



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS
NATURALES Y DEL AMBIENTE
CARRERA DE AGRONOMÍA

TEMA:

EVALUACIÓN DE EXPLANTES DE TRES VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L.) MEDIANTE PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO DOS CITOQUININAS EN TRES DOSIS, EN LAGUACOTO II, CANTÓN GUARANDA, PROVINCIA BOLÍVAR.

Proyecto de investigación previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Agronomía

AUTORA:

YOMARY ELIZABETH JIMÉNEZ JIMÉNEZ

DIRECTORA:

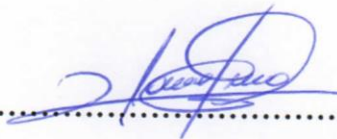
ING. SONIA FIERRO BORJA Mg.

GUARANDA - ECUADOR

2023

“EVALUACIÓN DE EXPLANTES DE TRES VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L) MEDIANTE PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO DOS CITOQUININAS EN TRES DOSIS, EN LAGUACOTO II, CANTÓN GUARANDA, PROVINCIA BOLÍVAR.”

REVISADO Y APROBADO POR:



.....
ING. SONIA DEL CARMEN FIERRO BORJA Mg.
DIRECTORA



.....
ING. DAVID RODRIGO SILVA GARCÍA Mg.
BIOMETRISTA



.....
ING. NELSON MONAR GAVILANEZ MSc.
REDACCIÓN TÉCNICA

CERTIFICACIÓN DE LA AUTORÍA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Yo, Jiménez Jiménez Yomary Elizabeth, con CI: 1105931834 declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor (es).

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer de los derechos de publicación correspondiente a este trabajo, según lo establecido por Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.

.....
YOMARY ELIZABETH JIMÉNEZ

CI: 1105931834

AUTORA

.....
ING. SONIA FIERRO BORJA Mg

CI: 0201084712

DIRECTORA

.....
ING. DAVID SILVA GARCÍA Mg.

CI: 0201600327

BIOMETRISTA

.....
ING. NELSON MONAR GAVILANEZ MSc.

CI: 0201089836

REDACCIÓN TÉCNICA





NOTARIA PÚBLICA PRIMERA DEL CANTÓN GUARANDA



REPÚBLICA DEL ECUADOR

Dr. Guido Fabián Fierro Barragán

DECLARACION JURADA

Señorita YOMARY ELIZABETH JIMENEZ JIMENEZ

En la ciudad de Guaranda, Capital de la Provincia de Bolívar, República del Ecuador, hoy día, LUNES, VEINTE Y SIETE DE FEBRERO DEL DOS MIL VEINTE Y TRES, ante mí Doctor GUIDO FABIAN FIERRO BARRAGAN, NOTARIO PÚBLICO PRIMERO DEL CANTÓN GUARANDA, comparece: La señorita YOMARY ELIZABETH JIMENEZ JIMENEZ, de estado civil soltera, por sus propios derechos. La compareciente es de nacionalidad ecuatoriana, mayor de edad, capaz de contraer obligaciones, domiciliada en esta ciudad de Guaranda, provincia de Bolívar, con número de teléfono celular (0991470899), a quien de conocer doy fe en virtud de haberme exhibido su cédula de ciudadanía y papeleta de votación cuya copias adjunto a esta escritura.- Advertida por mí el Notario de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinada de que comparece al otorgamiento de la misma sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción, juramentada en debida forma, prevenida de la gravedad del juramento, de las penas de perjurio y de la obligación que tiene de decir la verdad con claridad y exactitud, bajo juramento declara lo siguiente: "Previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, de la carrera de Agronomía de la Universidad Estatal de Bolívar, manifiesto que los criterios e ideas emitidas en el presente trabajo de proyecto de investigación titulado **"EVALUACIÓN DE EXPLANTES DE TRES VARIETADES DE CAÑA DE AZÚCAR (Saccharum officinarum L.) MEDIANTE PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO DOS CITOQUININAS EN TRES DOSIS, EN LAGUACOTO II, CANTÓN GUARANDA, PROVINCIA BOLLÍVAR."**, es de mi exclusiva responsabilidad en calidad de autor". Para el otorgamiento de esta escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso. Leída que le fue a la compareciente íntegramente por mí el Notario, se ratifica en todo su contenido y firma conmigo en unidad de acto, e incorporo esta escritura pública al protocolo de instrumentos públicos, a mi cargo. De todo lo cual doy fe.-

Señorita YOMARY ELIZABETH JIMENEZ JIMENEZ
C.C. 110593183-4
DECLARANTE



Doctor Guido Fabián Fierro Barragán
NOTARIO PÚBLICO PRIMERO DEL CANTÓN GUARANDA
Resp. G.C.



Dir. 10 de Agosto s/n y Eloy Alfaro
Teléf: Of.2-985-202.Cel.0985100358
GUARANDA-PROVINCIA-BOLÍVAR
ECUADOR

ORKUND

Documento [PROYECTO DE INVESTIGACION YOMARY JIMENEZ.docx \(D157598442\)](#)

Presentado 2023-02-01 16:17 (-05:00)

Presentado por yomary45jnz@gmail.com

Recibido nmonar.ueb@analysis.orkund.com

Mensaje Ing. buena tarde le adjunto mi proyecto para que me ayude con el plagio [Mostrar el mensaje completo](#)

6% de estas 46 páginas, se componen de texto presente en 6 fuentes.

Lista de fuentes Bloques

<input type="checkbox"/>	UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR / D146494872	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR / D146498150	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR / D135047565	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI / D143271666	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	http://www.aerostudents.com/courses/vibrations/solutions.pdf	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR / D82460175	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	UNIVERSIDAD ESTATAL DEL SUR DE MANABI / D14377051	<input type="checkbox"/>

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE CARRERA

DE AGRONOMIA

TEMA: EVALUACIÓN DE EXPLANTES


DE TRES VARIETADES DE CAÑA DE AZÚCAR (Saccharum officinarum L.) MEDIANTE PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO DOS CITOQUININAS EN TRES DOSIS, EN LAGUACOTO II, CANTÓN GUARANDA, PROVINCIA BOLIVAR.

Proyecto de investigación previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera


de Agronomía

AUTORA:

YOMARY ELIZABETH JIMENEZ JIMENEZ



ING. SONIA FIERRO BORIA Mg.
DIRECTORA



ING. NELSON MONAR GAVILANEZ M.SC
AREA REDACCIÓN TÉCNICA

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primeramente a Dios y a mi Churonita Reina del Cisne, por haberme bendecido durante todo este trayecto de mis estudios, dándome la inteligencia y la valentía de enfrentar los obstáculos que se me presentaron durante el transcurso de mi formación profesional, y de esta manera culminar con esta meta importante en mi vida. A mis padres, Luis Valentín Jiménez Reinoso y Rosita Carmen Jiménez Jiménez por su amor, gratitud, humildad, paciencia y esfuerzo. Ustedes han sido el impulso, mi lucha y deseo de superación profesional. A mis hermanos: Fanny, Luisa, Katherine y Luis por facilitarme todo su apoyo durante este proceso a través de oraciones, consejos y palabras de aliento.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi gratitud a Dios, y la virgen del Cisne quienes con su bendición permitieron que culminara con mi proyecto de investigación y a toda mi familia por estar siempre presentes.

Mi profundo agradecimiento a la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, carrera de Agronomía, sus autoridades y cuerpo docente quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional.

Un especial agradecimiento a la Ing. Sonia Fierro Borja Mg, Ing. David Silva García Mg e Ing. Nelson Monar Gavilánez MSc, Miembros del Tribunal por su apoyo incondicional en este proyecto de investigación.

Finalmente quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento al Ing. Víctor Cortez Sandoval, principal colaborador durante todo este proceso, quien con su conocimiento, enseñanza y colaboración facilitó el desarrollo de este trabajo de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO GENERAL

PÁG

CAPÍTULO I.....	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 PROBLEMA.....	3
CAPÍTULO II.....	4
2.1 MARCO TEÓRICO	4
2.1.1 La caña de azúcar	4
2.1.2 Origen	4
2.1.3 Clasificación botánica.....	5
2.1.4 Morfología	5
2.1.5 Variedades	6
2.1.6 Requerimientos edafoclimáticos	9
2.1.7 Requerimientos edáficos.....	10
2.1.8 Propagación de la caña de azúcar.....	10
2.1.9 Plagas y enfermedades.....	11
2.1.10 Plagas	11
2.1.11 Enfermedades	13
2.1.12 La Biotecnología	15
2.1.13 Biotecnología roja	15
2.1.14 Biotecnología blanca.....	15
2.1.15 Biotecnología verde	16
2.1.16 Biotecnología azul.....	16
2.1.17 La Biotecnología agrícola.....	16
2.1.18 Medios de cultivo para la propagación in vitro.....	16
2.1.19 Sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962) en (mg/l).....	17
2.1.20 Micronutrientes en mg/l.....	17

2.1.21 Vitaminas en mg/l	18
2.1.22 Gelificante en g/l	18
2.1.23 Elaboración de soluciones madre del medio de cultivo Murashige Skoog.....	18
2.1.24 Fitorreguladores	19
2.1.25 Citoquininas.....	19
2.1.26 Kinetina.....	19
2.1.27 Bencil Amino Purina (BAP).....	20
CAPÍTULO III	21
3.1 MARCO METODOLÓGICO.....	21
3.1.1 Materiales	21
3.1.2 Localización de la investigación	21
3.1.3 Situación geográfica y climática	21
3.1.4 Zona de vida	21
3.1.5 Material experimental	21
3.1.6 Materiales de campo	21
3.1.7 Material de laboratorio.....	22
3.1.8 Materiales de oficina	23
3.2 Métodos.....	23
3.2.1 Factores en estudio.....	23
3.2.2 Factor A: Variedades de caña de azúcar con tres tipos.....	23
3.2.3 Factor B: Citoquininas con dos tipos	23
3.2.4 Factor C: Tres dosis de reguladores de crecimiento u hormonas.....	23
3.3 Tratamientos	24
3.4 Tipo de diseño experimental	24
3.5 Procedimiento	24

3.6 Tipo de análisis	25
3.7 Métodos de evaluación y datos tomados.....	25
3.7.1 Número de explantes contaminados (NEC)	25
3.7.2 Días a la brotación (DB)	25
3.7.3 Número de brotes por explante (NBE)	26
3.7.4 Longitud de los brotes (LB)	26
3.7.5 Número de hojas por brote (NHB).....	26
3.7.6 Días a la emisión de raíces (DER)	26
3.7.7 Número de raíces (NR)	26
3.7.8 Longitud de raíz (LR)	26
3.8 Manejo del experimento.....	27
3.8.1 Selección de la planta	27
3.8.2 Selección del medio a utilizar.....	27
3.8.3 Preparación del medio de cultivo	27
3.8.4 Desinfección del material experimental	27
3.8.5 Introducción del material in vitro.....	28
CAPÍTULO IV.....	29
4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1.1 Variables agronómicas (Factor A: Variedades de caña de azúcar).....	29
4.1.2 Factor B (Tipos de Citoquininas).....	39
4.1.3 Factor C (Dosis de Citoquininas).....	49
4.2 Análisis de correlación y regresión lineal	59
4.2.1 Coeficiente de correlación(r).....	59
4.2.2 Coeficiente de regresión (b)	60
4.2.3 Coeficiente de Determinación (R ²)	60
4.5 Comprobación de hipótesis.....	62

CAPITULO V	63
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
5.1 Conclusiones	63
5.2 Recomendaciones	65
BIBLIOGRAFÍA	66
ANEXOS.....	

IÍDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁG.
Nº 1.	Resultados Promedios y de la prueba de Tukey al 5% para variedades de caña de azúcar en las variables: Número de explantes contaminados (NEC) (15, 45 y 60 días), Días a la brotación (DB), Número de brotes por explante (NBE) (30, 45 y 60 días), Longitud de los brotes (LB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Número de hojas por brote (NHB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Días a la emisión de raíces (DER), Número de raíces (NR) (60, 75 y 90 días), Longitud de raíz (LR) (60, 75 y 90 días). (Laguacoto II, 2022)	29
Nº 2.	Resultados del análisis de Efecto Principal (EP) para comparar los promedios del Factor B (Tipos de citoquininas) en las variables: Número de explantes contaminados (NEC) (15, 45 y 60 días), Días a la brotación (DB), Número de brotes por explante (NBE) (30, 45 y 60 días), Longitud de los brotes (LB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Número de hojas por brote (NHB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Días a la emisión de raíces (DER), Número de raíces (NR) (60, 75 y 90 días) y Longitud de la raíz (LR) (60, 75 y 90 días). (Laguacoto II, 2022)	39
Nº 3.	Resultados de la prueba de Tukey al 5% para comparar los promedios del Factor C (Dosis de citoquininas) en las variables: Número de explantes contaminados (NEC) (15, 45 y 60 días), Días a la brotación (DB), Número de brotes por explante (NBE) (30, 45 y 60 días), Longitud de los brotes (LB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Número de hojas por brote (NHB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Días a la emisión de raíces (DER), Número de raíces (NR) (60, 75 y 90 días) y	49

Longitud de la raíz (LR) (60, 75 y 90 días). (Laguacoto II, 2022)

- Nº 4. Análisis de correlación y regresión lineal de las variables independientes que presentaron diferencias estadísticas significativas con la variable dependiente Longitud del Brote (cm) a los 90 días. 59

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO		PÁG.
Nº 1	Promedios del factor A de la variable número de explantes contaminados.	31
Nº 2	Promedio del factor A de la variable días a la brotación	32
Nº 3	Promedio del factor A de la variable número de brotes por explante.	33
Nº 4	Promedio del factor A de la variable longitud del brote (cm)	34
Nº 5	Promedio del factor A de la variable número de hojas por brote	35
Nº 6	Promedio del factor A de la variable días a la emisión de raíces	36
Nº 7	Promedio del factor A de la variable número de raíces.	37
Nº 8	Promedio del factor A de la variable longitud de la raíz (cm)	38
Nº 9	Promedio del factor B de la variable número de explantes contaminados.	41
Nº 10	Promedio del factor B de la variable días a la brotación	42
Nº 11	Promedio del factor B de la variable número de brotes por explante (NBE)	43
Nº 12	Promedio del factor B de la variable longitud de los brotes (cm)	44
Nº 13	Promedio del factor B de la variable número de hojas por brote.	45
Nº 14	Promedio del factor B de la variable días a la emisión de raíz.	46
Nº 15	Promedio del factor B de la variable número de raíces.	47
Nº 16	Promedio del factor B de la variable longitud de raíz (LR)	48

N° 17	Promedio del factor C de la variable número de explantes contaminados.	51
N° 18	Promedio del factor C de la variable días a la brotación.	52
N° 19	Promedio del factor C de la variable número de brotes por explante	53
N° 20	Promedio del factor C de la variable Longitud del brote	54
N° 21	Promedio del factor C de la variable número de hojas por brote	55
N° 22	Promedio del factor B de la variable días a la emisión de raíces	56
N° 23	Promedio del factor C de la variable número de raíces	57
N° 24	Promedio del factor C de la variable longitud de la raíz	58
N° 25	Regresión lineal longitud del brote a los 75 días versus la longitud del brote a los 90 días	61
N° 26	Regresión lineal número de hojas por brote a los 90 días versus la longitud del brote a los 90 días.	61

ÍNDICE DE ANEXOS

- No 1 Ubicación de la investigación
- No. 2 Base de datos
- No. 3 Fotografías
- No. 4 Glosario de términos técnicos.

.
. .
.

RESUMEN Y SUMMARY

Resumen

La propagación in vitro de caña de azúcar, es una técnica que permite producir plántulas a gran escala en condiciones asépticas y controladas. Es un cultivo relevante en variados sistemas de producción de los trópicos. Brasil, India, China y México, cultivan casi el 75% de la producción mundial. En Ecuador contribuye con el 1,4% al PIB y genera más de 100000 empleos. La provincia Bolívar, tiene zonas agroecológicas aptas para este cultivo y la cosecha se destina para la elaboración de alcohol, panela, miel y melaza. Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología, Campus Lagucoto. Uno de los factores críticos es la producción de plántulas con limitada calidad sanitaria, varietal y fisiológica, para lo cual se planteó validar la multiplicación in vitro de tres variedades de caña con dos tipos de citoquininas y en tres dosis. Se aplicó el Diseño Completamente Aleatorizado con 18 tratamientos y cuatro repeticiones. Los factores principales fueron tres variedades de caña (EC- 07; C 1051 - 73 Cuba y EC - 03), dos tipos de citoquininas (Kinetina y Bencil Amino Purina) con tres dosis (2, 4 y 6 mg/l). Se evaluaron los principales componentes agronómicos de los explantes a través del tiempo (30, 45, 60, 75 y 90 días). Se realizaron análisis de varianza, prueba de Tukey al 5%, correlación y regresión lineal. No se detectaron diferencias estadísticas significativas para la mayoría de variables evaluadas como efecto de los tratamientos, quizá porque existió una alta variabilidad de los datos expresados a través del coeficiente de variación, Sin embargo, numéricamente las más precoces a la brotación fueron EC - 03 y EC- 07. Las tres variedades bajo el efecto de dos tipos de citoquininas y tres dosis en promedio general registraron un brote, una hoja y una raíz por explante hasta los 90 días. Numéricamente las variedades EC - 03 y EC- 07 tuvieron brotes más largos, pero la variedad C - 1051 - 73 Cuba, registró mayor longitud de las raíces. Finalmente, este estudio validó la factibilidad de producir plántulas de calidad in vitro y en menor tiempo con las variedades EC- 03 y EC- 07 con la hormona Kinetina en dosis de entre 2 y 4 mg/l, lo que podría contribuir a reducir costos y por ende mayor productividad para el pequeño, mediano y la gran agroindustria de la cadena de Valor de la Caña de azúcar.

Palabras clave: Ambiente controlado, caña de azúcar, citoquininas, cultivo in vitro, meristemos, organogénesis, vitroplantas.

Summary

The in vitro propagation of sugarcane is a technique that allows to produce seedlings on a large scale in aseptic and controlled conditions. It is a relevant crop in various production systems of the tropics. Brazil, India, China and Mexico grow almost 75% of the world's production. In Ecuador it contributes 1.4% to PIB and generates more than 100,000 jobs. The province of Bolívar has agroecological zones suitable for this crop and the harvest is destined for the elaboration of alcohol, panela, honey and molasses. This research was carried out in the Biotechnology Laboratory, Laguacoto Campus. One of the critical factors is the production of seedlings with limited sanitary, varietal and physiological quality, for which it was proposed to validate the in vitro multiplication of three varieties of cane with two types of cytokinin and in three doses. The Fully Randomized Design was applied with 18 treatments and four repetitions. The main factors were three varieties of cane (EC-07; C 1051 - 73 Cuba and EC - 03), two types of cytokinin (Kinetin and Benzyl Amino Purine) with three doses (2; 4 and 6 mg/l). The main agronomic components of explants were evaluated over time (30; 45; 60; 75 and 90 days). Analysis of variance, 5% Tukey's test, correlation and linear regression were performed. No statistically significant differences were detected for most of the variables evaluated as an effect of the treatments, perhaps because there was a high variability of the data expressed through the coefficient of variation, however, numerically the earliest to sprouting were EC - 03 and EC - 07. The three varieties under the effect of two types of cytokinin and three doses on average generally recorded one shoot, one leaf and one root per explant up to 90 days. Numerically the varieties EC - 03 and EC - 07 had longer shoots, but the variety C - 1051 - 73 Cuba, recorded greater root length. Finally, this study validated the feasibility of producing quality seedlings in vitro and in less time with the varieties EC-03 and EC-07 with the hormone Kinetin in doses of between 2 and 4 mg / l, which will contribute to reduce costs and therefore greater productivity for small, medium and large agribusiness of the Sugarcane Value Chain.

Key words: Controlled environment, sugar cane, cytokinin, in vitro culture, meristems, organogenesis, vitroplants.

CAPÍTULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar, (*Saccharum officinarum L.*) es una gramínea originaria de Nueva Guinea; se cultivó por primera vez en el Sureste Asiático y la India Occidental. Alrededor de 327 A.C., era un cultivo importante en el subcontinente indio. Fue introducido en Egipto alrededor del 647 D.C., y alrededor de un siglo más tarde, a España (755 D.C.). (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SAGARPA, 2015)

Desde entonces, el cultivo de la caña de azúcar se extendió a casi todas las regiones tropicales y sub-tropicales. En los viajes de Cristóbal Colón a América la trasladaron a las islas del Caribe y de ahí pasó a la parte continental americana, particularmente a la zona tropical. A México llegó en la época de la conquista (1522 aprox.), fue así como la primera plantación se llevó a cabo en el Estado de Veracruz, instalándose posteriormente los primeros ingenios azucareros en las partes cálidas del país como parte de la colonización. (SAGARPA, 2015)

La caña de azúcar es un cultivo de alta importancia en Ecuador, del cual se extrae el azúcar que es un producto que forma parte de la canasta básica de los ecuatorianos y es ingrediente fundamental de muchos alimentos elaborados y semielaborados de consumo masivo. Adicionalmente, puede producirse alcohol como carburante y proporciona el bagazo para cogeneración. Es una fuente importante de mano de obra en forma directa o indirecta a través de los ingenios azucareros, los cultivadores de caña y las industrias o pequeñas empresas que basan su producción en el azúcar y coproductos, en todas las regiones del Ecuador. (Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador. CINCAE, 2004)

La micropropagación o propagación clonal, es una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo in vitro, a través de la micropropagación, a partir de un fragmento (explante) de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones. (Mariño, L. 2018)

Los explantes más usados para los procesos de propagación in vitro son las yemas vegetativas de las plantas. Los frascos que contienen las plantas se ubican en estanterías con luz artificial dentro de la cámara de crecimiento, donde se fija la temperatura en valores que oscilan entre los 21 y 23°C, además de controlar la cantidad de horas de luz. Por su parte, el medio de cultivo se compone de una mezcla de sales minerales, vitaminas reguladoras de crecimiento azúcar, agua y agar. La composición del medio depende de la especie vegetal y de la etapa del proceso de micropropagación. (Castillo, A. 2016)

La Kinetina, es un fitorregulador de crecimiento del tipo citoquininas, promueve la división celular. Induce la formación de callos y regenera los tejidos de brotes a partir de callos. Puede ser usada en la producción de nuevas plantas a partir de cultivos de tejidos. Puede retrasar las características de envejecimiento, tales como velocidad de crecimiento celular y tamaño. (Squeo, F. 2006)

Bencil Amino Purina (BAP), es una citoquinina, que proporciona una gran variedad de efectos en las plantas. Promueve la absorción de nutrientes como aminoácidos, elementos y reguladores del crecimiento desde el sitio de aplicación. Acelera el crecimiento y división celular, genera nuevos brotes, mejora la ramificación y floración en las plantas. También se ha encontrado que se incrementa el espesor de los tallos y el tamaño de las hojas. Puede ser utilizado desde la germinación hasta la cosecha. (Cortes, J. 2019)

Los objetivos que se plantearon en la presente investigación fueron:

- Determinar la respuesta agronómica de tres variedades de caña de azúcar para la reproducción in vitro mediante el empleo de sus explantes.
- Medir el efecto de dos tipos de hormonas sobre las principales características de las plántulas de caña de azúcar.
- Estudiar el efecto de tres dosis de citoquininas sobre la reproducción de plántulas a partir de explantes de caña de azúcar.

1.2 PROBLEMA

En el Ecuador, se evidencia la baja productividad de la caña de azúcar, disminuyendo los rendimientos en biomasa y sacarosa, ya que hay limitados conocimientos sobre el Manejo Integrado del Cultivo (MIC) con enfoque de Cadena de Valor. El éxito de la plantación de la caña de azúcar a pequeña y grande escala debe iniciar con plantas de excelente calidad en cuanto a variedades, edad y sanidad; es decir libre de hongos, bacterias, virus y fitoplasmas.

Los mecanismos tradicionales de reproducción de la caña de azúcar, no aseguran en muchos aspectos la calidad de las nuevas plantaciones, debido a que, al ser un proceso clonal, se transmiten libremente los posibles problemas relacionados a la contaminación por la presencia de hongos, bacterias y virus.

La presente investigación tuvo como finalidad la propagación in vitro con dos tipos de hormonas a tres dosis y en tres variedades de caña de azúcar (EC-07; C 1051-73 Cuba y EC-03), y de esta manera producir clones genéticamente estables, libres de patógenos, y que permitan la obtención de una gran cantidad de plántulas en corto tiempo y espacios reducidos. Mediante la introducción y validación de alternativas tecnológicas bajo el cultivo in vitro, permiten producir plántulas con pureza genética y calidad fitosanitaria, mejorando los componentes agronómicos del rendimiento como el amacollamiento en campo, y el volumen de biomasa y sacarosa por unidad de superficie, y de esta manera garantizar al agricultor una rentabilidad sostenida del cultivo.

CAPÍTULO II

2.1 MARCO TEÓRICO

2.1.1 La caña de azúcar

La caña de azúcar pertenece a la familia de las gramíneas y al género *Saccharum*, en el cual existen seis especies: *S. spontaneun*, *S. robustum*, *S. barberi*, *S. sinensi*, *S. edule* y *S. officinarum*. Los clones comerciales de caña de azúcar son derivados de las combinaciones entre las seis especies anteriores, predominando las características de *S. officinarum* como productora de azúcar. (Ministerio de Agricultura y Ganadería. MAG, 2021)

2.1.2 Origen

La caña de azúcar es originaria de Nueva Guinea. Los antiguos navegantes la llevaron a India, desde donde se extendió a China y a otras regiones de Oriente. Esto sucedió alrededor del año 4,500 a. C. Mucho tiempo después, en el año 642 a. C. los persas invadieron la India, de la que adoptaron el cultivo de la caña. Por el año 510 a.C. los soldados del rey persa Darío se referían a ella como esa caña que da miel sin necesidad de abejas. (SAGARPA, 2015)

Su cultivo se siguió extendiendo: en el siglo VII d. C. los árabes conquistaron lo que fue Persia y, tan aficionados al dulce, llevaron el azúcar a otro de sus territorios conquistados: el norte de África y fue ahí donde los químicos egipcios perfeccionaron su procesamiento y la empezaron a refinar. (SAGARPA, 2015)

2.1.3 Clasificación botánica

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Subclase	Commelinidae
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Subfamilia	Panicoideae
Tribu	Andropogoneae
Género	Saccharum
Especie	officinarum

(Mercado, 2021)

2.1.4 Morfología

- **Raíz:** Es de tipo fibroso, conocida en la industria azucarera latinoamericana como cepa, se extiende hasta 80 cm de profundidad cuando los suelos son profundos, el 80% de la misma se encuentra regularmente en los primeros 35 cm del suelo. La raíz es una parte esencial de la planta ya que permite la absorción de nutrimentos y agua, además del anclaje de la planta, especialmente necesario en plantaciones cosechadas mecánicamente, ya que la cosechadora remueve las raíces cuando éstas son muy superficiales y cuando están asociadas con suelo arenoso. (Manquillo, R. 2018)
- **Tallo:** Macizo, cilíndrico (5-6 cm de diámetro), alargado (altura de 2-5 m) y sin ramificaciones. Se considera el verdadero fruto de aprovechamiento agrícola ya que en los entrenudos de éste se encuentra almacenado el azúcar. La caña tiene una riqueza en sacarosa del 14% aproximadamente, aunque a lo largo de la recolección, la concentración varía. (Colchado, J. 2020)

La caña de azúcar, además de proporcionar sacarosa, tiene otros aprovechamientos. Contiene aproximadamente 40 kg/t de melaza (materia prima para la fabricación del ron) y se pueden obtener unos 150 kg/t de bagazo.

Hay otros aprovechamientos de menor importancia como son la elaboración de compost agrícola, vinaza, ceras, fibra absorbente, etc. (Colchado, J. 2020)

- **Hoja:** Las hojas se componen de vaina, cuello y lámina o limbo, por la forma del limbo es lanceolada el mismo que termina en punta, aserrada por su borde, por la vaina es envainadora semi envolvente las vainas son de forma triangulares y. no poseen ningún nervio principal. Recubiertas por pequeñas vellosidades con numerosas aperturas estomáticas. (Marasca, I. 2015)
- **Inflorescencia:** Para que aparezca la inflorescencia es necesario que se den una serie de condiciones de edad, fertilización, fotoperíodo, temperatura y humedad adecuadas. En estas circunstancias, se pasará de un crecimiento vegetativo a uno reproductivo. Los entrenudos seguirán alargándose y finalmente aparecerá la hoja bandera, indicador de la pronta llegada de la inflorescencia. Denominada panícula terminal, ancha, de forma piramidal, a veces de más de 1 m de longitud, el color de las flores que forma esta inflorescencia es púrpura o rojizo. La inflorescencia es una panícula que en sus ejes secundarios presentan pares de espiguillas unidas mediante un pedicelo y con una sola flor. (InfoAgro, 2018)

2.1.5 Variedades

Variedades	Procedencia
B49-119	Barbados
SP80-1842	Brasil (COPERSUCAR)
CC85-92	Colombia
C1051-73	Cuba
H56-4848	Hawái
Co213P	India (Coimbatore)
CR 74-250	República Dominicana
V 71-51	Venezuela
EC-07	Ecuador
EC-03	Ecuador

- **B49-119**

Indica que la variedad B 49-119 es proveniente del cruce entre B35218 y B4098 con presencia de poca cantidad de sacarosa, buen cultivar, buen

sabor de sacarosa, además esta variedad es resistente a ciertas enfermedades que se especifican en los siguientes países como la gomosis (Madagascar), roya anaranjada (República Dominicana y Barbados). A su vez es susceptible a Mosaico (Jamaica) escaldadura de la hoja (Barbados, Guyana, Puerto Rico, Venezuela y Kenia), mancha de ojo (Jamaica), roya café (Caribe, Brasil, Hawai, Kenia, Sudáfrica, Madagascar y Venezuela). (Saltos, J. 2015)

- **SP80-1842**

El mismo autor especifica que variedad SP80-1842 se da del cruce entre SP71 - 1088 y H57 -5028, expuesto e inducido en Sao Paulo en 1993. Esta variedad dentro de sus propiedades presenta una cosecha temprana con buena formación y producción de fibra y sacarosa. Es resistente al Mosaico, mancha de ojo. Susceptible a: escaldadura de la hoja. (Machado, M. 2018)

- **CC85-92**

De acuerdo a Jorge (2002), la variedad CC85-92 se originó por el policruzamiento de la variedad Co775 x CP52-68, dentro sus características presentan un crecimiento medianamente inclinado con alto macollamiento, un tallo con coloraciones moradas entrenudos, altura de tercio medio de 12 cm y diámetro de 32 mm como promedio, con textura lisa, con ausencia de yema y escasa presencia de cera.

La germinación es excelente con un 85%, macollamiento entre 10 y 12 tallos por cepa, floración es muy escasa y buena adaptación en diferentes suelos, excepto a suelos salinos. (Machado, M. 2018)

- **C1051-73**

Variedad cubana, proveniente del cruce entre B42231 x C431 - 62, tomada como un material de segundo nivel, presenta buena adaptación local, buena germinación, alto contenido de sacarosa, resistente a roya café, mancha de ojo y mosaico. (Machado, M. 2018)

- **H56-4848**

Esta variedad se produce con el clon H44-3098, originaria de Hawái, a elevaciones altas sobre el nivel del mar, esta variedad cambia en el sabor, la maduración de la misma es más tardía debido a la poca luminosidad. Esta variedad es poco susceptible al virus del mosaico y la roya, además es tolerante al carbón (*Ustilago scitaminea*), mancha ojival (*Helminthosporium sacchari*), escaldadura foliar (*Xanthomonas albilineans*) y pudrición roja (*Colletotrichum falcatum*), en el caso del carbón, son necesarias pruebas de inoculación. (Saltos, J.2015)

- **Co213P**

El cruce entre los clones POJ213 x Co.291, da como resultado esta variedad de la India. Tolerante para el Mosaico (México), podredumbre roja (India) gomosis, Mosaico (Inglaterra) Mosaico (Sudáfrica) susceptible al tizón (Brasil) susceptible al tizón (India) susceptible al tizón (Machado, M. 2018)

- **CR 74-250**

Especifica que el cruce de la variedad CR 74-250 se da entre CP5268 y B45181, variedad de buen material vegetal proveniente de Central Romana, República Dominicana, con buenas perspectivas en suelos, alto nivel de producción. Además, esta presenta un alto nivel de germinación, con tallo ligeramente inclinado, buen tonelaje. Esta variedad es apta para zonas cálidas y no para zonas lluviosas, también presenta buena formación de fibra y sacarosa y buen nivel de maduración. Resistente a: roya y escaldadura de hoja. (Saltos, J. 2015)

- **V 71-51**

Esta variedad se da en el cruzamiento de los clones L60- 25, por tanto, es originaria de Venezuela. Presenta un tallo largo, recto, un entrenudo de 10 a 12 cm, diámetro de 30 mm, nudo de 2 mm de ancho, hoja larga, ancha y péndula con la punta doblada. (Ramírez, V. 2018)

- **EC-03**

Las características más destacables de la variedad EC-03, son su alto contenido de azúcar (110 kilos por tonelada de caña en promedio), diámetro de tallo grueso y buen deshoje. Se liberan a la producción comercial, con el objetivo de ofrecer a los ingenios y cañicultores otras alternativas de siembra, que les permita incrementar la productividad (SILVA, E. 2018)

- **EC-07**

La variedad EC-07 (con código de identificación durante la selección: ECSP2000-1335) proviene del cruzamiento entre las variedades SP70-1143 y ROC7 realizado por el Centro de Tecnología Canavieira (CTC) de Brasil. En el primer estado de selección de la serie 2000 (estado I) se trasplantaron 50392 plantas de 85 cruzamientos provenientes de Brasil (75) y Australia (10), de los cuales se seleccionaron 819 clones que formaron el estado II y fueron evaluados en el CINCAE en parcelas de un surco de cinco metros y sin repeticiones en los ciclos 2002-2003 (caña planta) y 2003-2004 (primera soca). (Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador CINCAE, 2016)

2.1.6 Requerimientos edafoclimáticos

- **Temperatura:** La caña de azúcar no soporta temperaturas inferiores a 0°C. Para crecer exige un mínimo de temperatura de 14 a 16°C y la temperatura óptima de germinación oscila entre 32-38°C. (InfoAgro, 2018)
- **Humedad relativa:** Para que el crecimiento vegetativo de la caña de azúcar sea más rápido es necesario que la humedad relativa sea alta. En caso contrario (HR baja), y si además los riegos son deficitarios, la planta tenderá a madurar. (InfoAgro, 2018)

2.1.7 Requerimientos edáficos

- **Suelo**

Prefiere los suelos ligeros para alcanzar sus mejores rendimientos, pero sí es cierto que no es un cultivo muy exigente en cuanto a suelo. Únicamente presenta problemas en suelos ácidos y en calizos pueden aparecer clorosis.

En definitiva, las mejores condiciones edafoclimáticas para obtener una mayor cantidad de azúcar son: clima seco, poca humedad, bastante luz solar, noches frescas, precipitaciones o aportaciones hídricas reducidas durante la maduración, amplitud térmica durante el día y suelo de naturaleza ligera. (InfoAgro, 2018)

- **El pH**

El crecimiento de las plantas depende del pH, siendo adecuado en general un pH entre 5-5.5 y 6.5, aunque para cada especie existe un rango óptimo. En los cultivos in vitro se admite que son pH adecuados los situados entre 4.8 y 6.0; no causa el desarrollo de los explantes, pero puede limitar el crecimiento o afectar a la diferenciación. (Pereira C. 2015)

2.1.8 Propagación de la caña de azúcar

La caña se reproduce sembrando trozos de tallo. Se recomienda que la siembra se realice de Este a Oeste para lograr una mayor captación de luz solar. Los trozos deben tomarse de cultivos sanos y vigorosos, con una edad de seis a nueve meses. Se recomienda además que se utilice la parte media del tallo, preferentemente esquejes con tres yemas. Los pedazos deben sembrarse a una profundidad de 20 o 25 cm y los surcos deben estar separados por un metro y medio. (Martínez, J. 2012)

La cosecha empieza cuando los tallos dejan de desarrollarse, las hojas se marchitan y se caen y la corteza de la capa se vuelve quebradiza. Esto ocurre aproximadamente 11 o 16 meses después de la plantación. Se ha intentado utilizar máquinas para cosechar la caña; sin embargo, la mayor parte de la zafra se sigue haciendo a mano. Por lo general se usa un machete de acero, con un pequeño gancho en la parte posterior y empuñadura de madera. La caña se corta cerca del suelo y por el extremo

superior. Luego se apilan a lo largo del campo y se llevan al ingenio, un molino donde se trituran los tallos y se extrae el azúcar. (Martínez, J. 2012)

- **Micropropagación**

La micropropagación es la aplicación más destacada en el cultivo. Para lograr avances que impacten en el sistema de producción de caña de azúcar, es necesario implementar estrategias de innovación, tales como el cultivo in vitro que sea eficiente para la obtención de lotes de plantas libres de enfermedades disponibles para determinar relaciones de etiología y estudios de sanidad. (Estrada, S. 2016)

2.1.9 Plagas y enfermedades

2.1.10 Plagas

Nombre Común	Nombre científico	Descripción
Gusano taladrador	<i>(Diatraea saccharalis)</i>	Hay que tener en cuenta las diferentes fases por las que este gusano pasa en su ciclo de vida. En estado adulto se encuentra en estado de reposo, escondido en el envés de las hojas secas de la caña de azúcar durante el día para por la noche retomar su actividad. En estado de larva se encarga de la perforación del raquis de las hojas y posteriormente de taladrar las plantas tiernas. En plantas con un desarrollo mayor, tienen más trabajo a nivel foliar por lo que espera la llegada de la segunda muda para penetrar el tronco y formar galerías a lo largo del mismo. Por último, justo antes de convertirse en pupa, hace galerías de mayor tamaño hasta salir fuera. Las cubre con hilos y fibras de

		la caña y finalmente se convierte en pupa.
Barrenador gigante de la caña o gusano tornillo	<i>(Castnia licus)</i>	Su actividad consiste en llevar a cabo excavaciones para realizar galerías que transcurran por la parte inferior del tallo extendiéndose hasta la subterránea. Este daño causado por el gusano tornillo en la planta, puede desencadenar la invasión de diferentes patógenos.
Jobotos	<i>(Phyllophaga spp.)</i>	Esta plaga destruye las raíces de las plantas consiguiendo que la caña de azúcar se torne de color amarillento y que el follaje vaya muriendo lentamente. Su prevención es relativamente fácil ya que la maquinaria destinada a las labores del suelo puede eliminar las larvas y pupas.
Gusano medidor	<i>(Mocis latipes)</i>	Este gusano se come los bordes de las hojas de plantas tiernas principalmente. En ocasiones puede llegar a dejar solamente el nervio central de la misma.
Picudo del pseudotallo o picudo rayado	<i>(Metamasius hemipterus)</i>	Es susceptible de ser infectado aquel material vegetal que por diferentes razones está más debilitado. De esta forma, dicho material vegetal se sembrará infectado y los brotes serán débiles. En consecuencia, a lo largo del cultivo, se dispondrá de una caña de azúcar que se tumba y con un

		contenido en jugos azucarados mucho menor que una sana en las mismas condiciones.
El salivazo de la caña de azúcar	<i>(Aeneolamina varia)</i>	Las ninfas chupan la savia de las raíces de la planta mientras que los adultos prefieren la de las hojas. A la vez que están chupando la savia se encargan de inyectarle a la planta una toxina que posteriormente le causará la aparición de necrosis y de manchas rojizas para debilitarla hasta que se seque
Salta hojas antillano	<i>(Saccharosydne saccharivora)</i>	Esta plaga succiona savia y secreta una sustancia azucarada. Sobre esta sustancia se forma fumagina, la cual dificultará la fotosíntesis y transpiración de los tejidos vegetales de la caña de azúcar.

(Melgar, M. 2015)

2.1.11 Enfermedades

Nombre Común	Nombre científico	Descripción
Carbón	<i>(Ustilago scitaminea)</i>	Enfermedad que provoca el achaparramiento de la planta, así como la aparición de tallos más débiles y delgados, hojas estrechas y pequeñas con estructuras negras en forma de látigo en la parte terminal de la planta o cogollo.

Royas	<i>(Puccinia erianthi, P. melanocephata y P. kuenknii)</i>	La enfermedad provoca la aparición de manchas cloróticas que con el tiempo van tomando un color más oscuro y que quedan delimitadas por un halo más claro. Finalmente aparecen pústulas en el envés de las hojas.
Mancha de ojo o mancha ojival	<i>(Bipolaris sacchari)</i>	Las manchas ojivales son manchas alargadas que siguen el sentido de los nervios de las hojas. Presentan un color rojizo rodeado de un halo de color amarillento. En estado más avanzado, los síntomas aumentan apareciendo rayas hacia el extremo de la hoja desde la mancha origen.
Pokkah Boeng	<i>(Fusarium moniliforme Sheldon)</i>	Los cogollos se retuercen, las bases de los tallos aparecen cloróticas y los tallos propiamente dichos deformados.
Mancha anular	<i>(Leptosphaeria sacchari)</i>	Aparecen manchas alargadas de color verde o marrón oscuro con halos irregulares amarillentos.
Raquitismo del retoño	<i>(Clavibacter xylii)</i>	Esta bacteria provoca tallos raquíuticos con decoloraciones en los nudos de los mismos.
Escaldadura foliar	<i>(Xanthomonas albilineans)</i>	Bacteria que se propaga a través de los utensilios de siembra. Por tanto, resulta relativamente fácil que la planta no desarrolle esta enfermedad simplemente con la adecuada higienización de dicho material.
Roya roja	<i>(Xanthomonas rubrilineans)</i>	Provoca rayas rojas que se extienden paralelas a los nervios de la hoja. En casos de infección severa puede provocar incluso la pudrición del cogollo y del tallo de la planta.

Virus del mosaico de la caña de azúcar	<i>(Potyvirus)</i>	Es un virus que se transmite a través de áfidos. Produce pequeñas manchas de colores que pueden ir desde el verde hasta una tonalidad más blanquecina.
Peca amarilla o mancha amarilla	<i>(Mycovellosiella koepkei)</i>	Las plantas infestadas presentan manchas foliares que se tornan de color rojizo y amarillento. Las hojas se llegan a doblar y secar

(Melgar, M. 2015)

2.1.12 La Biotecnología

Es un área multidisciplinaria, que emplea la biología, química y procesos, con gran uso en agricultura, farmacia, ciencia de los alimentos, ciencias forestales y medicina. Probablemente el primero que usó este término fue el ingeniero húngaro Karl Ereky, en 1919. Una definición de biotecnología aceptada internacionalmente es la siguiente: La biotecnología se refiere a toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos. (Gil, N. 2018)

2.1.13 Biotecnología roja

Se aplica la utilización de biotecnología roja en procesos médicos (antibióticos, vacunas, fármacos, diagnósticos moleculares, terapias regenerativas y terapia genética). (Cedeño, J. 2017)

2.1.14 Biotecnología blanca

El término “biotecnología blanca” hace referencia a la rama de la biotecnología dedicada a optimizar los procesos industriales, buscando reemplazar a las tecnologías contaminantes por otras más limpias o amigables con el ambiente. Básicamente, emplea organismos vivos y enzimas para obtener productos más fáciles de degradar, y que requieran menos energía y generen menos desechos durante su producción. (Olvera, M. 2019)

2.1.15 Biotecnología verde

Se conoce como biotecnología verde al conjunto de aplicaciones biotecnológicas en el campo de la agricultura. Un ejemplo de la biotecnología verde es el diseño de plantas transgénicas capaces de crecer en condiciones ambientales desfavorables o plantas resistentes a plagas y enfermedades. Se espera que la biotecnología verde produzca soluciones más amigables con el medio ambiente que los métodos tradicionales de la agricultura industrial. (Bautista, J. 2016)

2.1.16 Biotecnología azul

También llamada Biotecnología marina, es un término utilizado para describir las aplicaciones de la biotecnología en ambientes marinos y acuáticos. Aún en una fase temprana de desarrollo, sus aplicaciones son prometedoras para la acuicultura, cuidados sanitarios, cosmética y productos alimentarios. (Llorente, C. 2016)

2.1.17 La Biotecnología agrícola

Es la parte de la biotecnología relacionada con las aplicaciones agrícolas. Tomando el término en su mayor amplitud, la biotecnología tradicional ha sido utilizada por miles de años, desde que comenzó la agricultura, para mejorar plantas, animales y microorganismos. La aplicación de la biotecnología a especies agrícolas importantes ha incluido tradicionalmente el uso de la fertilización selectiva para producir un intercambio de material genético entre dos plantas, para producir descendencia con características deseables, tales como mayor rendimiento, resistencia a las enfermedades y mejor calidad. El intercambio tradicional exige que las dos plantas cruzadas sean de la misma especie, o de especies muy próximas. (Carrasco, H. 2019)

2.1.18 Medios de cultivo para la propagación in vitro

Constituyen un elemento fundamental para el cultivo in vitro de células, tejidos y órganos para lograr el desarrollo de los mismos in vitro. Los medios de cultivo tienen una serie de componentes generales y específicos cuya presencia y concentración estará en dependencia del objetivo que se persiga en su utilización. Los medios de cultivo están constituidos por sustancias minerales, vitaminas,

aminoácidos, azúcares, reguladores del crecimiento y otros elementos. (Llorente, B. 2003,)

El cultivo de células, tejidos y órganos de las plantas in vitro se realiza en medios de cultivos artificiales, los cuales proporcionan los nutrientes necesarios que la planta toma de la tierra en su habitat natural y precisamente el éxito de este tipo de cultivo está influenciado grandemente por la naturaleza del medio de cultivo utilizado y otros factores ambientales. (Llorente, B. 2003,)

2.1.19 Sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962) en (mg/l)

- $(\text{NH}_4)\text{NO}_3$ 1.650
- KNO_3 1.900
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.440
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.370
- KH_2PO_4 0.170
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0278
- $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.0372
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0086
- H_3BO_3 0.0062
- KI 0.00083
- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.00025
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.000025
- $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.000025
- Mioinositol 0.100
- Tiamina HCl 0.0001
- Acido nicotínico 0.0005
- Piridoxina HCl 0.0005
- Glicina 0.002

2.1.20 Micronutrientes en mg/l

- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27,8

- Na₂EDTA 37,3
- H₃BO₃ 6,2
- MnSO₄.4H₂O 22,3
- ZnSO₄.7H₂O
- Na₂MoO₄.2H₂O 0,25
- CuSO₄.5H₂O 0,025
- CoCl₂.6H₂O 0,025
- KI 0,83

2.1.21 Vitaminas en mg/l

- Myo- Inositol 100
- Tiamina HCl 0,1
- Ácido nicotínico 0,5
- Glicina 2, 0
- Piridoxina HCl 0,5

2.1.22 Gelificante en g/l

- Agar 7.5

2.1.23 Elaboración de soluciones madre del medio de cultivo Murashige y Skoog

Para la realización del medio de cultivo “M S” se elaboran las siguientes:

- Stock de macronutrientes
- Stock de micronutrientes
- Stock de quelatos de Fe
- Soluciones Stock de vitaminas
- Soluciones Stock de Reguladores (Palacios, J. 2019)

2.1.24 Fitorreguladores

Son compuestos orgánicos que, en pequeñas cantidades, inhiben, promueven o modifican, algún proceso fisiológico de las plantas. Se clasifican en: Auxinas, Giberelinas, Citoquininas y Abscisinas. Estimulan la formación de tallos e inhiben el desarrollo de la raíz principal, la floración y la formación de frutos sin previa polinización. Retrasan el envejecimiento de órganos vegetales (evitan la degradación de la clorofila). Aumento del tamaño de las células (no alargamiento), hojas más grandes. También pueden provocar germinación de semillas y brotes. Se transportan por medio del xilema, particularmente en los tejidos que se dividen de forma activa como meristemos, semillas en germinación, frutos en maduración y raíces en desarrollo. (Solis, M. 2019)

2.1.25 Citoquininas

Hormonas vegetales que promueven la división y diferenciación celular. En 1955, Miller y Skoog consiguieron preparar por tratamiento térmico de ADN un compuesto, el 6-furfurilamino purina, que promovía la división celular. Denominaron a esa sustancia quinetina y llamaron a los reguladores que se incluían dentro de este grupo citocininas (citoquininas), debido a su aparente implicación en los procesos de citocinesis, o división celular. La quinetina es una citocinina artificial que probablemente no existe en plantas de modo natural, tiene una estructura relativamente simple. (García, S. 2018)

2.1.26 Kinetina

Es un regulador del crecimiento de citoquinina probado en cultivo de tejidos vegetales. La kinetina es una fitohormona de citoquinina de tipo adenina utilizada en medios de cultivo de plantas como los medios Murashige y Skoog junto con las auxinas. La kinetina se usa para inducir la formación de callos y para regenerar tejidos de plantas a partir de callos. (Equipos e insumos para laboratorio QUIMICOMPANY, 2020)

2.1.27 Bencil Amino Purina (BAP)

La Bencil Amino Purina, es un promotor del crecimiento de las plantas, otro nombre es la hormona auxina citoquinina 6ba, 6-ba 6-bap, polvo 6bap de alta calidad, es la primera citoquinina sintética aplicada, utilizada principalmente como un regulador de crecimiento de plantas de amplio espectro. Se puede utilizar en agricultura, horticultura, para plantas en diferentes etapas, desde la germinación hasta la cosecha. (Cortes, J. 2019)

CAPÍTULO III

3.1 MARCO METODOLÓGICO

3.1.1 Materiales

3.1.2 Localización de la investigación

Provincia:	Bolívar
Cantón:	Guaranda
Parroquia:	Veintimilla
Sitio:	Laguacoto II

3.1.3 Situación geográfica y climática

Altitud:	2622 msnm
Latitud:	01° 36' 88'' S
Longitud:	78° 59' 88'' W
Temperatura media anual:	14.5 °C
Temperatura máxima:	23 °C
Temperatura mínima:	2 °C
Precipitación media anual:	750 mm
Heliofanía:	850 horas/ luz/año
Humedad relativa promedio anual:	75 %
Velocidad promedio anual del viento:	6 m/s

(Fuente: Estación Meteorológica Campus Laguacoto II, 2021)

3.1.4 Zona de vida

El sitio según el sistema de zonas de vida de Holdridge, L. (1979), corresponde a la formación de bosque seco Montano Bajo. (bs-MB).

3.1.5 Material experimental

- Dos tipos de citoquininas
- Explantes de tres clones de caña de azúcar provenientes de la localidad de Loja.

3.1.6 Materiales de campo

- Machete
- Papel periódico

- Recipiente
- Agua
- Fundas plásticas
- Sacos

3.1.7 Material de laboratorio

- Cámara de flujo laminar
- Balanza analítica
- Autoclave vertical
- pH metro
- Horno de microondas
- Agitados magnético
- Destilador de agua
- Refrigerador
- Pinzas
- Mecheros
- Erlenmeyer
- Reactivos
- Vasos de precipitación de 1000, 500, 250 y 100 ml
- Erlenmeyer de 1000, 500, 250, y 100 ml
- Probetas aforadas de 500, 250, 100 y 25 ml
- Cajas Petri de vidrio
- Tubos de ensayo
- Frascos de vidrio de 250 ml
- Pissetas
- Mecheros de alcohol
- Espátulas
- Pinzas de disección
- Bisturí
- Mangos para bisturí N-4
- Frascos de vidrio de 250ml

- Papel aluminio
- Ropa de trabajo en laboratorio

3.1.8 Materiales de oficina

- Calculadora
- Cámara fotográfica
- Flash memory
- Papel bond
- Programas estadísticos
- Lápices
- Regla
- Tablero de datos

3.2 Métodos

3.2.1 Factores en estudio

3.2.2 Factor A: Variedades de caña de azúcar con tres tipos:

A1: EC-07

A2: C 1051-73 Cuba

A3: EC-03

3.2.3 Factor B: Citoquininas con dos tipos:

B1: Kinetina

B2: Bencil Amino Purina

3.2.4 Factor C: Tres dosis de reguladores de crecimiento u hormonas

C1: 2 mg/l

C2: 4 mg/l

C3: 6 mg/l

3.3 Tratamientos

Combinación de factores A* B*C (3*2*3) como se detalla a continuación:

Tratamiento No.	Código	Detalle
T1	A1B1C1	EC-07 + Kinetina + 2mg/l
T2	A1B1C2	EC-07 + Kinetina + 4mg/l
T3	A1B1C3	EC-07 + Kinetina + 6mg/l
T4	A1B2C1	EC-07 + Bencil amino purina + 2mg/l
T5	A1B2C2	EC-07 + Bencil amino purina + 4mg/l
T6	A1B2C3	EC-07 + Bencil amino purina + 6mg/l
T7	A2B1C1	C 1051-73 Cuba + Kinetina + 2mg/l
T8	A2B1C2	C 1051-73 Cuba + Kinetina + 4mg/l
T9	A2B1C3	C 1051-73 Cuba + Kinetina + 6mg/l
T10	A2B2C1	C 1051-73 Cuba + Bencil amino purina + 2mg/l
T11	A2B2C2	C 1051-73 Cuba + Bencil amino purina + 4mg/l
T12	A2B2C3	C 1051-73 Cuba + Bencil amino purina + 6mg/l
T13	A3B1C1	EC-03 + Kinetina + 2mg/l
T14	A3B1C2	EC-03 + Kinetina + 4mg/l
T15	A3B1C3	EC-03 + Kinetina + 6mg/l
T16	A3B2C1	EC-03 + Bencil amino purina + 2mg/l
T17	A3B2C2	EC-03 + Bencil amino purina + 4mg/l
T18	A3B2C3	EC-03 + Bencil amino purina + 6mg/l

3.4 Tipo de diseño experimental

Se utilizó el Diseño Completamente Aleatorizado (DCA) en arreglo factorial (3x2x3) con 4 repeticiones en condiciones controladas del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Estatal de Bolívar, Campus Lagucoto II.

3.5 Procedimiento

Número de tratamientos	18
Número de repeticiones	4
Número de unidades experimentales	72
Número de frascos por tratamiento (cada frasco constituyó una unidad experimental)	4
Número total de explantes	288

3.6 Tipo de análisis

- Análisis de varianza (ADEVA), según el siguiente detalle:

Fuentes de Variación	Grados de libertad	CME*
Factor A (a-1)	2	$l^2e + 24\theta^2FA$
Factor B (b-1)	1	$l^2e + 36\theta^2FB$
Factor C (c-1)	2	$l^2e + 24\theta^2FB$
Factores A x B (a-1) (b-1)	2	$l^2e + 12\theta^2FA \times FB$
Factores A x C (a-1) (c-1)	4	$l^2e + 8\theta^2FA \times FC$
Factores B x C (b-1) (c-1)	2	$l^2e + 12\theta^2FB \times FC$
Factor Ax BxC (a-1) (b-1) (c-1)	4	$l^2e + 4\theta^2FA \times FB \times FC$
Error Experimental (t) (r-1)	54	l^2e
Total (t x r)-1	71	

*Cuadrados Medios Esperados. Modelo fijo. Tratamientos seleccionados por el investigador.

- Prueba de Tukey al 5% para comprobar promedios de los factores principales A, B y C.
- Análisis de efecto principal para factor B (tipos de citoquininas)
- Análisis de correlación y regresión lineal simple.

3.7 Métodos de evaluación y datos tomados

3.7.1 Número de explantes contaminados (NEC)

Variable que fue registrada a los 15, 45 y 60 días, una vez que los explantes fueron introducidos en los frascos que contenían el medio de cultivo. La contaminación fue evaluada por observación directa en las unidades experimentales (frascos) de cada tratamiento y repetición.

3.7.2 Días a la brotación (DB)

Dato que fue evaluado mediante observación continua de los explantes de cada tratamiento, registrando los días transcurridos desde el inicio de la siembra, hasta cuando más del 50% de los explantes presentaron al menos un brote en cada tratamiento y repetición.

3.7.3 Número de brotes por explante (NBE)

Se registraron por observación directa el número de brotes de cada explante, de forma visual en cada uno de los tratamientos y repeticiones a los 30, 45 y 60 días.

3.7.4 Longitud de los brotes (LB)

Variable cuantitativa que se evaluó con una regla en cm en cada uno de los tratamientos y repeticiones a los 30, 45, 60, 75 y 90 días, desde la base del tallo hasta el ápice de los brotes, por la parte exterior del frasco.

3.7.5 Número de hojas por brote (NHB)

Esta variable cuantitativa discreta se registró contando el número de hojas en los brotes de los explantes en todos los tratamientos y repeticiones a los 30, 45, 60, 75 y 90 días, por observación directa.

3.7.6 Días a la emisión de raíces (DER)

Se contabilizaron los días transcurridos desde la aparición de las primeras raicillas de los explantes en más del 50% de los frascos de cada uno de los tratamientos y repeticiones.

3.7.7 Número de raíces (NR)

Variable que se registró a los 60, 75 y 90 días, contabilizando las raíces de cada explante, de forma visual en cada uno de los tratamientos y repeticiones.

3.7.8 Longitud de raíz (LR)

Se evaluó en centímetros con la ayuda de una regla, a los 60, 75 y 90 días, desde la base del cuello hasta la parte terminal o cofia. La medición se realizó por la parte externa de cada frasco.

3.8 Manejo del experimento

3.8.1 Selección de la planta

Se seleccionaron plantas de caña de azúcar de las variedades (EC-07, C 1051-73 Cuba y EC-03) de cuatro a seis meses de edad provenientes de la finca del Sr. Luis Valentín Jiménez, ubicada en la provincia de Loja, y de las plantas se extrajeron los brotes apicales y laterales.

3.8.2 Selección del medio a utilizar

Se utilizó el medio de cultivo según Murashige y Skoog (compuestos orgánicos) en el que se añadió macronutrientes, vitaminas, agar y reguladores de crecimiento como la Kinetina y Bencil Amino Purina en tres concentraciones: 2 mg/l; 4 mg/l y 6 mg/l respectivamente con un pH de 5.6 a 5.7.

3.8.3 Preparación del medio de cultivo

En primera instancia para la preparación del medio de cultivo se procedió a pesar en una balanza analítica, cada uno de los reactivos requeridos los cuales fueron: Gelificante Agar, Sacarosa, los reguladores de crecimiento como Kinetina y 6-Bencilaminopurina, los macro y micronutrientes y las vitaminas de acuerdo al requerimiento necesario de la cantidad del medio de cultivo según Murashige y Skoog que sirvieron para dar la solidificación al medio de cultivo.

3.8.4 Desinfección del material experimental

Para la desinfección del material experimental, los explantes se lavaron con solución de jabón líquido al 1% más agua destilada en un tiempo de 20 minutos, luego se prepararon 1600 ml de solución de hipoclorito al 80% y al 70%. En el vaso uno de precipitación de 2000 ml esterilizado; se colocaron 1280 ml de cloro y 320 de agua destilada más 16 gotas de Tween 80; en el vaso 2 se colocaron 1120 ml de cloro y 480 de agua destilada más 16 gotas de Tween 80, a continuación se llevó a la cámara de flujo laminar donde se desinfectaron por dos veces los explantes, con la solución al 80% de cloro durante 12 minutos, luego con el agua destilada esterilizada se lavaron por tres veces consecutivas en un lapso de tres minutos cada lavado, con la solución al 70% de cloro durante 10 minutos, luego con el agua

destilada esterilizada se lavaron tres veces consecutivas en un lapso de tres minutos cada lavado.

3.8.5 Introducción del material in vitro

Luego de la desinfección de los explantes de caña, se procedió a realizar la siembra en la cual se empezó a ejecutar el deshoje de las semillas asexuales con ayuda de las pinzas y el bisturí para encontrar el meristemo apical y colocarlo en el medio de cultivo estéril, con la ayuda de las pinzas se introdujeron los explantes a los frascos de vidrio (unidades experimentales) que contenían el medio de cultivo, al finalizar la siembra los frascos de vidrio fueron sellados con plastifilm e identificados con los diferentes tratamientos y repeticiones.

CAPÍTULO IV

4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para realizar los diferentes análisis estadísticos de varianzas de los tratamientos en estudio, se aplicó el modelo matemático del Diseño Completamente Aleatorizado y para comparar los promedios en las variables cuantitativas discretas y continuas, se utilizó la prueba de Tukey al 5%. Los resultados se presentan en cuadros resumidos y los gráficos correspondientes.

4.1.1 Variables agronómicas (Factor A: Variedades de caña de azúcar)

Cuadro N° 1. Resultados Promedios y de la prueba de Tukey al 5% para variedades de caña de azúcar en las variables: Número de explantes contaminados (NEC) (15, 45 y 60 días), Días a la brotación (DB), Número de brotes por explante (NBE) (30, 45 y 60 días), Longitud de los brotes (LB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Número de hojas por brote (NHB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Días a la emisión de raíces (DER), Número de raíces (NR) (60, 75 y 90 días), Longitud de raíz (LR) (60, 75 y 90 días). (Laguacoto II, 2022)

Promedios de variedades de caña de azúcar (Factor A)									
Variables	Significancia	A1	Rango	A2	Rango	A3	Rango	Media general	CV (%)
NEC (15 días)		0.00		0.00		0.00		0.00	0.00
NEC (45 días)	NS	0.2500	A	0.4167	A	0.2917	A	0.3194 (1)	155.07
NEC (60 días)	NS	0.5417	A	0.5417	A	0.5000	A	0.5278 (1)	103.14
DB	*	7.6667	AB	7.8333	A	7.3333	AB	7.6111 (8 días)	6.57
NBE (30 días)	NS	1.0833	A	1.0000	A	1.0833	A	1.0556 (1)	20.38
NBE (45 días)	NS	0.9167	A	0.7083	A	0.8750	A	0.8333 (1)	83.27
NBE (60 días)	NS	0.9167	A	0.5000	A	0.7083	A	0.7083 (1)	107.40
LB (30 días)	*	2.5417	A	2.4583	AB	2.1250	B	2.3750 cm	20.46
LB (45 días)	NS	3.8611	A	4.0278	A	3.8194	A	3.9028 cm	19.26
LB (60 días)	NS	5.1667	A	5.2500	A	5.2222	A	5.2130 cm	17.11
LB (75 días)	NS	6.8056	A	6.6111	A	7.0000	A	6.8056 cm	14.52
LB (90 días)	NS	8.0556	A	7.8889	A	8.2778	A	8.0741 cm	13.41
NHB (30 días)	*	0.2500	B	0.5000	AB	0.5417	A	0.4306 (1)	90.78
NHB (45 días)	NS	0.5000	A	0.5000	A	0.7500	A	0.5833 (1)	85.71
NHB (60 días)	*	0.6250	AB	0.3750	B	0.7917	A	0.5972 (1)	86.02
NHB (75 días)	*	0.7500	AB	0.3333	B	0.8750	A	0.6528 (1)	104.75
NHB (90 días)	NS	0.7917	A	0.4583	A	0.9167	A	0.7222 (1)	102.34
DER	*	3.500	B	7.708	AB	11.417	A	7.5417 (8 días)	137.25
NR (60 días)	NS	0.1667	A	0.4167	A	0.1667	A	0.2500 (1)	249.44
NR (75 días)	NS	0.2083	A	0.7500	A	0.2917	A	0.4167 (1)	251.93
NR (90 días)	NS	0.2917	A	0.7500	A	0.9583	A	0.6667 (1)	158.77
LR (60)	NS	0.1167	A	0.4458	A	0.1125	A	0.2250 cm	260.81
LR (75 días)	NS	0.1792	A	0.5000	A	0.2125	A	0.2972 cm	235.89
LR (90 días)	NS	0.2042	A	0.6625	A	0.2708	A	0.3792 cm	223.36

NS: No significativo. *Significativo al 5%. **Altamente significativo al 1%. Promedios con distinta letra, son estadísticamente diferentes al 5%. CV: Coeficiente de variación.

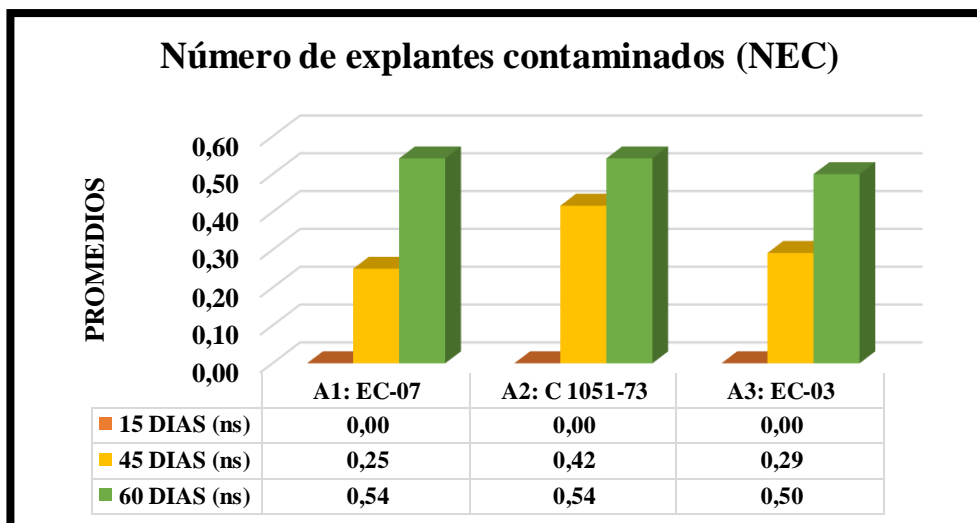


Gráfico N° 1. Promedios del factor A de la variable número de explantes contaminados.

La respuesta de las tres variedades de caña de azúcar (Factor A) en relación a la variable número de explantes contaminados a través del tiempo: 15, 45 y 60 días, fue no significativo es decir presentaron valores similares estadísticamente (Cuadro 1 y Gráfico 1).

A los 15 días de instalado el experimento, no se presentó contaminación biológica en los frascos donde fueron sembrados los explantes. A los 45 y 60 días, se cuantificaron una media general de 0,32 y 0,53 explantes contaminados lo que en la práctica al tratarse de una variable cuantitativa discreta es apenas un explante por variedad de caña. De acuerdo a estos resultados a mayor tiempo, promedios ligeramente más elevados de contaminación. Se calcularon valores altos del coeficiente de variación a los 45 días con 155,07% y a los 60 días 103,14% (Cuadro 1). Estos valores indican una alta variabilidad de los datos y por ende de los resultados en las tres variedades y esto incidió quizá para no encontrar diferencias estadísticas significativas entre las variedades estudiadas.

La resistencia de los explantes a la contaminación biológica bien sea por hongos, bacterias o virus, es una característica varietal y que podría estar influenciada por las condiciones del laboratorio especialmente de la temperatura, cantidad y calidad de luz solar, humedad relativa y el nivel de bioseguridad.

En esta investigación, de acuerdo a los resultados de cada variedad, existió un bajo porcentaje de contaminación de los explantes a través del tiempo, lo que, a más de las características varietales, infirió un buen manejo del experimento en el laboratorio.

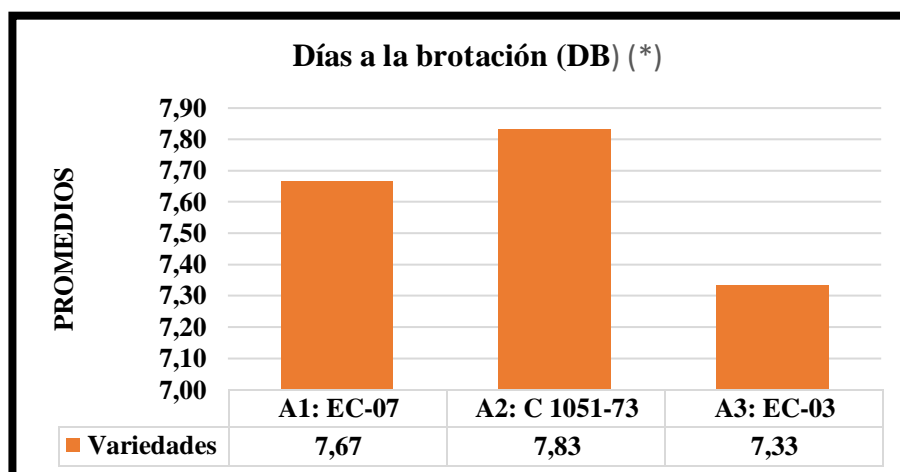


Gráfico N° 2. Promedio del factor A de la variable días a la brotación.

Para la variable días a la brotación de los explantes, se determinaron diferencias estadísticas significativas al 5% (*) como efecto de las tres variedades de caña con una media general de 7,61 (8 días) y un valor del coeficiente de variación de 6,57% (Cuadro 1 y Gráfico 2).

las variedades más tardías con 7,83 (8 días) fue A2: C 1051-73 Cuba, seguida de A1: EC- 07 con 7,67 (8 días) y la más precoz fue A3: EC- 03 con 7.33 (7días) (Cuadro 1 y Gráfico 2).

La brotación y desarrollo de los explantes está estrechamente relacionada con la genética de cada una de las variedades, aspecto que brinda la característica de precocidad y letargo; y al ser reproducidas in vitro no juega quizá ningún papel el aspecto de interacción medio ambiental pero sí con la temperatura de crecimiento, horas luz y humedad relativa del laboratorio. De acuerdo a los resultados obtenidos en la variable días a la brotación, se pudo comprobar que la variedad EC- 03, fue la más precoz, asociando su desarrollo quizá a un mejor metabolismo de sus células, para formar rápidamente tejidos meristemáticos, lo que está relacionado con la elongación de sus yemas.

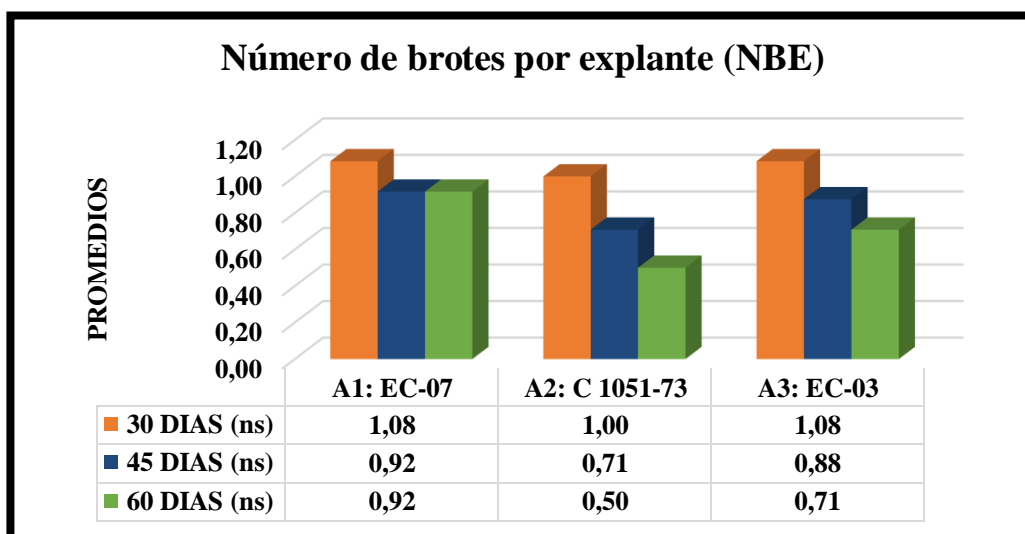


Gráfico N°. 3. Promedio del factor A de la variable número de brotes por explante.

No se determinaron diferencias estadísticas significativas (ns) de las tres variedades de caña para la variable cuantitativa discreta número de brotes por explante a través del tiempo: 30, 45 y 60 días. A los 30 días se registró una media general de 1,05 (1) brote con un CV de 20,38%. A los 45 días 0,83 (1) brote con un CV de 83,27% y finalmente a los 60 días 0,71 (1) brote con un CV de 107,40% (Cuadro 1 y Gráfico 3). Los valores del CV especialmente a los 45 y 60 días fueron altos, lo que indica una gran variabilidad de los resultados registrados a través del tiempo. Esto también quizá se explica porque la variable NBE, es una característica varietal y no está bajo el control del investigador.

De acuerdo a los resultados de la prueba de Tukey al 5% las tres variedades comparten un mismo rango y al tratarse de una variable cuantitativa discreta se redondea un valor promedio de un brote por explante (Cuadro 1).

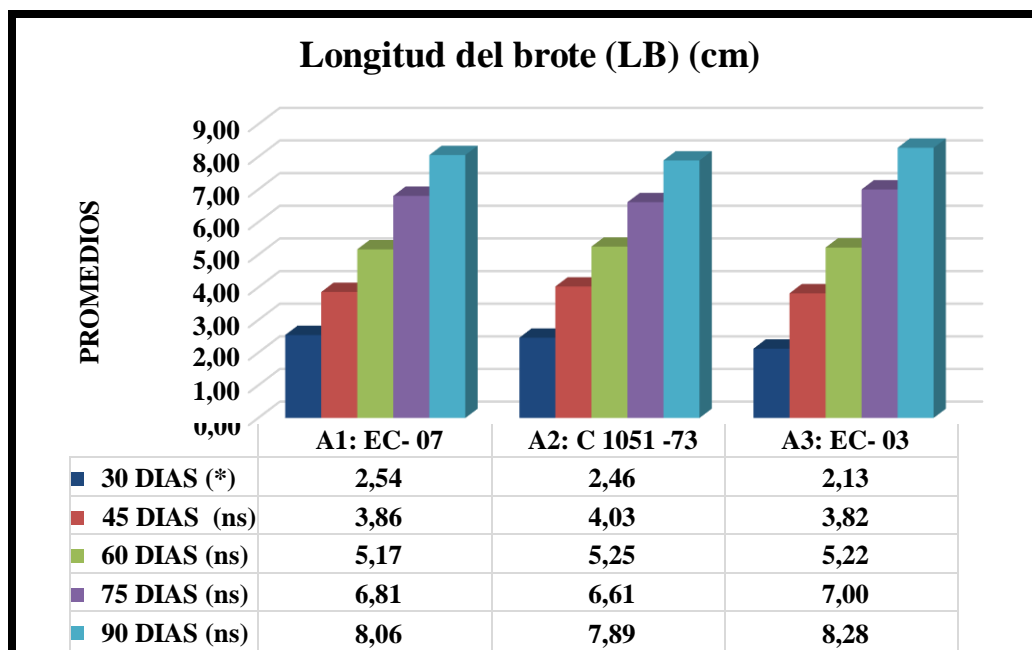


Gráfico N1. 4. Promedio del factor A de la variable longitud del brote (cm).

Para la variable cuantitativa continua longitud del brote, únicamente se determinaron diferencias estadísticas significativas al 5% (*) como efecto de las tres variedades de caña de azúcar a los 30 días; no así en las mediciones realizadas a los 45, 60, 75 y 90 días. Para los 30 días se calculó una media general de 2,38 cm y un CV de 20,46%. (Cuadro 1). A los 45 días se cuantificó una media general de 3,90 cm; a los 60 días 5,21 cm, a los 75 días 6,81 cm y a los 90 días 8,07 cm; es decir a mayor tiempo brotes más largos. Los valores del CV, estuvieron inferiores al 20%, lo que es indicador de mediciones confiables de la variable longitud del brote (Cuadro 1).

Con la prueba de Tukey al 5% el promedio superior de la variable LB a los 30 días se determinó en la variedad A1: EC-07 con 2,54 cm, seguido de A2: C1051-73 Cuba con 2,45 cm, y el menor promedio en A3: EC-03 con 2,12 cm. Los valores promedios a través del tiempo (45, 60, 75 y 90), estadísticamente fueron similares, aunque numéricamente con cierta variación entre las tres variedades. A los 90 días numéricamente el valor promedio superior tuvo la variedad A3: EC- 03 con 8,28 cm, seguido de A1: EC-07 con 8.06 cm y finalmente A2: C 1051-73 Cuba con 7,89 cm (Cuadro 1 y Gráfico 4).

La variable longitud del brote, es una característica varietal y está relacionada con las condiciones bioclimáticas del laboratorio. Dentro de un plan de multiplicación de plántulas in vitro, se prefieren cultivares precoces, resistentes a la contaminación y mayor crecimiento o longitud del brote.

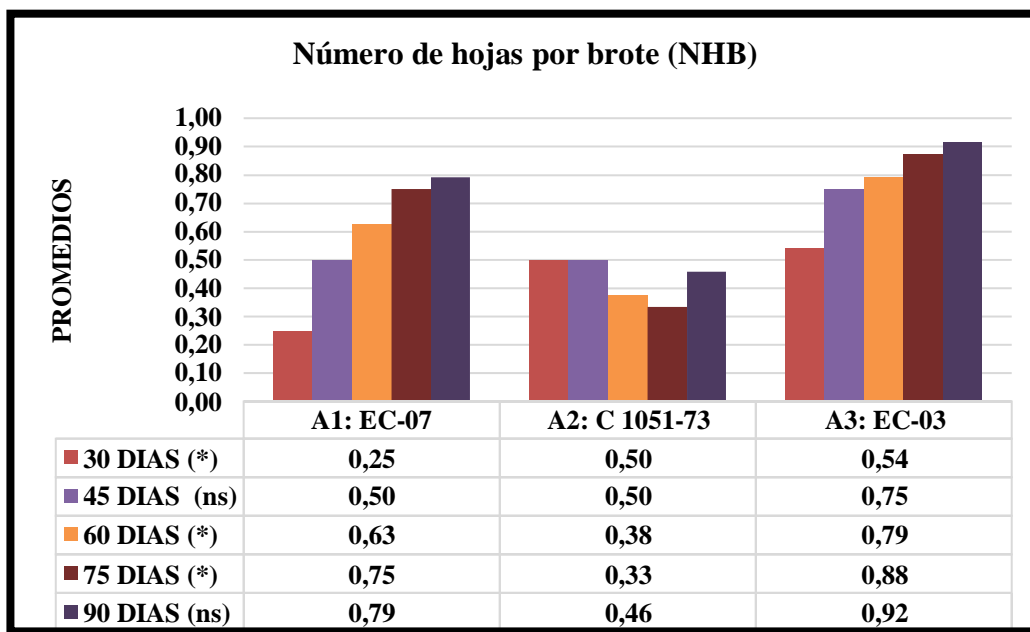


Gráfico N°. 5. Promedio del factor A de la variable número de hojas por brote.

La respuesta de las tres variedades de caña de azúcar en relación a la variable número de hojas por brote, se determinaron diferencias significativas al 5% (*) a los 30, 60 y 75 días. En las evaluaciones realizadas a los 45 y 90 días, no se detectaron diferencias estadísticas significativas (ns) (Cuadro 1).

El componente número de hojas por brote, es una variable cuantitativa discreta, por lo tanto, en la práctica se registró en promedio una hoja por brote a través del tiempo. La diferencia entre variedades a través del tiempo pudo darse al azar y estadísticamente se reportan datos con decimales por las operaciones de la sumatoria entre repeticiones y el cálculo de la media de cada tratamiento en función del tiempo. Los valores de los coeficientes de variación, a través del tiempo son altos; es decir se determinaron datos muy variables entre los tratamientos y las repeticiones, lo que se traduce en valores altos de la varianza y por ende del coeficiente de variación (Cuadro 1).

Con la prueba de Tukey al 5% a través del tiempo (30, 60 y 75 días) numéricamente la variedad A3: EC- 03, presentó los promedios más altos con 0,54; 0,79 y 0,88 hojas por brote. A los 45 y 90 días se presentaron diferencias numéricas, pero no significativas entre las tres variedades (Cuadro 1 y Gráfico 5).

El componente número de hojas por brote, es un atributo varietal y dependió también de las condiciones bioclimáticas del laboratorio, nivel de oxidación y la posible contaminación de los explantes.

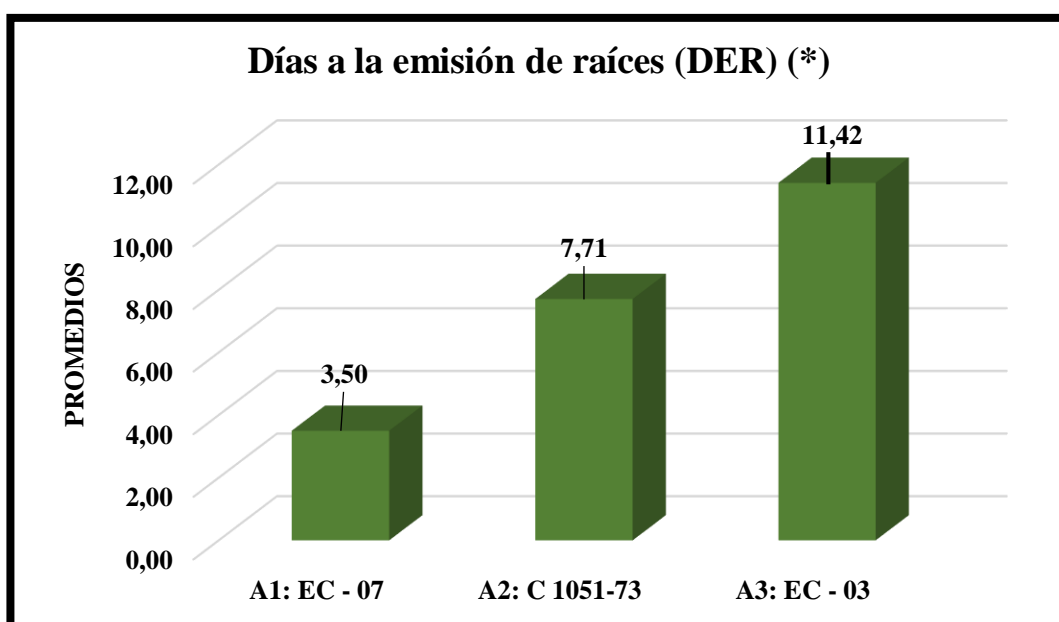


Gráfico N°. 6. Promedio del factor A de la variable días a la emisión de raíces.

Para la variable agronómica días a la emisión de las raíces, se calcularon diferencias significativas al 5% (*) como efecto de las tres variedades de caña de azúcar, con una media general de 7,54 (8) días y un valor alto del coeficiente de variación de 137,25%, lo que indica que existió mucha variabilidad en los datos registrados durante la propagación asexual in vitro a nivel de laboratorio (Cuadro 1). Este valor elevado también se explica que la variable días a la emisión de la raíz, no está bajo el control absoluto del investigador, más bien responde a una característica varietal.

Al aplicar la prueba Tukey al 5%, la variedad más tardía a la emisión de la raíz fue A3: EC- 03 con 11.43 (11) días, seguido de A2: C 1051-73 Cuba con 7,71 (8) días y la más precoz fue A1: EC- 07 con 3,5 (4) días (Cuadro 1 y Gráfico 6).

La variable días a la emisión de la raíz es varietal y está directamente relacionada también con los días a la emisión de brotes, número de hojas por brote y longitud del brote o altura de planta. Lo ideal es mantener un equilibrio entre el sistema radicular y aéreo de la planta, mismo que es varietal y además intervienen otros factores biológicos (sanidad) y físicos (temperatura, humedad, luz, medio de cultivo, etc.).

Los componentes agronómicos como días a la brotación, número de brotes por explante, longitud del brote, número de hojas por brote, días a la emisión y longitud de la raíz, están íntimamente relacionados y la mayor productividad en la propagación asexual de plántulas de caña de azúcar, son factores determinantes la calidad expresada a través de la sanidad, precocidad y vigor de las plantas.

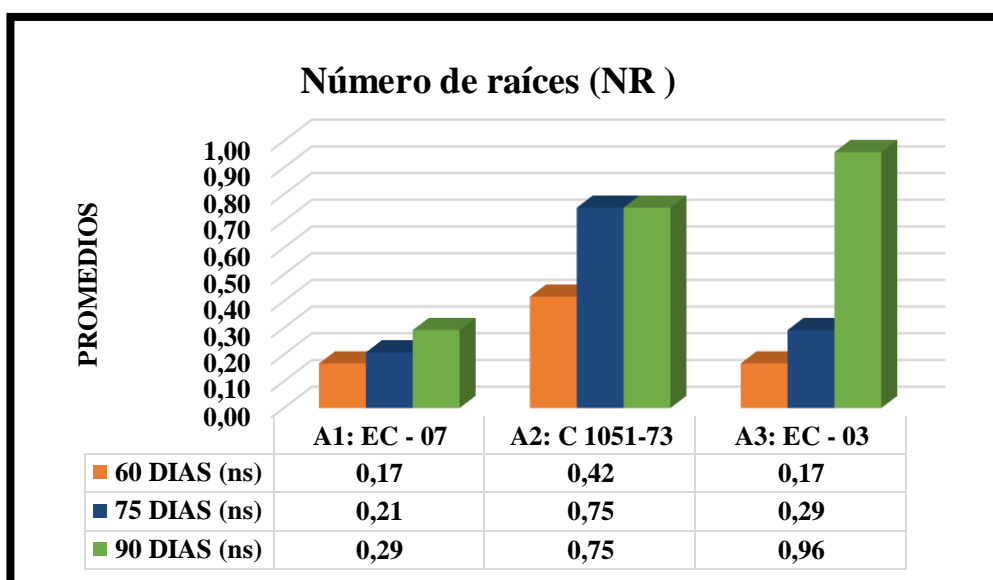


Gráfico N°. 7. Promedio del factor A de la variable número de raíces.

No se determinaron diferencias estadísticas significativas (ns) de acuerdo al análisis de varianza para la variable número de raíces a través del tiempo como efecto de las tres variedades de caña y estos resultados pudieron darse por los valores muy altos del coeficiente de variación. En promedio general a través del tiempo en las tres variedades apenas se registró una raíz por explante (Cuadro 1).

La variable número de raíces es una característica varietal y otros factores que pudieron incidir están la sanidad del explante, nivel de oxidación del medio de

cultivo, temperatura, cantidad y calidad de la luz solar y humedad relativa en el laboratorio.

Observado los promedios a los 90 días, la variedad A1: EC - 07 al tratarse de una variable cuantitativa discreta, no tendría ni una sola raíz, por la sumatoria y cálculo de la media, se reporta un valor de 0,29 y las variedades A2: C 1051-73 Cuba y A3: EC - 03 presentan valores medios de 0,75 y 0,96 (1), es decir una raíz por explante a los 90 días (Cuadro 1 y Gráfico 7).

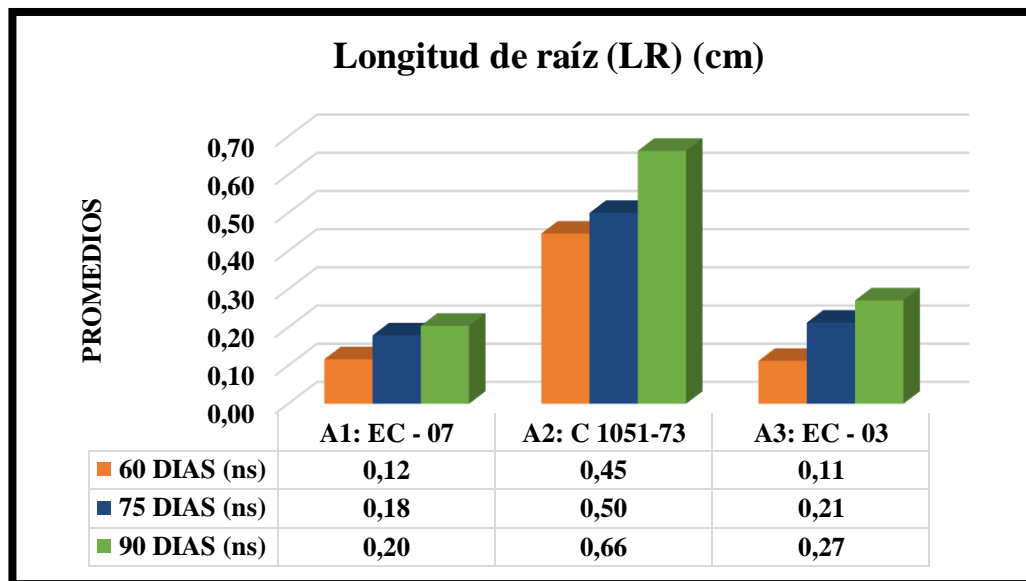


Gráfico N°. 8. Promedio del factor A de la variable longitud de la raíz (cm).

La respuesta agronómica de las tres variedades de caña de azúcar en cuanto a la variable cuantitativa continua longitud de la raíz (cm), estadísticamente fue similar (ns) con una media general a los 60 días de 0,23 cm, a los 75 días 0,30 cm y a los 90 días 0,38 cm, con valores muy elevados del coeficiente de variación, lo que incidió quizá para no encontrar diferencias estadísticas significativas entre las tres variedades de caña de azúcar (Cuadro 1).

Comparando los promedios de la longitud de la raíz en las tres variedades de caña a través del tiempo, numéricamente en respuesta consistente los promedios más elevados tuvieron la variedad A2: C 1051-73 Cuba con 0,44 cm a los 60 días; 0,50 cm a los 75 días y 0,66 cm a los 90 días. Los valores inferiores se registraron en las variedades A1: EC- 07 y A3: EC - 03 (Cuadro 1 y Gráfico 8).

El componente longitud de la raíz es varietal y claramente la mejor respuesta con un crecimiento de tipo lineal a través del tiempo presentó la variedad A2: C 1051-73 Cuba, quizá por su carga genética.

Esta respuesta indica que las tres variedades mostraron quizá una baja capacidad morfogénica para inducir la organogénesis directa en función del estímulo hormonal. La capacidad morfogénica de los cultivos in vitro está fuertemente determinada por la especie, incluso a nivel de variedades (Neumann et al., 2009).

Rangel, S. et al. 2016, en estudios realizados de micropropagación in vitro de tres variedades de caña de azúcar en Zacatecas, México, reportan a las 8 semanas valores promedios en rangos de entre 1,8 a 6,9 brotes; 5,4 a 6,5 cm de longitud del brote, 7.1 a 20,7 raíces y 4,8 a 10,8 cm de longitud de la raíz. Estos resultados diferentes sobre todo con el número y longitud de la raíz, quizá se debe al medio de cultivo, las variedades y el manejo del experimento en el laboratorio.

4.1.2 Factor B (Tipos de Citoquininas).

Cuadro N° 2. Resultados del análisis de Efecto Principal (EP) para comparar los promedios del Factor B (Tipos de citoquininas) en las variables: Número de explantes contaminados (NEC) (15, 45 y 60 días), Días a la brotación (DB), Número de brotes por explante (NBE) (30, 45 y 60 días), Longitud de los brotes (LB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Número de hojas por brote (NHB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Días a la emisión de raíces (DER), Número de raíces (NR) (60, 75 y 90 días) y Longitud de la raíz (LR) (60, 75 y 90 días). (Laguacoto II, 2022)

Promedios tipos de citoquininas (Factor B)							Efecto principal			CV (%)
Variables	Significancia	B1: K	Rango	B2: BAP	Rango	Media general				
NEC (45 días)	NS	0.3333	A	0.3056	A	0.3194 (1)	B1-B2	0.0277	Explantes	155.07
NEC (60 días)	NS	0.5000	A	0.5556	A	0.5278 (1)	B2-B1	0.0556	Explantes	103.14
DB	**	6.8056	B	8.4167	A	7.6111 (8días)	B2-B1	1.6111	días	6.57
NBE (30 días)	*	1.1111	A	1.0000	B	1.0556 (1)	B1- B2	0.1111	Explantes	20.38
NBE (45 días)	NS	0.8333	A	0.8333	A	0.8333 (1)	B1-B2	0.00	Explantes	83.27
NBE (60 días)	NS	0.7500	A	0.6667	A	0.7083 (1)	B1-B2	0.0833	Explantes	107.40
LB (30 días)	*	2.5278	A	2.2222	B	2.3750 cm	B1-B2	0.3056	cm	20.46
LB (45 días)	NS	3.9352	A	3.8704	A	3.9028 cm	B1-B2	0.0648	cm	19.26
LB (60 días)	NS	5.1389	A	5.2870	A	5.2130 cm	B2-B1	0.1481	cm	17.11
LB (75 días)	NS	6.7963	A	6.8148	A	6.8056 cm	B2-B1	0.0185	cm	14.52
LB (90 días)	NS	8.0370	A	8.1111	A	8.0741 cm	B2-B1	0.0741	cm	13.41
NHB (30 días)	**	0.5833	A	0.2778	B	0.4306 (1)	B1-B2	0.3055	Hojas	90.78
NHB (45 días)	NS	0.6389	A	0.5278	A	0.5833 (1)	B1-B2	0.1111	Hojas	85.71
NHB (60 días)	NS	0.6111	A	0.5833	A	0.5972 (1)	B1-B2	0.0278	Hojas	86.02
NHB (75 días)	NS	0.6667	A	0.6389	A	0.6528 (1)	B1-B2	0.0278	Hojas	104.75
NHB (90 días)	NS	0.8056	A	0.6389	A	0.7222 (1)	B1-B2	0.1667	Hojas	102.34
DER	NS	9.4167	A	5.6667	A	7.5417 (8días)	B1-B2	3.75	Días	137.25
NR (60 días)	*	0.4167	A	0.0833	B	0.2500 (1)	B1-B	0.3334	Raíz	249.44
NR (75 días)	NS	0.6111	A	0.2222	A	0.4167 (1)	B1-B2	0.3889	Raíz	251.93
NR (90 días)	NS	0.7778	A	0.5556	A	0.6667 (1)	B1-B2	0.2222	Raíz	158.77
LR (60)	NS	0.3444	A	0.1056	A	0.2250 cm	B1-B2	0.2388	cm	260.81
LR (75 días)	*	0.4833	A	0.1111	B	0.2972 cm	B1-B2	0.3722	cm	235.89
LR (90 días)	*	0.6194	A	0.1389	B	0.3792 cm	B1-B2	0.4805	cm	223.36

NS: No Significativo; *Significativo al 5%; ** Altamente significativo al 1%. Promedios con distinta letra son estadísticamente diferentes al 5%.
CV: Coeficiente de Variación.

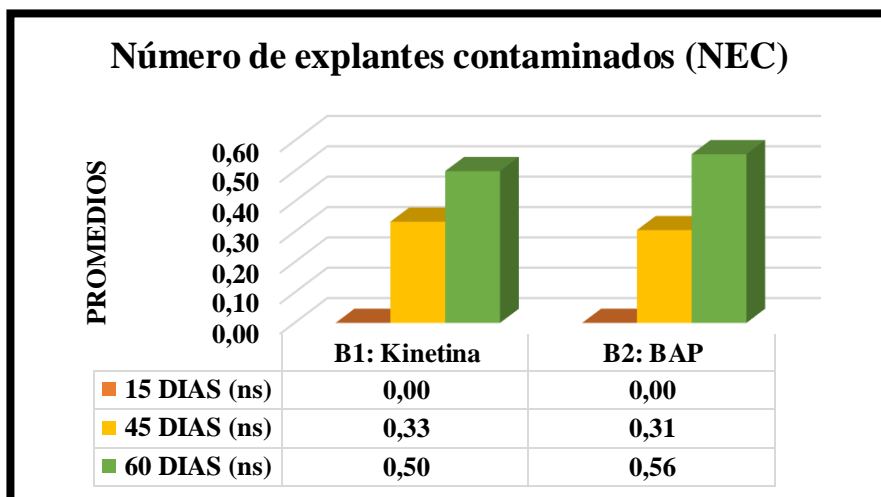


Gráfico N°. 9. Promedio del factor B de la variable número de explantes contaminados.

No se determinaron diferencias estadísticas significativas como efecto de los dos tipos de citoquininas en relación a la variable número de explantes contaminados a través del tiempo (Cuadro 2). A los 15 días siendo un período muy corto, no se evidenció visiblemente ninguna contaminación de los explantes. A los 45 días, se registró una media general de 0,32 y a los 60 días 0,53 que en la práctica al tratarse de una variable cuantitativa discreta es un valor medio menor de uno. Los valores del coeficiente de variación, son muy elevados con 155,07% a los 45 días y 103,14% a los 60 días (Cuadro 2). Efectivamente estos valores indican que existió una alta variabilidad de los datos por tratamiento y repetición, por lo tanto, no permitió encontrar diferencias significativas en el número de explantes contaminados a través del tiempo.

Siendo los valores promedios muy similares de la variable número de explantes contaminados, como efecto principal a los 60 días la Citoquinina BAP, tuvo 0,06 más que la Kinetina, pero es un valor muy pequeño e insignificante. En síntesis, los tipos de citoquininas, no incidieron significativamente en el número de explantes contaminados (Cuadro 2).

Numéricamente a los 60 días el promedio numérico superior se calculó en B2: Bencil Amino Purina con 0,56; es decir en la práctica con un explante contaminado (Cuadro 2 y Gráfico 9). Estos resultados muestran un bajo porcentaje de contaminación de los explantes a través del tiempo lo cual es un indicador del buen

manejo del experimento en el laboratorio y la sanidad que tuvieron las plantas madre.

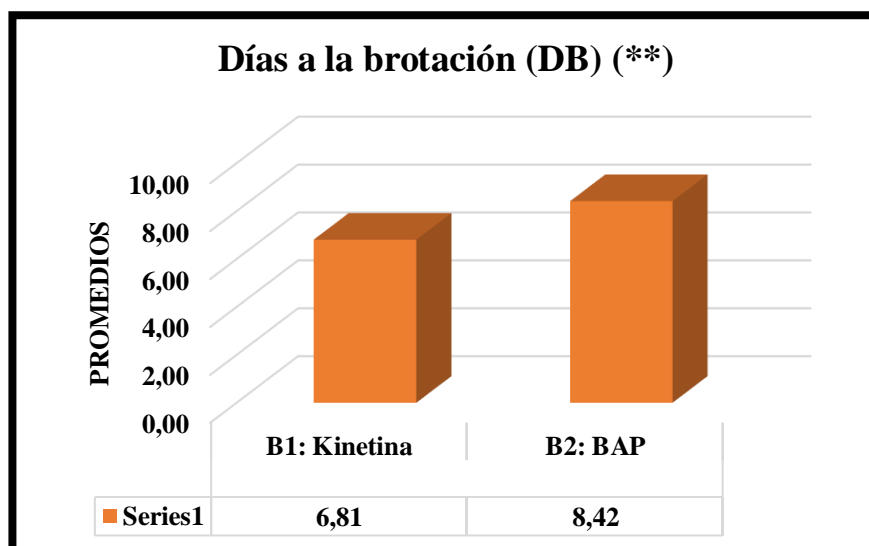


Gráfico N°. 10. Promedio del factor B de la variable días a la brotación.

Para la variable días a la brotación, existieron diferencias estadísticas altamente significativas (**) como efecto de los dos tipos de citoquininas, presentando una media general de 7,61 (8) días y un valor del coeficiente de variación de 6,57%. Como efecto principal el B2: BAP, registró 2 días más tardío que B1: Kinetina (Cuadro 2).

Con la prueba de Tukey al 5% la citoquinina más tardía fue B2: BAP con 8,42 (9) días y la más precoz B1: Kinetina con 6,81 (7) días (Cuadro 2 y Gráfico 10).

La diferencia mostrada en el Gráfico 10, destaca que B1: Kinetina respondió favorablemente en el tiempo de días a la brotación de los explantes, quizá porque dicha hormona presentó mejor respuesta al estrés biótico; esto se debe a que ésta promueve respuesta de defensas al momento de la brotación, lo que favorecen a la activación de los explantes. De acuerdo a los resultados la citoquinina mejor fue la Kinetina, demostrando mayor rapidez a la brotación de los explantes de caña de azúcar.

Nikole, R. et al. (2016) mencionan que las Kinetinas ejercen su acción principalmente en las semillas que están bajo condiciones de estrés.

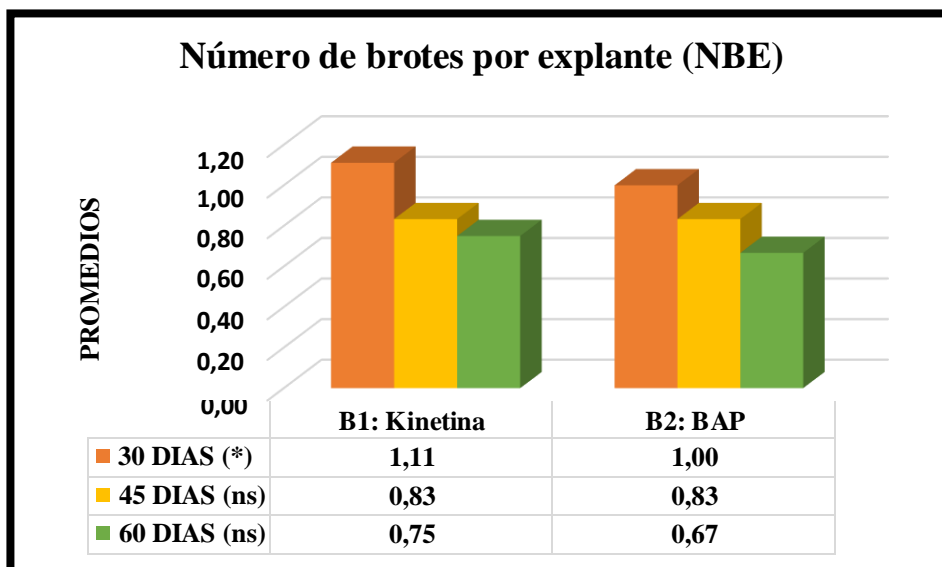


Gráfico N°. 11. Promedio del factor B de la variable número de brotes por explante (NBE)

Para el componente número de brotes por explante, se determinaron diferencias estadísticas significativas al 5% (*), únicamente a los 30 días, no así para los registros realizados a los 45 y 60 días. A los 30 días, se tuvo una media general de 1,06; a los 45 con 0,83 y a los 60 días con 0,71 brotes por explante. Observando los resultados numéricos, se infiere que a mayor tiempo se redujeron el número de brotes por explante, aunque al tratarse de una variable cuantitativa discreta (números enteros o clases) la media general estuvo con un brote por explante. Los valores del coeficiente de variación, son altos especialmente a los 45 y 60 días con el 83,27% y 107,40% (Cuadro 2).

A los 30 días, se calculó un efecto principal de 0,11 brotes más en la hormona Kinetina. Las diferencias a los 45 y 60 días, son irrelevantes, lo que confirma que los efectos de los dos tipos de citoquininas estadísticamente fueron iguales especialmente a los 45 y 60 días (Cuadro 2).

Con la prueba de Tukey al 5% a los 30 días el promedio más elevado se tuvo en B1: Kinetina con 1,11 brotes por explante, siendo diferente estadísticamente únicamente a los 30 días (Cuadro 2 y Gráfico 11).

Las citoquininas son un tipo de fitohormonas capaces de estimular la división celular y trabajan de forma conjunta con las auxinas. Las citoquininas estimulan la división celular, proliferación de yemas axilares (ruptura de la dominancia apical,

tienen acción morfogénica al inducir la formación de órganos. El balance entre auxinas y citoquininas, contribuyen al desarrollo de raíces y tallos. (Agrocode, 2012).

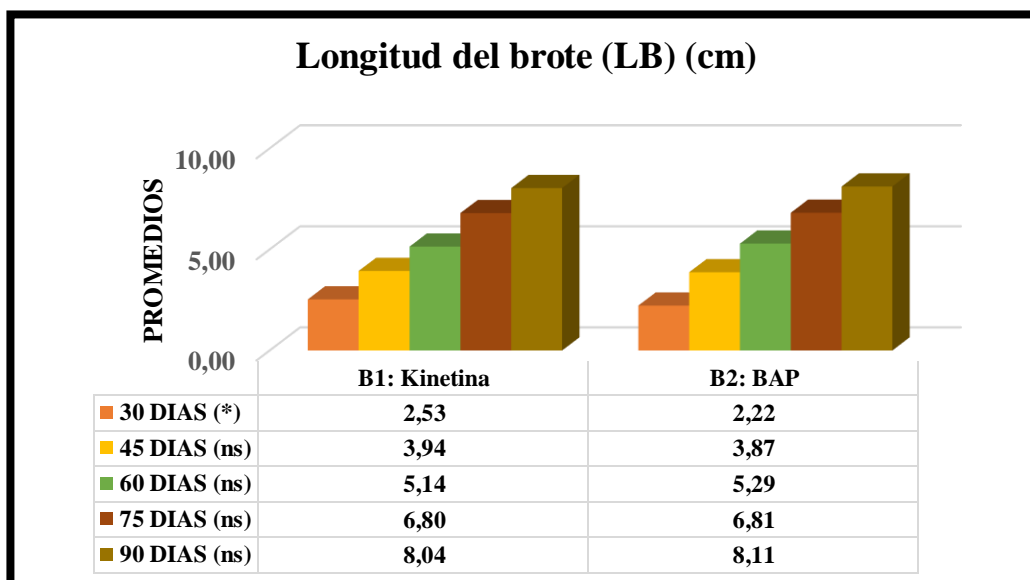


Gráfico N°. 12. Promedio del factor B de la variable longitud de los brotes (cm).

La respuesta agronómica de los dos tipos de citoquininas en relación a la variable longitud del brote en cm a través del tiempo, únicamente se determinaron diferencias estadísticas significativas al 5% (*) a los 30 días. El efecto principal de los dos tipos de hormonas, en promedio general B1: Kinetina, tuvo 0,31 cm más en comparación a B2: BAP. En las evaluaciones realizadas a los 45, 60, 75 y 90 días los resultados fueron similares. Los valores calculados del coeficiente de variación a través del tiempo, estuvieron menores al 20%, lo que significa que esta variable cuantitativa continua como es la longitud del brote fue bien medida y estuvo bajo el control del investigador (Cuadro 2).

Con la prueba de Tukey al 5% a los 30 días el promedio más elevado tuvo B1: Kinetina con 2,53 cm y B2: BAP con 2,22 cm de longitud del brote. A partir de los 45 días y hasta los 90 días el crecimiento o longitud del brote fue similar en los dos tipos de citoquininas y como es lógico a mayor tiempo, mayor fue la longitud del brote (Cuadro 2 y Gráfico 12).

Quizá la Kinetina fue más eficiente en cuanto a la longitud del brote, porque Promovió la organogénesis en los callos celulares. La organogénesis es un proceso bifásico, según los estudios de inducción de la formación de órganos a partir del cultivo de callos. Sus dos fases son la cito diferenciación, que da lugar a un primordio, y la organogénica, que determinará el tipo de órgano que se formará a partir del primordio. (Almanzar, J. 2016)

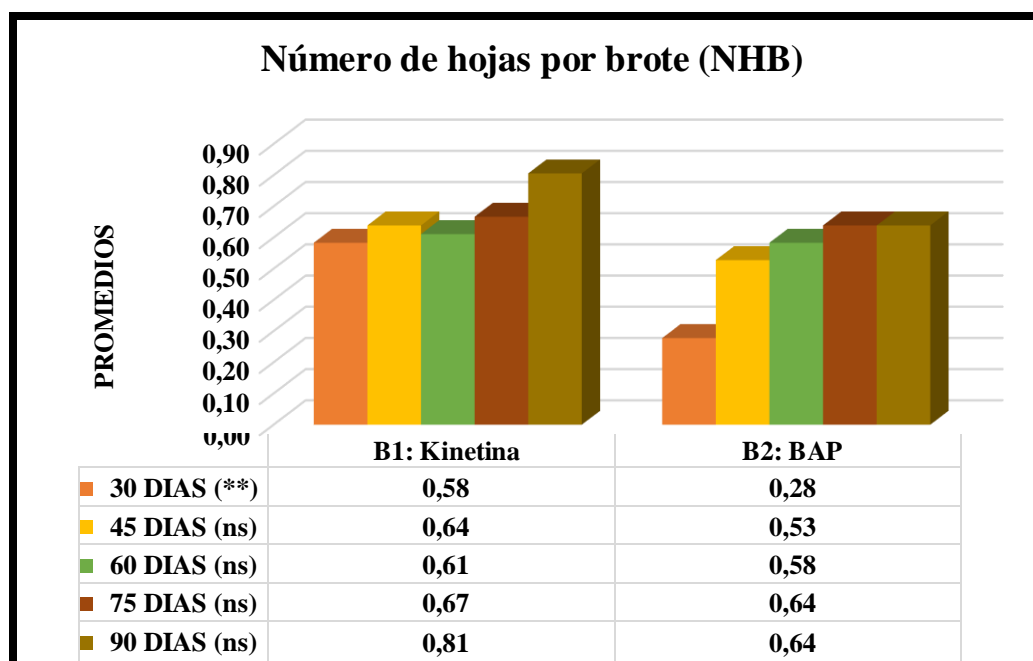


Gráfico N°. 13. Promedio del factor B de la variable número de hojas por brote.

Los resultados para el componente número de hojas por brote fueron muy diferentes (**), únicamente a los 30 días; no así para los registros realizados a los 45, 60, 75 y 90 días. Los valores del coeficiente de variación, son altos lo que indica que existió gran variabilidad de los datos del número de hojas en cada tiempo de evaluación (Cuadro 2).

La media general a través del tiempo en términos prácticos y al ser el número de hojas por brote una variable cuantitativa discreta, se redondeó a una hoja por brote. Con la prueba de Tukey al 5% a los 30 días el promedio superior tuvo B1: Kinetina con 0,58 hojas y el B2: BAP apenas con 0,28 hojas (Cuadro 2 y Gráfico 13). Se observó una estrecha relación entre la longitud del brote y el número de hojas por brote; es decir a mayor longitud o altura de la plántula, un mayor número de hojas.

Como efecto principal de los dos tipos de citoquininas, se calcularon valores muy bajos y estadísticamente no fueron significativos (Cuadro 2).

Como se infirió para los otros componentes como días a brotación, número de brotes por explante y la longitud del brote, la Kinetina fue ligeramente superior a la Bencil Amino Purina y quizá este comportamiento pudo darse porque la Kinetina estimula la división celular y el crecimiento, inhiben el desarrollo de las raíces laterales y rompen la latencia de las yemas axilares. (Almanzar, J. 2016)

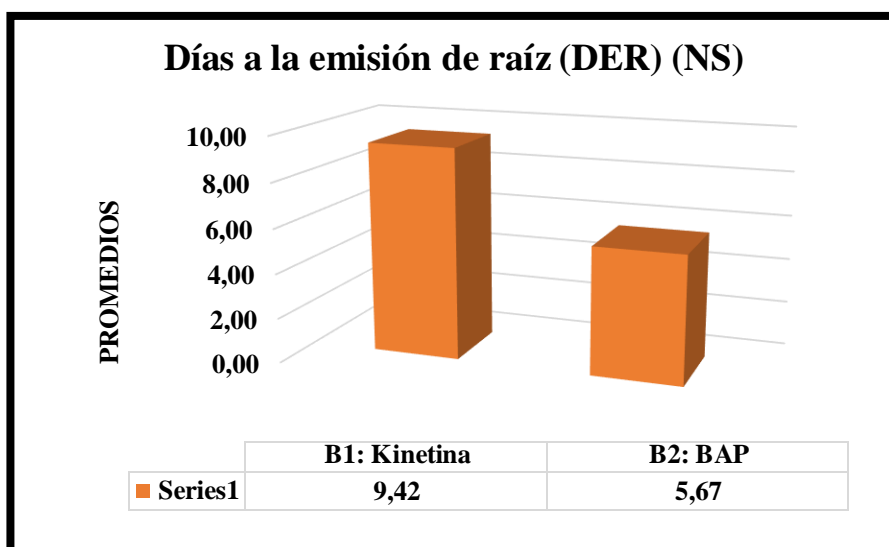


Gráfico N°. 14. Promedio del factor B de la variable días a la emisión de raíz.

La respuesta de los dos tipos de citoquininas en relación a la variable días a la emisión de la raíz, fue no significativo (ns), con una media general de 7,54 (8) días y un valor del coeficiente de variación de 137,35%. Como efecto principal para la variable días a la emisión de la raíz B1: Kinetina tuvo 4 días más que el B2: BAP (Cuadro 2).

Al comparar los promedios B1: Kinetina registró 9.42 días y B2: BAP con 5,67 días (Cuadro 2 y Gráfico 14).

En función de estos resultados, se infiere que la Kinetina retardó la emisión de raíces en el explante. Bencil Amino Purina tuvo un efecto más rápido para la emisión del sistema radical, quizá porque incrementó la eficiencia biológica y productiva del material vegetal propagado. Lo ideal es mantener un equilibrio entre el sistema radicular y aéreo de la planta.

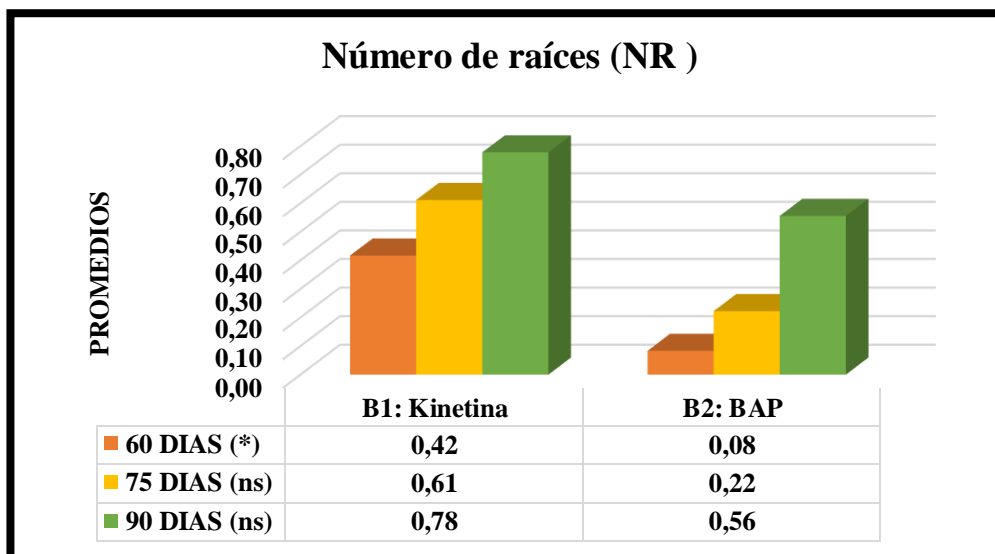


Gráfico N°. 15. Promedio del factor B de la variable número de raíces.

La respuesta de los dos tipos de hormonas en relación a la variable número de raíces, únicamente se detectaron diferencias significativas al 5% (*) a los 60 días, no así a los 75 y 90 días después de haber sembrado los explantes en el medio de cultivo. A los 60 días, se tuvo una media general de 0,25 raíces con un valor muy alto del coeficiente de variación con 249,44%, lo que indica que existió una gran variabilidad de los datos como respuesta de los diferentes tratamientos y repeticiones (Cuadro 2),

A los 75 y 90 días los valores de la media general fueron de 0,42 y 0,67 raíces por explante igualmente con valores altos del coeficiente de variación (Cuadro 2).

Con la prueba de Tukey al 5% para comparar los promedios de los dos tipos de hormonas a los 60 días, el promedio superior registró B1: Kinetina con 0,42 y en segundo lugar B2: BAP apenas con 0,08 raíces, lo que nos da un efecto principal de 0,33 raíces más en B1: Kinetina (Cuadro 2 y Gráfico 15).

Si bien es cierto numéricamente hay pequeñas diferencias para la variable cuantitativa discreta número de raíces, en la práctica y en promedio general apenas existió una raíz por explante. Quizá la mayor eficiencia para esta variable tuvo la citoquinina Kinetina por cuanto la literatura científica menciona que promueve la

expansión celular en cotiledones, hojas y favorece el desarrollo de los cloroplastos. (Almanzar, J. 2016)

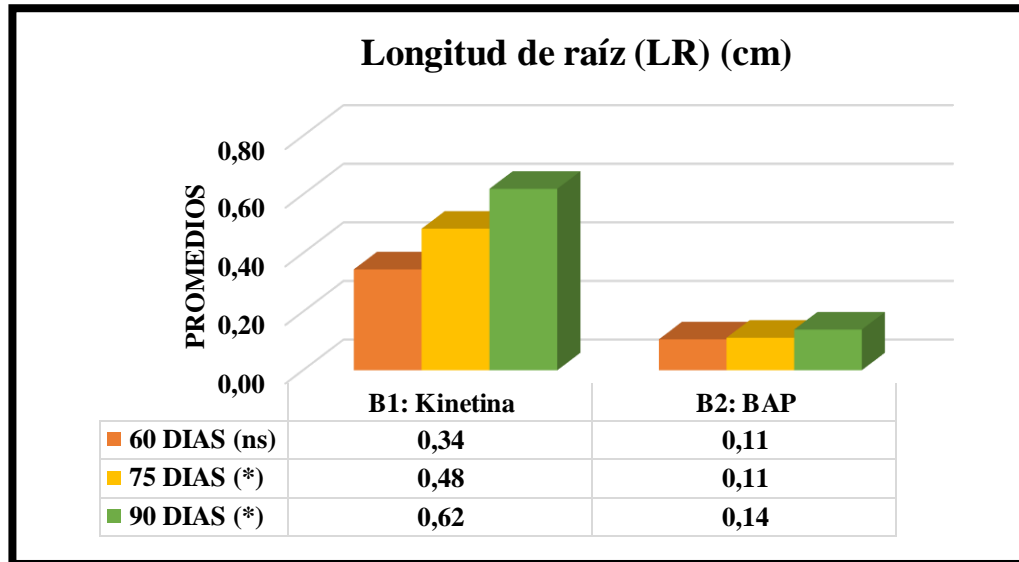


Gráfico N°. 16. Promedio del factor B de la variable longitud de raíz (LR)

Los dos tipos de hormonas, no incidieron significativamente (ns) en la variable longitud de la raíz en cm a los 60 días. Se calculó una media general de 0,23 cm con un valor muy alto del coeficiente de variación de 260,81% (Cuadro 2).

Sin embargo, a los 75 y 90 días se detectaron diferencias estadísticas significativas al 5% (*) como efecto de los dos tipos de hormonas. A los 75 días se calculó una media general de 0,30 cm y a los 90 días con 0,38 cm con valores altos del coeficiente de variación de 235,89% y 223,36% respectivamente (Cuadro 2).

Con la prueba de Tukey al 5% en respuesta consistente la citoquinina B1: Kinetina, registró los promedios más elevados con 0,48 cm y 0,62 cm respectivamente. Como efecto principal B1: Kinetina tuvo 0,37 cm y 0,48 cm más de longitud de la raíz en comparación a B2: BAP (Cuadro 2 y Gráfico 16).

En función de los principales componentes evaluados en esta investigación B1: Kinetina presentó mayor precocidad para los días a la brotación y promedios más elevados del número de brotes por explante, número de hojas, longitud del brote, número y longitud de la raíz. Quizá esta hormona estimuló de mejor manera la

división celular, y el crecimiento del explante manteniendo un mejor balance entre el sistema aéreo y radicular.

Quizá la Kinetina resultó ser la citoquinina más eficaz para el desarrollo en las características agronómicas del cultivo de caña de azúcar ya que es una fitohormona encargada de inducir la formación de callos y para regenerar tejidos de plantas a partir de callos, ya que mejora los procesos metabólicos y fisiológicos de las plántulas estimulando la división celular y el crecimiento de hojas.

4.1.3 Factor C (Dosis de Citoquininas)

Cuadro N° 3. Resultados de la prueba de Tukey al 5% para comparar los promedios del Factor C (Dosis de citoquininas) en las variables: Número de explantes contaminados (NEC) (15, 45 y 60 días), Días a la brotación (DB), Número de brotes por explante (NBE) (30, 45 y 60 días), Longitud de los brotes (LB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Número de hojas por brote (NHB) (30, 45, 60, 75 y 90 días), Días a la emisión de raíces (DER), Número de raíces (NR) (60, 75 y 90 días) y Longitud de la raíz (LR) (60, 75 y 90 días). (Laguacoto II, 2022)

Promedios dosis de citoquinas (Factor C) (mg/l)									
Variables	Significancia	C1: 2	Rango	C2: 4	Rango	C3: 6	Rango	Media general	CV (%)
NEC (45días)	NS	0.3333	A	0.2500	A	0.3750	A	0.3194 (1)	155.07
NEC (60días)	NS	0.5833	A	0.5000	A	0.5000	A	0.5278 (1)	103.14
DB	**	7.5833	B	6.6667	C	8.5833	A	7.6111 (8días)	6.57
NBE (30días)	NS	1.1250	A	1.0000	A	1.0417	A	1.0556 (1)	20.38
NBE (45días)	NS	0.9167	A	0.7917	A	0.7917	A	0.8333 (1)	83.27
NBE (60días)	NS	0.7917	A	0.6667	A	0.6667	A	0.7083 (1)	107.40
LB (30días)	NS	2.3750	A	2.4167	A	2.3333	A	2.3750 cm	20.46
LB (45días)	NS	3.6250	A	4.1111	A	3.9722	A	3.9028 cm	19.26
LB (60días)	NS	5.1528	A	5.5139	A	4.9722	A	5.2130 cm	17.11
LB (75días)	*	7.3056	A	6.8750	AB	6.2361	B	6.8056 cm	14.52
LB (90días)	*	8.7222	A	8.0278	AB	7.4722	B	8.0741 cm	13.41
NHB (30días)	NS	0.3750	A	0.5417	A	0.3750	A	0.4306 (1)	90.78
NHB (45días)	NS	0.6250	A	0.5000	A	0.6250	A	0.5833 (1)	85.71
NHB (60días)	NS	0.6250	A	0.5833	A	0.5833	A	0.5972 (1)	86.02
NHB (75días)	NS	0.6667	A	0.7500	A	0.5417	A	0.6528 (1)	104.75
NHB (90días)	NS	0.6667	A	0.8333	A	0.6667	A	0.7222 (1)	102.34
DER	NS	4.8333	A	8.3750	A	9.4167	A	7.5417 (8días)	137.25
NR (60días)	NS	0.2083	A	0.1667	A	0.3750	A	0.2500 (1)	249.44
NR (75días)	NS	0.2500	A	0.4167	A	0.5833	A	0.4167 (1)	251.93
NR (90días)	NS	0.4167	A	0.8333	A	0.7500	A	0.6667 (1)	158.77
LR (60)	NS	0.1000	A	0.2083	A	0.3667	A	0.2250 cm	260.81
LR (75días)	NS	0.1375	A	0.2083	A	0.5458	A	0.2972 cm	235.89
LR (90días)	NS	0.1625	A	0.2750	A	0.7000	A	0.3792 cm	223.36

NS: No Significativo. *Significativo al 5%. ** Altamente significativo al 1%. Promedios con distinta letra son estadísticamente diferentes al 5%. CV = Coeficiente de Variación.

El factor C: dosis de citoquininas, es un tipo de tratamiento cuantitativo y con estructura (2, 4 y 6 mg/l); por tanto, interesa saber qué tipo de respuesta se presentó en las variables evaluadas. Al tener tres dosis (C- 1 = 2), podemos evaluar si se presentó una respuesta lineal (a mayor dosis de citoquininas, promedios más altos o menores de los componentes evaluados) y respuesta cuadrática (significa que se determinó un punto de inflexión o cambio de dirección en la respuesta). Es por esta razón que los gráficos del factor C, se representan las tendencias de los promedios con líneas y no en barras como fueron los factores A (clones de caña de azúcar) y el factor B (tipos de citoquininas).

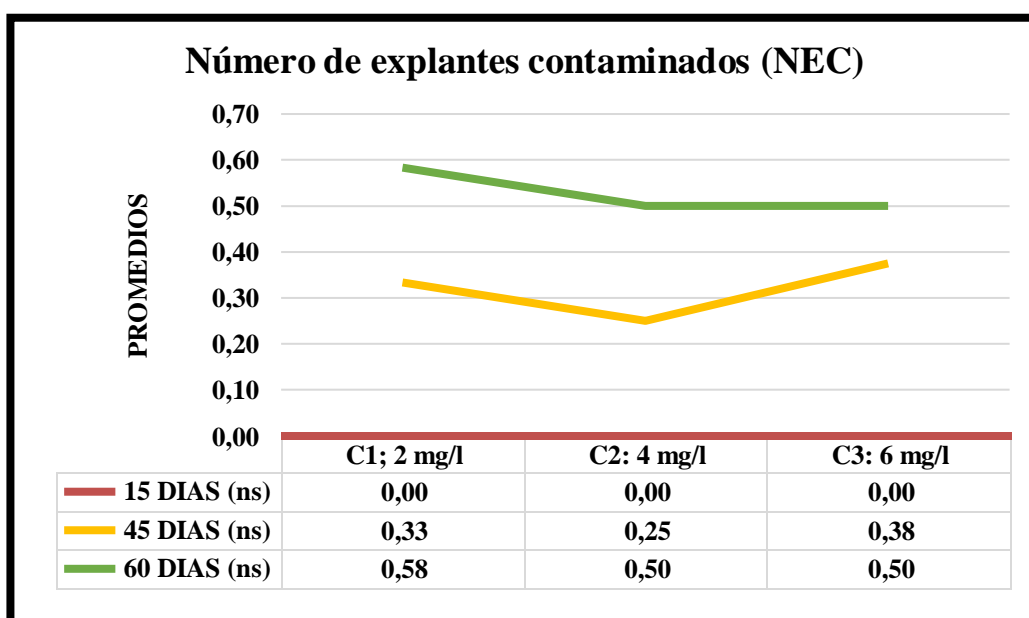


Gráfico N°. 17. Promedio del factor C de la variable número de explantes contaminados.

La respuesta de las dosis de citoquininas en cuanto a la variable número de explantes contaminados a través del tiempo (15, 45 y 60 días), fue no significativo (ns). A los 15 días, no se registraron explantes contaminados. A los 45 días numéricamente se infiere una respuesta cuadrática con un punto de inflexión en la dosis de 4 mg/l. En la evaluación realizada a los 60 días, numéricamente se presentó mayor contaminación a menor dosis de citoquininas. A los 45 días se calculó una media general de 0,32 explantes contaminados y a los 60 días un promedio de 0,53. Los valores de los coeficientes de variación, fueron muy altos con 155,07 % y 103,14% lo que significa que existió una gran variabilidad de los resultados por

efecto de los datos registrados en los tratamientos y repeticiones a través del tiempo. (Cuadro 3 y Gráfico 17).

Al comparar los promedios, a los 45 días, ligeramente el promedio más elevado se registró en la dosis de 6 mg/l con 0,38 y a los 60 días en respuesta inversa la media más elevada se determinó en la dosis de 2 mg/l con 0,58 explantes contaminados. La variable número de explantes contaminados, es cuantitativa discreta (se refiere a números enteros, clases o grupos), por tanto, se infiere que el nivel de contaminación estuvo alrededor de uno y con respuestas de tipo lineal y cuadrática pero no significativas y poco consistentes (Cuadro 3 y Gráfico 17).

Las dosis de citoquininas, son determinantes en la respuesta de los componentes agronómicos, pero al menos para esta variable no incidieron significativamente quizá porque los clones de caña de azúcar en su carga genética tienen concentraciones importantes de auxinas y citoquininas. Como es lógico a mayor tiempo o edad de los explantes, se incrementó la contaminación y posiblemente haya sido por hongos o bacterias.

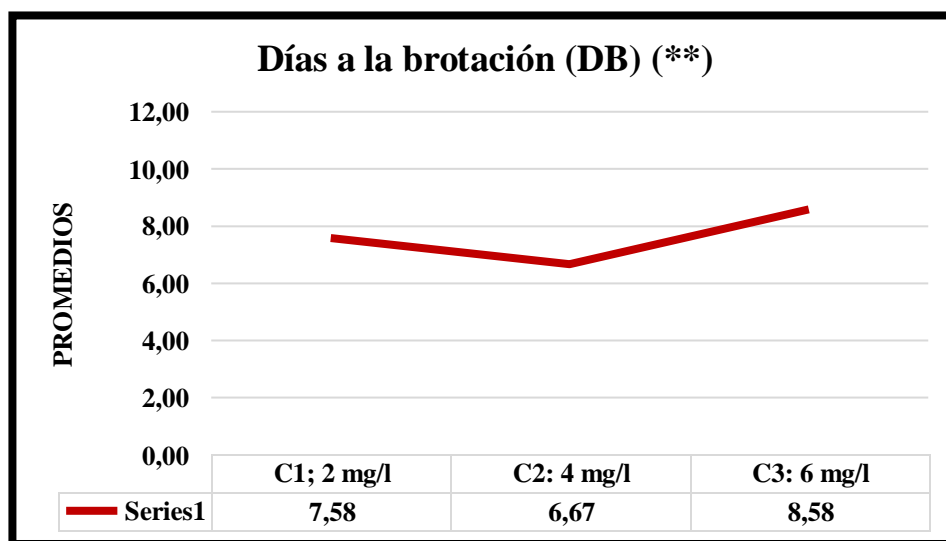


Gráfico N°. 18. Promedio del factor C de la variable días a la brotación.

Se determinó un efecto altamente significativo (**) de las dosis de citoquininas sobre la variable días a la brotación. Se calculó una media general de 8 días con un valor del coeficiente de variación bajo de 6,57% y una tendencia cuadrática (con un punto de inflexión en la dosis de 4 mg/l) (Cuadro 3 y Gráfico 18).

Con la prueba de Tukey al 5% a mayor dosis, se determinó el promedio superior con 9 días. Quizá por efectos del azar o error experimental, el promedio inferior se registró en la dosis de 4 mg/l con 6,67 (7) días. En función de estos resultados, se infiere que en la dosis de 4 mg/l mayor precocidad, pero con un solo experimento los datos aún no son consistentes. La variable días a la brotación quizá tuvo una relación directa con el número de explantes contaminados (Cuadro 3 y Gráficos 17 y 18).

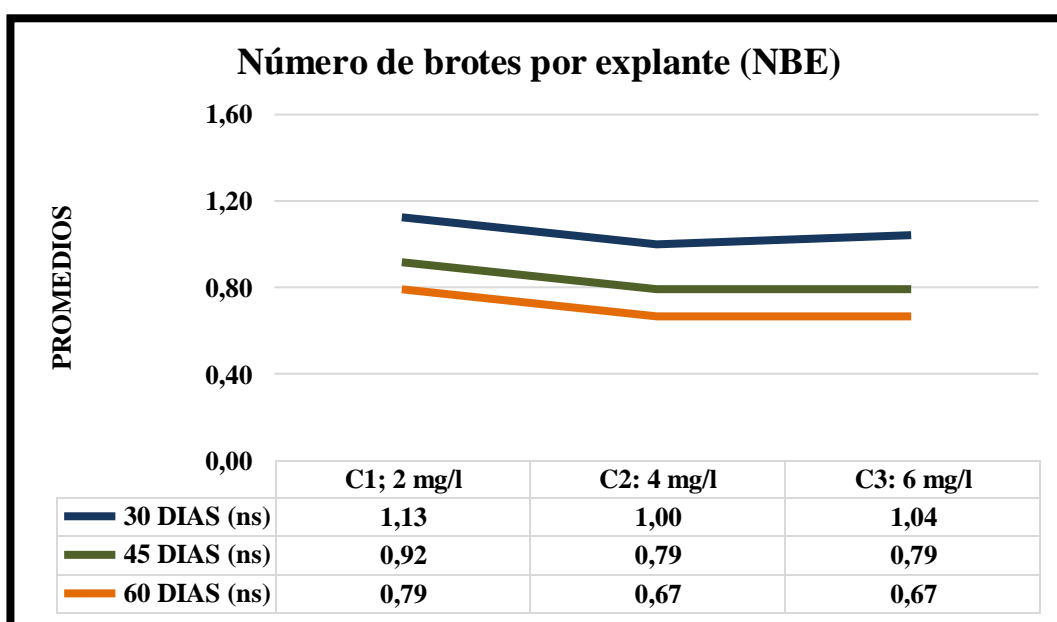


Gráfico N°. 19. Promedio del factor C de la variable número de brotes por explante.

No se determinaron efectos significativos de las dosis de citoquininas en la variable número de brotes por explante a través del tiempo (30, 45 y 60 días). Observando el Gráfico 19, se deduce una respuesta lineal negativa pero no significativa; es decir a mayores dosis de citoquininas, se mantuvo o redujo el número de brotes por explante (Cuadro 3 y Gráfico 19). Igualmente, el componente número de brotes por explante es una variable cuantitativa discreta y en respuesta general se tuvo en promedio apenas un brote por explante aún a los 60 días y quizá esto se debe a que existió una alta variabilidad en los datos especialmente a los 45 y 60 días con valores del coeficiente de variación elevados de 83,27% y 107,4% respectivamente (Cuadro 3 y Gráfico 19).

Comparando los resultados del factor C: dosis de citoquininas, los promedios más altos se calcularon en la dosis de 2 mg/l con 1,13 a los 30 días; 0,92 a los 45 días y 0.79 a los 60 días (Cuadro 3 y Gráfico 19). Los promedios de la variable número de brotes por explante a través del tiempo y dosis de citoquininas, fueron bajos.

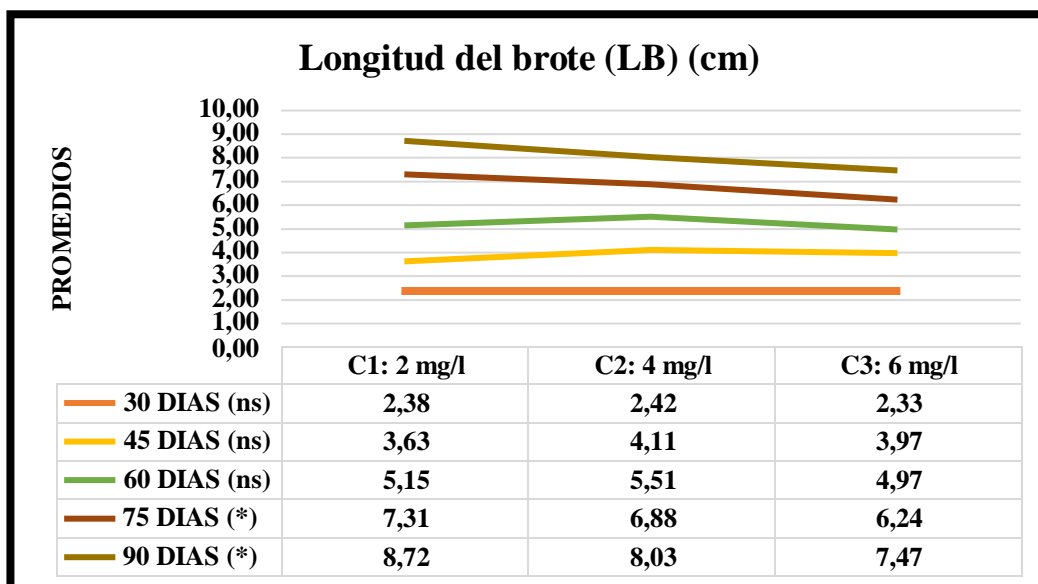


Gráfico N°. 20. Promedio del factor C de la variable Longitud del brote.

Para una de las variables más importantes del cultivo in vitro como es la longitud del brote, no hubo un efecto significativo (ns) de las dosis de las citoquininas en las evaluaciones realizadas a los 30, 45 y 60 días; sin embargo, si se calcularon diferencias estadísticas significativas al 5% (*) a los 75 y 90 días. A los 30 días se calculó una media general de 2,38 cm: a los 45 días 3,90 cm a los 60 días 5,21 cm, a los 75 días 6,81 cm y a los 90 días 8,07 cm respectivamente. Los valores del coeficiente de variación fueron bajos y esto se explica porque la variable longitud del brote está bajo las mediciones o control del investigador y únicamente las diferencias se darán por efecto de las dosis de citoquininas. En respuesta general pero no significativa, se calculó tendencias lineales; es decir a mayores dosis de citoquininas, se redujo la longitud del brote (Cuadro 3 y Gráfico 20).

Con la prueba de separación de promedios de los tratamientos a los 30, 45 y 60 días los valores más elevados numéricamente se tuvieron en la dosis de 4 mg/l; sin embargo, esta respuesta cambió a los 75 y 90 días en donde los promedios

superiores se cuantificaron en forma significativa en la dosis de 2 mg/l con 7,31 y 8,72 cm respectivamente. Como es lógico a mayor tiempo mayor longitud o crecimiento de los brotes (Cuadro 3 y Gráfico 20).

La variable longitud del brote a más de las concentraciones de citoquininas, depende de las variedades de caña, los tipos de citoquininas, la interacción con los factores bioclimáticos del laboratorio, especialmente en relación a la temperatura, cantidad y calidad de luz artificial, humedad relativa, oxidación y contaminación de los explantes.

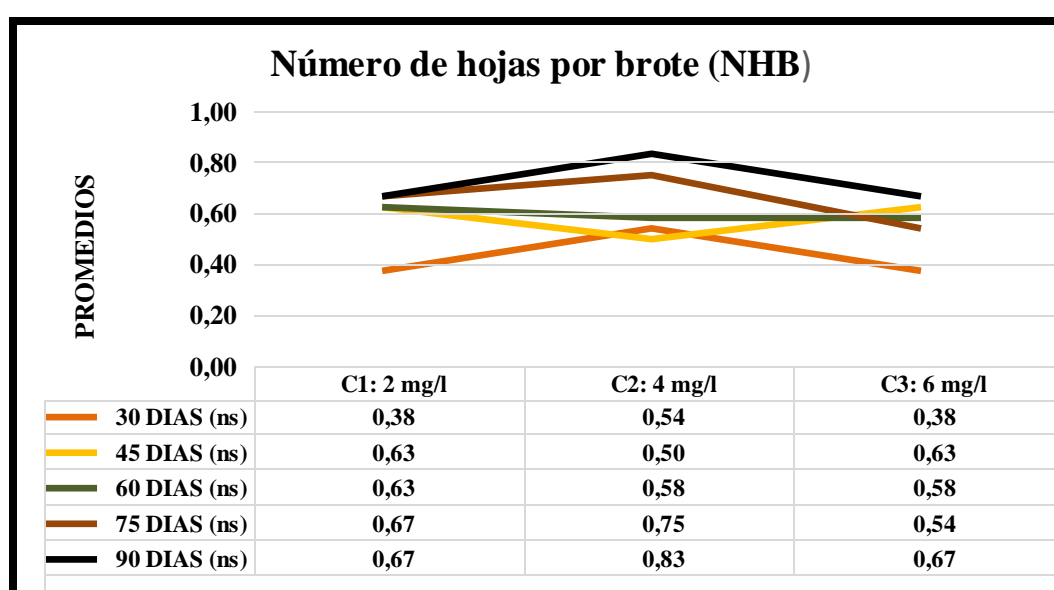


Gráfico N°. 21. Promedio del factor C de la variable número de hojas por brote.

Las concentraciones o dosis de citoquininas, no incidieron significativamente (ns) sobre la variable número de hojas por brote a través del tiempo. Numéricamente como es lógico a mayor tiempo un leve incremento del número de hojas por brote.

En respuesta similar a través del tiempo, pero no significativa se cuantificaron respuestas lineales y cuadráticas como efecto de las concentraciones de citoquininas (Cuadro 3 y Gráfico 21). En promedio general al tratarse de una variable cuantitativa discreta (número enteros o grupo) como es el número de hojas por explante se determinó apenas una hoja por explante. Los valores de los coeficientes de variación calculados, fueron muy altos lo que indica una gran variabilidad de los datos entre los tratamientos y las repeticiones. Estos valores elevados de los

coeficientes de variación infieren que quizá las condiciones bioclimáticas del laboratorio, no fueron completamente homogéneas o quizá existió un error experimental muy elevado.

Comparando los promedios del número de hojas por explante a través del tiempo, la respuesta no fue consistente de las concentraciones de citoquininas. A los 30 días el promedio numérico superior presentó la dosis de 4 mg/l con 0,54 hojas. A los 45 días las dosis de 2 mg/l y 6 mg/l tuvieron el mismo valor de 0,63 hojas. Nuevamente a los 60 días el valor superior tuvo la dosis de 2 mg/l. Finalmente a los 75 y 90 días en respuesta consistente los valores promedios más altos se cuantificaron en la dosis de 4 mg/l con 0,75 y 0,83 hojas por explante (Cuadro 3 y Gráfico 21). Esta respuesta poco consistente de las dosis de citoquininas a través del tiempo pudo darse quizá por el error experimental, manejo del experimento y condiciones bioclimáticas del laboratorio.

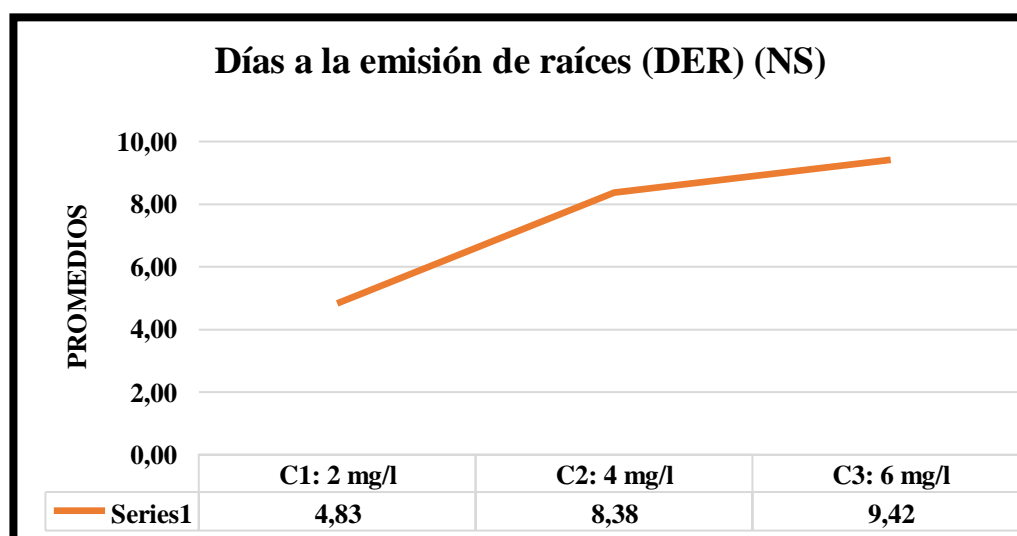


Gráfico N°. 22. Promedio del factor B de la variable días a la emisión de raíces.

El análisis de varianza para la variable días a la emisión de la raíz, no determinó diferencias significativas (ns) como efecto de las dosis de citoquininas. Se registró una media general de 8 días y un valor muy alto del coeficiente de variación con 137,25%, lo que explica por qué no se detectaron diferencias estadísticas significativas entre las tres dosis de citoquininas. Como respuesta de las concentraciones de las hormonas, se determinó un efecto lineal; es decir a mayor

dosis, más tiempo de emisión de la raíz (Cuadro 3 y Gráfico 22). La variable días a la emisión de la raíz, estuvo directamente relacionada con el componente días a brotación; es decir fueron variables estrechamente relacionadas.

Comparando numéricamente los promedios, tratamientos más tardíos se registraron en la dosis de 6 mg/l con un promedio de 9,42 días y en la concentración de 2 mg/l, mayor precocidad con 4,83 (5) días (Cuadro 3 y Gráfico 22).

En la práctica las mejores opciones tecnológicas para obtener una mayor productividad en la multiplicación asexual de plántulas in vitro son atributos como la sanidad, precocidad, vigor, altura de plantas, un equilibrio entre el sistema aéreo y radicular de las plantas.

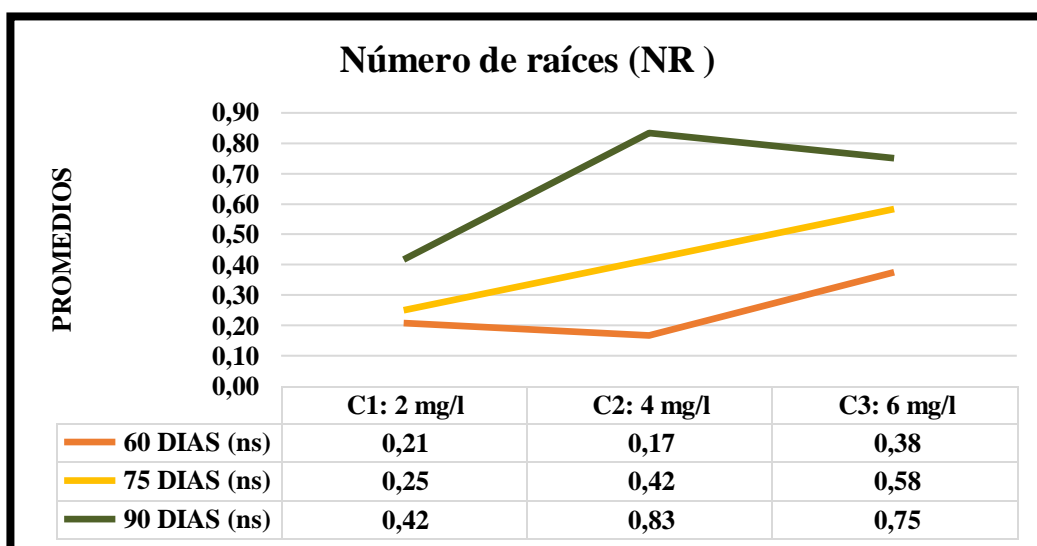


Gráfico N°. 23. Promedio del factor C de la variable número de raíces.

No existieron diferencias estadísticas significativas (ns) de la variable número de raíces por explante a través del tiempo. A los 60 días se determinó una media general de 0,25; a los 75 días 0,42 y a los 90 días 0,67 raíces por explante. Los valores del coeficiente de variación, son muy elevados lo que indica una gran variabilidad de los datos. Se determinaron respuestas lineal y cuadrática pero no significativas como efecto de las tres dosis de citoquininas (Cuadro 3 y Gráfico 23).

Al comparar los promedios de los tratamientos en respuesta consistente a los 60 y 75 días el promedio superior se registró en la dosis de 6 mg/l con 0,38 y 0,58 raíces

por explante; sin embargo, a los 90 días el promedio numérico más alto se dio en la dosis de 4 mg/l con 0,83 raíces (Cuadro 3 y Gráfico 23).

Los valores reportados como efecto de las concentraciones de citoquininas, son relativamente bajos, apenas como vimos en otras variables con un brote, una hoja y una raíz por explante. Estos resultados sugieren que están incidiendo otros factores no contemplados en esta investigación. Podría ser el efecto varietal, el tipo de citoquinina, la dosis, el nivel de contaminación, oxidación, el tipo de medio de cultivo, la precisión en la toma de datos especialmente las que estén bajo el control del investigador, la edad de los explantes, etc.

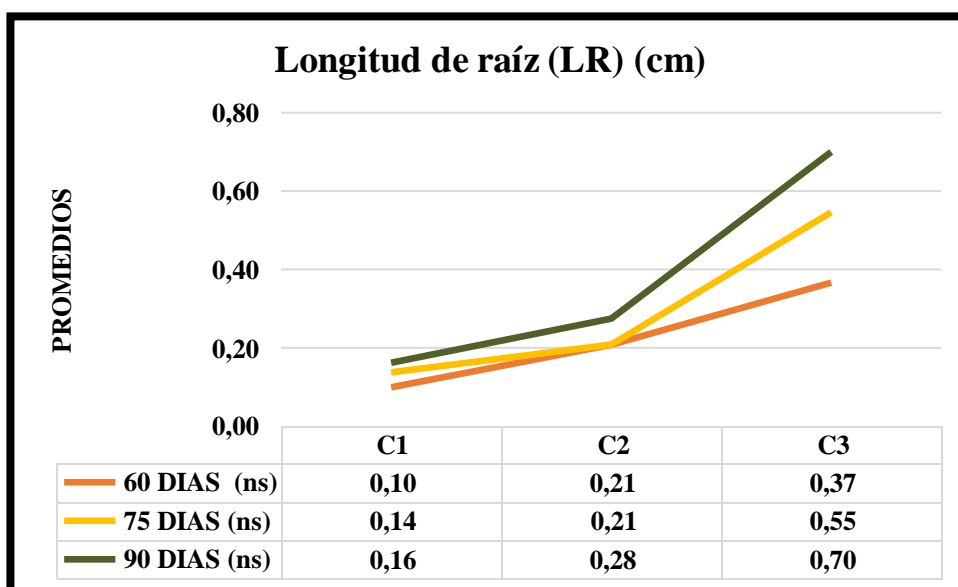


Gráfico N°. 24. Promedio del factor C de la variable longitud de la raíz.

La respuesta agronómica de las concentraciones de citoquininas en relación a la variable longitud de la raíz, fue no significativo (sn), a través del tiempo (60, 75 y 90 días). Se calcularon medias generales de 0,23; 0,30 y 0,38 cm respectivamente a través del tiempo. Estos resultados como es lógico a mayor tiempo mayor crecimiento del sistema radicular y estas respuestas fueron lineales, pero no significativas; es decir a mayor concentración de las citoquininas, mayor longitud de la raíz (Cuadro 3 y Gráfico 24).

Los valores de los coeficientes de variación son muy altos, lo que no permitió detectar diferencias estadísticas significativas por cuanto el cuadrado medio del error o varianza es elevado en los datos de campo.

Los componentes evaluados en esta investigación en síntesis no fueron afectados significativamente por las concentraciones de citoquininas, con excepción de la variable días a brotación y la longitud del brote a los 75 y 90 días (Cuadro 3). Definitivamente hay otros factores que pueden estar incidiendo en la multiplicación in vitro de la caña de azúcar como edad y sanidad de los explantes, temperatura, cantidad y calidad de luz solar, humedad relativa, tipo de hormona, componentes y concentraciones del medio de cultivo, manejo del experimento, precisión en la toma de datos, etc.

4.2 Análisis de correlación y regresión lineal

Cuadro N° 4. Análisis de correlación y regresión lineal de las variables independientes que presentaron diferencias estadísticas significativas con la variable dependiente Longitud del Brote (cm) a los 90 días.

Variab les independientes	Coeficiente de correlación (r)	Coeficiente de regresión (b)	Coeficiente de Determinación (R² %)
LB30 Días (**)	0.5372	1.20130	29
LB45 Días (**)	0.6750	1.01147	46
LB60 Días (**)	0.7817	1.01185	61
LB75 Días (**)	0.9488	0.95618	90
NHB30 Días (*)	0.3648	1.36640	20
NHB45 Días (**)	0.4242	1.73077	18
NHB75 Días (**)	0.4439	1.26464	20
NHB 90 Días (**)	0.4806	1.22650	23

***Significativo al 5%. **Altamente significativo al 1%.**

4.2.1 Coeficiente de correlación(r)

Correlación es la relación o estrechez significativa o negativa entre dos variables y su valor máximo es +/-1 y no tiene unidades (Beaver, J. 2002). En esta investigación, las variables que tuvieron una estrechez altamente significativa y positiva con la longitud del brote a los 90 días fueron: la longitud del brote medido

a través del tiempo (30, 45, 60 y 75 días) y el número de hojas por brote registrado a través del tiempo (30, 45, 60, 75 y 90 días) (Cuadro 4). Obviamente plantas más vigorosas y mayor índice de área foliar, un mayor crecimiento o longitud del brote. Es conocido que las plantas a través de sus hojas realizan la fotosíntesis, respiración o transpiración y son capaces de tomar por las hojas algunos nutrientes e incorporarlos a los haces vasculares del tallo que actúan en el sistema de transporte de agua, minerales y nutrientes que favorecen al desarrollo de las plantas.

4.2.2 Coeficiente de regresión (b)

Regresión es el incremento o disminución de la variable dependiente (Longitud del brote a los 90 días: Y), por cada cambio único de las variables independientes (Xs). (Beaver, J. 2002). En este experimento las variables que contribuyeron a incrementar significativamente la longitud del brote a los 90 días fueron: la longitud del brote a través del tiempo (30, 45, 60 y 75 días) y el número de hojas por brote en registros realizados a los 30, 45, 60, 75 y 90 días. El incremento de la longitud de brote está relacionado con las diferentes funciones que cumplen las hojas, ya que una vez, que se ha formado el azúcar a partir de la fotosíntesis, las hojas se encargan de transportarlo hacia el interior de la planta a través de unas estructuras especializadas llamadas floema, que discurren en paralelo a la xilema y es así, que la planta recibe los nutrientes necesarios que ayudan en su desarrollo.

4.2.3 Coeficiente de Determinación (R²)

El (R²) indica en qué porcentaje se incrementó o disminuyó la longitud del brote por cada cambio único de la (s) variable (s) independiente (s) y su valor máximo es 100% (Beaver, J. 2002). En esta investigación el mejor ajuste de los datos de la línea de regresión lineal: $Y = a + bX$ (Y: variable dependiente; a: intercepto y X variable independiente) fue la asociación entre la longitud del brote a los 75 días versus la longitud del brote a los 90 días con un valor del R² del 90%; es decir valores promedios más elevados de la longitud del brote a los 75 días, mayor crecimiento del brote a los 90 días (Cuadro 4 y Gráfico 25).

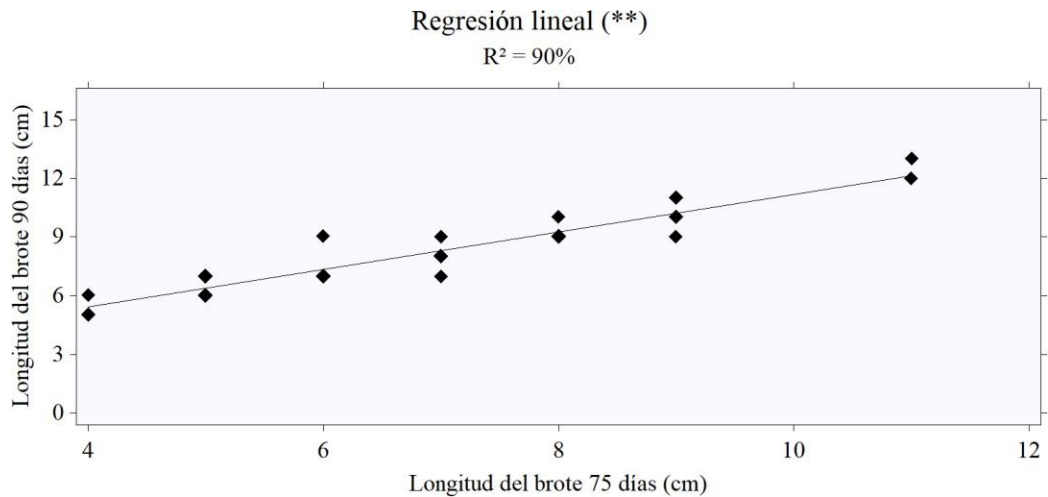


Gráfico N°. 25. Regresión lineal longitud del brote a los 75 días versus la longitud del brote a los 90 días.

El 23% de incremento de la variable dependiente: longitud del brote a los 90 días fue debido a valores promedios más altos del número de hojas por brote a los 90 días (Cuadro 4 y Gráfico 26).

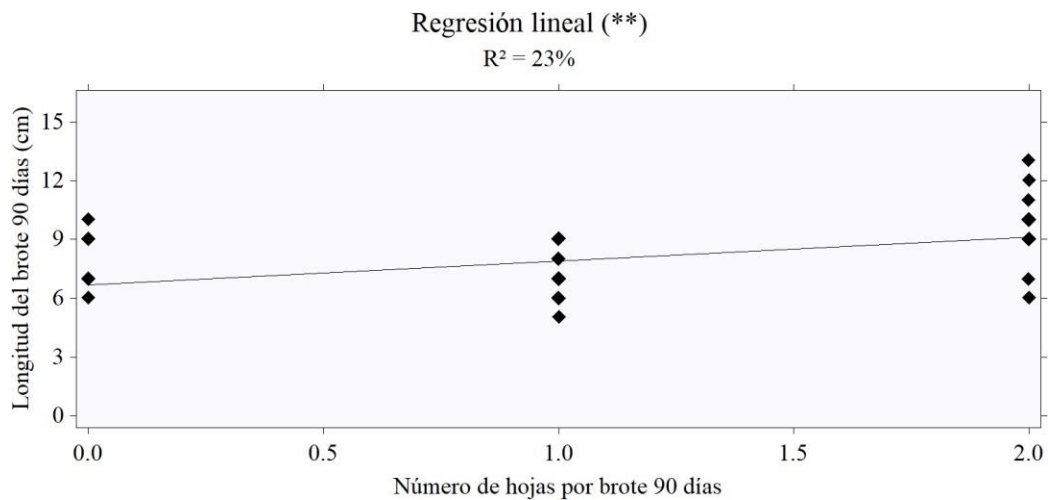


Gráfico N°. 26. Regresión lineal número de hojas por brote a los 90 días versus la longitud del brote a los 90 días.

El valor del 23% de ajuste, significa que además existieron otros factores no contemplados en esta investigación, que incidieron en el mayor crecimiento del brote a los 90 días mismos que podrían ser la temperatura, edad del explante, medio de cultivo, cantidad y calidad de luz artificial, la humedad relativa, la incidencia de posibles hongos y bacterias o el nivel de precisión en la toma de los datos.

4.5 Comprobación de hipótesis

Se acepta la hipótesis Alternativa (H_a): La respuesta agronómica de los explantes de caña de azúcar propagadas in vitro, si dependen de la variedad, el tipo y dosis de citoquininas. para lo cual se sustenta lo siguiente

De acuerdo a la hipótesis planteada y en base a los resultados obtenidos dentro de esta investigación se acepta la hipótesis alternativa, ya que se observó efectos significativos dentro de la investigación, evidenciados en las variables; días a la brotación (DB), número de brotes por explante (NBE), longitud de brotes (LB), número de hojas por brote (NHB), días a la emisión de raíces (DER), número de raíces (NR), longitud de la raíz (LR) datos que corroboran la aceptación de la hipótesis alternativa; y aunque estos fueron mínimos e incluso muy preliminares, estadísticamente nos otorgan las herramientas para definir estas variaciones.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Numéricamente la variedad de caña ligeramente más precoz a la brotación fue A3: EC - 03 con 7 días, pero fue la más tardía a la emisión de la raíz con 11 días. Las tres variedades presentaron un crecimiento ascendente y constante a través del tiempo con valores similares de la longitud del brote. A los 30 días con una media general de 2,38 cm y a los 90 días 8,07 cm. En promedio general se registró una hoja y una raíz por explante. Para longitud de la raíz las tres variedades presentaron valores similares a los 60 días con 0,23 cm y a los 90 días una media general de 0,38 cm.
- Los tratamientos aplicados con la Kinetina, presentaron mayor precocidad con 7 días a la brotación, pero más tardía a la emisión de la raíz con 9 días. En promedio general se registraron un brote, una hoja y una raíz por explante a través del tiempo. Para la variable longitud del explante se determinó un crecimiento constante y similar para los dos tipos de citoquininas. A los 30 días con un promedio de 2,38 cm y a los 90 días 8,07 cm. Para longitud de la raíz los promedios superiores se tuvieron con la hormona Kinetina con 0,48 cm a los 75 días y 0,62 cm a los 90 días.
- Las tres dosis evaluadas de citoquininas, en general presentaron una respuesta de tipo lineal y cuadrática pero no significativa. Incidieron significativamente en la precocidad relacionada con los días a brotación en la dosis de 4 mg/l con 7 días. La más precoz a la emisión de la raíz fue la dosis de 2 mg/l con 5 días. No se evidenció un efecto determinante de las dosis de citoquininas ya que en promedio general se registraron un brote, una hoja y una raíz por explante a través del tiempo. Para la longitud de la raíz un crecimiento similar por efecto de las dosis de citoquininas con un promedio general de 0,23 cm a los 60 días y 0,38 cm a los 90 días.

- Los componentes que contribuyeron a incrementar la longitud del brote a los 90 días, fueron principalmente el número de hojas a través del tiempo y la longitud del brote medido a los 30, 45, 60 y 75 días.
- Finalmente, este estudio sugiere que las tres variedades de caña de azúcar son aptas para la propagación asexual in vitro con la hormona Kinetina en dosis de entre 2 y 4 mg/l.

5.2 Recomendaciones

- Implementar y aplicar protocolos de asepsia en el momento de preparar e instalar el experimento en el laboratorio, para reducir al máximo la oxidación y contaminaciones de los explantes y el medio de cultivo.
- Seleccionar las plantas para futuros ensayos con una edad de 2 a 4 meses de brotación, para facilitar la cosecha de los meristemos apicales y que provengan de plantas madres sanas; es decir libres de hongos, bacterias y virus.
- En futuras investigaciones se recomienda ampliar los tiempos de registro de los datos es decir a los 30, 60 y 90 días. Cada 15 días las probabilidades de encontrar diferencias estadísticas significativas fueron mínimas.
- Para futuros ensayos de la multiplicación in vitro, se recomienda cuantificar las variables porcentaje de contaminación del explante y oxidación del medio de cultivo, altura de plántulas y porcentaje de sobrevivencia de los explantes.
- Validar las dosis de citoquininas, pero incluyendo un nivel absoluto de 0 mg/l y en otras variedades de caña de azúcar más cultivadas en Ecuador como la EC -08 y EC -09 desarrolladas por el Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Ecuador (CINCAE).
- Diversificar las investigaciones en cultivos de importancia económica agrícola, forestal y ornamental en el laboratorio de Biotecnología, para validar alternativas tecnológicas apropiadas en relación a una gran diversidad de plantas, tipos y dosis de hormonas y medios de cultivo, para mejorar la productividad de plantas que garanticen la calidad (pureza varietal, pureza física y sanidad) y en menor tiempo, lo que incidirá directamente en la rentabilidad y sostenibilidad de los sistemas de producción alrededor de la Cadena de Valor de la Caña de azúcar.

BIBLIOGRAFÍA

- AGROCODE. (2012). Obtenido de https://agrocode.com/glosario_terminos/quini nas/.
- Almanzar, J. (2016). Slideplayer. Obtenido de <https://slideplayer.es/slide/4044314/>.
- Alvarado, L. (2013). Medios de cultivo definidos e indefinidos. Recuperado el 09 de Junio de 2018, de <http://alvaradobiotech.blogspot.com/2013/02/tarea-medios-de-cultivo.html>
- Argenbio, V. (2007). Biotecnología blanca. Recuperado el 09 de Junio de 2018, de <http://www.argenbio.org/index.php?action=novedades¬e=199>
- Bautista, J. G. (2016). Obtenido de <https://www.javeriana.edu.co/documents/3722984/6915977/BIOTECNOLOG%C3%8DA.pdf/8942caf9-2410-43cd-87a1-03b2ee7bffb6>
- Beaver, J. (2002). Diseños experimentales. Recinto Universitario de Mayagüez. Puerto Rico.
- Cárdenas, J. (2011). Efecto del ácido giberélico y la 6-bencilaminopurina sobre el desarrollo de yemas en injertos de cacao (*Theobroma cacao* L.).
- Carrasco, H. C. (2019). Obtenido de <https://www.cndh.org.mx/sites/default/files/documentos/2019-11/Estudio-Biodiversidad.pdf>
- Castillo, A. (2011). Propagación de plantas por cultivo in vitro.
- Castillo, A. (2016). Obtenido de http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/11121922_0807102417.pdf.
- Cedeño, J. (2017). Obtenido de <https://www.larioja.org/innovacion/es/tecnologia-transferencia/tecnologiasconvergentes/biotecnologia/quees/biotecnologia-roja>
- CINCAE. (2004). Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador. Obtenido de <https://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/FISIOLOGIA-Y-MEJORAMTO.pdf>
- CINCAE. (2016). cincae.org. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador. Obtenido de <https://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/Plegable-Variedades-EC-07-y-EC-08.pdf>

Colchado, J. P. (2020). Obtenido de https://tesis.usat.edu.pe/bitstream/20.500.12423/2341/1/TL_TarrilloColchadoJeison.pdf

CONADESUCA. (2015). www.gob.mx. Obtenido de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/141823/Ficha_Tecnica_Ca%C3%B1a_de_Azucar.pdf

Cortes, J. S. (2019). www.scielo.org.co. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>

Duran R., & Mèlendez M. (2010). Cactáceas. Biodiversidad y Desarrollo en Yucatan. Primera, 191. México.

EcuRed. (s.f.). ecured.cu. Obtenido de Medios de cultivo para la propagación in vitro:https://www.ecured.cu/Medios_de_cultivo_para_la_propagaci%C3%B3n_in_vitro

Estrada, S. E. (2016). Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v39n3/0187-7380-rfm-39-03-00225.pdf>

Fagro. (2019). [Blogdefagro.com](http://blogdefagro.com). Obtenido de <https://blogdefagro.com/2019/01/16/bacterias-productoras-de-auxinas/>

FENGIB. (2019). [Sipcamiberia.es](http://sipcamiberia.es). Obtenido de https://sipcamiberia.es/img/cms/Libro_FENGIB_2019.pdf

Gabrielle, J. (1999). Aplicaciones de la Biotecnología a los Cultivos: Beneficios y Riesgos. Recuperado el 09 de Junio de 2018, de <http://www.agbioworld.org/biotech-info/articles/spanish/ensayo.html>

García, S. P. (2018). [Nanopdf.com](http://nanopdf.com). Obtenido de https://nanopdf.com/download/citoquininas_pdf

Gil, N. (2018). Obtenido de <http://www.mafavegetalecobiology.com/blog/que-es-la-biotecnologia/>

Gomes, R. (2014). Biotecnología Azul. Recuperado el 09 de Junio de 2018, de <file:///C:/Users/DELL/Downloads/67404109.pdf>

<http://www.greenimportsol.com>. (2015). Kinetina. Guadalajara. <https://doi.org/10.19136/era.a8n1.2616>).

http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas_Libros/Biologia/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro.pdf?fbclid=IwAR2xLhdtU-7yKztpAvuWQjdZYh-ltzpcYT6PnzpAErkw_Zozfqc

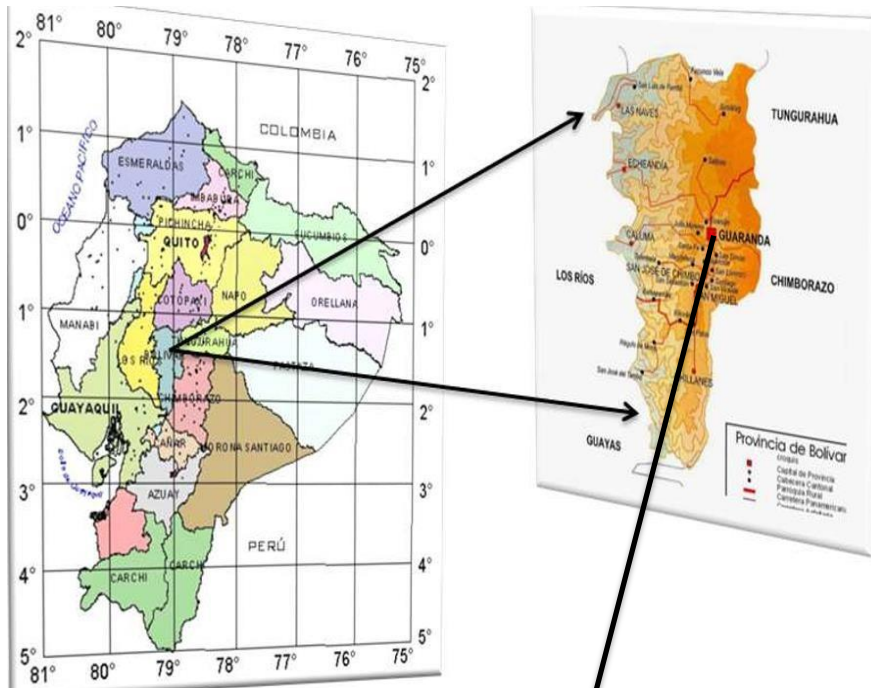
- Huachi, L., Yugsi, E., Paredes, M., Coronel, D., Verdugo, K. & Coba, P. (7 de 12 de 2015). Desarrollo de la pitahaya (*Cereus SP.*) en Ecuador. Cuenca.
- INDUSTRY, P. (2018). Obtenido de <https://www.plantgrowthhormones.com/Content/upload/pdf/201915034/MSDS-of-6-ba.pdf?rnd=478>
- InfoAgro. (2018). www.infoagro.com. Obtenido de https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_cana_azucar.asp
- Iroski, C. (10 de 2017). Guía práctica de frutas.
- Kakimoto, T. (2003). Biosynthesis of cytokinins. pp 233-239.
- Laachari, K. (2012). Biotecnología verde. Recuperado el 09 de Junio de 2018, de <http://biojcosta.blogia.com/2012/112703-biotecnologia-verde.php>
- Llorente, C. (2016). divulga.ibecbarcelona.eu. Obtenido de <http://divulga.ibecbarcelona.eu/di-biotecnologo/>
- Machado, M. (2018). Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/4455/1/UPSE-TIA-2018-0008.pdf>
- MAG. (s.f.). [mag.go.cr](http://www.mag.go.cr). Obtenido de Caña de azúcar: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-0658cana.pdf>
- Manquillo, R. N. (2018). Obtenido de <https://1library.co/article/ca%C3%B1a-az%C3%BAcar-saccharum-officinarum-comparacion%C3%B3n-dietas-alimenticia-pollos.y6jeprgq>
- Marasca, I. (2015). Obtenido de https://www.idesia.cl/Numeros/DESIA_61/art04.pdf
- Mariño, L. M. (2018). Obtenido de http://revbigo.webs.uvigo.es/images/revbigo/2008/Rebigo_2008_07.pdf
- Melgar, M. (2015). Cengicana.org. Obtenido de <https://cengicana.org/files/20170103101309141.pdf>
- Morales R., Espinosa C., & Garza R. (2016). Cultivo de tejidos vegetales y su aplicación en productos naturales. Barcelona, España.
- Nicolas, D. (2017). The Integrated Taxonomic Information System (version Jun 2017). In: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 2018 Annual Checklist (Roskov Y., Abucay L., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., De Wever A., Nieuke.

- Nikolic, R., Mitic, N., Zivkovic, S., Grubisic, D., & Neskovic, M. (2007). Cytokinins And Urea Derivatives Stimulate Seed Germination In Lotus Corniculatus L. Archives Of Biological Sciences, 59(2), 125–128. <http://doi.org/10.2298/Abs0702125n>
- Olvera, M. (2019). Obtenido de <https://sites.google.com/site/haciael-futurotecnologico/pag-web-4/sub-pagina-2>
- Palacios, J. (s.f.). www.academia.edu. Obtenido de https://www.academia.edu/24755392/PRACTICAS_DE_BIOTECNOLOG%C3%8DA_VEGETAL
- Pereira, C., G., Herrera, S., J., Machuca, H., A., & Sánchez, O., M. (2015). www.redalyc.org. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/1731/173113292005.pdf>
- Péres, S. (2006). Recuperado el 09 de Junio de 2018, de https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjDoZvM5a30AhUFdR4KHak9DhoQF%20ggaMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.unioviado.es%2Fbos%2FAsignaturas%2FFvca%2FApuntes%2FTema26.doc&usq=AFQjCNGoJvuGt8_LtpdRoMukYVDJ5FxBIg&si
- QUIMICOMPANY. (2020). Obtenido de <https://quimicompany.com.co/productos-2/medios-para-cultivos-vegetal/hormonas-y-reguladores-de-crecimiento-2/citoquininas/kinetina-2/>
- Ramírez, V. H. (2018). Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/4455/1/UPSE-TIA-2018-0008.pdf>
- Rangel, S. et al (2016). Micropropagación de variedades de caña de azúcar en México. Montecillo, Texcoco. Estado de México.
- Roca W., & Mroginski L. (1993). Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones. (C. I. (CIAT), Ed.) Cali, Colombia: Unidad de Investigación en Biotecnología y Unidad de Comunicaciones.
- SAGARPA. (s.f.). Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación infosiap.siap.gob. Obtenido de Azúcar que endulza mi vida: <http://infosiap.siap.gob.mx/siaprendes/contenidos/3/03-cana-azucar/contexto-.html>

- Saltos, J. (2015). Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/46000/2741/UPSE-TIA-2015-037.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sanchez, M., et al. (2017). Importancia de los cultivos vegetales In vitro.
- Silva, E. (2018). ipkey.eu. Obtenido de <https://ipkey.eu/sites/default/files/ipkey-docs/2019/CINCAE.pdf>
- Solis, M. (2013). Slideshare. Recuperado el 09 de Junio de 2018, de Slideshare: <https://es.slideshare.net/MarianaChavik/fitorreguladores>
- Squeo, F. (2006). Capítulo 15 Jordan & Casaretto.pub. Obtenido de <https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Auxinasgiberelinasycitocininas.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Mapa de ubicación de la investigación



Anexo N2. Base de datos

REP	V2 FA	V3 FB	V4 FC	V5 NEC45D	V6 NEC60D	V7 NBE30D	V8 NBE45D	V9 NBE60D	V10 LB30D	V11 LB45D	V12 LB60D	V13 LB75D	V14 LB90D	V15 NHB30D
1	1	1	1	1	1	1	0	0	3					0
1	1	1	2	1	1	1	0	0	1					0
1	1	1	3	1	1	1	0	0	3					1
1	1	2	1	1	1	1	0	0	3					1
1	1	2	2	1	1	1	0	0	4					1
1	1	2	3	1	1	1	0	0	3					0
1	2	1	1	1	1	1	1	1	2					0
1	2	1	2	1	1	1	0	0	3					1
1	2	1	3	1	1	1	0	0	2					0
1	2	2	1	1	1	1	0	0	2					0
1	2	2	2	1	1	1	0	0	2					1
1	2	2	3	1	1	1	0	0	2					0
1	3	1	1	1	1	2	0	0	2	3	5	7	8	1
1	3	1	2	0	1	1	1	0	2	4				1
1	3	1	3	1	1	1	1	1	3		5	7	8	0
1	3	2	1	1	1	1	0	0	2					0
1	3	2	2	0	1	1	1	0	1	2	3	4	5	0
1	3	2	3	1	1	1	1	1	1	2	4	5	7	0
2	1	1	1	0	1	2	2	2	2	3	4	5	7	1
2	1	1	2	0	1	1	1	1	2	2	3	5	6	0
2	1	1	3	0	1	1	1	0	2	5	5			0
2	1	2	1	0	1	1	2	3	2	3	4	8	10	0
2	1	2	2	0	1	1	1	0	4	7				0
2	1	2	3	0	1	1	0	0	3					1
2	2	1	1	0	1	1	1	0	3	3				0

2	2	1	2	1	1	1	0	0	3					1
2	2	1	3	1	0	1	1	1	3	5	7	9	10	1
2	2	2	1	0	1	1	2	0	2	2				0
2	2	2	2	1	1	1	0	0	3					1
2	2	2	3	0	1	1	0	0	2					0
2	3	1	1	1	1	2	2	2	2	3	4	8	9	1
2	3	1	2	0	0	1	1	1	3	3	5	7	8	1
2	3	1	3	0	1	1	1	1	4	5	6	8	9	1
2	3	2	1	1	1	1	0	0	2	5				0
2	3	2	2	0	0	1	1	1	1	2	3	4	5	0
2	3	2	3	1	1	1	1	1	1	2	3	5	6	0
3	1	1	1	0	0	1	1	1	3	4	5	7	9	0
3	1	1	2	0	0	1	2	2	2	3	5	5	6	0
3	1	1	3	0	0	2	2	2	2	4	5	6	7	1
3	1	2	1	0	0	1	1	1	2	4	7	11	13	0
3	1	2	2	0	1	1	1	1	3	5	8	9	10	0
3	1	2	3	0	0	1	1	1	2	3	4	5	6	0
3	2	1	1	0	0	1	0	0	3		4	5	6	1
3	2	1	2	0	1	1	1	1	3	4	5	8	9	1
3	2	1	3	1	0	1	1	1	3	5	6	8	9	1
3	2	2	1	0	0	1	1	0	3	4	5	6	7	0
3	2	2	2	0	0	1	1	0	3	7	8	9	9	1
3	2	2	3	0	1	1	0	0	2	4	5	6	7	0
3	3	1	1	0	1	1	0	1	3	5	6			1
3	3	1	2	0	0	1	1	1	3	5	7	9	11	1
3	3	1	3	0	0	1	1	0	3	6	7			1
3	3	2	1	0	1	1	1	0	2		6	8	9	1
3	3	2	2	0	0	1	1	1	1	2	3	4	5	0

3	3	2	3	0	0	1	1	1	1	2	4	5	7	0
4	1	1	1	0	0	1	1	1	2	3	4	6		0
4	1	1	2	0	0	1	1	2	1		4	5	7	0
4	1	1	3	0	0	1	0	0	3		6	7	7	0
4	1	2	1	0	0	1	2	2	2	4	5	9	10	0
4	1	2	2	0	0	1	1	1	4	5	7	8	9	0
4	1	2	3	0	0	1	2	2	3	4	5	6	7	0
4	2	1	1	0	0	1	1	1	2	3	5	6	7	0
4	2	1	2	0	0	1	1	1	2	3	4	6	7	1
4	2	1	3	0	0	1	1	1	2	4	5	6	9	0
4	2	2	1	0	0	1	2	2	2	3	4	5	7	0
4	2	2	2	0	0	1	1	1	3	6	7	8	10	1
4	2	2	3	0	0	1	2	2	2	3	4	5	7	1
4	3	1	1	0	0	1	1	1	3	4	6	9	11	1
4	3	1	2	0	0	1	1	1	3	6	7	8	9	1
4	3	1	3	0	0	1	1	0	3	6				1
4	3	2	1	0	0	1	1	1	3	5	8	11	12	1
4	3	2	2	0	0	1	1	1	1	2	4	5	7	0
4	3	2	3	0	0	1	1	1	1	2	3	4	6	0

Anexo 3. Fotografías de la instalación, seguimiento y evaluación del ensayo

Preparación del medio de cultivo



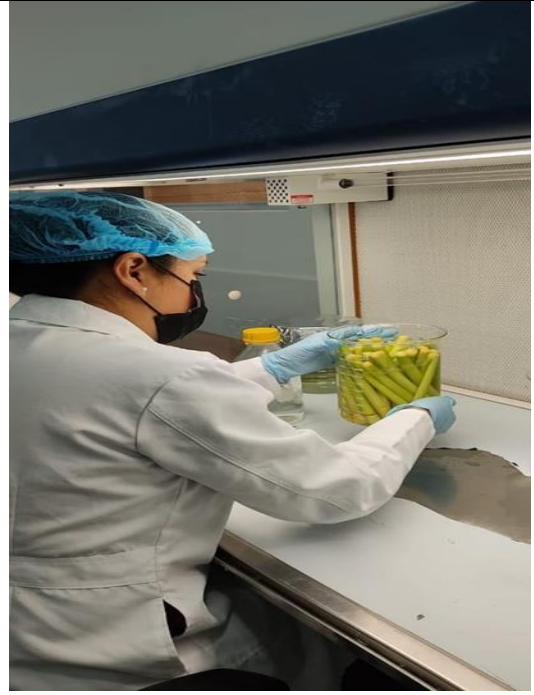
Preparación del material experimental (explantes)



Lavado del material experimental con jabón líquido al 1%



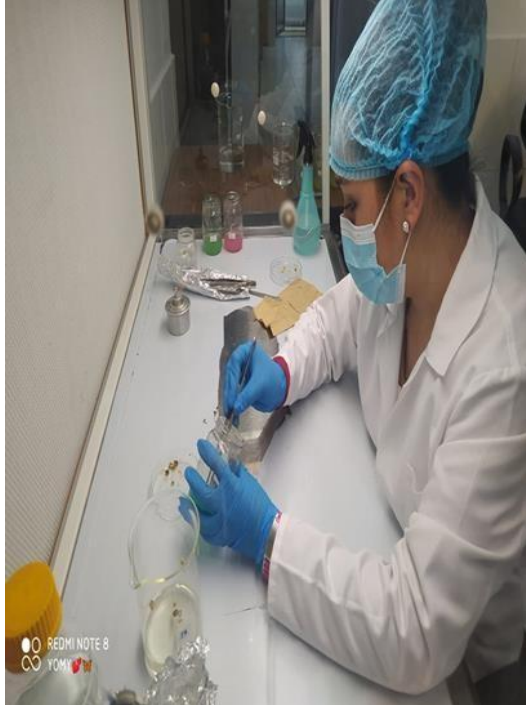
Preparación de la solución de hipoclorito y lavado en la cabina laminar



Deshojamiento



Introducción del material in vitro. Evaluación de explantes contaminados



Explantos con sus primeros brotes de la variedad EC- 07



24 cc (BAP)



48 cc (BAP)



48 cc Kinetina



72 cc Kinetina

Explantos con sus primeros brotes de la variedad EC- 03



24 cc (BAP)



48 cc (BAP)



24 cc Kinetina

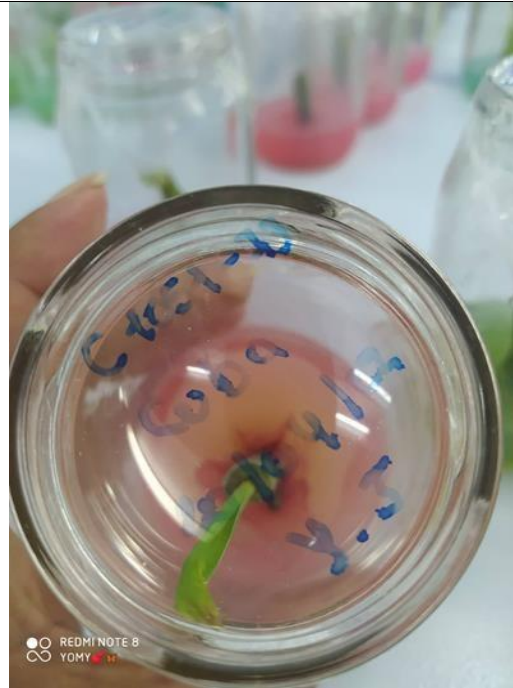


72 cc Kinetina

Explantos con sus primeros brotes variedad C 1051-73 Cuba



24 cc (BAP)



48 cc (BAP)

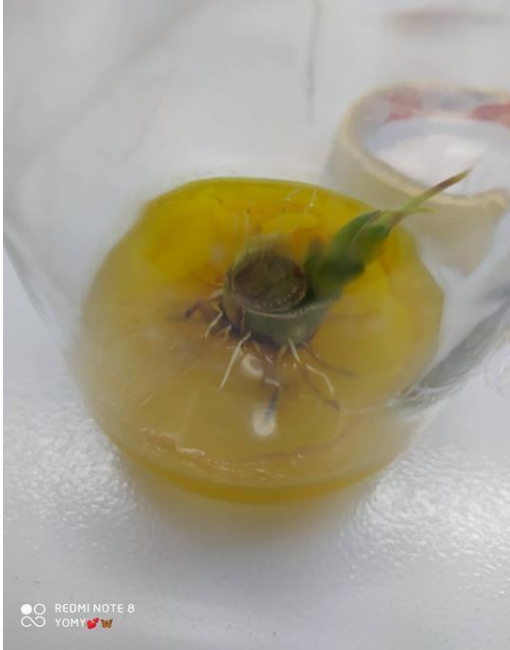


24 cc Kinetina



48 cc Kinetina

Explantos enraizados y con brotes



Medición longitud del brote y raíces. Visita del Tribunal del proyecto de investigación



Anexo 4. Glosario de términos técnicos

Anclaje de la planta: Son las últimas en desarrollarse, apareciendo cuando las plantas presentan aproximadamente 10 hojas; se originan a partir de los primeros dos nudos aéreos y desde el subnudo más cercano a la superficie del suelo.

Amacollamiento: Tendencia de algunas gramíneas a la formación de macollas.

Biotecnología: Se refiere a toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos.

Biomasa: Cantidad de productos obtenidos por fotosíntesis, susceptibles de ser transformados en combustible útil para el hombre y expresada en unidades de superficie y de volumen

Citoquininas: Son un grupo de hormonas vegetales (fitohormonas) que promueven la división y la diferenciación celular. La citoquinina regula una serie de procesos de la planta, incluyendo la división celular, el crecimiento de los brotes y las raíces, el rendimiento de grano, y la ecologización.

Citocinesis: Consiste en la separación física del citoplasma en dos células hijas durante la división celular. Tanto en la mitosis como en la meiosis se produce al final de la telofase, a continuación de la cariocinesis.

Entrenudos: es la parte del tallo comprendida entre dos nudos de donde sale otra rama. El primer entrenudo de la planta es el hipocótilo, situado entre el cuello de la planta y los cotiledones. Por encima de los cotiledones, se encuentra el segundo entrenudo, denominado epicótilo.

Epicótilo: Es la parte del eje del vástago que, en el embrión, se encuentra situado por encima de la inserción de los cotiledones.

Explante: Es un tejido vivo de la planta separado de su órgano propio y transferido a un medio artificial de crecimiento.

Fitorregulador: Es una sustancia natural o artificial sintética que estimula o inhibe ciertos procesos específicos de la fisiología propia de las plantas, es decir que actúan como hormonas vegetales.

Fitoplasma: Es un parásito de las plantas, aparentemente de la clase de los Mollicutes, en la cual su supervivencia es posible sólo en el interior de las plantas huéspedes. Los fitoplasmas son considerados formas intermedias entre las entidades virales y las bacterias.

Fumagina: Crecimiento de varias especies de hongos, cuyo micelio y esporas negras cubren la superficie de su planta hospedera

Fragmento: Un esqueje es un fragmento de tallo, o también de hoja o raíz, desgajado o cortado de una planta e introducido en sustrato o directamente en el suelo, para que enraíce con intención de reproducirla.

Gelificante: Son las sustancias con la capacidad de crear geles. Un gel está compuesto por dos fases (sólido-líquido) que les aportan una densidad similar a los líquidos, sin embargo, su estructura se asemeja más a la de un sólido.

Hormonas: Son sustancias segregadas por células especializadas, localizadas en glándulas endocrinas, o también por células epiteliales e intersticiales cuyo fin es el de influir en la función de otras células.

Higienización: Es un término ambiguo, últimamente muy utilizado en el mercado, que se aplica a aquellos procesos de limpieza en los que mediante el uso de productos denominados higienizantes se supone que además de limpiar, se reduce la carga bacteriana.

Hipocótilo: Es el término botánico usado para referirse a una parte de la planta que germina de una semilla

Kinetina: Es un tipo de citoquinina, una clase de hormona vegetal que promueve la división celular.

Material biológico: Es la biomasa (energía) que es la materia biológica, viva o muerta, que puede ser utilizada como combustible.

Macollas: Conjunto de hijuelos que crecen sin perforar las vainas de la planta madre (desarrollo intravaginal), dando lugar a una mata densa.

Micropropagación: Es el conjunto de técnicas y métodos de cultivo de tejidos utilizados para multiplicar plantas asexualmente de forma rápida, eficiente y en grandes cantidades.

Organogénesis: El periodo embrionario es la etapa en la que ocurre la formación de todos los aparatos y sistemas del embrión, proceso conocido como organogénesis; esta fase comprende de la cuarta a la octava semanas de los cultivos in vitro. Es el conjunto de cambios que permiten que las capas embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo) se transformen en los diferentes órganos de las plantas.

Patogenicidad: La patogenicidad (la capacidad de los parásitos para infectar un huésped y causar enfermedad) y la virulencia (el grado de daño que causa un parásito a su huésped) son propiedades clave de los parásitos que determinan su evolución, y la coevolución huésped-parásito.

Patógenos: Se considera un agente patógeno a toda aquella entidad biológica capaz de producir una enfermedad infecciosa en un huésped (humano, animal, vegetal, etc.) sensiblemente predispuesto.

Propagación: Del latín propagatĭo, es la acción y efecto de propagar. Este verbo refiere a hacer que algo llegue a distintos sitios de aquel en que se produce; a extender o dilatar algo; o a multiplicar algo por generación u otras vías de reproducción.

Sobrevivencia: Conservación de la vida, especialmente cuando es a pesar de una situación difícil o tras de un hecho o un momento de peligro.

Vigor: Es la fuerza con que una semilla germina y emerge del suelo para continuar con su crecimiento y desarrollo.

Vitroplantas: Es una planta creada con técnicas biotecnológicas en ambientes artificiales y asépticos, a partir de yemas jóvenes y sanas. in vitro significa plántulas «en vidrio»).