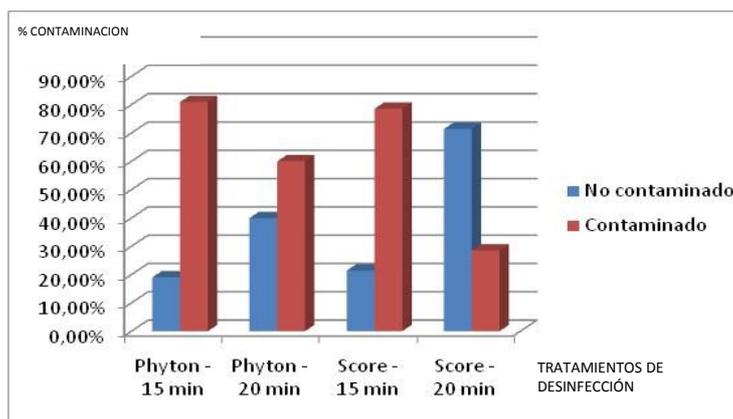


Figura 3.8 Porcentajes de la contaminación bacteriana observada en los explantes sembrados con respecto a los diferentes tratamientos de desinfección empleados

Tabla 3.28 Prueba de chi cuadrado para los tratamientos con respecto a la variable sobrevivencia.

	Valor	Gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	20,705	3	0,000
Razón de verosimilitudes	23,552	3	0,000
N de casos válidos	102		

Tabla 3.29 Recuento de datos y porcentajes de los tratamientos de desinfección aplicados con respecto a la viabilidad obtenida.

Tratamientos		Sobrevivencia				Total
		Viable		no viable		
Phyton - 15 min	14	66,67%	7	33,33%	21	
Phyton - 20 min	2	8,00%	23	92,00%	25	
Score - 15 min	17	60,71%	11	39,29%	28	
Score - 20 min	12	42,86%	16	57,14%	28	
Total	45	44,12%	57	55,88%	102	

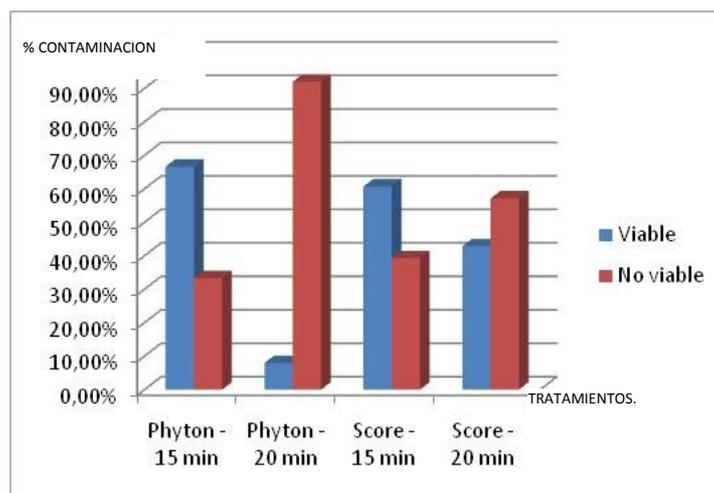


Figura 3.9 Gráfico de porcentajes de los tratamientos de desinfección aplicados con respecto a la viabilidad obtenida.

La variable oxidación se evaluó en base a un ADEVA, donde el tiempo de inmersión resultó tener un valor estadístico altamente significativo (Tabla 3.30); lo cual indica que ambos tiempos de inmersión tienen un efecto diferente. El empleo de un tiempo de inmersión menor; es decir 15 minutos, origina menor oxidación de los explantes sembrados. (Tabla 3.31).

Tabla 3.30 ADEVA realizado para evaluar la oxidación obtenida en el arreglo factorial utilizado en la desinfección de explantes

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	962,119	4	240,530	85,134**	0,000
Fungicida-bactericida	0,912	1	0,912	0,323 ^{ns}	0,571
Tiempo de inmersión	186,915	1	186,915	66,157**	0,000
Fung-bacter * Tiempo de inmersión	0,175	1	0,175	0,062 ^{ns}	0,804
Error	276,881	98	2,825		
Total	1239,000	102			

Tabla 3.31 Estadísticos descriptivos encontrados en la variable oxidación para los tratamientos evaluados.

Tiempo de inmersión	Media	Error típ.

15 min	1,327	0,243
20 min	4,054	0,231

3.1.4 Evaluación del uso de antibiótico en la desinfección

Para mejorar el método de desinfección que se estableció se agregó antibiótico de amplio espectro al protocolo, donde se evaluó mediante un DCA las variables ya estudiadas en apartados anteriores. Observando la influencia de las diferentes variables, los resultados demostraron que el tipo de fungicida con respecto a la contaminación expresada presentó un valor no significativo estadísticamente (Tabla 3.32), lo cual indica que la contaminación es independiente del fungicida que se utilice. Se obtuvo con la mezcla de Score 250EC y Bavistin en relación 1:1 un 13,51% de contaminación (Tabla 3.33).

Por otro lado la variable sobrevivencia con respecto al fungicida aplicado en el ensayo presentó diferencia estadística altamente significativa (Tabla 3.32), obteniendo un 40,54% de viabilidad en los explantes sembrados con el uso de la combinación de los fungicidas Score 250EC y Bavistin (Tabla 3.33 y Figura 3.10).

Tabla 3.32 Prueba de chi cuadrado para la variable fungicida bactericida con respecto a la contaminación y sobrevivencia observada.

		Valor	GI	Sig. asintótica (bilateral)
Contaminación	Chi-cuadrado de Pearson	0,504	1	0,478
	Razón de verosimilitudes	0,509	1	0,476
	N de casos válidos	78		
Sobrevivencia	Chi-cuadrado de Pearson	8,196	1	0,004
	Razón de verosimilitudes	8,440	1	0,004
	N de casos válidos	78		

Tabla 3.33 Recuento de datos y porcentajes de la contaminación y sobrevivencia obtenida con respecto al tipo de fungicida bactericida utilizado.

		Contaminación				Total
		no contaminado		Contaminado		
Fungicida-bactericida	Phyton - Bavistin	33	80,49%	8	19,51%	41
	Score - Bavistin	32	86,49%	5	13,51%	37

Total		65	83,33%	13	16,67%	78
		Sobrevivencia				Total
		viable		no viable		
Fungicida-bactericida	Phyton - Bavistin	5	12,20%	36	87,80%	41
	Score - Bavistin	15	40,54%	22	59,46%	37
Total		20	25,64%	58	74,36%	78

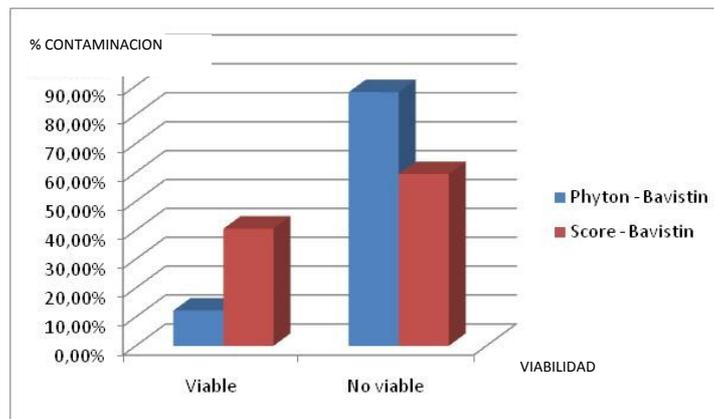


Figura 3.10. Representación gráfica de los porcentajes de la viabilidad obtenida acorde a la fungicida bactericida aplicado en el tratamiento de desinfección.

La variación del porcentaje de hipoclorito de sodio con respecto a las variables contaminación y sobrevivencia presentó un valor no significativo estadísticamente (Tabla 3.36), lo que explica que al variar los porcentajes de cloro no influyen en obtener viabilidad o contaminación en la especie introducida.

Tabla 3.34 Pruebas de chi cuadrado para el porcentaje de hipoclorito de sodio utilizado en el método de desinfección con respecto a la contaminación y sobrevivencia obtenida

		Valor	GI	Sig. asintótica (bilateral)
Contaminación	Chi-cuadrado de Pearson	0,041	1	0,839
	Razón de verosimilitudes	0,041	1	0,839
	N de casos válidos	78		
Sobrevivencia	Chi-cuadrado de Pearson	0,149	1	0,700
	Razón de verosimilitudes	0,149	1	0,699
	N de casos válidos	78		

El tipo de antibiótico utilizado con respecto a la contaminación obtenida presentó un valor estadísticamente no significativo (Tabla 3.35), lo que indica que es

independiente su aplicación en el método de desinfección con respecto a la contaminación obtenida, ya sea con el uso de antibióticos de amplio espectro para Gram negativas o positivas, obteniendo una leve diferencia al utilizar Rifanmicina, pues se observó un 13,51% de contaminación (Tabla 3.36). Al evaluar el antibiótico con respecto a la sobrevivencia obtenida presentó un valor altamente significativo (Tabla 3.35), lo cual indica que del uso de antibiótico influye directamente sobre la sobrevivencia de los explantes sembrados; pues con la aplicación de Rifanmicina se logró una mayor viabilidad (40,54%) (Tabla 3.36 y Figura 3.11).

Tabla 3.35 Pruebas de chi cuadrado para el tipo de antibiótico con respecto a la contaminación y sobrevivencia observadas.

		Valor	gl	Sig. asintótica
Contaminación	Chi-cuadrado de Pearson	0,504	1	0,478
	Razón de verosimilitudes	0,509	1	0,476
	N de casos válidos	78		
Sobrevivencia	Chi-cuadrado de Pearson	8,196	1	0,004
	Razón de verosimilitudes	8,440	1	0,004
	N de casos válidos	78		

Tabla 3.36 Recuento de datos y porcentajes de la contaminación y sobrevivencia observadas con respecto al tipo de antibiótico utilizado

		Contaminación				Total
		no contaminado		Contaminado		
Antibiótico	Ampicilina	33	80,49%	8	19,51%	41
	Rifanmicina	32	86,49%	5	13,51%	37
Total		65	83,33%	13	16,67%	78
		Sobrevivencia				Total
		viable		no viable		
Antibiótico	Ampicilina	5	12,20%	36	87,80%	41
	Rifanmicina	15	40,54%	22	59,46%	37
Total		20	25,64%	58	74,36%	78

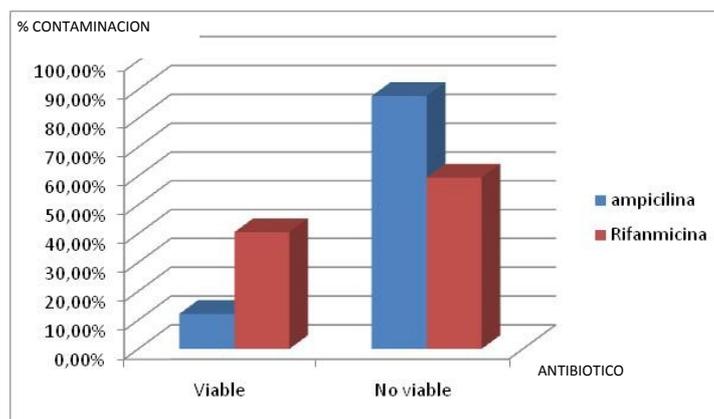


Figura 3.11 Porcentajes de la viabilidad obtenida acorde al tipo de antibiótico aplicado.

Se analizó cada tratamiento del DCA con respecto a la contaminación y sobrevivencia. El tipo de tratamiento aplicado para la desinfección con la contaminación obtenida no presentó diferencia significativa (Tabla 3.37) lo cual indica que la contaminación obtenida no depende del tratamiento. Resultado adverso se encontró al evaluar los tratamiento con respecto a la variable sobrevivencia, pues se halló significancia estadística (Tabla 3.37), esto indica que depende del tipo de tratamiento para lograr explantes viables o no, en este caso el tratamiento compuesto por los fungicidas Score 250EC y Bavistin en relación 1:1, una concentración de hipoclorito de sodio del 2% y Rifanmicina como antibiótico obtuvo la mayor viabilidad con un 42,11% (Tabla 3.38 y figura 3.12). En base a estos resultados que observa que a pesar de obtener baja contaminación, la viabilidad también se vio afectada por el uso de los antibióticos, por lo cual se descarta su uso en el protocolo estandarizado para introducción de la especie estudiada.

Tabla 3.37 Prueba de chi cuadrado para los tratamientos aplicados con respecto a la contaminación y sobrevivencia encontrada

		Valor	gl	Sig. asintótica
Contaminación	Chi-cuadrado de Pearson	0,656	3	0,883
	Razón de verosimilitudes	0,689	3	0,876
	N de casos válidos	78		
Sobrevivencia	Chi-cuadrado de Pearson	8,345	3	0,039
	Razón de verosimilitudes	8,657	3	0,034
	N de casos válidos	78		

Tabla 3.38 Recuento de datos y porcentajes de la viabilidad obtenida acorde al tipo de tratamiento de desinfección utilizado.

	Sobrevivencia	Total

Tratamientos	viable		no viable		
Phyton-Bav - Cloro 2% - Amp	3	14,29%	18	85,71%	21
Score-Bav - Cloro 2% - Rif	8	42,11%	11	57,89%	19
Score-Bav - Cloro 1,5% - Rif	7	38,89%	11	61,11%	18
Phyton-Bav - Cloro 1,5% - Amp	2	10,00%	18	90,00%	20
Total	20	25,64%	58	74,36%	78

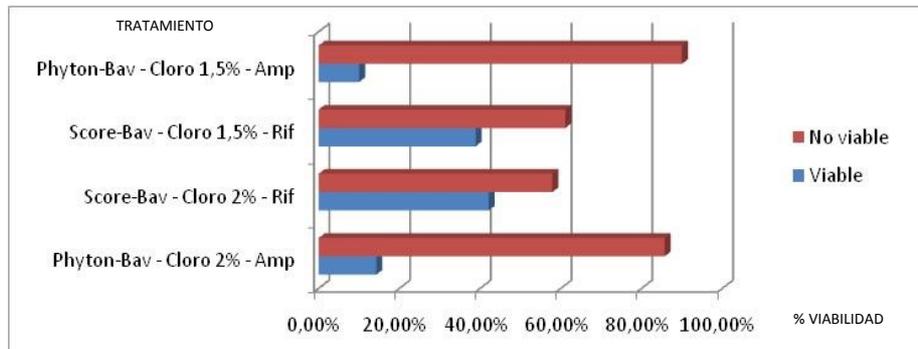


Figura 3.12. Porcentajes de la viabilidad obtenida acorde al tipo de tratamiento de desinfección utilizado.

La oxidación de los explantes como variable se lo evaluó en base a la aplicación de un ADEVA (Tabla 3.39), donde se encontró un valor estadístico altamente significativo entre tratamientos, por lo que procedió a realizar una prueba de Tukey en donde se distinguen dos grupos, teniendo al tratamiento conformado por Score Bavistin 1:1 con 2% de concentración de hipoclorito de sodio y como antibiótico Rifanmicina, el que generó menos oxidación (Tabla 3.40).

Tabla 3.39 ADEVA realizado para evaluar la oxidación obtenida en los diferentes protocolos de desinfección utilizados

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	36,004	3	12,001	12,395**	0,000
Intra-grupos	71,650	74	0,968		
Total	107,654	77			

Tabla 3.40. Prueba de Tukey que diferencia subconjuntos en base al tipo de tratamiento.

Tratamientos	N	Subconjuntos encontrados
Score-Bav - Cloro 1,5% - Rif	18	3,44 ^a

Phyton-Bav - Cloro 2% - Amp	21	4,86 ^b
Phyton-Bav - Cloro 1,5% - Amp	20	4,95 ^b
Score-Bav - Cloro 2% - Rif	19	5,26 ^b

3.1.5 Germinación de semillas *in vitro*.

En este apartado se evaluó por primera vez el impacto que causan las brasinolidas al introducirlas como hormonas de crecimiento al sistema de cultivo *in vitro*, lo cual generó diversos resultados en base al DCA planteado como arreglo factorial. El uso de diferentes concentraciones de brasinolida con respecto a la germinación obtenida presentó un valor estadístico no significativo al 5% (Tabla 3.41), lo cual indica que la germinación no depende de la concentración de brasinolida en el medio, aunque se observó que el tratamiento con 1 mg L⁻¹ de brasinolida presentó la mayor germinación con un 79,17% (Tabla 3.42 y Figura 3.13)

Tabla 3.41 Prueba de chi cuadrado para el regulador de crecimiento brasinolida con respecto a la germinación de las semillas *in vitro*.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	4,142	4	0,387
Razón de verosimilitudes	4,075	4	0,396
N de casos válidos	120		

Tabla 3.42 Recuento de datos y porcentajes de la germinación de semillas *in vitro* con respecto a la concentración de brasinolida utilizada en el medio de cultivo.

	Germinación				Total
	sin germinación		germinación		
Brasinolida (mg L-1) 0	7	29,17%	17	70,83%	24
0,04	11	45,83%	13	54,17%	24
0,4	6	25,00%	18	75,00%	24
1	5	20,83%	19	79,17%	24

	4	8	33,33%	16	66,67%	24
Total		37	30,83%	83	69,17%	120

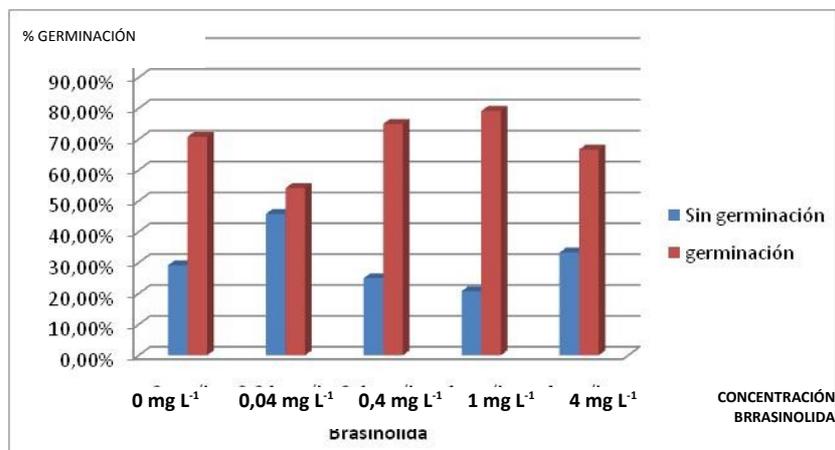


Figura 3.13 Porcentajes de la germinación de semillas *in vitro* con respecto a la concentración de brasinolida utilizada en el medio de cultivo.

Además se evaluaron variables cuantitativas en la aplicación de diferentes concentraciones de brasinolidas por medio de ADEVAS (Tabla 3.43), los cuales indicaron que la variable densidad de raíz presentó significancia estadística; indicando dependencia en los tratamientos aplicados, es así que en base a una prueba de Tukey se identifica que el tratamiento con 1 mg L⁻¹ de brasinolida es el que promueve mayor desarrollo radicular de la especie en esta etapa (Tabla 3.44).

Tabla 3.43 ADEVAS realizados para evaluar distintas variables con respecto a la concentración de brasinolida aplicada en el medio de cultivo.

		Suma de Cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Grosor del tallo	Inter-grupos	4,226	4	1,056	1,994 ^{ns}	0,104
	Intra-grupos	41,316	78	0,530		
	Total	45,542	82			
Altura del tallo (mm)	Inter-grupos	5635,314	4	1408,828	2,301 ^{ns}	0,066
	Intra-grupos	47754,783	78	612,241		
	Total	53390,096	82			
Número de yemas	Inter-grupos	39,424	4	9,856	1,328 ^{ns}	0,267
	Intra-grupos	578,865	78	7,421		
	Total	618,289	82			
Densidad de la raíz	Inter-grupos	11,777	4	2,944	6,986 ^{**}	0,000
	Intra-grupos	32,874	78	0,421		
	Total	44,651	82			

Tabla 3.44 Prueba de Tukey para la densidad de la raíz en base a las distintas concentraciones de brasinolidas aplicadas en el medio de siembra.

Brasinolida (mg L-1)	N	Subconjuntos encontrados
0,04	13	1,77 ^a
0,40	18	1,94 ^{ab}
0,00	17	2,00 ^{ab}
4,00	16	2,56 ^{bc}
1,00	19	2,74 ^c

3.2 Etapa de Multiplicación.

Concluida la etapa de establecimiento y donde se definió un protocolo de desinfección para introducción de la especie a un sistema de cultivo *in vitro*, se procedió a la siguiente etapa que es la más importante para los fines de esta investigación, la multiplicación. Se utilizó plántulas *in vitro* provenientes de la germinación de semillas *in vitro* y plántulas generadas de yemas introducidas al sistema *in vitro* provenientes de campo llamadas *ex vitro*.

La presentación de resultados en cada variable se diferencia de la siguiente manera: los resultados que se obtuvieron a partir de plántulas obtenidas *in vitro*, es decir de semillas sembradas en este ambiente se colocó después del nombre de la variable la palabra "*in vitro*"; y los resultados que se obtuvieron de las plántulas obtenidas *in vitro* a partir de yemas extraídas de campo e introducidas al sistema de cultivo *in vitro* se identificó con la palabra "*ex vitro*" después del nombre de la variable a analizar.

Se tomaron en cuenta para análisis solo los resultados que presentaron un valor de significancia menor o igual al 5%, los cuales fueron analizados con pruebas estadísticas de Tukey para establecer diferencias significativas entre los grupos.

3.2.1 Obtención de nuevos brotes

Esta variable presenta la eficiencia de los tratamientos para generar nuevos brotes en las plántulas subcultivadas, depende de la carga hormonal y la interacción entre diferentes hormonas aplicadas según el tipo de tratamiento.

3.2.1.1 Nuevos brotes *in vitro*

Los resultados que se obtuvieron analizando la variable nuevos brotes *in vitro* se los presenta en base a un ADEVA (Tabla 3.45)

Tabla 3.45 ADEVA realizado para evaluar la generación de nuevos brotes "*in vitro*" en los diferentes tratamientos utilizados.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	38298,744	27	1418,472	33,057	0,000
AIA	1095,694	2	547,847	12,767 **	0,000
BAP	5894,149	2	2947,074	68,681 **	0,000
Brasinolida	466,501	2	233,250	5,436 **	0,005
AIA * BAP	1066,450	4	266,612	6,213 **	0,000
AIA * Brasinolida	1117,323	4	279,331	6,510 **	0,000
BAP * Brasinolida	1224,005	4	306,001	7,131 **	0,000
AIA * BAP * Brasinolida	1738,465	8	217,308	5,064 **	0,000
Error	10341,256	241	42,910		
Total	48640,000	268			

Según el ADEVA, se obtuvo valores estadísticos altamente significantes en todos los factores e interacciones utilizados para evaluar esta variable, por lo cual se aplicó pruebas de Tukey para observar los diferentes grupos estadísticos.

Analizando por separado cada regulador de crecimiento se obtuvo que la aplicación de AIA en el medio de cultivo generó dos subconjuntos según la prueba de Tukey (Tabla 3.46) evidenciando que con una concentración de 0,5 mg L⁻¹ se obtuvo

la mayor cantidad de brotes. En cuanto los resultados obtenidos con BAP (Tabla 3.47) presentaron que la utilización de una concentración de 2 mg L⁻¹ generó mayor cantidad de yemas; y por último al analizar las brasinolidas como regulador de crecimiento se obtuvo que la no utilización de éstas en el medio de cultivo generó mayor cantidad de brotes en las plántulas sembradas (Tabla 3.48)

Tabla 3.46 DHS de Tukey para AIA en la obtención de nuevos brotes “*in vitro*”

AIA (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
1,0	89	7,74 ^a
0,0	89	9,11 ^a
0,5	90	12,49 ^b

Tabla 3.47 DHS de Tukey para BAP en la obtención de nuevos brotes “*in vitro*”

BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
0	88	4,13 ^a
1	90	9,51 ^b
2	90	15,61 ^c

Tabla 3.48 DHS de Tukey para Brasinolida en la obtención de nuevos brotes “*in vitro*”

Brasinolida (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
4	89	8,66 ^a
1	89	9,10 ^a
0	90	11,59 ^b

Después de su análisis individual de procedió a analizar a los biorreguladores acorde a sus interacciones, en donde se encontró que la interacción AIA*BAP presentó el mejor desarrollo de brotes con una concentración de 0,5 mg L⁻¹ de AIA y 2 mg L⁻¹ de BAP, con un promedio de 17,57 de brotes obtenidos (Tabla 3.49, Figura 3.14).

La interacción AIA*Brasinolida presentó una buena generación de brotes con una concentración de 0,5 mg L⁻¹ de AIA y 1 mg L⁻¹ de Brasinolida, aunque la mejor generación de brotes solo se dio con la utilización de AIA en una concentración de 0,5 mg L⁻¹ (Tabla 3.50, Figura 3.15). Por último se analizó la interacción BAP*Brasinolida donde se obtuvo que una concentración de 2 mg L⁻¹ de BAP y 1 mg L⁻¹ de Brasinolida obtiene una cantidad promedio de 13,7 brotes aunque el mejor tratamiento para obtener brotes se dio con solo la aplicación de 2 mg L⁻¹ BAP con un promedio de 21,5 brotes (Tabla 3.51, Figura 3.16).

Tabla 3.49 HSD de Tukey para la interacción AIA*BAP en la obtención de nuevos brotes “*in vitro*”

AIA * BAP	N	Subconjuntos encontrados
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	29	3,52 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	29	3,52 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	30	5,30 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	5,67 ^{a,b}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	8,27 ^{a,b}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	11,30 ^{b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	14,60 ^{c,d}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	17,57 ^d
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	17,97 ^d

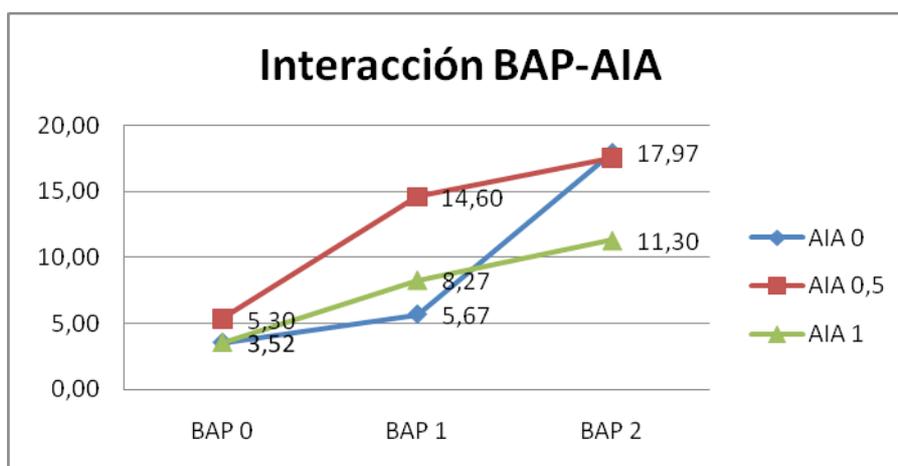


Figura 3.14 Representación gráfica de la interacción obtenida de los biorreguladores BAP y AIA en la obtención de nuevos brotes “*in vitro*”

Tabla 3.50 HSD de Tukey para la interacción AIA*Brasinolida en la obtención de nuevos brotes “*in vitro*”

AIA * Brasinolida	N	Subconjuntos encontrados
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	6,70 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	7,30 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	8,07 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	8,23 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BRA	29	8,48 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 4 mg L ⁻¹ BRA	29	9,72 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	10,33 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	11,50 ^{a,b}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	17,73 ^b

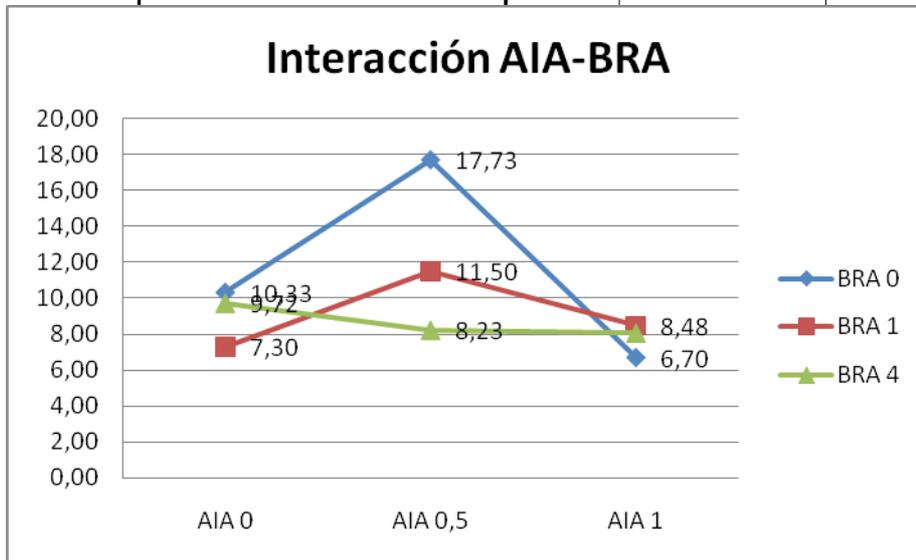


Figura 3.15 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores AIA y Brasinolidas en la obtención de nuevos brotes “*in vitro*”

Tabla 3.51 HSD de Tukey para la interacción BAP*Brasinolida en la obtención de nuevos brotes “*in vitro*”

BAP * Brasinolida	N	Subconjuntos Encontrados
0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	29	3,79 ^a
0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	29	3,83 ^a
0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	4,73 ^{a,b}
1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	8,53 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	9,63 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	10,37 ^{b,c}
2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	11,63 ^c
2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	13,70 ^c
2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	21,50 ^d

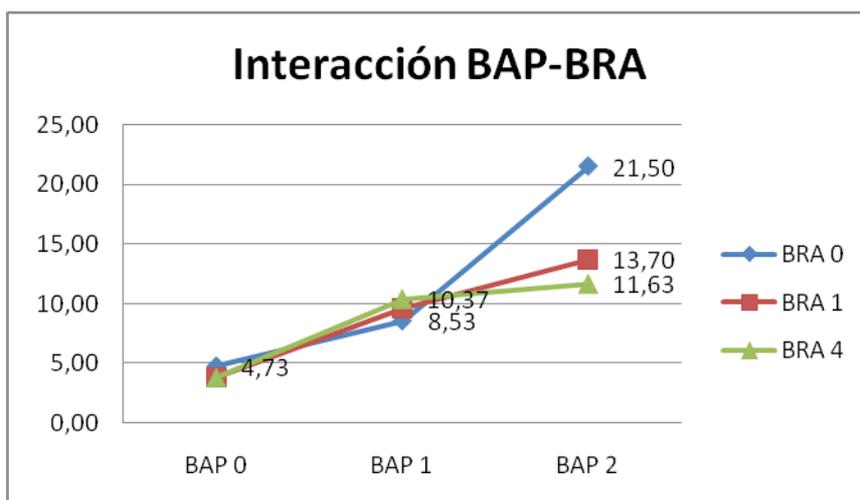


Figura 3.16 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores BAP y Brasinolidas en la obtención de nuevos brotes “*in vitro*”

Al analizar las interacciones de los tres biorreguladores de crecimiento se evidencia la que la utilización de brasinolidas no influye en un desarrollo masivo de brotes, pues el mejor tratamiento aplicado para la obtención de brotes estuvo compuesto por la interacción de AIA y BAP en concentraciones de 0,5 mg L⁻¹ de AIA y 2 mg L⁻¹ de BAP (Tabla 3.52).

Tabla 3.52 Prueba de Tukey para los tratamientos aplicados en la obtención de nuevos brotes “*in vitro*”

Tratamiento	N	Subconjuntos encontrados
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	0,30 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	2,40 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	3,10 ^{a, b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	9	3,22 ^{a, b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	9	3,33 ^{a, b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	3,60 ^{a, b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	3,70 ^{a, b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	4,40 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	4,80 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	5,70 ^{a, b,c,d}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	5,80 ^{a, b,c,d}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	6,60 ^{a, b,c,d}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	8,70 ^{a,b,c,d,e}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	8,80 ^{a,b,c,d,e}

1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	9,50 ^{a,b,c,d,e}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	9,90 ^{a,b,c,d,e}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	11,50 ^{b,c,d,e}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	11,60 ^{b,c,d,e}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	11,80 ^{b,c,d,e}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	12,20 ^{b,c,d,e}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	12,50 ^{b,c,d,e}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	13,60 ^{c,d,e}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	16,30 ^{d,e,f}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	16,40 ^{d,e,f}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	18,70 ^{e,f,g}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	25,90 ^{f,g}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	28,70 ^g

3.2.1.2 Nuevos brotes *ex vitro*

De la misma manera que los resultados de plántulas generadas a partir de semillas, en este apartado se analiza en base a un ADEVA (Tabla 3.53) los resultados presentados para esta variable, que determina la cantidad de brotes generados acorde al tratamiento aplicado.

Tabla 3.53 ADEVA realizado para evaluar la generación de nuevos brotes “*ex vitro*” en los diferentes tratamientos utilizados.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo	17075,247	27	632,417	33,058	0,000
AIA	135,326	2	67,663	3,537*	0,031
BAP	1007,073	2	503,536	26,321**	0,000
Brasinolida	17,686	2	8,843	0,462 ^{ns}	0,630
AIA * BAP	43,920	4	10,980	0,574 ^{ns}	0,682
AIA * Brasinolida	38,059	4	9,515	0,497 ^{ns}	0,738
BAP * Brasinolida	215,271	4	53,818	2,813*	0,026
AIA * BAP * Brasinolida	282,816	8	35,352	1,848 ^{ns}	0,069
Error	4514,753	236	19,130		
Total	21590,000	263			

Los resultados del ADEVA demuestran estadísticamente que existen variables altamente significantes, por lo cual se analiza en base a pruebas de Tukey para determinar diferencias en los resultados observados. Analizando cada regulador por

separado se observó que una mayor generación de brotes se obtuvo con 0,5 mg L⁻¹ de AIA (Tabla 3.54) y con 2 mg L⁻¹ de BAP (Tabla 3.55). La mejor interacción para la generación de brotes se dio con 2 mg L⁻¹ de BAP y 4 mg L⁻¹ de Brasinolida (Tabla 3.56, Figura 3.17). De igual forma el tratamiento que generó la menor cantidad de brotes se estableció con la aplicación única de brasinolida en una concentraciones de 1 mg L⁻¹.

Tabla 3.54 Prueba DHS de Tukey para AIA en la obtención de nuevos brotes “*ex vitro*”

AIA (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
1,0	90	6,71 ^a
0,0	87	7,92 ^{a,b}
0,5	86	8,31 ^b

Tabla 3.55 Prueba DHS de Tukey para BAP en la obtención de nuevos brotes “*ex vitro*”

BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
0	90	5,16 ^a
1	89	7,99 ^b
2	84	9,92 ^c

Tabla 3.56 Prueba DHS de Tukey para la interacción entre los reguladores de crecimiento BAP*Brasinolida en la obtención de nuevos brotes “*ex vitro*”

BAP * Brasinolida	N	Subconjuntos encontrados
0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	4,57 ^a
0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	4,73 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	6,17 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	7,40 ^{a,b,c,d}
1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	29	7,52 ^{a,b,c,d}
2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	29	8,34 ^{b,c,d,e}
1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	9,03 ^{c,d,e}
2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	27	9,96 ^{d,e}
2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	28	11,50 ^e

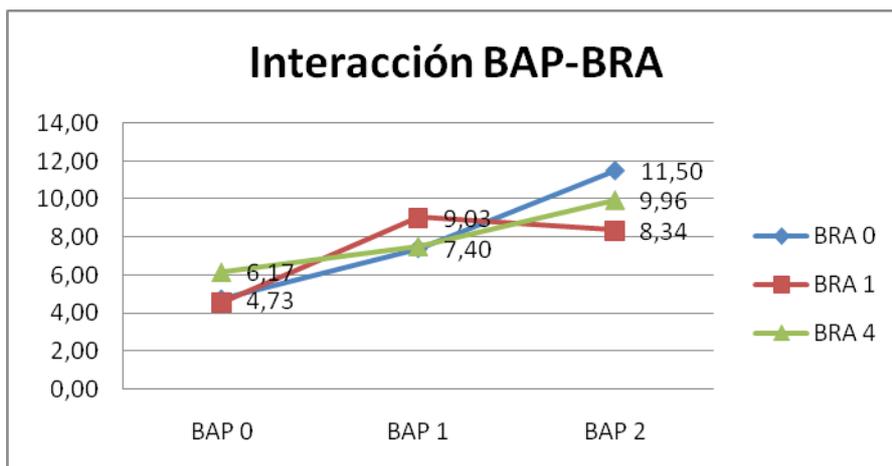


Figura 3.17 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores BAP y Brasinolidas en la generación de nuevos brotes “*ex vitro*”

3.2.2 Grosor del tallo

Esta variable se determina por el desarrollo transversal de la planta, y se evaluó de acuerdo a la interacción de los factores aplicados.

3.2.2.1 Grosor del tallo *in vitro*

El grosor del tallo de las plántulas desarrolladas *in vitro* se evaluó en base a un ADEVA (Tabla 3.57), en donde se analizó las fuentes que tienen una significancia menor al 5% mediante pruebas de Tukey.

Tabla 3.57 ADEVA realizado para evaluar el grosor del tallo de las plántulas “*in vitro*” obtenido a partir de los tratamientos aplicados.

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	820,300	27	30,381	64,397	0,000
AIA	0,250	2	0,125	0,265 ^{ns}	0,767
BAP	15,671	2	7,836	16,608**	0,000
Brasinolida	0,023	2	0,011	0,024 ^{ns}	0,976
AIA * BAP	3,435	4	0,859	1,820 ^{ns}	0,126
AIA * Brasinolida	3,733	4	0,933	1,978 ^{ns}	0,098
BAP * Brasinolida	3,826	4	0,956	2,027 ^{ns}	0,091
AIA * BAP * Brasinolida	10,260	8	1,282	2,718**	0,007
Error	113,700	241	0,472		
Total	934,000	268			

Los resultados obtenidos demuestran que el mejor grosor del tallo de las plántulas desarrolladas en el sistema *in vitro* se obtuvo sin la aplicación del biorregulador BAP obteniendo una media de 2,06 sobre un nivel máximo de 3; por otro lado se demostró que con una mayor concentración de BAP el grosor del tallo es menor como se demuestra en la tabla 3.58; y que al analizar en conjunto los tratamientos con sus interacciones hormonales, se destacó el tratamiento compuesto por 1 mg L⁻¹ de brasinolida (Tabla 3.59) como el que generó mayor grosor del tallo en las plántulas obtenidas con una media de 2,60. Al utilizar esta misma concentración de brasinolida en conjunto con 1 mg L⁻¹ de BAP se obtuvo el menor grosor del tallo con una media de 1,10. (Tabla 3.59).

Tabla 3.58 Prueba DHS de Tukey para BAP en el grosor del tallo de los nuevos brotes “*ex vitro*”

BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
2	90	1,51 ^a
1	90	1,57 ^a
0	88	2,06 ^b

Tabla 3.59. Prueba de Tukey para las diferentes interacciones hormonales aplicadas en tratamientos para el grosor del tallo de los brotes “*ex vitro*”.

Tratamiento	N	Subconjuntos encontrados
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,10 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,10 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,20 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,30 ^{a,b}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,40 ^{a,b}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,40 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	1,50 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	1,50 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	1,50 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	1,50 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,50 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,60 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	9	1,67 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,70 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,70 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	1,70 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	1,80 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	1,80 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,90 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,90 ^{a,b,c}

0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	9	2,00 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,00 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,00 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	2,00 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,40 ^{b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	2,40 ^{b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	2,60 ^c

3.2.2.2 Grosor del tallo *ex vitro*

Trabajando en la multiplicación de plántulas subcultivadas a partir de yemas introducidas de campo se analizó el grosor del tallo en base a un ADEVA (Tabla 3.60), donde sólo la variable AIA presenta un valor estadístico altamente significativo, por lo cual se aplicó una prueba de Tukey (Tabla 3.61) para observar las diferencias entre los tratamientos, determinando que al no utilizar este biorregulador AIA en el medio de cultivo se obtiene el mejor grosor del tallo en las plántulas obtenidas en el sistema de cultivo *in vitro* con una media de 1,82.

Tabla 3.60 ADEVA realizado para evaluar el grosor del tallo de plántulas obtenidas a partir de yemas introducidas de campo en los diferentes tratamientos utilizados.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	667,303	27	24,715	62,251	0,000
AIA	7,959	2	3,979	10,023**	0,000
BAP	1,920	2	0,960	2,418 ^{ns}	0,091
Brasinolida	1,455	2	0,727	1,832 ^{ns}	0,162
AIA * BAP	0,984	4	0,246	0,620 ^{ns}	0,649
AIA * Brasinolida	2,497	4	0,624	1,572 ^{ns}	0,182
BAP * Brasinolida	0,839	4	0,210	0,528 ^{ns}	0,715
AIA * BAP * Brasinolida	2,893	8	0,362	0,911 ^{ns}	0,508
Error	93,697	236	0,397		
Total	761,000	263			

Tabla 3.61 Prueba de Tukey para el regulador de crecimiento AIA con respecto a la variable del grosor de tallo obtenido en los brotes “*ex vitro*”

AIA (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
1,0	90	1,42 ^a
0,5	86	1,48 ^a

0,0	87	1,82 ^b
-----	----	-------------------

3.2.3 Altura de la planta.

La variable altura de la planta se determinó por su desarrollo longitudinal medido en milímetros, el cual se evaluó con la interacción de los distintos reguladores de crecimiento aplicados en los tratamientos.

3.2.3.1 Altura de la planta *in vitro*.

Al igual que en variables anteriores, esta variable fue analizada en base a un ADEVA (Tabla 3.62), en donde se evidencia que algunas fuentes presentan significancia con respecto a la altura obtenida en los explantes.

Tabla 3.62 ADEVA realizado para evaluar la altura de las plántulas obtenidas en los diferentes tratamientos de brotes "*in vitro*"

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo	320200,089	27	11859,263	24,949	0,000
AIA	1859,482	2	929,741	1,956 ^{ns}	0,144
BAP	20679,582	2	10339,791	21,753 ^{**}	0,000
Brasinolida	56,524	2	28,262	0,059 ^{ns}	0,942
AIA * BAP	5644,480	4	1411,120	2,969 [*]	0,020
AIA * Brasinolida	1473,719	4	368,430	0,775 ^{ns}	0,542
BAP * Brasinolida	3875,693	4	968,923	2,038 ^{ns}	0,090
AIA * BAP * Brasinolida	5567,809	8	695,976	1,464 ^{ns}	0,171
Error	114555,911	241	475,336		
Total	434756,000	268			

El ADEVA aplicado (Tabla 3.62) presenta que el regulador BAP influye en la altura de las plántulas obtenidas, pues la no inclusión de esta hormona en el medio de cultivo presenta la mayor altura de las plántulas con una media de 45,01 milímetros (Tabla 3.63). A partir de la interacción de los reguladores de crecimiento BAP y AIA, el mejor crecimiento longitudinal se obtuvo con la utilización de 0,5 mg L⁻¹ de AIA y sin

presencia de BAP obteniendo una media de 52,17 milímetros (Tabla 3.64, Figura 3.18).

Tabla 3.63 Prueba DHS de Tukey para el regulador de crecimiento BAP con respecto a la altura de las plantas obtenidas “*in vitro*”.

BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos Encontrados
2	90	25,69 ^a
1	90	26,66 ^a
0	88	45,01 ^b

Tabla 3.64 Prueba HSD de Tukey para la interacción hormonal AIA*BAP con respecto a la altura de las plantas medida en milímetros “*in vitro*”

AIA*BAP	N	Subconjuntos Encontrados
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	20,03 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	23,47 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	24,73 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	28,47 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	28,87 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	31,47 ^{a,b}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	29	34,55 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	29	48,07 ^{b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	30	52,17 ^c

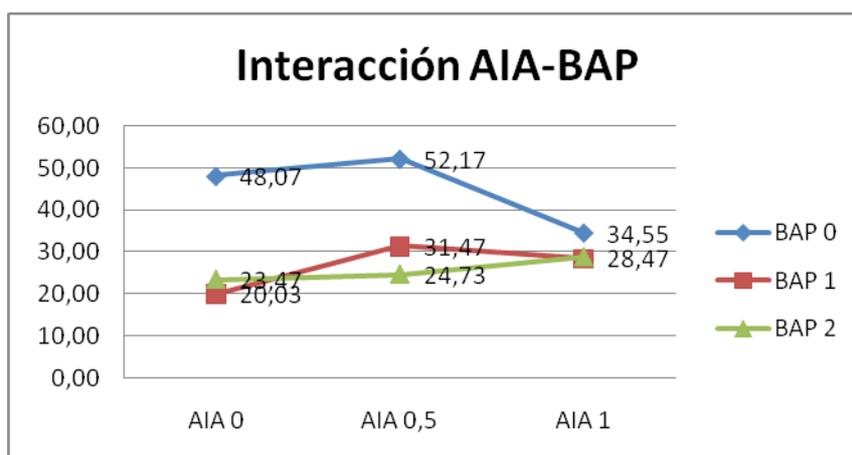


Figura 3.18 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores AIA y BAP con respecto a la altura de las plantas “*in vitro*”.

3.2.3.2 Altura de la planta *ex vitro*.

De la misma manera que el ensayo *in vitro*, se aplicó un ADEVA (Tabla 3.65) para analizar los resultados obtenidos con las plántulas que partieron de yemas introducidas de campo, con la diferencia que se encontró un mayor número de factores estadísticos altamente significantes.

Tabla 3.65 ADEVA realizado para evaluar la altura de las plántulas obtenidas en los diferentes tratamientos.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	699839,969	27	25919,999	81,567	0,000
AIA	11149,388	2	5574,694	17,543**	0,000
BAP	4205,704	2	2102,852	6,617**	0,002
Brasinolida	1152,730	2	576,365	1,814 ^{ns}	0,165
AIA * BAP	3505,324	4	876,331	2,758*	0,029
AIA * Brasinolida	3611,767	4	902,942	2,841*	0,025
BAP * Brasinolida	6796,375	4	1699,094	5,347**	0,000
AIA * BAP * Brasinolida	891,423	8	111,428	0,351 ^{ns}	0,945
Error	74995,031	236	317,776		
Total	774835,000	263			

Analizando por separado los reguladores de crecimiento se encontró que un mayor crecimiento longitudinal de los explantes se obtiene con la supresión de estas hormonas (Tabla 3.66).

Tabla 3.66 Pruebas DHS de Tukey para los reguladores de crecimiento AIA y BAP con respecto a la altura obtenida en las plántulas “*ex vitro*”

AIA (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
1,0	90	41,22 ^a
0,5	86	54,88 ^b
0,0	87	55,46 ^b
BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
2	84	45,57 ^a
1	89	49,76 ^{a,b}
0	90	55,53 ^b

Evaluando las interacciones hormonales con respecto a la altura de la planta se observó que en la interacción AIA*BAP la mayor altura se obtuvo con 0,5 mg L⁻¹ de AIA sin la participación del biorregulador BAP con una media de 65,13 milímetros (Tabla 3.67, Figura 3.19). La interacción AIA*Brasinolida demostró que al utilizar

concentraciones de 0,5 mg L⁻¹ de AIA y 4 mgL⁻¹ de Brasinolida se obtuvo el mayor crecimiento longitudinal con una media de 62,30 milímetros (Tabla 3.68, Figura 3.20).

En esta tabla también se puede ver que los valores altos de AIA producen una menor altura 36,43 milímetros y menores valores de este biorregulador AIA producen una altura mayor con 65,13 milímetros. De la misma forma al utilizar este biorregulador Brasinolida en interacción con BAP en concentración de 4 mg L⁻¹ de Brasinolida y sin BAP se obtuvo la mayor altura de los explantes desarrollados *in vitro* (65,83 milímetros) (Tabla 3.69, Figura 3.21).

Tabla 3.67 Prueba HSD de Tukey para la interacción hormonal AIA*BAP con respecto a la altura de la planta “*ex vitro*”.

AIA * BAP	N	Subconjuntos Encontrados
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	30	40,07 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	41,63 ^{a,b}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	41,97 ^{a,b}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	27	46,44 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	27	48,70 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	29	52,14 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	55,60 ^{b,c,d}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	30	61,40 ^{c,d}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	30	65,13 ^d

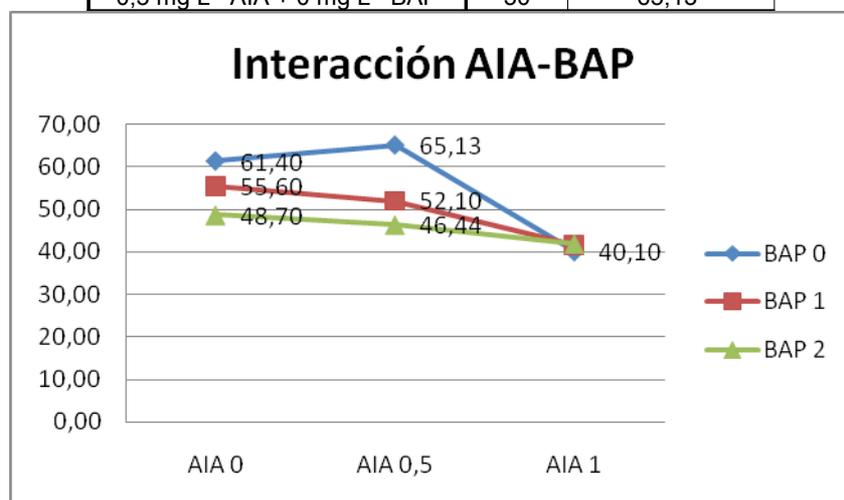


Figura 3.19 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores AIA y BAP con respecto a la altura de la planta “*ex vitro*”.

Tabla 3.68 Prueba HSD de Tukey para la interacción hormonal AIA*Brasinolida con respecto a la altura de la plantas obtenidas “*ex vitro*”.

AIA * Brasinolida	N	Subconjuntos
-------------------	---	--------------

		encontrados
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	36,43 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	40,03 ^{a,b}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	47,20 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BRA	29	48,10 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BRA	29	52,62 ^{b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	54,77 ^{b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BRA	29	55,90 ^c
0 mg L ⁻¹ AIA + 4 mg L ⁻¹ BRA	29	57,86 ^c
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 4 mg L ⁻¹ BRA	27	62,30 ^c

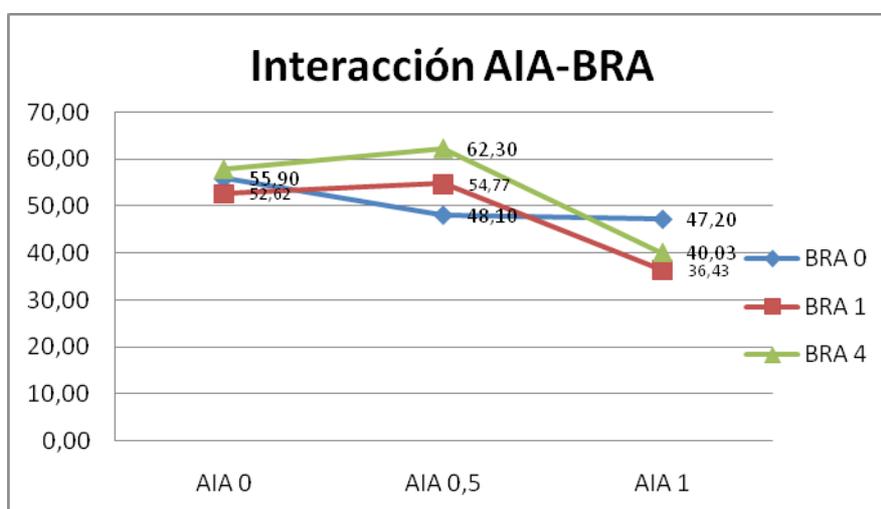


Figura 3.20 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores AIA y BAP con respecto a la altura de la plantas obtenidas “*ex vitro*”.

Tabla 3.69 Prueba HSD de Tukey para la interacción BAP*Brasinolida con respecto a la altura de la plantas obtenidas “*ex vitro*”.

BAP * Brasinolida	N	Subconjuntos Encontrados
2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	29	40,17 ^a
1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	29	44,97 ^a
2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	27	47,48 ^a
0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	47,90 ^a
1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	48,83 ^a
2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	28	49,32 ^a
0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	52,87 ^{a,b}
1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	55,33 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	65,83 ^b

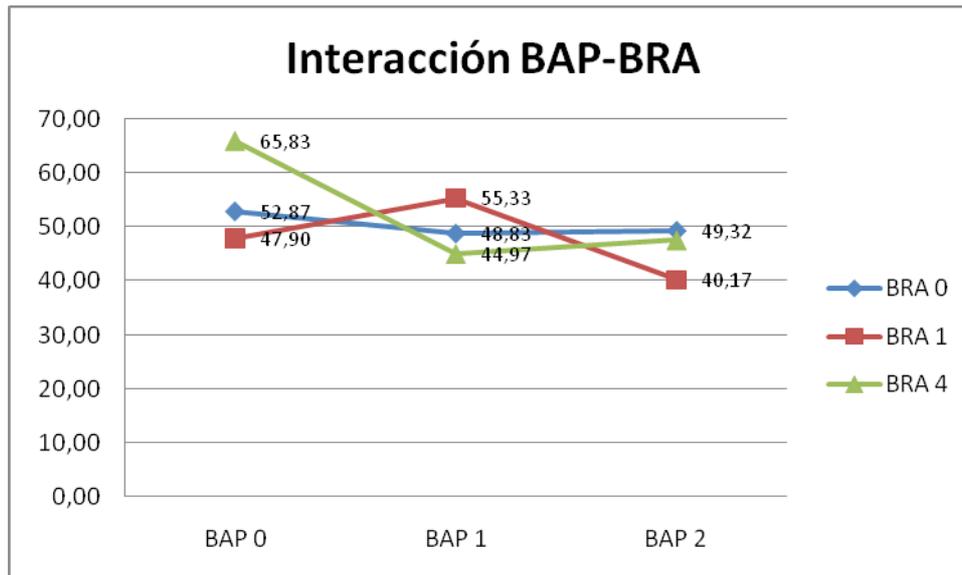


Figura 3.21 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores BAP y Brasinolidas con respecto a la altura de la plantas obtenidas “*ex vitro*”.

3.2.4 Número de Raíces

Esta variable se evaluó cuantitativamente, aunque las raíces en ciertos tratamientos se tornaron difíciles de contar, especialmente las raíces axilares, pero en su mayoría fue factible su conteo, por lo cual no se las clasificó por niveles.

3.2.4.1 Número de raíces *in vitro*.

La cantidad de raíces obtenidas del subcultivo de plántulas desarrolladas desde semilla *in vitro* con respecto a los diferentes factores aplicados se determinó en base a un ADEVA (Tabla 3.70), en donde se observó varias variables estadísticamente significantes.

Tabla 3.70 ADEVA realizado para evaluar la densidad de raíz obtenida en las plántulas desarrolladas a partir de semillas *in vitro* en los diferentes tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	32954,022	27	1220,519	6,716	0,000
AIA	1029,483	2	514,742	2,832 ^{ns}	0,061
BAP	18416,032	2	9208,016	50,667**	0,000
Brasinolida	96,775	2	48,388	0,266 ^{ns}	0,766
AIA * BAP	2028,565	4	507,141	2,791*	0,027
AIA * Brasinolida	346,135	4	86,534	0,476 ^{ns}	0,753
BAP * Brasinolida	353,820	4	88,455	0,487 ^{ns}	0,745
AIA * BAP * Brasinolida	604,604	8	75,575	0,416 ^{ns}	0,911
Error	43797,978	241	181,734		
Total	76752,000	268			

El ADEVA expuesto demuestra que hubo diferencia entre los tratamientos utilizados; pues se observó que al no incluir el biorregulador BAP en el medio de cultivo se obtuvo mayor cantidad de raíces (Tabla 3.71); y en cuanto a interacciones hormonales entre los reguladores AIA y BAP, se observó que de igual manera la no inclusión de estos biorreguladores en el medio de cultivo genera mayor densidad radicular (Tabla 3.72, Figura 3.22).

Tabla 3.71 Prueba DHS de Tukey para el biorregulador BAP con respecto a la cantidad de raíces observadas de brotes *in vitro*.

BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos Encontrados
2	90	0,30 ^a
1	90	0,39 ^a
0	88	18,00 ^b

Tabla 3.72 Prueba de subconjuntos de Tukey para la interacción de reguladores de crecimiento AIA y BAP frente a la densidad radicular obtenida “*in vitro*”.

AIA * BAP	N	Subconjuntos encontrados
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	0,03 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	0,13 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	0,13 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	0,47 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	0,63 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	0,67 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	29	11,48 ^b
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	30	16,87 ^{b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	29	25,69 ^c

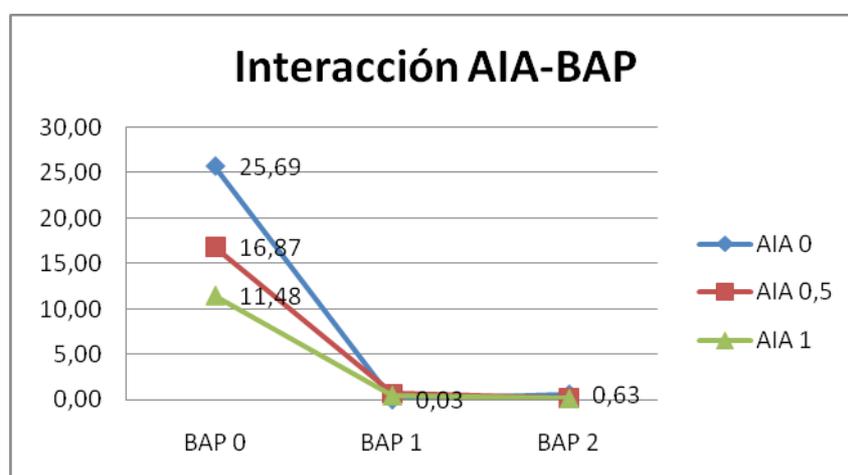


Figura 3.22 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores AIA y BAP frente a la densidad radicular obtenida “*in vitro*”.

3.2.4.2 Número de raíces *ex vitro*

Partiendo del análisis *in vitro*, en este apartado también se evaluó la cantidad de raíces obtenidas en base a un ADEVA (Tabla 3.73) obteniendo varias fuentes altamente significantes, es decir que influyen en la densidad de raíz obtenida en los tratamientos.

Tabla 3.73 ADEVA realizado para evaluar la densidad de raíz obtenida en las plántulas desarrolladas a partir de yemas *in vitro* en los diferentes tratamientos.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	798,244	27	29,565	13,634	0,000
AIA	30,921	2	15,460	7,130**	0,001
BAP	288,791	2	144,396	66,589**	0,000
Brasinolida	22,341	2	11,171	5,151**	0,006
AIA * BAP	105,981	4	26,495	12,218**	0,000
AIA * Brasinolida	34,608	4	8,652	3,990**	0,004
BAP * Brasinolida	56,234	4	14,059	6,483**	0,000
AIA * BAP * Brasinolida	37,861	8	4,733	2,182*	0,030
Error	511,756	236	2,168		
Total	1310,000	263			

El ADEVA analizado demuestra que existen varias variables que presentan diferencia estadística altamente significativa con parámetro del 5%; analizando por separado los biorreguladores de crecimiento, se obtuvo que en el caso del biorregulador AIA, una mayor densidad radicular se presentó con una concentración de 0,5 mg L⁻¹ en el medio de cultivo (Tabla 3.74); por otro lado con el regulador de crecimiento BAP se obtuvo que la no utilización de éste origina mayor densidad radicular con una media de 2,36 raíces (Tabla 3.74) y por último al emplear las brasinolidas se obtuvo que con una concentración de 4 mg L⁻¹ en el medio de cultivo se obtiene el mayor crecimiento radicular con una media de 1,28.

Tabla 3.74 Prueba DHS de Tukey para los biorreguladores AIA, BAP y Brasinolida con respecto a la cantidad de raíz obtenida en plántulas “*ex vitro*”

	Regulador de crecimiento (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos Encontrados
AIA	1	90	0,44 ^a
	0	87	0,95 ^{a,b}
	0,5	86	1,34 ^b
BAP	2	84	0,11 ^a
	1	89	0,19 ^a
	0	90	2,36 ^b
Brasinolida	1	89	0,52 ^a
	0	88	0,93 ^{a,b}
	4	86	1,28 ^b

En base a pruebas de Tukey se analizó también las interacciones entre los biorreguladores de crecimiento; con la interacción AIA*Brasinolida se obtuvo que al

utilizar 0,5 mg L⁻¹ de AIA y 4 mg L⁻¹ de Brasinolida se generó mayor densidad radicular obteniendo una media de 2,56 (Tabla 3.75, Figura 3.23); y que con las interacciones Brasinolida*BAP y Brasinolida*AIA, la utilización de solo Brasinolida generó el mejor desarrollo de raíces en el medio de cultivo con una media de 3,57 raíces por plántula desarrollada *in vitro*.(Tabla 3.76, Figura 3.24).

Tabla 3.75 Prueba HSD de Tukey para la interacción hormonal AIA*Brasinolida frente al desarrollo radicular de las plántulas obtenidas “*ex vitro*”.

AIA * Brasinolida	N	Subconjuntos Encontrados
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	0,10 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	0,33 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	0,63 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BRA	29	0,83 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	0,90 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BRA	29	0,93 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BRA	29	0,97 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ AIA + 4 mg L ⁻¹ BRA	29	1,07 ^{a,b}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 4 mg L ⁻¹ BRA	27	2,56 ^b

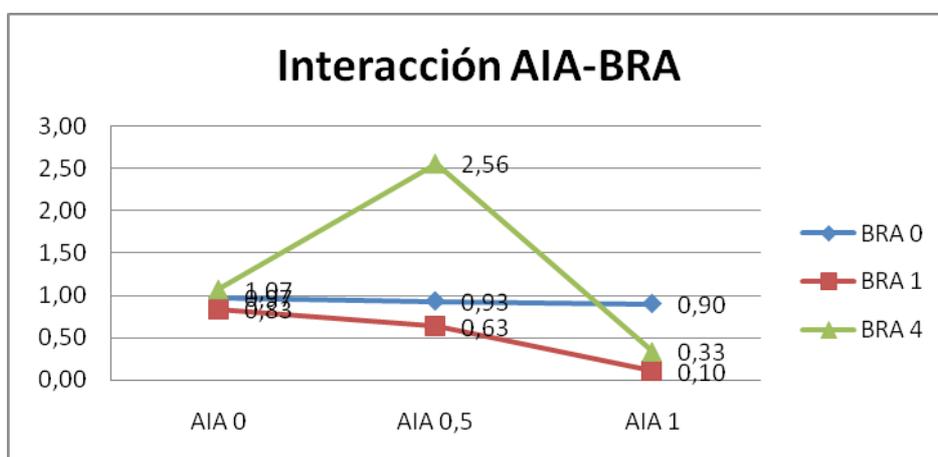


Figura 3.15 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores AIA y Brasinolidas frente al desarrollo radicular de las plántulas obtenidas “*ex vitro*”.

Tabla 3.76 Prueba HSD de Tukey para la interacción hormonal BAP*Brasinolida frente a la cantidad de raíces obtenidas en las plantas “*ex vitro*”.

BAP * Brasinolida	N	Subconjuntos Encontrados
2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	29	0,00 ^a
2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	27	0,00 ^a
1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	29	0,10 ^a
1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	0,23 ^a
1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	0,23 ^a
2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	28	0,32 ^a
0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	1,30 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	2,20 ^b
0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	3,57 ^c

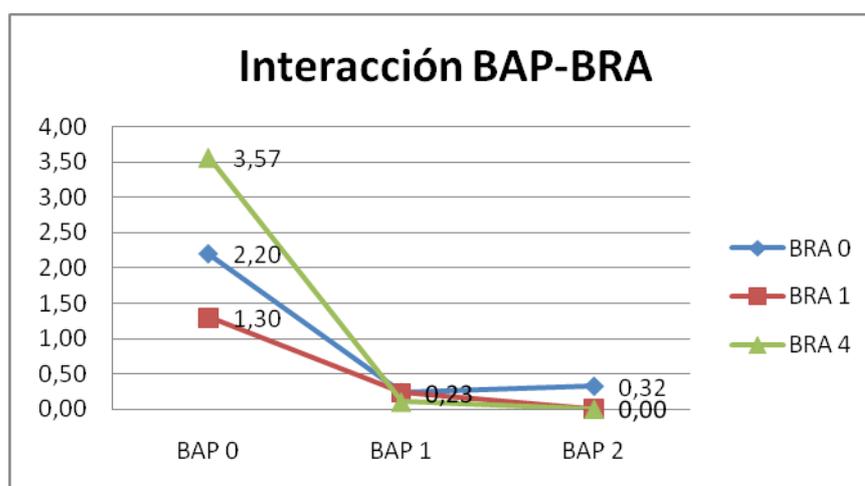


Figura 3.24 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores BAP y Brasinolidas frente al número de raíces obtenidas en las plantas “*ex vitro*”.

Por último se evaluó las interacciones de los biorreguladores en conjunto, aplicados en los distintos tratamientos, obteniéndose que el tratamiento que generó mejor desarrollo radicular de las plántulas obtenidas *in vitro* se presentó en ausencia del biorregulador BAP y con concentraciones de 0,5 mg L⁻¹ de AIA y 4 mg L⁻¹ de Brasinolida presentando una media de 6,70 raíces por plántula desarrollada. (Tabla 3.77). La tabla también demuestra una clara tendencia de generación de raíces con los reguladores de crecimiento AIA y BAP; puesto que se va eliminando el biorregulador BAP e incrementando las concentraciones del biorregulador AIA; se va obteniendo generación radicular.

Tabla 3.77 Prueba HSD de Tukey para las interacciones hormonales de los tres biorreguladores AIA, BAP y Brasinolidas con respecto a su efecto en la generación de raíces en las plántulas obtenidas “*ex vitro*”.

Tratamiento	N	Subconjuntos
-------------	---	--------------

		encontrados
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	9	0,00 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	9	0,00 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	9	0,00 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	9	0,00 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	8	0,00 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	0,10 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,10 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	0,10 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,20 ^{a,b}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	9	0,22 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,60 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	0,60 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	0,90 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	0,90 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,20 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,80 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,90 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,70 ^{b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,70 ^{b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	3,10 ^c
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	6,70 ^d

3.2.5 Vigoridad

Se evaluó la sobrevivencia del explante al tratamiento aplicado, es decir, se demuestra si un explante a más de estar vivo es viable para que crezca en condiciones *in vitro* o no, pues existieron casos que el metabolismo del explante funcionaba pero no crecía, o que presentaba un color verde por fuera pero se encontraba necrosado en su interior. Se evaluó en tres niveles de viabilidad, nula, media y alta acorde al desarrollo de la planta en el sistema de cultivo *in vitro*.

3.2.5.1 Vigoridad *in vitro*

Partiendo de un ADEVA (Tabla 3.78), se observó que la vigorosidad de las plántulas obtenidas generó distintos resultados, encontrando diferencias significativas en algunas fuentes estudiadas.

Tabla 3.78 ADEVA realizado para evaluar la vigorosidad que presentaron las plántulas en su desarrollo *in vitro* acorde al tratamiento aplicado de las plantas "*in vitro*".

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	1424,878	27	52,773	90,766	0,000
AIA	1,913	2	0,956	1,645 ^{ns}	0,195
BAP	2,645	2	1,323	2,275 ^{ns}	0,105
Brasinolida	0,069	2	0,035	0,060 ^{ns}	0,942
AIA * BAP	23,791	4	5,948	10,230 ^{**}	0,000
AIA * Brasinolida	2,725	4	0,681	1,172 ^{ns}	0,324
BAP * Brasinolida	4,442	4	1,111	1,910 ^{ns}	0,109
AIA * BAP * Brasinolida	14,736	8	1,842	3,168 ^{**}	0,002
Error	140,122	241	0,581		
Total	1565,000	268			

Las interacciones AIA*BAP y AIA*BAP*Brasinolida presentaron valores estadísticos altamente significantes al 5%, lo cual demuestra que influyen en la vigorosidad observada en el desarrollo de los explantes; la interacción de los biorreguladores AIA*BAP demostró que utilizando una concentración nula de AIA y 2 mg L⁻¹ de BAP las plantas tuvieron mayor sobrevivencia y viabilidad para este sistema de cultivo *in vitro* con una media de 2,70 sobre un nivel máximo de 3 (Tabla 3.79, Figura 3.25), de igual manera al analizar en conjunto las interacciones de los tres biorreguladores se obtuvo que con concentraciones de 2 mg L⁻¹ de BAP y 1 mg L⁻¹ Brasinolida y sin la participación del biorregulador AIA se obtuvo la mejor vigorosidad de los explantes desarrollados en este sistema obteniendo una media de 2,90 sobre un máximo de tres; es decir casi todos los explantes desarrollados en este tratamiento fueron viables para el proceso *in vitro* (Tabla 3.80).

Tabla 3.79 Prueba HSD de Tukey para la interacción de los biorreguladores de crecimiento AIA*BAP con respecto a la vigorosidad presentada por los explantes desarrollados de fuente "*in vitro*"

AIA * BAP	N	Subconjuntos
-----------	---	--------------

		Encontrados
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	29	1,66 ^a
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	1,90 ^{a,b}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	2,03 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	29	2,24 ^{a,b}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	2,33 ^{b,c,d}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP	30	2,40 ^{b,c,d}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	2,47 ^{b,c,d}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP	30	2,63 ^{c,d}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP	30	2,70 ^d

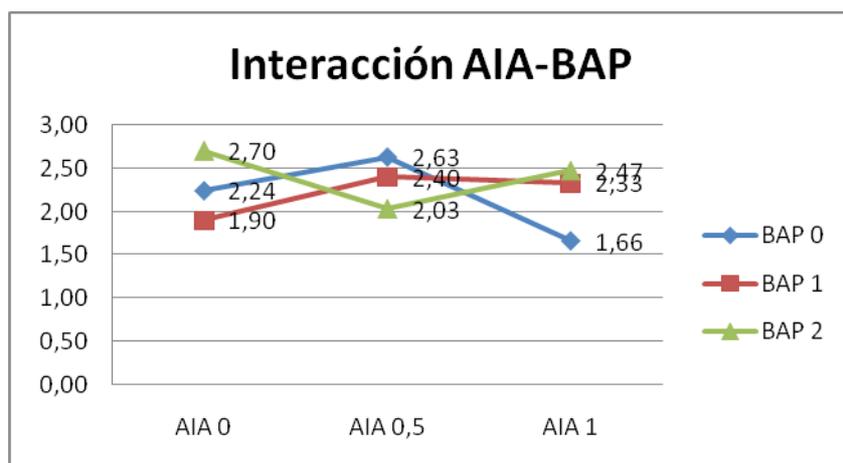


Figura 3.25 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores AIA y BAP con respecto a la vigorosidad presentada por los explantes desarrollados de fuente “*in vitro*”

Tabla 3.80 Prueba HSD de Tukey para la variable vigorosidad obtenida en los tratamientos aplicados “*in vitro*”.

Tratamiento	N	Subconjuntos encontrados
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,20 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	9	1,56 ^{a,b}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,60 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,70 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	1,80 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	1,80 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,90 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	9	2,00 ^{a,b,c}

0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	2,10 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	2,20 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,30 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	2,30 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	2,30 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	2,30 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	2,40 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	2,40 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,40 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,40 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,50 ^{b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,60 ^{b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	2,60 ^{b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,70 ^{b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	2,70 ^{b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	2,80 ^{b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	2,80 ^{b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	2,80 ^{b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	2,90 ^c

3.2.5.2 Vigoridad *ex vitro*.

Siguiendo el parámetro de análisis estadístico establecido, la vigoridad de las plántulas desarrolladas *in vitro* a partir de yemas de campo se evaluó en base a un ADEVA (Tabla 3.81), el cual demostró resultados diferentes a los analizados con anterioridad con los explantes originados de semilla *in vitro*.

Tabla 3.81 ADEVA realizado para evaluar la vigoridad que presentaron las plántulas desarrolladas *in vitro* a partir de yemas introducidas de campo, con respecto a los distintos tratamientos aplicados.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	1343,489	27	49,759	105,309	0,000
AIA	20,791	2	10,395	22,001**	0,000
BAP	1,599	2	0,800	1,693 ^{ns}	0,186
Brasinolida	1,554	2	0,777	1,645 ^{ns}	0,195
AIA * BAP	1,902	4	0,476	1,006 ^{ns}	0,405
AIA * Brasinolida	1,621	4	0,405	0,858 ^{ns}	0,490
BAP * Brasinolida	9,832	4	2,458	5,202**	0,000
AIA * BAP * Brasinolida	4,736	8	0,592	1,253 ^{ns}	0,269

Error	111,511	236	0,473		
Total	1455,000	263			

El ADEVA demostró que el biorregulador AIA y la interacción BAP*Brasinolida presentaron diferencia estadística altamente significativa, es así que en base a pruebas de Tukey se determinó que la no utilización del biorregulador AIA en los medios de cultivo genera una mejor vigorosidad de la especie con una media de 2,59 en la escala de uno a tres (Tabla 3.82); y que al evaluar las interacciones hormonales, la interacción entre los biorreguladores de crecimiento BAP y Brasinolida en concentraciones de 1 mg L⁻¹ cada uno (Tabla 3.83, Figura 3.26) originó la mejor vigorosidad de las plántulas desarrolladas en el sistema de cultivo *in vitro* con un promedio de 2,53.

Tabla 3.82 Prueba HSD de Tukey para el biorregulador AIA con respecto a viabilidad observada en los explantes “*ex vitro*”

AIA (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos Encontrados
1,0	90	1,90 ^a
0,5	86	2,20 ^b
0,0	87	2,59 ^c

Tabla 3.83 Prueba HSD de Tukey para la interacción hormonal BAP*Brasinolida influyente en la viabilidad observada en los explantes “*ex vitro*”

BAP * Brasinolida	N	Subconjunto para alfa = 0,05
2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	29	1,93
0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	1,97
0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	2,03
1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	2,13
1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	29	2,14
0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	2,37
2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	28	2,46
2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	27	2,48
1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	2,53

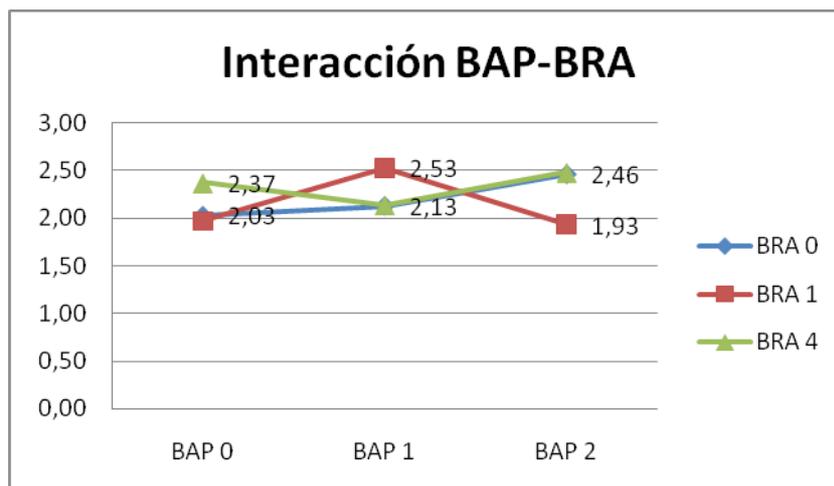


Figura 3.26 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores BAP y Brasinolidas observada en la viabilidad observada en los explantes “*ex vitro*”

3.2.6 Formación de callo

La formación de callo en el medio de cultivo es la última variable evaluada en esta etapa de multiplicación, en este caso se estableció niveles para la desdiferenciación celular ocurrida con la aplicación de los diferentes tratamientos con sus interacciones hormonales.

3.2.6.1 Formación de callo *in vitro*.

La desdiferenciación celular a causa de la combinación hormonal que originó la masa celular conocida como callo se determinó en base a un ADEVA (Tabla 3.84).

Tabla 3.84 ADEVA realizado para evaluar la formación de callo en los explantes sembrados en los diferentes tratamientos “*in vitro*”.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	1014,489	27	37,574	51,012	0,000
AIA	14,100	2	7,050	9,572**	0,000
BAP	177,924	2	88,962	120,780**	0,000
Brasinolida	2,458	2	1,229	1,669 ^{ns}	0,191

AIA * BAP	4,018	4	1,005	1,364 ^{ns}	0,247
AIA * Brasinolida	9,074	4	2,268	3,080*	0,017
BAP * Brasinolida	10,406	4	2,601	3,532**	0,008
AIA * BAP * Brasinolida	7,996	8	0,999	1,357 ^{ns}	0,216
Error	177,511	241	0,737		
Total	1192,000	268			

El ADEVA demuestra los biorreguladores AIA y BAP, y la interacción hormonal BAP*Brasinolida presentaron diferencia estadística altamente significativa; de igual forma la interacción AIA*Brasinolida presentó significancia estadística acorde al 5%; observando que el biorregulador AIA en una concentración de 0,5 mg L⁻¹ en el medio de cultivo obtiene la mayor generación de callo en los explantes, con un promedio de 1,93 en una escala cualitativa de 1 como mínimo y 3 como máximo (Tabla 3.85); con el biorregulador BAP en concentración de 1mg L⁻¹ se obtuvo una respuesta similar; mayor desdiferenciación celular con una media de 2,33 (Tabla 3.86). En cuanto a interacciones hormonales, la compuesta por los reguladores de crecimiento BAP y Brasinolida en concentraciones de 1 mg L⁻¹ de BAP y 4 mg L⁻¹ de Brasinolida se obtuvo la mayor desdiferenciación celular con una media de 2,27 (Tabla 3.87, Figura 3.27).

Tabla 3.85 Prueba DHS de Tukey para el biorregulador AIA con respecto a la formación de callo de plántulas “*in vitro*”.

AIA (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
0,0	89	1,40 ^a
1,0	89	1,81 ^b
0,5	90	1,93 ^b

Tabla 3.86 Prueba DHS de Tukey para el biorregulador BAP en base a la desdiferenciación celular de plántulas “*in vitro*”.

BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
0	88	0,56 ^a
2	90	2,23 ^b

1	90	2,33 ^b
---	----	-------------------

Tabla 3.87 Prueba HSD de Tukey para la interacción hormonal BAP * Brasinolida con respecto a la formación de callo observada en las plántulas desarrolladas provenientes de “*in vitro*”.

BAP * Brasinolida	N	Subconjuntos encontrados
0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	0,23 ^a
0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	29	0,41 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	29	1,03 ^b
2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	2,13 ^c
2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	2,17 ^c
1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	30	2,20 ^c
1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	30	2,27 ^c
2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	2,40 ^c
1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	30	2,53 ^c

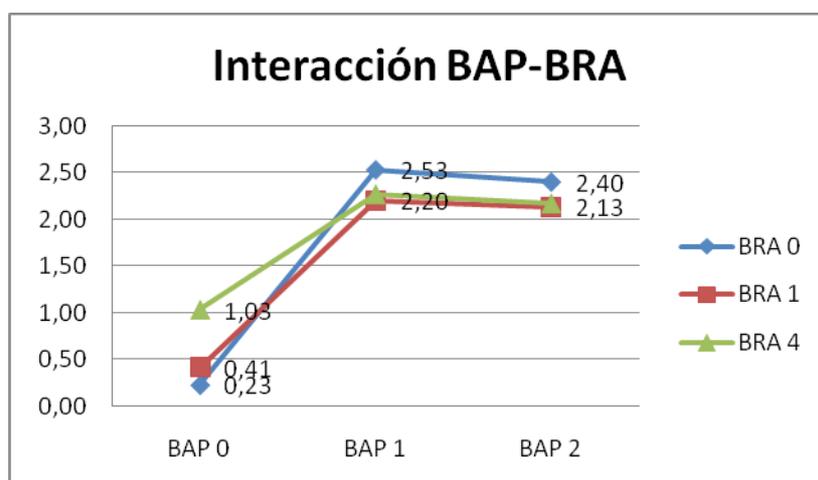


Figura 3.27 Representación gráfica de la interacción hormonal obtenida entre los biorreguladores BAP y Brasinolidas con respecto a la formación de callo observada en las plántulas desarrolladas provenientes de “*in vitro*”.

3.2.6.2 Formación de callo *ex vitro*.

Las plántulas desarrolladas *in vitro* a partir de yemas obtenidas de campo tienen un comportamiento distinto a las plántulas obtenidas de semilla *in vitro* como lo demuestran los resultados obtenidos, es así que en base a un ADEVA (Tabla 3.88) se analizó las fuentes que influyen en la generación de callo en esta especie *Solanum betaceum*.

Tabla 3.88 ADEVA realizado para evaluar la formación de callo en las plántulas obtenidas a partir de los diferentes tratamientos aplicados provenientes de “*ex vitro*”.

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo	210,167	27	7,784	15,203	0,000
AIA	8,630	2	4,315	8,428**	0,000
BAP	42,890	2	21,445	41,885**	0,000
Brasinolida	0,198	2	0,099	0,193 ^{ns}	0,824
AIA * BAP	2,518	4	0,629	1,229 ^{ns}	0,299
AIA * Brasinolida	1,084	4	0,271	0,529 ^{ns}	0,714
BAP * Brasinolida	0,680	4	0,170	0,332 ^{ns}	0,856
AIA * BAP * Brasinolida	17,867	8	2,233	4,362**	0,000
Error	120,833	236	0,512		
Total	331,000	263			

Similar al ensayo “*in vitro*” el ADEVA obtenido demuestra que las variables AIA y BAP y la interacción hormonal AIA*BAP*Brasinolida presentaron valores estadísticos altamente significantes, por tal motivo se analizó por separado los biorreguladores; encontrando que la ausencia del biorregulador AIA y la utilización de una concentración de 2 mg L⁻¹ de BAP generó la mayor proporción de células desdiferenciadas en los medios de cultivo con una media de 1,13 en un rango cualitativo de 1 a 3 (Tabla 3.89).

Tabla 3.89 Prueba DHS de Tukey para los biorreguladores AIA y BAP en base a la producción de células desdiferenciadas en plántulas “*ex vitro*”.

AIA (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
1,0	90	0,54 ^a
0,5	86	0,65 ^a
0,0	87	0,97 ^b
BAP (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
0	90	0,18 ^a
1	89	0,88 ^b
2	84	1,13 ^b

Por último, para analizar en conjunto los tratamientos con sus interacciones hormonales se aplicó una prueba de Tukey para diferenciar subconjuntos entre los tratamientos y se observó que con 2 mg L⁻¹ de BAP, 4 mg L⁻¹ de Brasinolida y ausencia de AIA se obtuvo la mayor formación de callo en los medios de cultivo obteniendo una media de 2,0 sobre un nivel máximo de tres.(Tabla 3.90).

Tabla 3.90 Prueba HSD de Tukey para evaluar los tratamientos acorde a la formación de callo observada en el desarrollo de las plántulas “*ex vitro*”.

Tratamiento	N	Subconjuntos encontrados
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	0,00 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,10 ^{a,b}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	0,40 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	0,40 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,50 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	0,60 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,60 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	0,60 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	0,60 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	10	0,70 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	0,70 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	8	0,75 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	9	0,78 ^{a,b,c}
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	0,90 ^{a,b,c,d}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	9	1,00 ^{a,b,c,d}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,00 ^{a,b,c,d}
1 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,00 ^{a,b,c,d}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	9	1,22 ^{b,c,d}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	10	1,30 ^{b,c,d}

0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,50 ^{c,d}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	1,50 ^{c,d}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	9	1,56 ^{c,d}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	9	2,00 ^d

3.3 Aclimatación

Con los resultados obtenidos en la etapa de multiplicación no fue necesario aplicar una etapa de enraizamiento de los explantes desarrollados *in vitro*, pues la especie en estudio *Solanum betaceum* enraizó con facilidad de manera paralela a la etapa de multiplicación, y por ello se pasó directamente a la aclimatación.

3.3.1 Aclimatación de plantas procedentes de semillas

Una vez obtenido un desarrollo significativo *in vitro* se procedió a la siguiente etapa que es la aclimatación; en esta etapa se analizó los resultados obtenidos a partir del tratamiento del que provienen las plantas, es decir de los distintos reguladores aplicados en la etapa de multiplicación, y que se plantearon en un DCA simple, ya que no todos los tratamientos de la multiplicación fueron aptos para la fase de aclimatación (Tabla 3.91).

Tabla 3.91 Tratamientos de la fase de multiplicación que fueron analizados en la etapa de aclimatación por presentar los mejores resultados

Tratamientos
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA

3.3.1.1 Resultados con el biorregulador AIA

Para analizar los resultados obtenidos con el biorregulador de crecimiento AIA se realizaron varios ADEVAS (Tabla 3.92) para las distintas variables analizadas, obteniendo resultados acorde a la significancia obtenida.

Tabla 3.92 ADEVAS aplicados de las distintas variables analizadas en la etapa de aclimatación con respecto al biorregulador AIA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Altura de la planta (mm)	Inter-grupos	176857,746	2	88428,873	53,233**	0,000
	Intra-grupos	330573,640	199	1661,174		
	Total	507431,386	201			
Grosor del tallo	Inter-grupos	4,946	2	2,473	4,735*	0,010
	Intra-grupos	103,930	199	0,522		
	Total	108,876	201			
Vigorosidad	Inter-grupos	1,719	2	0,860	3,461*	0,033
	Intra-grupos	49,434	199	0,248		
	Total	51,153	201			
Coloración	Inter-grupos	0,226	2	0,113	0,414 ^{ns}	0,662
	Intra-grupos	54,393	199	0,273		
	Total	54,619	201			
Número de hojas	Inter-grupos	48,276	2	24,138	6,256**	0,002
	Intra-grupos	767,843	199	3,859		
	Total	816,119	201			

A excepción de la variable coloración los ADEVAS aplicados presentaron diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos con el uso del biorregulador AIA, observando que la supresión de este biorregulador originó la mayor altura de la plantas aclimatadas de acuerdo a una prueba de Tukey analizada (Tabla 3.93); en las demás variables no se encontraron subconjuntos diferentes aunque la significancia estadística del ADEVA fue alta, por lo cual se determinó diferencias en base al análisis de los estadísticos descriptivos para los factores número de hojas y grosor del tallo en donde la supresión de este biorregulador AIA obtuvo mejor desarrollo de las plantas en campo. (Tabla 3.94), y se observó la mejor vigorosidad con la concentración de 1 mg L⁻¹ (Tabla 3.95)

Tabla 3.93 Prueba HSD de Tukey para la variable altura en las plantas obtenidas a partir de semilla desarrollada *in vitro*

AIA (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
1,0	16	74,75 ^a
0,5	107	79,33 ^a
0,0	79	139,32 ^b

Tabla 3.94 Estadísticos descriptivos para el grosor del tallo y número de hojas con respecto al biorregulador AIA en la aclimatación de plantas *in vitro*.

Grosor del tallo		N	Media
AIA (mg L ⁻¹)	0,0	79	2,20
	0,5	107	1,88
	1,0	16	2,13
	Total	202	2,02
Número de hojas		N	Media
AIA (mg L ⁻¹)	0,0	79	6,70
	0,5	107	5,68
	1,0	16	6,44
	Total	202	6,14

Tabla 3.95 Estadísticos descriptivos para determinar la vigorosidad obtenida en base al uso del biorregulador AIA en plantas provenientes de semilla desarrollada *in vitro*.

Vigorosidad		N	Media
AIA (mg L ⁻¹)	0,0	79	2,72
	0,5	107	2,54
	1,0	16	2,75
	Total	202	2,63

3.3.1.2 Resultados con el biorregulador BAP

Para el análisis del biorregulador de crecimiento BAP se aplicó un ADEVA (Tabla 3.96) para cada variable analizada, obteniendo dos variables con significancia estadística que presentan relación con el uso del biorregulador BAP.

Tabla 3.96 Resumen de ADEVAS aplicados de distintas variables analizadas con respecto al biorregulador BAP en las plantas procedentes de semilla *in vitro*.

		Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Altura de la planta (mm)	Inter-grupos	3583,246	2	1791,623	0,708 ^{ns}	0,494
	Intra-grupos	503848,140	199	2531,900		
	Total	507431,386	201			
Grosor del tallo	Inter-grupos	1,249	2	0,625	1,155 ^{ns}	0,317
	Intra-grupos	107,627	199	0,541		
	Total	108,876	201			
Vigorosidad	Inter-grupos	3,240	2	1,620	6,728**	0,001
	Intra-grupos	47,914	199	0,241		
	Total	51,153	201			
Coloración	Inter-grupos	,176	2	0,088	0,321 ^{ns}	0,726
	Intra-grupos	54,443	199	0,274		
	Total	54,619	201			
Número de hojas	Inter-grupos	50,186	2	25,093	6,520**	0,002
	Intra-grupos	765,933	199	3,849		
	Total	816,119	201			

Las variables vigorosidad y número de hojas obtuvieron excelentes resultados al emplear este biorregulador en una concentración de 2 mg L⁻¹ de BAP aplicada en los medios de multiplicación, resultados evidenciados en base a pruebas de Tukey (Tabla 3.97).

Tabla 3.97 Prueba HSD de Tukey para el biorregulador BAP con respecto a las variables vigorosidad y número de hojas observadas en la aclimatación en plantas *in vitro*.

BAP (mg L ⁻¹)		N	Subconjuntos encontrados
Vigorosidad	0	24	2,33 ^a
	1	96	2,60 ^b
	2	82	2,74 ^b
BAP (mg L ⁻¹)		N	Subconjuntos encontrados

Numero	0	24	5,17 ^a
De	1	96	5,93 ^{a,b}
Hojas	2	82	6,67 ^b

3.3.1.3 Resultados con el biorregulador Brasinolida

El nuevo biorregulador introducido al sistema de cultivo *in vitro* en esta especie, demostró en base a varios ADEVAS la influencia que tuvo su aplicación a este sistema (Tabla 3.98), pues es en esta etapa es donde se observa si el biorregulador influyó en las diferentes variables analizadas en la investigación.

Tabla 3.98 ADEVAS realizados para las variables evaluadas con respecto al biorregulador Brasinolida en la etapa de aclimatación de plantas *in vitro*.

		Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Altura de la planta (mm)	Inter-grupos	28631,853	2	14315,927	5,950**	0,003
	Intra-grupos	478799,533	199	2406,028		
	Total	507431,386	201			
Grosor del tallo	Inter-grupos	2,594	2	1,297	2,428 ^{ns}	0,091
	Intra-grupos	106,282	199	0,534		
	Total	108,876	201			
Vigorosidad	Inter-grupos	0,642	2	0,321	1,264 ^{ns}	0,285
	Intra-grupos	50,512	199	0,254		
	Total	51,153	201			
Coloración	Inter-grupos	1,374	2	0,687	2,567 ^{ns}	0,079
	Intra-grupos	53,245	199	0,268		
	Total	54,619	201			
Número de hojas	Inter-grupos	4,290	2	2,145	0,526 ^{ns}	0,592
	Intra-grupos	811,829	199	4,080		
	Total	816,119	201			

El resumen de ADEVAS aplicados demuestra que la variable altura de la planta presenta diferencia altamente significativa, obteniendo que a una concentración de 4 mg L⁻¹ de Brasinolida en el medio de cultivo presentó el mayor crecimiento longitudinal de la especie con una media de 116,92 milímetros (Tabla 3.99).

Tabla 3.99 Prueba HSD de Tukey para la variable altura de la planta con respecto al biorregulador Brasinolida en la etapa de aclimatación de plantas *in vitro*.

Brasinolida (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos encontrados
0	69	87,43 ^a
1	72	104,51 ^{a,b}
4	61	116,92 ^b

3.3.1.4 Resultados al analizar en conjunto los tratamientos.

El análisis de los tratamientos del DCA se lo realizó de igual manera en base a varios ADEVAS (Tabla 3.100), de donde se observó diferencia estadística altamente significativa con las variables altura de la planta, vigorosidad y número de hojas.

Tabla 3.100 ADEVAS realizados para las variables evaluadas con respecto a los tratamientos analizados en conjunto en la etapa de aclimatación de plantas denominadas *in vitro*.

		Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	F	Sig.
Altura de la planta (mm)	Inter-grupos	220048,198	15	14669,880	9,495**	0,000
	Intra-grupos	287383,188	186	1545,071		
	Total	507431,386	201			
Grosor del tallo	Inter-grupos	13,122	15	0,875	1,699 ^{ns}	0,054
	Intra-grupos	95,754	186	0,515		
	Total	108,876	201			
Vigorosidad	Inter-grupos	6,894	15	0,460	1,931*	0,023
	Intra-grupos	44,260	186	0,238		
	Total	51,153	201			
Coloración	Inter-grupos	4,078	15	0,272	1,000 ^{ns}	0,457
	Intra-grupos	50,541	186	0,272		
	Total	54,619	201			
Número de hojas	Inter-grupos	111,592	15	7,439	1,964*	0,020
	Intra-grupos	704,526	186	3,788		
	Total	816,119	201			

De los tratamientos aplicados se observó que la menor altura se obtuvo con la interacción de los tres biorreguladores en concentraciones de 0,5 mg L⁻¹ de AIA, 2 mg L⁻¹ de BAP y 4 mg L⁻¹ de Brasinolidas (Tabla 3.101), y que la mayor altura en esta etapa de aclimatación se obtuvo con la interacción hormonal de BAP y Brasinolidas en concentraciones de 1 mg L⁻¹ cada uno y ausencia del biorregulador AIA obteniendo una media en el tratamiento de 171,50 milímetros.

Tabla 3.101 Prueba HSD de Tukey para la variable altura de la planta acorde al tratamiento expresado en la etapa de aclimatación de plantas *in vitro*.

Tratamiento	N	Subconjuntos encontrados
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	7	66,43 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	15	67,87 ^a

0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	21	70,33 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	4	72,25 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	8	73,50 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	13	75,54 ^a
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	12	75,58 ^{a,b}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	6	82,00 ^{a,b}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	19	88,79 ^{a,b}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	8	97,13 ^{a,b,c}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	100,20 ^{a,b,c}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	23	112,48 ^{a,b,c,d}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	16	141,56 ^{b,c,d}
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	13	142,62 ^{b,c,d}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	19	154,11 ^{c,d}
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	8	171,50 ^d

Según la prueba de Tukey, para la variable vigorosidad se encontró un solo grupo estadístico, a pesar de que el ADEVA indica que existe diferencia entre tratamientos, por esta razón se analizó los estadísticos descriptivos, y se encontró que la mayor vigorosidad (2,88 en un nivel de 1 a 3) correspondió al tratamiento compuesto por 0 mg L⁻¹ AIA, 2 mg L⁻¹ BAP y 4 mg L⁻¹ BRA (Tabla 3.102)

Tabla 3.102 Estadísticos descriptivos obtenidos para la vigorosidad de las plántulas aclimatadas a partir del desarrollo de semillas *in vitro* en los diferentes tratamientos aplicados.

Vigorosidad	N	Media	Desviación típica	Error típico
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	8	2,50	0,535	0,189
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	19	2,63	0,496	0,114
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	13	2,69	0,480	0,133
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	23	2,78	0,422	0,088
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	16	2,88	0,342	0,085
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	8	2,13	0,641	0,227
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	2,30	0,675	0,213
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	6	2,67	0,516	0,211
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	21	2,76	0,436	0,095
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	19	2,37	0,496	0,114
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	13	2,54	0,519	0,144

0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	15	2,67	0,488	0,126
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	8	2,63	0,518	0,183
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	7	2,71	0,488	0,184
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	12	2,75	0,452	0,131
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	4	2,75	0,500	0,250
Total	202	2,63	0,504	0,035

La última variable que presentó dependencia estadística por poseer un valor altamente significativo fue el número de hojas obtenido en el desarrollo de las plantas aclimatadas; la prueba de Tukey presentó solo un subgrupo por lo cual se aplicó estadísticos descriptivos para observar diferencias entre tratamientos, en donde se demostró que el tratamiento compuesto por 1 mg L⁻¹ de AIA, 1 mg L⁻¹ de BAP y 1 mg L⁻¹ de Brasinolida presentó la mayor cantidad de hojas en las plantas analizadas con una media de 7,25 hojas axilares o apicales en cada planta (Tabla 3.105).

Tabla 3.103 Estadísticos descriptivos para la variable número de hojas a partir de los tratamientos aplicados en la etapa de aclimatación en plantas denominadas *in vitro*.

Número de hojas	N	Media	Desviación Típica	Error Típico
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	8	7,00	1,309	0,463
0 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	19	6,53	1,467	0,337
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	13	7,23	1,536	0,426
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	23	6,30	1,869	0,390
0 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	16	6,88	1,147	0,287
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	8	5,63	2,669	0,944
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	10	4,30	1,418	0,448
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	6	6,00	1,789	0,730
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	21	5,29	1,454	0,317
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	19	5,42	2,244	0,515
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	13	5,54	1,941	0,538
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	15	6,53	2,875	0,742
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	8	6,88	2,997	1,060
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 2 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	7	6,43	2,070	0,782

1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	12	6,17	2,209	0,638
1 mg L ⁻¹ AIA + 1 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	4	7,25	1,708	0,854
Total	202	6,14	2,015	0,142

3.3.2 Aclimatación de plantas introducidas de campo

De igual manera se procedió con la aclimatación de las plantas obtenidas en el sistema de cultivo *in vitro* pero que procedían de yemas introducidas de campo, las cuales se las ha identificado dentro de esta investigación como plantas “*ex vitro*”; con las cuales se obtuvieron distintos resultados presentados a continuación. Los tratamientos que llegaron a esta etapa fueron pocos, por lo cual solo se pudo evaluar los tratamientos compuestos por los biorreguladores AIA y Brasinolida, pues los tratamientos compuestos por el biorregulador BAP no desarrollaron explantes que lleguen hasta esta etapa.

3.3.2.1 Resultados con el biorregulador AIA

El biorregulador AIA en esta etapa de aclimatación se analizó en base a ADEVAS en lo cual se presentó influencia solo en una variable de las cuatro variables analizadas, la variable altura de la planta presentó resultados estadísticos altamente significantes como se detalla en la tabla 3.104, obteniendo significancia estadística con un valor de 0,006. En base a una prueba de Tukey para diferenciar subconjuntos se encontró solo un subconjunto; por lo cual se estableció una tabla de estadísticos descriptivos (Tabla 3.105) en donde se obtuvo que los tratamientos que tenían una concentración de 0,5 mg L⁻¹ de AIA presentaron el mayor crecimiento de la planta con una media de 96,94 milímetros.

Tabla 3.104 Resumen de los resultados de los ADEVAS de las variables evaluadas con respecto al biorregulador AIA en la etapa de aclimatación a partir de plantas “*ex vitro*”.

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Altura de la planta (mm)	Inter-grupos	9568,056	1	9568,056	9,278**	0,006
	Intra-grupos	22687,778	22	1031,263		
	Total	32255,833	23			

Grosor del tallo	Inter-grupos	0,222	1	0,222	1,571 ^{ns}	0,223
	Intra-grupos	3,111	22	0,141		
	Total	3,333	23			
Vigorosidad	Inter-grupos	0,500	1	0,500	1,500 ^{ns}	0,234
	Intra-grupos	7,333	22	0,333		
	Total	7,833	23			
Coloración	Inter-grupos	1,125	1	1,125	3,160 ^{ns}	0,089
	Intra-grupos	7,833	22	0,356		
	Total	8,958	23			

3.105 Estadísticos descriptivos para la variable altura de la planta en la etapa de aclimatación a partir de plantas provenientes de yemas introducidas al sistema de cultivo “*in vitro*”.

Altura de la planta (mm)	N	Media
0,0	6	50,83
0,5	18	96,94
Total	24	85,42

3.3.2.2 Resultados con el biorregulador Brasinolida

Para el análisis de la influencia del biorregulador Brasinolida en esta etapa de aclimatación se procedió al igual que en apartados anteriores a evaluar las distintas variables en base a ADEVAS, de lo cual se notó que la variable altura de la planta presentó un valor estadístico altamente significativo al 5%; lo que demuestra que depende de este biorregulador para sus resultados (Tabla 3.106); analizando por separado esta variable en base a una prueba de Tukey se diferenció subgrupos encontrando que los tratamientos compuestos por 4mg L⁻¹ de Brasinolida presentaron la mayor elongación de las plantas aclimatadas con una media promedio de 128,60 milímetros (Tabla 3.107).

Tabla 3.106 ADEVAS realizados para las variables analizadas en base al biorregulador Brasinolida en la etapa de aclimatación de plantas *ex vitro*.

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Altura de la planta (mm)	Inter-grupos	14755,205	2	7377,602	8,853**	0,002
	Intra-grupos	17500,629	21	833,363		
	Total	32255,833	23			
Grosor del tallo	Inter-grupos	0,476	2	0,238	1,750 ^{ns}	0,198

Vigorosidad	Intra-grupos	2,857	21	0,136	1,776 ^{ns}	0,194
	Total	3,333	23			
	Inter-grupos	1,133	2	0,567		
Coloración	Intra-grupos	6,700	21	0,319	0,931 ^{ns}	0,410
	Total	7,833	23			
	Inter-grupos	0,730	2	0,365		
	Intra-grupos	8,229	21	0,392		
	Total	8,958	23			

3.107 Prueba HSD de Tukey para el biorregulador Brasinolida con respecto a la variable altura de la planta en la etapa de aclimatación “*ex vitro*”.

Brasinolida (mg L ⁻¹)	N	Subconjuntos Encontrados
1	14	66,57 ^a
0	5	95,00 ^{a,b}
4	5	128,60 ^b

3.3.2.2 Resultados del análisis en conjunto de los tratamientos observados en la etapa de aclimatación.

Los resultados observados del análisis en conjunto de las interacciones hormonales de los tres biorreguladores en esta etapa de aclimatación se lo hizo en base a un ADEVA por cada variable analizada, lo cual presentó como resultados que la variable altura de planta expuesta en los apartados anteriores presenta un valor estadístico altamente significativo al 5%, lo cual la hace dependiente del tratamiento que se aplique (Tabla 3.108); para lo cual se necesitó diferenciar los mejores tratamientos en base a una prueba de Tukey, la cual obtuvo dos subconjuntos evidenciando que el tratamiento compuesto por 0,5 mg L⁻¹ de AIA y 4 mg L⁻¹ de brasinolida en ausencia del biorregulador BAP presentó la mayor elongación de las plantas con una media de crecimiento de 128,60 milímetros (Tabla 3.109).

Tabla 3.108 Resumen de ADEVAS de las variables analizadas con respecto a la interacción de los biorreguladores en la etapa de aclimatación a partir de explantes “*ex vitro*”.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Altura de la planta (mm)	Inter-grupos	17355,925	3	5785,308	7,766**	0,001
	Intra-grupos	14899,908	20	744,995		

Grosor del tallo	Total	32255,833	23			
	Inter-grupos	0,500	3	0,167	1,176 ^{ns}	0,344
	Intra-grupos	2,833	20	0,142		
Vigorosidad	Total	3,333	23			
	Inter-grupos	1,425	3	0,475	1,482 ^{ns}	0,250
	Intra-grupos	6,408	20	0,320		
Coloración	Total	7,833	23			
	Inter-grupos	1,325	3	0,442	1,157 ^{ns}	0,351
	Intra-grupos	7,633	20	0,382		
	Total	8,958	23			

Tabla 3.109 Prueba HSD de Tukey para la variable altura de la planta con respecto al análisis en conjunto de los tratamientos en sus interacciones hormonales en la etapa de aclimatación

Tratamiento	N	Subconjuntos encontrados
0 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	6	50,83 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 1 mg L ⁻¹ BRA	8	78,38 ^a
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 0 mg L ⁻¹ BRA	5	95,00 ^{a,b}
0,5 mg L ⁻¹ AIA + 0 mg L ⁻¹ BAP + 4 mg L ⁻¹ BRA	5	128,60 ^b