



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos, Naturales y del
Ambiente

Carrera de Agronomía

TEMA:

“MICROPROPAGACIÓN DE EXPLANTES DE DOS VARIEDADES DE ROSAS (*Rosa sp.*) EN CULTIVO IN VITRO, UTILIZANDO TRES TIPOS DE FITORREGULADORES EN TRES DOSIS”

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Agronomía.

AUTORES:

MARIA JOSE HIDALGO RIOFRIO
JORGE EDUARDO BAYAS BAYAS

DIRECTORA:

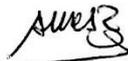
ING. SONIA SALAZAR RAMOS Mg.

GUARANDA-ECUADOR

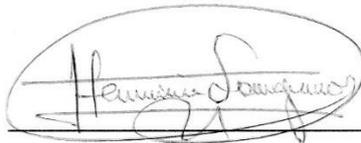
2023

“MICROPROPAGACIÓN DE EXPLANTES DE DOS VARIEDADES DE ROSAS (*Rosa sp.*) EN CULTIVO IN VITRO, UTILIZANDO TRES TIPOS DE FITORREGULADORES EN TRES DOSIS”

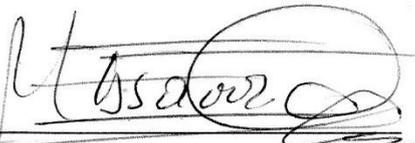
REVISADO Y APROBADO POR:



Ing. SONIA SALAZAR RAMOS Mg.
DIRECTORA



Dra. HERMINIA SANAGUANO PhD.
BIOMETRISTA



Ing. HUGO VÁSQUEZ COLOMA PhD.
REDACCIÓN TÉCNICA



CERTIFICACIÓN DE LA AUTORÍA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Nosotros, Hidalgo Riofrio María José con C.I.: 0604354886 y Bayas Bayas Jorge Eduardo con C.I.: 0202173068 declaramos 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).

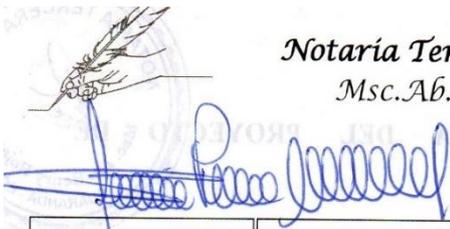
La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente

MARÍA JOSÉ HIDALGO RIOFRIO
AUTORA
C.I 0604354886

JORGE EDUARDO BAYAS BAYAS
AUTOR
C.I 0202173068

Ing. SONÍA SALAZAR RAMOS Mg.
DIRECTORA
C.I 0200933067

Dra. HERMINIA SANAGUANO PhD.
BIOMETRISTA
C.I 0601587280



Notaria Tercera del Cantón Guaranda
Msc. Ab. Henry Rojas Narvaez
Notario



No. ESCRITURA	20230201003P01213
---------------	-------------------

DECLARACION JURAMENTADA

OTORGADA POR:

HIDALGO RIOFRIO MARIA JOSE y BAYAS BAYAS JORGE EDUARDO

CUANTIA: INDETERMINADA

FACTURA: 001-006-000003743

DI: 2 COPIAS

En la ciudad de Guaranda, capital de la provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día cinco de junio de dos mil veintitrés, **ante mi Abogado HENRY ROJAS NARVAEZ, Notario Público Tercero del Cantón Guaranda**, comparece la señorita HIDALGO RIOFRIO MARIA JOSE, estado civil soltera, domiciliada en Riobamba, y de paso por esta ciudad de Guaranda, con celular número 0994254756; por sus propios derechos. Comparece el señor BAYAS BAYAS JORGE EDUARDO, estado civil soltero, domiciliado en esta ciudad de Guaranda, con celular número 0939437561, por sus propios derechos. Los comparecientes son de nacionalidad ecuatoriana, mayores de edad, hábiles e idóneos para contratar y obligarse a quien de conocerles doy fe en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación y con su autorización se ha procedido a verificar la información en el Sistema Nacional de Identificación Ciudadana, bien instruida por mí el Notario con el objeto y resultado de esta escritura pública a la que procede libre y voluntariamente, advertida de la gravedad del juramento y las penas de perjurio, me presentan su declaración Bajo Juramento que dice: **Declaramos que el presente trabajo de investigación titulado: “MICROPROPAGACIÓN DE EXPLANTES DE DOS VARIETADES DE ROSAS (*Rosa sp.*) EN CULTIVO IN VITRO, UTILIZANDO TRES TIPOS DE FITORREGULADORES EN TRES DOSIS”**. Previo la obtención del título de Ingenieros Agrónomos, de la facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, de la Universidad Estatal de Bolívar, es de nuestra autoría, este documento no ha sido previamente presentado por ningún grado de calificación profesional y que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas por la autora. Es todo cuanto puedo declarar en honor a la verdad, la misma que la hago para los fines legales pertinentes. **HASTA AQUÍ LA DECLARACIÓN JURADA**. La misma que queda elevada a escritura pública con todo su valor legal. Para el otorgamiento de la presente escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso, leída que les fue a los comparecientes por mí el Notario en unidad de acto, aquellos se afirman y se ratifican de todo lo expuesto y firma conmigo en unidad de acto, quedando incorporado al protocolo de esta Notaria, la presente declaración, de todo lo cual doy fe. -



HIDALGO RIOFRIO MARIA JOSE
C.C. 0604354886



BAYAS BAYAS JORGE EDUARDO
C.C. 0202173068



AB. HENRY ROJAS NARVAEZ
NOTARIO PUBLICO TERCERO DEL CANTON GUARANDA



Document Information

Analyzed document	TESIS - HIDALGO-MARIA; BAYAS-JORGE.pdf (D162679253)
Submitted	6/02/2023 15:18:00 PM
Submitted by	jorbayas@malles.ueb.edu.ec
Submitter email	9.5%
Similarity	victorbarcenes2021@analysis.arkund.com
Analysis address	

Sources included in the report

Entire Document

Hit and source - focused comparison, Side by Side

Submitted text	As student entered the text in the submitted document.
Matching text	As the text appears in the source.



DEDICATORIA

A Dios por la generosidad que tiene conmigo de seguirme permitiendo crecer intelectual y espiritualmente guiando mi caminar día tras día.

A mi padre Jaime Hidalgo que ha sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme que gracias a su apoyo incondicional he llegado a realizar uno de mis más anhelos sueños fruto del inmenso apoyo y confianza que el depositó en mí desde el primer día y por los cuales he logrado terminar mis estudios profesionales que constituyen el legado más grande que pudiera recibir y es por algo que viviré agradecida toda mi vida.

A mi abuelita Anita que es como una madre para mí por ser un pilar muy fundamental en mi vida y por haber sido también un gran apoyo incondicional en esta etapa.

A mi hermana María Luisa por bríndame su apoyo en todo momento por haber sido todo este tiempo un pañuelo de lágrimas, una amiga que estuvo para escucharme y aconsejarme.

Y por último a mi compañero de tesis Jorge Bayas quien pese a todas las adversidades que tuvimos fue una gran ayuda para mí en este proceso.

María José

DEDICATORIA

Primeramente, agradeciendo a Dios por haberme dado la vida, por ser mi luz a largo de este caminar, por darme la sabiduría, inteligencia y fortaleza para alcanzar mis metas.

Posteriormente agradecer a cada uno de mis hermanos: Natividad, Rosa, Manuela, Carmen, Ricardo, Gloria y Carlos por su apoyo infinito, y como no a mi amada madre Dolores, que es y será un pilar fundamental en mi vida ya que me ha brindado su total apoyo, compañía y nunca ha faltado esas palabras de aliento para no rendirme y seguir adelante y así poder llegar a la meta la cual hoy en día lo estoy cumpliendo la cual estaré agradecido hasta el día de mi muerte.

A mi querido padre Carlos a pesar de su partida me dejó buenos valores como es el respeto, humildad y la sencillez hacia los demás, su partida me ayudó a ser muy fuerte y seguir adelante ante la vida.

Agradezco a cada uno de los docentes que conforman la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Agronomía por haberme inculcado e impartido valores, conocimientos y enseñanzas que serán aplicadas en mi vida profesional.

Como no también agradecer a mis dos grandes amigas Keila Trujillo y Jessica Calvache que me han enseñado lo que es la verdadera amistad, lealtad, sinceridad y sobre todo el respeto, las mismas que han estado en mis peores momentos siendo un apoyo en todo momento por estas razones y muchas más serán recordado por siempre.

Y por último agradezco a mi compañera de tesis María José Hidalgo por brindarme su amistad a lo largo de este tiempo.

Jorge

AGRADECIMIENTO

Primeramente, le queremos dar gracias a Dios por darnos la oportunidad de culminar una etapa más en nuestras vidas y por ser nuestro guía en este caminar, también dar las gracias a la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos naturales y del Ambiente y de manera especial a la Carrera de Ingeniería Agronómica por habernos abierto sus puertas que fue durante seis años nuestra casa.

A los docentes de la facultad por haber contribuido e impartido sus conocimientos con nosotros para nuestra formación profesional.

De manera especial a nuestra directora del Proyecto, Ing. Sonia Salazar por brindarnos su apoyo en la realización de este proyecto de titulación. De la misma manera a nuestros Miembros del Tribunal Dra. Herminia Sanaguano (Biometrista), Ing. Hugo Vásquez (Área de Redacción Técnica) quienes contribuyeron en la planificación, ejecución y sistematización de esta investigación.

Al Ing. Víctor Cortez encargado del laboratorio de biotecnología por su gran acogida, disposición, ayuda y apoyo incondicional en nuestro proyecto de investigación.

María José & Eduardo

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁG.
CAPÍTULO I.....	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PROBLEMA.....	3
CAPÍTULO II	4
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Origen	4
2.2. Características de las variedades en estudio	5
2.2.1. Variedad Explorer	5
2.2.2. Variedad Quicksand	5
2.3. Clasificación taxonómica.....	6
2.4. Clasificación morfológica.....	6
2.4.1. Raíz.....	6
2.4.2. Tallo	6
2.4.3. Hojas.....	6
2.4.4. Flores	7
2.5. Condiciones edafoclimáticas.....	7
2.5.1. Temperatura	7
2.5.2. Humedad	7
2.5.3. Luz.....	8
2.5.4. Sustrato.....	8
2.6. Usos.....	8
2.7. Biotecnología vegetal.....	9
2.8. Medio de cultivo	9
2.8.1. Generalidades	9
2.8.2. Morfogénesis	9

2.8.3. Caulogénesis.....	10
2.8.4. Callogénesis	10
2.8.5. Composición de un medio de cultivo	11
2.8.6. Medio de cultivo.....	11
2.8.7. Sales inorgánicas	11
2.8.8. Fuente de carbono	12
2.8.9. Vitaminas y aminoácidos.....	12
2.8.10. Agentes solidificantes	12
2.8.11. Antimicrobianos	13
2.8.12. Macronutrientes	13
2.8.13. Micronutrientes.....	13
2.8.14. Carbohidratos.....	14
2.8.15. Agentes solidificantes	14
2.8.16. Reguladores de crecimiento.....	15
2.8.17. Condiciones Ambientales	16
2.9. Fases del cultivo in vitro	17
2.9.1. Fase 0: selección de la planta madre.....	17
2.9.2. Fase I: introducción al medio	17
2.9.3. Fase II: multiplicación	18
2.9.4. Fase III: enraizamiento	18
2.9.5. Fase IV: aclimatación	19
2.10. Problemas en el cultivo in vitro	19
2.10.1. Contaminación.....	19
2.10.2. Ventajas de la micropropagación.....	20
CAPÍTULO III.....	21
3. MARCO METODOLÓGICO.....	21
3.1. Materiales.....	21
3.1.1. Localización de la investigación.....	21
3.1.2. Situación geográfica y climática.....	21
3.1.3. Zona de vida	21

3.1.4. Material experimental	22
3.1.5. Material de laboratorio	22
3.1.6. Material de oficina	22
3.1.7. Soluciones nutritivas.....	23
3.2. Métodos.....	24
3.2.1. Factores en estudio	24
3.2.2. Tratamientos	24
3.2.3. Tipo de diseño.....	25
3.2.4. Tipo de análisis	25
3.3. Métodos de evaluación y datos tomados	26
3.3.1. Número de explantes contaminados (NEC).....	26
3.3.2. Días a la brotación (DB)	26
3.3.3. Número de brotes por explantes (NBE).....	26
3.3.4. Número de hojas por brote (NHB)	26
3.3.5. Longitud del brote (LB).....	27
3.3.6. Taza de velocidad de multiplicación (TVM).....	27
3.3.7. Porcentaje de callogenesis (PC).....	27
3.4. Manejo del experimento	27
3.4.1. Obtención del material vegetal	27
3.4.2. Desinfección del material en laboratorio	28
3.4.3. Selección al medio a utilizar	28
3.4.4. Preparación del medio de cultivo	28
3.4.5. Esterilización del medio del cultivo	29
CAPÍTULO IV.....	30
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1. Factor A	30
4.1.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM)	31
4.1.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE).....	32
4.1.3. Número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días (NHB)	33

4.1.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB).....	34
4.2. Factor B.....	36
4.2.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM) .	37
4.2.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)	38
4.2.3. Número de hojas por bote a los 30, 60 y 90 días (NHB)	39
4.2.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB).....	40
4.3. Factor C.....	42
4.3.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM) .	43
4.3.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)	44
4.3.3. Número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días (NHB)	45
4.3.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB).....	46
4.4. Interacción AxB	47
4.4.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM) .	48
4.4.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)	49
4.4.3. Número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días (NHB)	50
4.4.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB).....	51
4.5. Interacción AxC	52
4.5.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM) .	53
4.5.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)	54
4.5.3. Número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días (NHB)	55
4.5.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB).....	56
4.6. Interacción AxBxC	57
4.6.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM) .	58
4.6.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)	60
4.6.3. Número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días (NHB)	62
4.6.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB).....	64
4.7. Análisis económico de la relación B/C	66
4.7.1. Análisis de la relación beneficio/costo.....	67
4.8. Comprobación de hipótesis.....	68

4.9. Conclusiones	69
4.10. Recomendaciones	70
BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXOS	81

ÍNDICE DE CUADRO

CUADRO		PÁG.
Nº 1.	Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en el factor A.	30
Nº 2.	Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en el factor B.	36
Nº 3.	Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en el factor C.	42
Nº 4.	Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en la interacción AXB.	47
Nº 5.	Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en la interacción AXC.	52
Nº 6.	Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en la interacción AXBXC.	57
Nº 7.	Costo producción de variedades de rosa (<i>Rosa sp</i>) utilizando tres tipos de fitorreguladores	66

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO		PÁG.
Nº 1	Prueba de Tukey al 1% para las variables DB y TVM para el factor A (Variedades de rosa)	31
Nº 2	Prueba de Tukey al 1% para la variable NBE para el factor A (Variedades de rosa)	32
Nº 3	Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB para el factor A (Variedades de rosa)	33
Nº 4	Prueba de Tukey al 1% para la variable LB para el factor A (Variedades de rosa)	34
Nº 5	Prueba de Tukey al 1% para la variable DB y TVM para el factor B (Tipos de fitorreguladores citoquininas)	37
Nº 6	Prueba de Tukey al 1% para la variable NBE a los 30, 60 y 90 días para el factor B (Tipos de fitorreguladores citoquinina)	38
Nº 7	Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB a los 30, 60 y 90 días para el factor B (Tipos de fitorreguladores citoquininas)	39
Nº 8	Prueba de Tukey al 1% para la variable LB a los 30, 60 y 90 días para el factor B (Tipos de fitorreguladores citoquininas)	40
Nº 9	Prueba de Tukey al 1% la variable DB y TVM para el factor C (Dosis de fitorreguladores)	43
Nº 10	Prueba de Tukey al 1% para la variable NBE a los 30, 60 y 90 días para el factor C (Dosis de fitorreguladores)	44
Nº 11	Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB a los 30, 60 y 90 días para el factor C (Dosis de fitorreguladores)	45

N° 12	Prueba de Tukey al 1% para la variable LB a los 30, 60 y 90 días para el factor C (Dosis de fitorreguladores)	46
N° 13	Prueba de Tukey al 1% para la variable DB y TVM para la interacción AxB (Variedades de rosas en tipos de fitorreguladores)	48
N° 14	Prueba de Tukey al 1% para la variable NBE a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxB (Variedades de rosas en tipos de fitorreguladores)	49
N° 15	Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB para la interacción AxB (Variedades de rosas en tipos de fitorreguladores)	50
N° 16	Prueba de Tukey al 1% para la variable LB a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxB (Variedades de rosas en tipos de fitorreguladores)	51
N° 17	Prueba de Tukey al 1% para la variables DB y TVM para la interacción AxC (Variedades de rosas en dosis de fitorreguladores)	53
N° 18	Prueba de Tukey al 1% para la variable NBE a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxC (Variedades de rosas en dosis de fitorreguladores)	54
N° 19	Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxC (Variedades de rosas en dosis de fitorreguladores)	55
N° 20	Prueba de Tukey al 1% para la variable LB a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxC (Variedades de rosas en dosis de fitorreguladores)	56
N° 21	Prueba de Tukey al 1% para las variables DB y TVM para la interacción AxBxC (Variedades de rosas x tipos de fitorreguladores citoquininas x dosis de	58

	fitorreguladores)	
N° 22	Resultados de la prueba de Tukey al 1% para la variable NBE a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxBxC (Variedades de rosas x tipos de fitorreguladores citoquininas x dosis de fitorreguladores)	60
N° 23	Resultados de la prueba de Tukey al 1% para la variable NHB para la interacción AxBxC (Variedades de rosas x tipos de fitorreguladores citoquininas x dosis de fitorreguladores)	62
N° 24	Resultados de la prueba de Tukey al 1% para la variable LB a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxBxC (Variedades de rosas x tipos de fitorreguladores citoquininas x dosis de fitorreguladores)	64

ÍNDICE DE ANEXOS

N° 1 Ubicación del experimento

N° 2 Base de datos de rosas

N° 3 Manejo de ensayo

N° 4 Glosario de términos técnicos

RESUMEN Y SUMMARY

RESUMEN

Ecuador es el tercer país con mayor exportación de flores del mundo después de Holanda y Colombia. Posee una amplia gama de variedades de rosas (*Rosa sp.*) lo que la hace aceptada y exitosa en el mercado internacional, con casi 300 variedades con altas expectativas de exportación. Existen gran variedad de plantas ornamentales, de las cuales la rosa se ha convertido en la mayormente cultivadas no solo para su uso decorativo, sino también para uso alimentario, de recreación y satisfacción estética, representando uno de los productos principales en el mercado comercial de la floricultura. El presente trabajo investigativo se realizó en el sector de Laguacoto II, cantón Guaranda, provincia de Bolívar. Se analizó la micropropagación de explantes de dos variedades de rosas, utilizando tres tipos de fitoreguladores en tres dosis. Los objetivos planteados fueron: i) Establecer un medio de cultivo in vitro que sea adecuado para la propagación de rosas a partir de yemas axilares. ii) Encontrar las concentraciones necesarias de reguladores de crecimiento para la multiplicación in vitro de rosas en el medio de cultivo iii) Determinar el porcentaje de sobrevivencia de explantes propagados in vitro. Se ejecutó análisis de varianza, prueba de Tukey al 1% comparando los promedios entre tratamientos y factores en estudio (AxBxC). El tratamiento que mayor número de brotes por explante registró fue: T14 Quicksand + kinetina + 5 mg/lit, con 5 brotes. En la relación beneficio costo se hace referencia que el mejor tratamiento es el T1 Explorer + bencil adenina + 3 mg/lit es decir por cada unidad invertida existe una ganancia de \$3,79. Seguido del tratamiento T14 Quicksand + kinetina + 5 mg/lit, con una ganancia por cada unidad invertida de \$0,85.

Palabras claves: Rosa; Multiplicación in vitro, Bencil aminopurina, Tri-factorial

SUMMARY

Ecuador is the third largest exporter of flowers in the world after Holland and Colombia. It has a wide range of varieties of roses (*Rosa* sp.) which makes it accepted and successful in the international market, with almost 300 varieties with high export expectations. It should be noted that there is a great variety of ornamental plants, of which the rose has become one of the most cultivated ornamental plants not only for decorative use, but also for food use, recreation and aesthetic satisfaction, representing one of the main products in the commercial market of floriculture. The present research was carried out in the sector of Laguacoto II, Guaranda canton, Bolivar province. The micropropagation of explants of two varieties of roses was analyzed using three types of phytohormones at three doses. The objectives were: i) To establish an in vitro culture medium suitable for the propagation of roses from axillary buds. ii) To find the necessary concentrations of growth regulators for the in vitro multiplication of roses in the culture medium. ii) To determine the percentage of survival of explants propagated in vitro. Analysis of variance, Tukey's test at 1%, was carried out to compare the averages between treatments and factors under study (AxBxC). The main results obtained showed that the treatments with the highest number of shoots per explant were T1 Explorer + benzyl adenine + 3 mg/lit and T14 Quicksand + kinetin + 5 mg/lit with 5 shoots. In the cost-benefit ratio, the best treatment with a cost benefit is T1 Explorer + benzyl adenine + 3 mg/lit, i.e. for each unit invested there is a gain of \$3.79. Followed by the treatment T14 Quicksand + kinetin + 5 mg/lit with a profit for each unit invested of \$0.85.

Key words: Rose; In vitro multiplication, Benzyl aminopurine, Tri-factorial.

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

Ecuador es el tercer país con mayor exportación de flores en el mundo después de Holanda y Colombia. Posee una amplia gama de variedades de rosas (*Rosa sp.*) lo que la hace aceptada y exitosa en el mercado internacional, con casi 300 variedades con altas expectativas de exportación. La superficie total de flores es actualmente de 4.000 hectáreas de rosas. (Salazar, 2017)

Desde épocas remotas, el cultivo de plantas ornamentales ha constituido una ocupación básica del ser humano, convirtiéndose en una fuente de ingresos y de empleo para el mismo. En la antigüedad, dicha actividad contemplaba fines netamente decorativos; no obstante, con el pasar de los años su importancia trascendió en aspectos económicos. (Chiriboga, 2020)

En la misma línea, se debe señalar que, existen gran variedad de plantas ornamentales, de las cuales la rosa se ha convertido en una de las plantas ornamentales mayormente cultivadas no solo para su uso decorativo, sino también para uso alimentario, de recreación y satisfacción estética, representando uno de los productos principales en el mercado comercial de la floricultura. (FEDEXPOR 2018) (Asociación Nacional de Productores y Exportadores de Flores del Ecuador)

Por otro lado, en cuanto a la generación y cultivo de plantas ornamentales, las exigencias del mercado cada vez son mayores en cuanto a la calidad de estas, en especial de las rosas, por lo que, las florícolas y productores deben ser cuidadosos y tomar en consideración las necesidades y preferencias del consumidor al momento de adquirir dichas plantas. (Piaveri, 2017)

Siendo esencial buscar variedades altamente productivas que posean una vida más larga, variedades con fragancias más intensas y duraderas, rosas sin espinas, resistentes a enfermedades y plagas, altamente resistentes a la manipulación, recolección y transporte. (Tipan, 2015)

En el caso del Ecuador, a más de ser un país exportador de banano, petróleo y otros recursos, uno de los principales ingresos económicos se desarrolla a través de la exportación de flores como cultivos no tradicionales, en especial de las rosas, demostrando ser una alternativa viable para el desarrollo de la economía nacional, convirtiéndose en fuente de empleo y generando excelentes divisas para el país. (FAO, 2019)

Debido a la alta demanda en la producción de rosas, se ha incrementado la producción de éstas bajo invernaderos, lo cual genera factores que favorecen la producción de plantas injertadas como las rosas fomentando un incremento en la tasa de empleo; no obstante, el escaso conocimiento existente sobre diferentes alternativas de propagación, dosis y técnicas ha llevado a diferentes productores agrícolas a no insertarse de una forma adecuada en el mercado local y nacional. (Zúñiga, 2020)

En este sentido, tomando en consideración lo antes expuesto y ante el aumento de la producción del cultivo de rosa, en otros países, en sistemas hidropónicos, es necesario contar con técnicas de propagación que sean eficientes, económicas y que produzcan poblaciones homogéneas.

Señalándose como punto focal, la importancia que posee la utilización de fitoreguladores o también llamados reguladores del crecimiento vegetal como herramienta para favorecer el manejo adecuado de cultivos agrícolas, entendiendo que, la aplicación de estos compuestos da lugar a la modificación en el desarrollo de plantas, permitiendo un mejor crecimiento y formación. (Castro, 2019)

Los objetivos planteados en esta investigación fueron:

- Establecer un medio de cultivo in vitro que sea adecuado para la propagación de rosas a partir de yemas axilares
- Encontrar las concentraciones necesarias de reguladores de crecimiento para la multiplicación in vitro de rosas en el medio de cultivo
- Determinar el porcentaje de sobrevivencia de explantes propagados in vitro

1.2. PROBLEMA

La falta de un manejo técnico en la propagación clonal de rosas (*Rosa sp.*) ha creado una serie de problemas en el mundo y principalmente en el Ecuador, por lo que en los últimos años la producción de rosas se ha incrementado por proceso de invernadero donde en el 2020 llega al área nacional de cosecha de rosas a una expansión de 9.600 ha, se sabe que cada finca de flores tiene ,3 ha de producción, por lo que en dicha superficie se cultivan en promedio 57 variedades de rosas con una producción de 3.799,9 millones. La industria de la floricultura genera en promedio 96.831 recursos laborales, con alta demanda en el mercado nacional, convirtiéndose en uno de los factores que impulsan la producción de rosas injertadas.

Sin embargo, cuando las exportaciones a diferentes países como Estados Unidos, Rusia, China, España y otros han intentado crecer, ha existido ciertas consecuencias por la falta de medidas a largo plazo. Además, la crisis de la economía rusa ha afectado significativamente los precios en este mercado.

Asimismo, factores internos, como el alza de precios en el sector agropecuario en relación a insumos básicos como fertilizantes y pesticidas, fuerte incremento en la dinámica de la fuerza laboral, leyes laborales demasiadas estrictas, falta de acuerdos comerciales con mercados externos, desequilibrio entre importaciones aéreas y exportaciones, la falta de cultura de trabajo conjunto entre las empresas, las ineficiencias del proceso productivo y la aplicación de métodos científicos de baja tecnología también han creado vulnerabilidad a la producción de rosas.

Por eso se hace necesario aplicar y analizar alternativas y posibles medidas para orientar y equilibrar el costo de producción de flores. Entre estas alternativas se menciona la implementación de fitorreguladores por lo que este estudio pretende establecer un medio de siembra in vitro óptimo para la propagación en cultivo de rosas, analizando las cantidades óptimas a ser utilizadas que permitan determinar el porcentaje de resistencia y sobrevivencia de explantes propagados dentro del laboratorio.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Origen

La rosa (*Rosa spp.*) comenzó a ser cultivado hace 5000 años probablemente en China y posteriormente durante el periodo del imperio romano se extendió por todo el Medio Oriente como confeti para celebraciones, fuente para perfumes y recurso medicinal, sin embargo, su cultivo se redujo con la caída del imperio. La era moderna de las rosas se estableció con la introducción de la primera rosa de té híbrida “La France” por Guillot en 1867 y a final del siglo XX más de 10000 rosas de té se criaron con éxito. (Chamorro, 2020)

La rosa es una planta ornamental perteneciente a la familia de las Rosáceas, cuyo origen no es preciso, a pesar de que la mayoría de los investigadores la sitúa en la parte central del continente asiático, la existencia de las rosas no está todavía muy definida, puesto que “se sabe que existían en China, en África y Estados Unidos hace 30 millones de años”. Sin embargo, la especie que hoy en día se cultiva en sur américa, proviene de híbridos de China y Europa. (García, 2019)

La floricultura en Ecuador está pronta a cumplir cuarenta años de actividades ininterrumpidas, años durante los cuales ha desarrollado un ejercicio productivo muy positivo para el crecimiento del negocio en el país. Los inicios del sector floricultor en el Ecuador se remontan al año 1982 en la zona de Puembo (Parroquia Rural del Distrito Metropolitano de Quito, ubicado a un poco más de setenta kilómetros de la capital). En este lugar se ubicó la compañía “Jardines del Ecuador”, que fue el primer cultivo de clavel y crisantemo en el país. (Chavarro, 2021)

En ciertos sectores del Ecuador se exportan varios tipos de flores, sin embargo, las que tienen más demanda al exportar son las rosas. Es muy importante recalcar que no solo se exportan las rosas también otros tipos de flores, pero se hace énfasis en este. Según el CFN considera que las rosas son las que tienen la mayor participación

en el sistema interventor de exportación en el país con un 77% de las exportaciones totales. (Cluster, 2018)

2.2. Características de las variedades en estudio

2.2.1. Variedad Explorer

La rosa Explorer producida en Ecuador es una de las rosas más grandes del mercado. Tiene un rojo oscuro y un tamaño de cabeza realmente grande.

- Tamaño del botón (cm): 6,5
- Longitud de tallo (cm): 60-90
- Tiempo de vida en florero (días): 10-12
- Número de pétalos: 43

2.2.2. Variedad Quicksand

Las rosas Quicksand de color crema y salmón se han convertido en una selección más popular debido a su color, tamaño y durabilidad. La rosa Quicksand de color crema con el centro de color salmón es una de las variedades más vendidas y solicitadas en todos los mercados a nivel internacional y nacional, por su color, belleza y durabilidad. Es muy utilizada para cualquier tipo de arreglo floral, pero sobre todo para bodas y fiestas por su estilo moderno y elegancia. El crema es el color de la pureza, el amor y la paz. Llamativa, intensa y estimulante, la rosa Quicksand que se cultivan en Ecuador significan el amor y el respeto de un amante.

- Largo de tallo: 40 – 60cm
- Tamaño de botón: 6 – 6.5cm
- Número de pétalos: 44
- Días en florero: 12 – 14 días

2.3. Clasificación taxonómica

Reino:	Vegetal
Clase:	Dicotiledoneas
Subclase:	Arquiclámideas
Orden:	Rosales
Familia:	Rosaceae
Género:	Rosa
Especie:	Rosa híbrida
Nombre científico:	<i>Rosa sp.</i> (García, 2017)

2.4. Clasificación morfológica

2.4.1. Raíz

La rosa posee una raíz pivotante, profunda y con una amplia capacidad de expansión, sin embargo, las raíces de plantas provenientes de estacas son pequeñas. Las raíces de plantas provenientes de injertos se desarrollan mejor y es por ello que presentan un ciclo de producción mayor al de estacas. (Jiménez, 2018)

2.4.2. Tallo

Los tallos de la rosa son leñosos con una altura que varía entre 0,60 a 1,10 m y varía según la variedad. Los entrenudos miden desde los 10 a 20 cm y diámetro de 0,50 a 0,70 cm. Los primeros tallos que nacen del injerto se denominan basales y se caracterizan por su rápido crecimiento (Camacho, 2020).

2.4.3. Hojas

Sus hojas pueden ser perennes o caducas, pecioladas, compuestas, con folíolos de margen serrado (5-11 folíolos). Por lo general, suelen presentar glándulas anexas sobre los márgenes que pueden ser odoríferas o no. (InfoAgro, s.f.)

2.4.4. Flores

Debido a la gran cantidad de hibridaciones, existen flores de diversas formas y características diferentes. Por lo general, son hermafroditas, con simetría radial, perianto bien desarrollado y se disponen de forma solitaria o en inflorescencias en corimbo. (InfoAgro, s.f.)

2.5. Condiciones edafoclimáticas

2.5.1. Temperatura

Para la mayoría de los cultivares de rosa, las temperaturas óptimas de crecimiento son de 17°C a 25°C, con una mínima de 15°C durante la noche y una máxima de 28°C durante el día. Pueden mantenerse valores ligeramente inferiores o superiores durante períodos relativamente cortos sin que se produzcan serios daños, pero una temperatura nocturna continuamente por debajo de 15°C retrasa el crecimiento de la planta, produce flores con gran número de pétalos y deformes, en el caso de que abran. Temperaturas excesivamente elevadas también dañan la producción, apareciendo flores más pequeñas de lo normal, con escasos pétalos y de color más cálido. (PortalFruticola, 2016)

2.5.2. Humedad

Debe existir un porcentaje de humedad relativa óptimo para favorecer la apertura de las estomas, el incremento gaseoso y evitar la aparición de enfermedades. Por lo general, la humedad relativa debe oscilar entre el 60-70%, excepto en algunos periodos del ciclo como después de: 1) Plantación, donde requiere mayor humedad para estimular el crecimiento y disminuir las pérdidas por evapotranspiración y 2) Poda, para estimular la formación de yemas y el crecimiento (la HR debe oscilar en torno al 85-90%). Niveles inferiores al 60% pueden producir daños por deshidratación e incremento de plagas como ácaros. (Infoagro, 2019)

2.5.3. Luz

La rosa es una planta de día largo. Por tanto, en los meses de verano, cuando prevalecen elevadas intensidades luminosas y larga duración del día, la producción de flores es más alta que durante los meses de invierno.

La intensidad lumínica es la responsable de la longitud y dureza del tallo, así como del número y tamaño de las flores. Una baja intensidad lumínica ocasiona tallos largos, finos, flexibles y con un menor número de flores, acompañado de un mayor desarrollo de brotes ciegos.

2.5.4. Sustrato

Requieren de sustrato suelto, rico en materia orgánica y buena capacidad de aireación y drenaje, ya que sus raíces son muy sensibles al encharcamiento. El pH debe oscilar entre 6-7, aunque depende del portainjerto utilizado. Las rosas no toleran elevados niveles de calcio. De hecho, si este elemento se aplica en exceso, muestra rápidamente clorosis. Tampoco soportan elevados niveles de sales solubles, siendo la máxima tolerancia de 3dS/m. El exceso de sales provoca quemaduras en los márgenes de las hojas.

2.6. Usos

La rosa es una de las flores que más se usan en la cosmética, y con justo motivo. Sus numerosas propiedades ayudan a mejorar la salud de la piel, mientras que su aroma tiene efectos relajantes. El aceite esencial de rosas es antimaterial y un excelente ingrediente para limpiadores faciales, además tiene propiedades antiinflamatorias, por lo que puede calmar pieles sensibles que sufren de rosácea. También es un potente antioxidante gracias a su contenido de vitamina C, por lo que se considera el agua de rosas como un aliado contra las quemaduras provocadas por el sol. (Hartung, 2018)

También son muy utilizadas en la cocina árabe y pueden ser consumidas en cremas, mousses o combinadas con jugos de frutas, ensaladas, postres, mermeladas y bebidas como limonadas y jugos de naranja, para dar un toque exótico. Además, las

flores se pueden servir en adornos de pasteles. Normalmente, se hace una infusión primero para concentrar el sabor. (Franzen, 2018)

2.7. Biotecnología vegetal

La biotecnología vegetal se considera un campo de la ciencia y la tecnología que utiliza organismos vivos o sus componentes para crear organismos modificados o productos derivados para uso clínico, alimentario o industrial. El cultivo de tejidos vegetales es una herramienta desarrollada para el estudio, propagación y mejora de las plantas. Hay muchos investigadores que han hecho contribuciones significativas para que podamos obtener una mejor comprensión del cultivo de tejidos vegetales y su relación con otros campos, como la fisiología, la bioquímica, la morfología y la anatomía, y haga contribuciones prácticas a la reproducción y mejora de las plantas. (López, 2021)

2.8. Medio de cultivo

2.8.1. Generalidades

El cultivo in vitro se ha desarrollado debido a la totipotencia celular, que permite el desarrollo de una planta completa a partir de células vegetales simples. Esta técnica se basa en el cultivo de tejidos, órganos o células vegetales, en medios nutritivos adecuados, bajo condiciones asépticas y en ausencia de microorganismos, permitiendo el desarrollo de plantas enteras a partir de explantes (Acosta, 2017)

El cultivo de tejidos vegetales es un soporte para los métodos de propagación tradicionales, dado que permite la masificación y preservación de especies que se encuentran en peligro de extinción o que presentan una carga genética importante (Pozo, 2021)

2.8.2. Morfogénesis

La morfogénesis es la formación de órganos y comprende procesos de desdiferenciación celular y re diferenciación, bajo determinados estímulos, para obtener diferentes respuestas como la regeneración de brotes, primordios de raíces, callos, entre otros. La respuesta morfogénica puede variar según el tipo de

material vegetal, composición del medio y adición de reguladores de crecimiento debido a su relación directa con el explante, las condiciones endógenas del medio, deben -permitir que los diferentes tejidos expresen distintas respuestas como organogénesis radicular, caulinar y embriogénesis; tanto directa como indirecta. (Moreno, 2019)

2.8.3. Caulogénesis

La caulogénesis, es un tipo de morfogénesis que comprende la formación de un brote adventicio, el cual puede originarse según los niveles de hormonas que estén presentes en el explante y/o medio de cultivo, una alta concentración de citoquininas y baja concentración de auxinas permite la generación de brotes. (Moreno, 2019)

Durante el proceso caulogénico se ha diferenciado tres fases: la primera es la adquisición de competencia morfogenética, marcada por un proceso de desdiferenciación o transdiferenciación celular, la segunda fase implica un proceso de estimulación de los meristemas apicales, por efecto de la presencia de reguladores de crecimiento en el cultivo, y la última fase comprende el desarrollo de brotes. (Álvarez, 2020)

El desarrollo caulogénico, puede ser directo e indirecto, la vía directa, consiste en la formación de brotes a partir de meristemas caulinares y elongación del tallo sin la formación de células 10 callosas, mientras que la vía indirecta, implica el cultivo de callos para el desarrollo de brotes. (Suárez, 2020)

2.8.4. Callogénesis

La respuesta callogenética consiste en un proceso de desdiferenciación y proliferación de células somáticas, este proceso es inducido por la presencia de minerales, sacarosa y otros nutrientes orgánicos, en la mayoría de explantes es necesario el empleo exógeno de reguladores de crecimiento.

La presencia de auxina en el medio de cultivo favorece la respuesta callogenética, sin embargo, concentraciones en iguales cantidades de auxinas y citoquinas aumentan el porcentaje callogenético. (L'bachir 2017)

2.8.5. Composición de un medio de cultivo

El medio de cultivo más utilizado hoy en día para la multiplicación de explantes es el MS dado que fue desarrollado por Murashige y Skoog en 1962.

Una vez que se forma el explante, las puntas comienzan a germinar rápidamente y se obtendrán plantas in vitro con seis o siete nudos dentro de dos a cuatro semanas.

Las plántulas in vitro son seccionadas en micro estacas con una o dos yemas hay uno o dos brotes para transferir y así sucesivamente regrese al recipiente con medio MS estéril y así sucesivamente para aumentar el número de plantas in vitro hasta alcanzar un número predeterminado. (Caillante, 2017)

2.8.6. Medio de cultivo

Para asegurar la proliferación del tejido vegetal, se puede utilizar un medio basal, y dependiendo de la respuesta que se quiera inducir, se puede adicionar diferentes componentes y reguladores de crecimiento. (Parrales, 2017)

Para garantizar la disponibilidad de nutrientes a los tejidos vegetales, el medio de cultivo puede estar compuesto por macro y micronutrientes, aminoácidos, vitaminas, agentes gelificantes, fuente de carbono y agua pura libre de iones. A continuación, se detalla cada uno de los componentes del medio. (Meneses, 2016)

2.8.7. Sales inorgánicas

Las sales inorgánicas son muy utilizadas en cultivos in vitro, dado que influyen en el crecimiento y desarrollo de los tejidos y células vegetales, por esta razón, las sales en fases de introducción y multiplicación han favorecido el crecimiento y proliferación de brotes en rosas. Sin embargo, en ocasiones es necesario modificar el contenido vitamínico y reducir la concentración de sales, para evitar efectos negativos en el crecimiento y desarrollo de las plantas. (Jiménez, 2016)

2.8.8. Fuente de carbono

Los tejidos vegetales in vitro, necesitan un aporte exógeno de carbohidratos que les proporcione la energía necesaria, ya que carecen de actividad fotosintética. (Tacoronte, 2017)

La sacarosa es la fuente de carbono más utilizada, ya que induce el crecimiento celular, formando plántulas con mayor altura, diámetro y número de hojas. Por lo general se utiliza en concentraciones entre 1 – 5 %, para inducir una respuesta morfogénica.

Concentraciones mayores al 5 %, favorece la inducción de embriones somáticos, mientras que concentraciones al 1 %, permiten que se formen tallos con un mayor diámetro y vigor, cuando el explante inicial son yemas. (Cuchut, 2019)

2.8.9. Vitaminas y aminoácidos

Las vitaminas, en la mayoría de los casos, cumplen funciones de cofactores de reacciones enzimáticas (tiaminafosfato, piridoxina), en otros se comportan como sustrato de reacciones metabólicas (ácido nicotínico). La combinación de vitaminas en el medio de cultivo se definió a partir de los primeros estudios de cultivo de raíces. La composición vitamínica, en el caso de medio MS, está constituida por tiamina (Vitamina B1), ácido nicotínico (niacina) y piridoxina (vitamina B6), a la que normalmente se le adiciona el aminoácido glicina.

Las concentraciones más usuales oscilan entre 0.1 a 0.5 mg por litro de solución de medio. Otros compuestos utilizados son: ácido ascórbico, ácido fólico, riboflavina y biotina. En todos los casos las variaciones en la formulación están dada por la especie utilizada y la respuesta buscada. (Pérez, 2017)

2.8.10. Agentes solidificantes

El medio de cultivo que se utiliza para la propagación de plántulas in vitro puede estar en fase líquida (sin agente gelificante) o en fase semisólida con un agente solidificante, este último permite una posición fija del explante. El agar en

concentraciones entre 0,3 – 1 %, es uno de los agentes solidificantes de mayor uso, debido a que posee una mayor inocuidad sobre los tejidos vegetales. (Pozo, 2021)

El agar es un polisacárido de galactosa y galactomanano, proveniente de las algas rojas, su composición es 70 % agarosa y 30 % agarpectina, se solubiliza en agua hirviendo y se gelifica a 45 °C; su uso se debe a que puede formar geles estables y resistentes a la acción enzimática bacteriana. Es estable a las temperaturas de esterilización, ya que no cambia su estructura, no provoca una reacción adversa con los componentes del medio de cultivo y no interfiere en su movilización.

2.8.11. Antimicrobianos

Los antimicrobianos son agentes que se caracterizan por destruir o inhibir el desarrollo y multiplicación de microorganismos, debido a que presentan un efecto bacteriostático y/o fungistático (Singh, 2018).

Debido a que los contaminantes microbianos, son uno de los causantes de pérdidas en la propagación vegetativa in vitro, se ha optado por incorporar antimicrobianos en el medio de cultivo; es importante considerar su concentración, para evitar efectos fitotóxicos sobre los tejidos vegetales. (Abreu, 2016)

2.8.12. Macronutrientes

Los seis elementos mayores: nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S) conforman los macronutrientes requeridos por las células vegetales para alcanzar un crecimiento adecuado estructuralmente.

Dependiendo del medio de cultivo varían las dosis de estos elementos. Las concentraciones de nitrógeno son elevadas en la mayoría de los medios nutritivos; sin embargo, en algunas especies, el exceso contribuye a desordenes fisiológicos como la vitrificación de los tejidos. (Lamchimba, 2016)

2.8.13. Micronutrientes

Las plantas utilizan en su nutrición pequeñas cantidades de ciertos elementos, denominados microelementos, oligoelementos o elementos trazas.

La concentración en miligramos por 100 gramos de materia seca de estos ocho microelementos existentes como son: boro, cloro, cobre, hierro manganeso, molibdeno, níquel, zinc y sodio. Los vegetales los requieren solamente en cantidades muy pequeñas que oscilan entre 0,01 a 0,5 ppm. Los micronutrientes tienen varias propiedades en común, entre las que están la de actuar como activadores de muchas enzimas esenciales para la vida animal y vegetal, aunque cuando presentes en cantidades elevadas en las soluciones nutritivas o solución del suelo, producen toxicidad. (Pérez, 2017)

2.8.14. Carbohidratos

Los carbohidratos son moléculas formadas por carbono, hidrógeno y oxígeno (C, H, O) e incluyen algunas de las moléculas más relevantes en la vida de los organismos, como son la glucosa, que es universalmente utilizada por las células para la obtención de energía metabólica.

Por otra parte, los carbohidratos son moléculas importantes en la biósfera, en donde la celulosa, que forma la porción principal de la estructura de las plantas, es la molécula orgánica más abundante del planeta y la encontramos en nuestra vida diaria bajo la forma de madera o las fibras de algodón, acetato y rayón de nuestras ropas; así también el azúcar de mesa, la sacarosa, es un disacárido con el que endulzamos nuestros alimentos y se produce anualmente en cantidad de millones de toneladas. (Micocci, 2018)

2.8.15. Agentes solidificantes

Es un polisacárido extraído de ciertas algas marinas principalmente de la clase Rhodophyceae, en particular de la especie *Gelidium corneum*. Funde aproximadamente a 92 °C Solidifica a no más de 42 °C. Es digerida por muy pocos microorganismos y su adición al medio no afecta sus características nutricionales ni su pH. La concentración de agar para un medio sólido es del 2% y para un medio semisólido es de 0.05-0.75%. (Gutiérrez, 2020)

2.8.16. Reguladores de crecimiento

Los reguladores de crecimiento pueden ser clasificados según su estructura molecular, su actividad a nivel vegetal, sus efectos inhibitorios o estimulantes, entre otras clasificaciones. La clasificación de los reguladores de crecimiento más usados en la actualidad para el crecimiento vegetal y su aplicación. Algunas fitohormonas se clasifican en familias, por ejemplo, las auxinas, en donde encontramos varios compuestos con estructura y actividad similar. Por otra parte, reguladores como el etileno son sustancias específicas y no se conocen otras que cumplan una actividad similar. Ciertas funciones de las fitohormonas pueden ser observadas a nivel fenotípico. (Alcantara, 2019)

- **Auxinas:** Las auxinas son por excelencia hormonas del crecimiento vía división y alargamiento (raíz, tallo, hoja, fruto, etc.) y particularmente inducen la formación de raíces (ej. enraizamiento de esquejes).

Participan en los tropismos de las plantas, inhiben la senescencia o envejecimiento de los tejidos, inhiben la brotación de yemas laterales (axilares) e inhiben la caída de órganos. (INTAGRI, 2017)

Están presentes en las plantas de forma universal y aparentemente no son de acción específica, ya que en general se ha observado que la respuesta a una auxina en una especie es semejante a la que ejerce en otras. Hay una variedad de compuestos químicos sintéticos que tienen actividad de auxinas, siendo los más utilizados en la producción viverística el ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB), ácido naftalenacético y ácido 2.4 diclorofenoxiacético. (Franzen, 2019)

- **Giberelinas:** Las Giberelinas promueven el crecimiento de entrenudos, estimulan y aceleran la floración, inducen la fructificación. También actúa inhibiendo el crecimiento normal de raíces. (Lamchimba, 2016)

Hay más de 125 tipos diferentes de giberelinas. Se producen en tejidos jóvenes y semillas en desarrollo. Su síntesis comienza en los cloroplastos, pero también participa la membrana plasmática. (Megías, Molist & Pombal, 2020)

- **Citoquininas:** Las citoquininas in vivo aumentan la tasa de división celular, transportan solutos a las hojas, semillas, flores y frutos, y provocan un retraso en la senescencia de las hojas. El uso de los diferentes tipos de citoquininas como Bencil aminopurina (BAP), Bencil adenina (BA) y Kinetina (KN) han mostrado potencial para incrementar la tasa de multiplicación vía micropropagación. (Cedeño, 2021)
- **Etileno:** El etileno es un compuesto gaseoso que se cree que es una hormona de maduración de la fruta, pero también regula varios procesos fisiológicos, como la germinación de semillas, la senescencia de hojas y flores, la caída de hojas y frutas y la floración en algunas especies. (López, 2016)
- **Aminoácidos:** El papel de los aminoácidos en la nutrición de los tejidos y células de las plantas es complejo porque los tejidos responden de manera diferente a su suplementación. En general, los aminoácidos son inhibidores si corresponden al tipo D, mientras que en el tipo L tienen acciones caritativas. Éstas sintetizan los aminoácidos a partir del carbono, el oxígeno y el hidrógeno, siendo los más importantes y esenciales: metionina, glutamato, arginina, alanina y glicina. (Certisbelchim, 2022)

2.8.17. Condiciones Ambientales

En la micropropagación in vitro, el crecimiento vegetal se puede ver influenciado por varios factores abióticos, como la temperatura, humedad y luz. Una humedad relativa alta, debido a que los recipientes tienen una baja tasa de intercambio gaseoso, los tejidos vegetales pueden presentar alteraciones foliares e hiperhidricidad. Otro factor por considerar es la luz, la cual interviene en el desarrollo y crecimiento vegetal de los organismos autótrofos es importante considerar aspectos como el fotoperíodo, la intensidad y duración de la luz, dado que permiten la activación de varias respuestas fisiológicas. (Murillo, 2016)

2.9. Fases del cultivo in vitro

2.9.1. Fase 0: selección de la planta madre

En la etapa inicial de selección de una planta donante para crecer en condiciones estériles, la planta madre debe tener un buen contenido de nutrientes, estar completamente desarrollada y mantenerse en un invernadero con óptimas condiciones de higiene. Al elegir la planta donadora, existen factores que se deben considerar, como su edad y fisiología, estado en el que se recolecta, tamaño y calidad sanitaria.

El estado fisiológico de la planta donadora es importante debido a que influye en su respuesta morfogénica, para asegurar una propagación in vitro a gran escala libre de enfermedades, se puede optar por órganos vegetales jóvenes y con menor diferenciación, ya que presentan una mejor respuesta in vitro en la fase de establecimiento. (Guerrero, 2016)

2.9.2. Fase I: introducción al medio

Este paso incluye la selección del inóculo, el procedimiento de esterilización y la inmersión en el medio inicial. La esterilidad completa es importante para lograr la inducción filogenética del material vegetal in vitro.

Al momento de seleccionar los explantes, es importante considerar su tamaño, ya que puede influenciar la proliferación de yemas en el medio. Si bien un explante de mayor tamaño permite el crecimiento, regeneración de órganos y proliferación de callos, las posibilidades de contaminación también aumentan; con el fin de disminuir la contaminación se pueden usar explantes pequeños, considerando que su establecimiento puede resultar complicado, ya que pueden presentar un bajo crecimiento y requerir de medios más complejos. (Indacochea & Parrales, 2017)

Una vez seleccionado el explante, se realiza un protocolo de desinfección, utilizando diferentes compuestos como hipoclorito de sodio o calcio, alcohol, Tween 20, peróxido de hidrógeno, entre otros. La concentración y tiempo de exposición de los reactivos, será en función del tipo de órgano vegetal, para evitar

que las células se dañen e interfieran con las respuestas morfogénicas. (Indacochea, 2017)

2.9.3. Fase II: multiplicación

En esta fase se busca que los explantes que consiguieron establecerse en la fase de inducción, produzcan brotes axilares o adventicios. En los segmentos nodales, dentro del peciolo de cada hoja se encuentra una yema, la cual se desarrollará en presencia de medio de cultivo, generando un nuevo vástago. Cada uno de los explantes generados se subcultivan constantemente en un nuevo medio de cultivo; a través de divisiones y resiembras se puede lograr un incremento exponencial. (Parismoreno, 2016)

Dado que el propósito de la fase de multiplicación es producir un mayor número de yemas axilares o adventicias en un menor tiempo de producción, este procedimiento se debe realizar en equipos especiales como la cámara de flujo laminar y en lugares apartados, con el fin de poder mantener siempre las condiciones asépticas e incrementar el número de plantas en cada repique o división vegetal. La cantidad de explantes obtenidos en esta fase dependerá de la especie vegetal, las condiciones del medio de cultivo y la eliminación de los factores que retrasan el crecimiento vegetal. (Indacochea, 2017)

2.9.4. Fase III: enraizamiento

La fase de enraizamiento es un evento fisiológico importante en el cultivo in vitro, puesto que su presencia facilita la absorción de agua y nutrientes, y permite el posterior establecimiento de las vitroplantas a condiciones ex vitro. En esta fase se da la formación de raíces a partir de los brotes obtenidos en la fase de multiplicación. (Fernández, 2016)

La adición de auxinas (AIA e IBA), compuestos fenólicos, diferentes fotoperíodos, entre otros, favorecen la inducción de raíces en los explantes, como estimuladores del enraizamiento; también se puede adicionar carbón activado, ya que favorece el desarrollo caulinar, foliar y radicular en los explantes. (Ríos, 2016)

2.9.5. Fase IV: aclimatación

La aclimatación del inóculo es un paso importante en la micropropagación porque los explantes in vitro se cultivan en condiciones de alta humedad relativa, cerca de alimentos heterótrofos y bajo metabolismo, lo que puede indicar que la tasa de mortalidad de las plantas cultivadas in vitro es alta. En el estado gaseoso, pueden ocurrir una serie de cambios estructurales y fisiológicos, como una baja eficiencia fotosintética, disminución de la cera de la cutícula y alteración de la función estomática.

Antes de trasplantar los explantes, se debe lavar las vitroplantas con agua templada, retirando residuos de agar que pueden servir como medio para 20 microorganismos patógenos, y sembrarlos en recipientes con sustrato estéril y aireado. Indican que se pueden usar diferentes sustratos sueltos y porosos para permitir el desarrollo y crecimiento de las raíces, lo más usados son la turba, vermiculita, granza, tierra negra, entre otros. Para la aclimatación de rosas, es recomendable usar diferentes sustratos formulados. (Adrián, 2019)

2.10. Problemas en el cultivo in vitro

2.10.1. Contaminación

El establecimiento de cultivos in vitro puede verse limitado por la presencia de microorganismos contaminantes endógenos y exógenos. Su crecimiento se puede evidenciar en el medio de manera inmediata o pueden permanecer latentes en los tejidos vegetales. Las fuentes de contaminación que actúan como vehículos de los agentes contaminantes son el material vegetal, el aire, el medio y los operarios. (Suárez, 2020)

Los contaminantes microbianos más frecuentes en el cultivo in vitro son hongos del género *Fusarium*, *Aspergillus* y *Alternaria*; y, bacterias del género *Enterobacter*, *Erwinia*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, entre otras. Sin embargo, las bacterias son uno de los contaminantes más comunes, difíciles de detectar y eliminar. (Villa, 2019)

Como alternativa para disminuir la incidencia de microorganismos contaminantes, se puede realizar pre tratamientos con productos químicos a la planta donadora, sumergir a los explantes en sustancias antibióticas o antimicóticas durante el proceso de desinfección, incubar los explantes por 24 horas en un medio básico, o adicionar antibióticos en el medio, como cloranfenicol y tetraciclina (bacteriostáticos) y penicilina, cefotaxima, ticar y rifampicina (bactericidas). (Indacochea, 2017)

2.10.2. Ventajas de la micropropagación

- **Mayor calidad del producto**

Se obtienen plantas libres de enfermedades, mejoramiento del fenotipo de las plantas y eso ayuda a que el valor del producto se incremente.

- **Aparición de plantas fuera de tiempo**

Aun cuando la micropropagación es una tecnología de clonación, pueden ocurrir mutaciones durante las distintas etapas del proceso, aunque la variabilidad es siempre un riesgo en este método.

- **No es aplicable a todos los cultivos**

No todos los cultivos pueden ser comercialmente propagados por micropropagación a los niveles actuales de esta tecnología. Aunque existen muchos reportes científicos en un variado número de especies, estos aún no están listos para su aplicación a escala comercial y en otros cultivos ningún sistema de regeneración ha sido desarrollado hasta el momento, lo cual limita la aplicación de esta tecnología. (Chávez, 2019)

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Materiales

3.1.1. Localización de la investigación

La presente investigación se desarrolló en:

País	Ecuador
Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Parroquia	Gabriel Ignacio Veintimilla
Sector	Laboratorio de biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, en la granja Laguacoto II.

3.1.2. Situación geográfica y climática

Localidad	Laguacoto
Altitud	2668 msnm
Latitud	1° 36' 55" S
Longitud	78° 59' 53" O
Temperatura máxima	23 °C
Temperatura mínima	2 °C
Temperatura media anual	13.5 °C

Fuente: Estación Meteorológica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente UEB-Guaranda y Evaluación GPS In Situ. (2022)

3.1.3. Zona de vida

La localidad en estudio de acuerdo con las zonas de vida corresponde al bosque seco montano bajo (bs – MB). (Holdrige, 1974)

3.1.4. Material experimental

- Explantes de Rosas (*Rosa sp*) variedad Explorer y Quicksand
- Fitorreguladores citoquininas: Bencil adenina, Kinetina, Bencil amino purina

3.1.5. Material de laboratorio

- Autoclave
- Cabina de flujo laminar
- Agitador magnético
- Microondas
- Balanza digital
- Mechero de alcohol 70%
- Alcohol de 70%
- Agua destilada
- Papel absorbente
- Bisturí
- Gel desinfectante
- Jabón líquido
- Frascos de vidrio
- Bandejas de plástico
- Pinzas

3.1.6. Material de oficina

- Computadora
- Cámara fotográfica
- Libreta

- Papel Bonn
- Esfero gráfico
- Regla
- Flash Memory
- Programa estadístico Statistix 10.0

3.1.7. Soluciones nutritivas

Stock 1	Stock 2	Stock 3
<ul style="list-style-type: none"> • Nitrato de potasio • Nitrato de amonio • Cloruro de calcio • Sulfato de magnesio • Fosfato de potasio 	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfato de magnesio • Sulfato de zinc • Yoduro de potasio • Molibdato de sodio 	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfato ferroso • Na EDTA • Vitaminas • Myoinositol • Tiamina • Reguladores de crecimiento: <ol style="list-style-type: none"> 1. Bencil adenina 2. Kinetina 3. Bencil aminopurina • Agar • Sacarosa

3.2. Métodos

3.2.1. Factores en estudio

Factor A: Variedades de rosas

- A1: Explorer
- A2: Quicksand

Factor B: Tipos de fitorreguladores citoquininas

- B1: Bencil adenina
- B2: Kinetina
- B3: Bencil aminopurina

Factor C: Dosis de fitorreguladores

- C1: 3 mg/lt
- C2: 5 mg/lt
- C3: 7 mg/lt

3.2.2. Tratamientos

Para la presente investigación, se utilizó las siguientes combinaciones de los factores en estudio AxByC con tres repeticiones; 18 tratamientos según el detalle:

Tratamientos N°	Código	Detalle
T1	A1B1C1	Explorer + Bencil adenina + 3 mg/lt
T2	A1B1C2	Explorer + Bencil adenina + 5 mg/lt
T3	A1B1C3	Explorer + Bencil adenina + 7 mg/lt
T4	A1B2C1	Explorer + Kinetina + 3 mg/lt
T5	A1B2C2	Explorer + Kinetina + 5 mg/lt
T6	A1B2C3	Explorer + Kinetina + 7 mg/lt
T7	A1B3C1	Explorer + Benzil aminopurina + 3 mg/lt
T8	A1B3C2	Explorer + Benzil aminopurina + 5 mg/lt
T9	A1B3C3	Explorer + Benzil aminopurina + 7 mg/lt
T10	A2B1C1	Quicksand + Bencil adenina + 3mg/lt
T11	A2B1C2	Quicksand + Bencil adenina + 5mg/lt

T12	A2B1C3	Quicksand + Bencil adenina + 7mg/lt
T13	A2B2C1	Quicksand + Kinetina + 3 mg/lt
T14	A2B2C2	Quicksand + Kinetina + 5 mg/lt
T15	A2B2C3	Quicksand + Kinetina + 7 mg/lt
T16	A2B3C1	Quicksand + Benzil aminopurina + 3 mg/lt
T17	A2B3C2	Quicksand + Benzil aminopurina + 5 mg/lt
T18	A2B3C3	Quicksand + Benzil aminopurina + 7 mg/lt

3.2.3. Tipo de diseño

Para este trabajo de investigación se utilizó un diseño trifactorial completamente al azar (DCA) en arreglo factorial 2x3x3, lo cual nos ayudó a comparar los tratamientos y se pudo evaluar su variabilidad.

Número de localidades	1
Número de tratamientos	18
Número de repeticiones	3
Número de unidades experimentales	54
Número de explantes	54
Número de plantas por sitio	1

3.2.4. Tipo de análisis

Se utilizó el Análisis de Varianza (ADEVA) para poder comparar los tratamientos en estudio si es que son o no son significativos.

Fuentes de variación	Grados de libertad	CME*
Factor A: variedades (a-1)	1	$\int^2 e + 30 \theta^2$ FB x FC
Factor B: Tipos de Citoquininas (b-1)	2	$\int^2 e + 30 \theta^2$ FA x FC
Factor C: Dosis de Citoquininas (c-1)	2	$\int^2 e + 18 \theta^2$ FA x FB
FA x FB (a-1) (b-1)	2	$\int^2 e + 15 \theta^2$ FC
FA X FC (a-1) (c-1)	2	$\int^2 e + 9 \theta^2$ FB
FB x FC (b-1) (c-1)	4	$\int^2 e + 6 \theta^2$ FA
FA x FB x FC: (A-1) (B-1) (C-1)	4	$\int^2 e + 3 \theta^2$ FA x FB
Error Experimental t (r-1)	36	\int^2
Total (t x r) – 1	53	

Ø Cuadrados Medios Esperados. Modelo Fijo. Tratamientos seleccionados por el investigador

Ø Análisis estadístico

- Prueba de Tukey al 1% para comparar promedios de tratamientos y factores en estudio A, B, C, AxB, AxC y AxBxC
- Análisis económico en la relación Beneficio Costo A/B.

3.3. Métodos de evaluación y datos tomados

3.3.1. Número de explantes contaminados (NEC)

Variable que se registró a los 15 días de haber introducidos los explantes en los frascos con el medio de cultivo, este dato se evaluó de forma visual contabilizando el número de explantes contaminados en cada tratamiento.

3.3.2. Días a la brotación (DB)

Dato que se evaluó mediante observaciones continuas en cada uno de los tratamientos, el tiempo se determinó contando los días transcurridos desde el repique de los explantes en el medio de cultivo hasta la aparición del primer brote en los explantes.

3.3.3. Número de brotes por explantes (NBE)

Esta variable se registró contabilizando los brotes de los explantes de forma visual en 15 frascos al azar de los diferentes tratamientos a los 30, 60 y 90 días, se consideró un brote al momento de presentar 2 hojas o más desarrolladas.

3.3.4. Número de hojas por brote (NHB)

Se realizó por observación directa, a los 30, 60 y 90 días después de introducir los explantes en el medio de cultivo, contando el número de hojas en 15 frascos al azar de los diferentes tratamientos.

3.3.5. Longitud del brote (LB)

Se realizó tomando la medida por la parte exterior del frasco, desde la base del tallo hasta el ápice de los brotes, con la ayuda de una regla a los 30, 60 y 90 días, en 15 frascos al azar de los diferentes tratamientos, y su resultado se expresará en mm.

3.3.6. Taza de velocidad de multiplicación (TVM)

En esta variable se expresó la relación entre el número de brotes obtenidos al final del ciclo de multiplicación sobre el tiempo de duración del ciclo. Este parámetro se analizó con la siguiente fórmula:

$$TVM = \frac{N^{\circ} \text{ de brotes}}{\text{Tiempo (días)}}$$

3.3.7. Porcentaje de callogénesis (PC)

Se evaluó la formación de callo (masas celulares no diferenciadas blanquecinas) en los explantes de 15 frascos al azar de los diferentes tratamientos, y su resultado se expresó en porcentaje.

3.4. Manejo del experimento

3.4.1. Obtención del material vegetal

Las varetas se recolecto en el cantón Latacunga (Florícola Mil Rose), provincia Cotopaxi, para la selección se consideró la edad del explante, que sean plantas maduras, no adultas de alrededor de tres años para reducir la presencia de fenoles al momento del corte a su vez se verifico que las plantas estén visualmente sanas y presentaron un mayor número de yemas las cuales entraron en un proceso de ambientación en el invernadero de biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente de la “UEB”.

Las varetas fueron transportadas en un vehículo propio, las mismas que venían selladas y forradas con un material especial (cartón) para evitar contaminación y daños.

3.4.2. Desinfección del material en laboratorio

Para la desinfección de los brotes se procedió a lavar con agua destilada y jabón líquido al 5% durante 20 minutos, luego se procedió a enjuagar de manera consecutiva para eliminar los residuos de jabón.

Posterior en la cámara de flujo laminar se desinfectó los brotes en etanol al 50% durante 2 minutos, de igual manera se usó hipoclorito de sodio (NaClO) al 2.5% durante 10 minutos, finalmente se eliminó los restos del desinfectante con agua destilada esterilizada, luego de este proceso de desinfección se colocó los respectivos explantes en frascos que tuvieron el medio de cultivo previamente preparado.

3.4.3. Selección al medio a utilizar

Se procedió a la preparación del medio de cultivo Murashige y Skoog, con el propósito de estimular el desarrollo de los brotes en cada explante, en el que se añadió macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, agar y reguladores de crecimiento como es Kinetina, Bencil adenina y Bencil aminopurina en 3 dosis 3mg/L, 5mg/Ly 7mg/L.

Constituye	Concentraciones de la solución	Volumen de la solución por litro
Azúcar	30g	1000ml
Stoock 1	100ml	
Stoock 2	10ml	
Stoock 3	10ml	
Vitaminas	10ml	
Agar	7g	
pH	5.6 – 5.7	

3.4.4. Preparación del medio de cultivo

Para su preparación se realizó el siguiente procedimiento:

- En un vaso de precipitación de 1000ml se colocó 450 ml de agua destilada en lo que respecta se completó una tercera parte del volumen final a prepararse.

- Seguidamente se procedió a colocar el vaso de precipitación y se encendió el agitador magnético a 260 rpm.
- A continuación, se procedió a pesar 30gr de sacarosa o azúcar.
- Se añadió el stock #1, stock #2, stock #3, vitaminas y reguladores de crecimiento (Citoquininas), previamente preparados en 3 dosis las cuales son: 3mg/L, 5mg/L y 7mg/L para distribuir en cada medio de proliferación.
- Una vez incorporado todos los componentes antes mencionados y realizado la valoración del pH se puso el agitador magnético en 260 rpm y 550°C de temperatura hasta que se disuelva todos los componentes y posteriormente se colocó 7 gr de agar y un color diferente para distinguir las dosis y los tipos de fitoreguladores.
- Una vez preparado el medio de cultivo se procedió a colocar en francos de vidrio donde se puso a una medida de 70cc.
- Cabe recalcar que se realizó varias preparaciones del medio de cultivo con diferentes dosis.

3.4.5. Esterilización del medio del cultivo

Se procedió a la distribución del medio de cultivo a los frascos de vidrio, 50cc aproximadamente en cada uno los cuales paso a un proceso de esterilización en la autoclave a 121°C durante 20 min. Seguidamente se sacó los frascos de la autoclave en una bandeja metálica y se dejó enfriar durante 24h en el área de transferencia.

Luego de la desinfección superficial de los brotes basales, se colocó los brotes en un medio de proliferación para su desarrollo, trasladándolos a un lugar aséptico e iluminado con luz artificial “área de incubación” para estimular sus procesos metabólicos en un lapso de 15 días, se verificó el comienzo del proceso de brotación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo de cultivo in vitro y posteriormente se procedió a monitorear y tomar los datos a los 30, 60 y 90 días para poder concluir con la investigación.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Factor A

Las variedades de rosas son de gran interés a mundial y nacional, debido a esto su investigación en distintos métodos de propagación es de importancia, al ser así, en esta investigación se utilizaron 2 de las variedades (Explore y Quicksand) de mayor demanda a nivel nacional internacional.

Cuadro N° 1 Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en el factor A.

Variables	Factor A: Variedades de rosas		
	A1	A2	Efecto principal
DB (N/S)	11 A	10.44 A	A1 – A2 = 0,67 días
NBE (30 días) (N/S)	1.07 A	1.22 A	A2 – A1 = 0,15 brotes
NBE (60 días) (N/S)	1.44 A	1.48 A	A2 – A1 = 0,04 brotes
NBE (90 días) (N/S)	1.74 A	1.88 A	A2 – A1 = 0,14 brotes
NHB (30 días) (*)	1.62 A	1.25 B	A1 – A2 = 0,37 hojas
NHB (60 días) (*)	3.14 A	2.29 B	A1 – A2 = 0,85 hojas
NHB (90 días) (N/S)	4.00 A	3.59 A	A1 – A2 = 0,41 hojas
LB (30 días) (*)	1.08 A	0.72 B	A1 – A2 = 0,72 cm
LB (60 días) (*)	1.89 A	1.52 B	A1 – A2 = 0,63 cm
LB (90 días) (N/S)	2.64 A	2.52 A	A1 – A2 = 0,12 cm
TVM (N/S)	0.01 A	0.02 A	A2 – A1 = 0,01 tiempo

N/S: No significativo.

*Significativos al 1%

**Altamente significativos al 1%

4.1.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM)

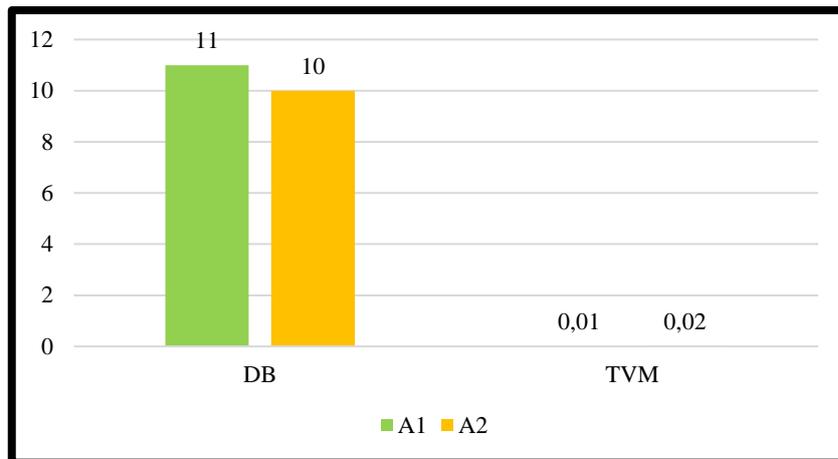


Gráfico N° 1 Prueba de Tukey al 1% para las variables DB y TVM para el factor A (Variedades de rosa).

Análisis e interpretación

De acuerdo con las variedades de rosa evaluadas, en las variables días a la brotación (DB) y tasa de velocidad de multiplicación (TVM) la respuesta fue no significativa (N/S) para cada una de ellas (Cuadro N° 1).

El factor variedades de rosa, reportó ser similar en la variable días a la brotación en donde se registró un alto promedio en la variedad Explorer con 11 días a la brotación, en comparación con la variedad Quicksand con 10 días a la brotación (Gráfico N° 1).

Los resultados obtenidos en este ensayo hacen parte de información pertinente a las técnicas de manejo dentro del laboratorio para la introducción de rosas, además dependió de las variedad y tipo de brote.

Hay variedades que sólo en temperaturas altas tienen una buena brotación de flores. Por otra parte, existen también variedades que apenas si presentan algún ciego pese a las bajas temperaturas, lamentablemente no se han investigado satisfactoriamente las causas que inducen la brotación de un ciego o de una flor (Valencia, 2016).

Para la variable tasa de velocidad de multiplicación no se constató diferencias estadísticas sin embargo se presentó mayor promedio en la variedad Quicksand con

0,02 tiempo de duración, mientras que la variedad Explorer presentó 0,01 tiempo (Cuadro N° 1 y Gráfico N° 1).

La velocidad de multiplicación de las variedades de rosas en condiciones in vitro dependió de las características genéticas dentro de las variables en estudio, en esta investigación, la variedad Quicksand obtuvo características de multiplicación mucho más rápida en comparación de la Explorer.

Tanto la velocidad como la proliferación obedecerán de la posición de los explantes en su tallo de origen. Las yemas que se encuentran más cerca a la extremidad del tallo se desarrollan de manera más rápida, que las que están más alejadas del meristemo terminal (Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, 2017).

4.1.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)

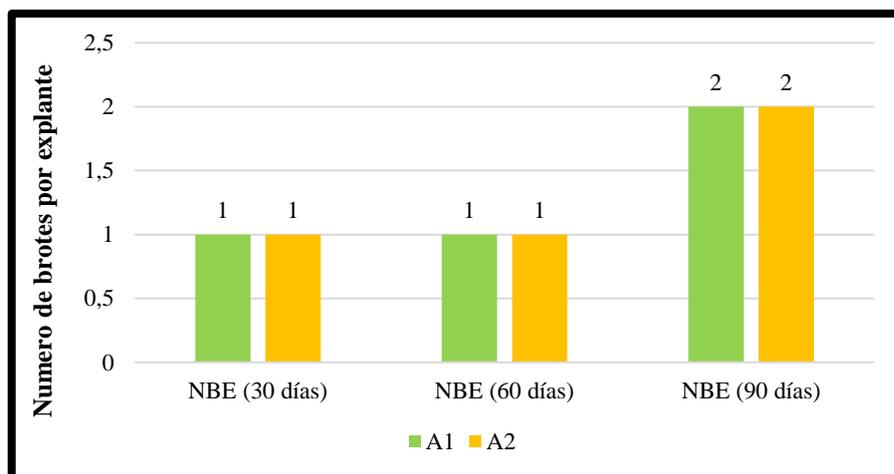


Gráfico N° 2 Resultados de la prueba de Tukey al 1% para la variable NBE para el factor A (Variedades de rosa).

Análisis e interpretación

La respuesta de las variedades de rosas en estudio en cuanto a la variable número de brotes por explantes evaluados a los 30, 60 y 90 días reportó ser iguales entre factores (N/S) en las tres evaluaciones realizadas (Cuadro N° 1).

El análisis del factor variedades de rosas a los 30 y 60 días, se determinó que las dos variedades en estudio presentaron la misma cantidad de brotes, reflejándose en 1 brote por explantes, A los 90 días se presentó la misma cantidad de brotes por explantes en las dos variedades de rosas que se evaluaron, con una presencia de 2 brotes en cada una de ellas (Gráfico N° 2).

Se observó que dentro de las variedades no existió diferencias, por lo que se infiere que el comportamiento de las dos variedades estuvo relacionado con la capacidad de regeneración de brotes que se vio determinado por el genotipo de las mismas.

En la propagación de rosas in vitro a partir de partes somáticas de la planta madre reporta la obtención de uno y dos brotes por explantes en tres evaluaciones a lo largo de 90 días, también se indica que al eliminar la yema terminal en los brotes obtenidos en el cultivo in vitro favorece la brotación lateral, lo que consecutivamente el ápice ejerce una influencia sobre las yemas laterales mismas que se nulifican al eliminar la punta de la plántula. (Portillo, 2018)

4.1.3. Número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días (NHB)

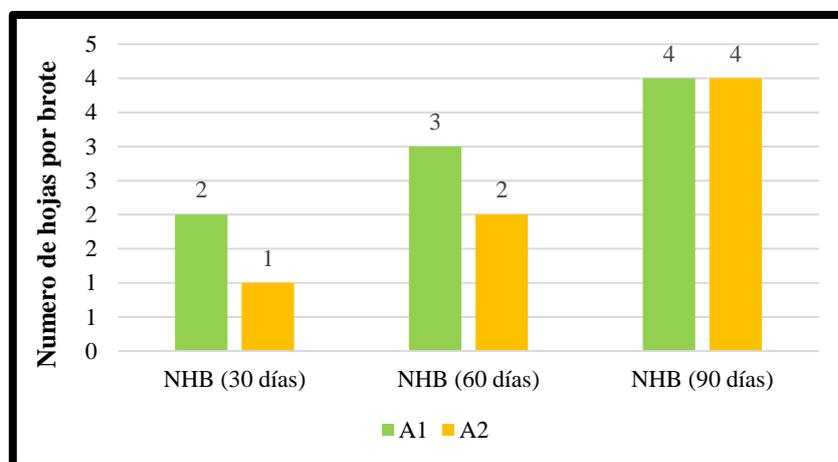


Gráfico N° 3 Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB para el factor A (Variedades de rosa).

Análisis e interpretación

Estimando la respuesta del factor A, en el análisis de las variedades de rosas, en la variable número de hojas evaluados a los 30 y 60 días se reflejó diferencias significativas (*), mientras que en la evaluación a los 90 días se refleja igualdad (N/S) (Cuadro N° 1).

En la tercera evaluación a los 90 días, se presentó mayor promedio en las dos variedades de rosas A1: Explorer y A2: Quicksand mostrando 4 hojas por brote a diferencia de la primera evaluación a los 30 días se presentó menor promedio en A2: Quicksand de 1 hoja y A1: Explorer de 2 hojas por brote (Gráfico N° 3).

La variable número de hojas por brote, es una característica propia de cada variedad, la misma que mantuvo una fuerte relación genotipo-ambiente, calidad de la planta madre y del tipo de explante, lo que permitió tener resultados propios de las características morfológicas de los brotes evaluadas.

Se ha demostrado que en estudios realizados en muchas especies de la familia Rosaceae, la eficacia y aumento de la generación depende del proceso de organogénesis (Narváez, 2019).

4.1.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB)

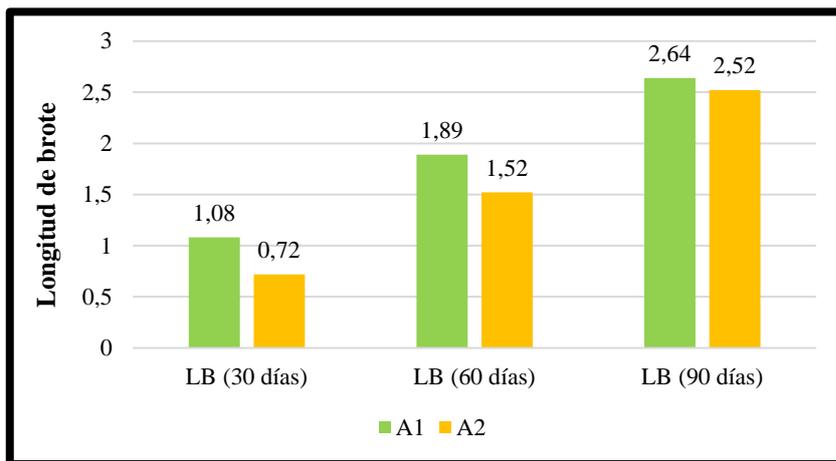


Gráfico N° 4 Prueba de Tukey al 1% para la variable LB para el factor A (Variedades de rosa).

Análisis e interpretación

Conforme a las variedades de rosas, referente a la longitud de brotes evaluados a los 30 y 60 días demostró diferencias significativas (*), en tanto que en la tercera evaluación a los 90 días no se mostraron diferencias significativas (N/S) (Cuadro N° 1).

En la tercera evaluación a los 90 días se presentó los promedios más altos en las dos variedades A1: Explorer con 2,64 cm y A2: Quicksand de 2,52 cm de longitud de brote mientras que a los 30 días que corresponde a la primera evaluación, se obtuvieron los promedios menores registrados en A1: Explorer con 1,08 cm y A2: Quicksand de 0,75 cm (Gráfico N° 4).

La longitud de brote al igual que el número de brotes y hojas por explantes dependieron de las características varietales de los rosales, así como de las condiciones de asepsia en las que se encuentra el medio de cultivo y el tiempo.

Los explantes pueden llegar hacer sembrados con la zona apical hacia arriba y la radical en dirección al medio (polar) o viceversa (apolar); respecto a la posición, los segmentos nodales pueden ser sembrados en posición vertical u horizontal. Para poder observar su influencia en la generación de brotes/explante y su longitud. Al momento de realizar la siembra, es muy importante asegurarse de que el explante esté en contacto con el medio para evitar su deshidratación y acelerar su capacidad de regeneración. (Moreira, 2017)

4.2. Factor B

Los tipos de fitorreguladores en el aspecto de propagación de cultivos in vitro en laboratorio son reguladores de crecimiento que estimula el desarrollo óptimo de las plantas, en este contexto, conocer el mejor o el que presenta mejores condiciones para el cultivo de rosas aportara a los floricultores el conocimiento de que existe otros métodos no convencionales de propagación.

Cuadro N° 2 Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en el factor B.

Variables	Factor B: Tipos de fitorreguladores citoquininas		
	B1	B2	B3
DB (*)	8.83 B	10.16 B	13.33 A
NBE (30 días) (*)	0.66 B	1.44 A	1.33 A
NBE (60 días) (*)	1.16 B	1.72 A	1.50 AB
NBE (90 días) (N/S)	1.66 A	2.11 A	1.66 A
NHB (30 días) (N/S)	1.38 A	1.38 A	1.55 A
NHB (60 días) (*)	2.27 B	2.44 B	3.44 A
NHB (90 días) (*)	3.11 B	3.77 AB	4.50 A
LB (30 días) (N/S)	0.75 B	0.81 B	1.15 A
LB (60 días) (N/S)	1.15 B	1.79 A	2.18 A
LB (90 días) (**)	1.88 B	2.60 AB	3.27 A
TVM (N/S)	0.01 A	0.02 A	0.01 A

N/S: No significativo.

*Significativos al 1%

**Altamente significativos al 1%

4.2.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM)

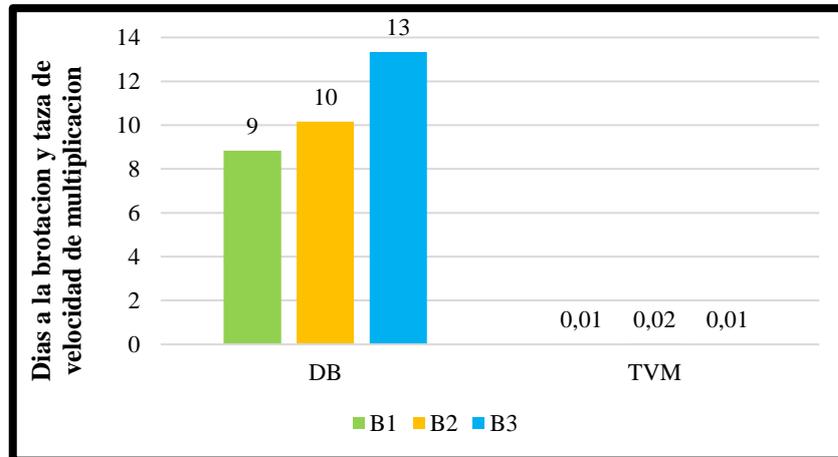


Gráfico N° 5 Prueba de Tukey al 1% para la variable DB y TVM para el factor B (Tipos de fitorreguladores citoquininas).

Análisis e interpretación

La respuesta del factor B, en cuanto a la variable días a la brotación reflejó diferencias (*) entre los tipos de fitorreguladores, mientras que en la variable tasa de velocidad de multiplicación no se presentaron diferencias estadísticas (N/S) (Cuadro N° 2).

El mayor promedio se presentó en el Bencil aminopurina (B3) con 13 días a la brotación siendo este tardío en la aparición de brotes mientras que el fitorregulador Bencil adenina (B1) presentó a los 9 días sus brotes; siendo este la citoquinina con menos días en presentar sus brotes (Gráfico N° 5).

Para la variable velocidad de multiplicación en cuanto a los tipos de fitorreguladores, se verificó alto porcentaje en la Kinetina (B2) con 0,02 tiempo, mientras que el Bencil adenina (B1) y Bencil aminopurina (B3) reflejaron 0,01 tiempos respectivamente (Gráfico N° 5).

Se pudo inferir que estos resultados obtenidos dependieron del contenido nutricional de macro y micronutrientes dentro del medio de cultivo, condiciones asépticas y adaptabilidad del fitorregulador.

Investigaciones recientes han confirmado que las plántulas in vitro por lo general tienen relativa capacidad fotosintética, que les permitirá desarrollarse en ciertos casos con mayor velocidad en condiciones foto autotróficas que bajo condiciones hetero o mixotróficas si se les suministra de los factores medioambientales, factores como luz, CO₂, humedad, temperatura, oxígeno, etileno, azúcar (Trinidad, 2015).

4.2.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)

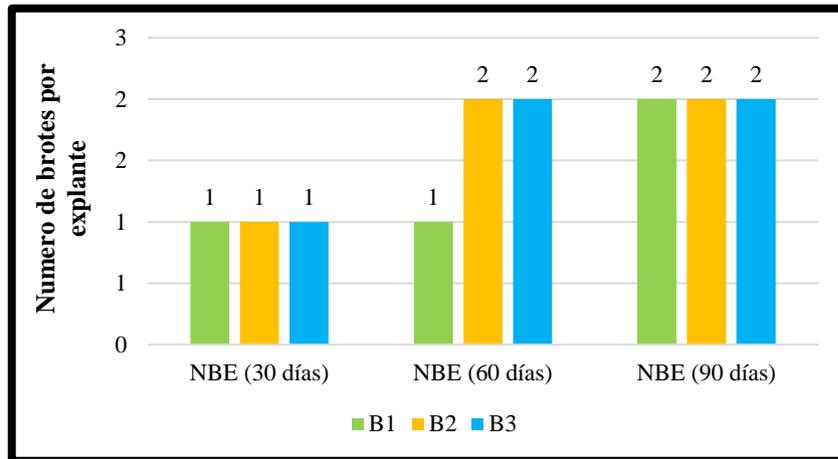


Gráfico N° 6 Prueba de Tukey al 1% para la variable NBE a los 30, 60 y 90 días para el factor B (Tipos de fitorreguladores citoquinina).

Análisis e interpretación

El análisis de los tipos de fitorreguladores, en cuanto a la variable número de brotes por explantes evaluados a los 30 y 60 días demostraron diferencias significativas (*), mientras que la tercera evaluación a los 90 días no se reflejaron diferencias (N/S) (Cuadro N° 2).

En la última evaluación realizada a los 90 días, se presentó el mejor promedio con 2 brotes por explantes en los tres fitorreguladores examinados como son: Bencil adenina (B1), Kinetina (B2) y Bencil aminopurina (B3) por lo tanto a los 30 días se obtuvo el menor promedio con 1 brote por explante en las mismas antes mencionadas (Gráfico N° 6).

Los resultados obtenidos en la variable NB, mostraron la clara influencia positiva de la Bencil adenina y aminopurina, así como la Kinetina ya que aceleran los procesos de desarrollo a más de aportar vitaminas y nutrientes a los explantes.

Los reguladores de crecimiento, al situarse en distintos tejidos vegetales en cantidades específicas, llegan a modular los diferentes procesos fisiológicos, en este caso los fitorreguladores de citoquininas, son reguladores fundamentales en el desarrollo y crecimiento vegetal, dado que dan el paso a la iniciación de nuevos brotes en los diferentes tipos de explantes, al transportarse desde los meristemas de las raíces mediante el xilema al resto de la planta, donde al estar concentrado, eliminan la dominancia apical en los meristemas apicales del tallo ayudando a la producción de brotes axilares en grandes cantidades. (Porta & Jiménez, 2019)

Con los resultados reflejados en este trabajo se confirma que entre los principales efectos fisiológicos de las citoquininas está que inducen la división celular, inducen la formación de órganos en cultivo de tejidos (morfogénesis), impulsan el crecimiento de yemas laterales, prolongar la senescencia en las hojas, provocan la movilización de nutrientes y la pérdida de agua por transpiración, la rotura de la dormancia, etc. (Hernández, 2017)

4.2.3. Número de hojas por bote a los 30, 60 y 90 días (NHB)

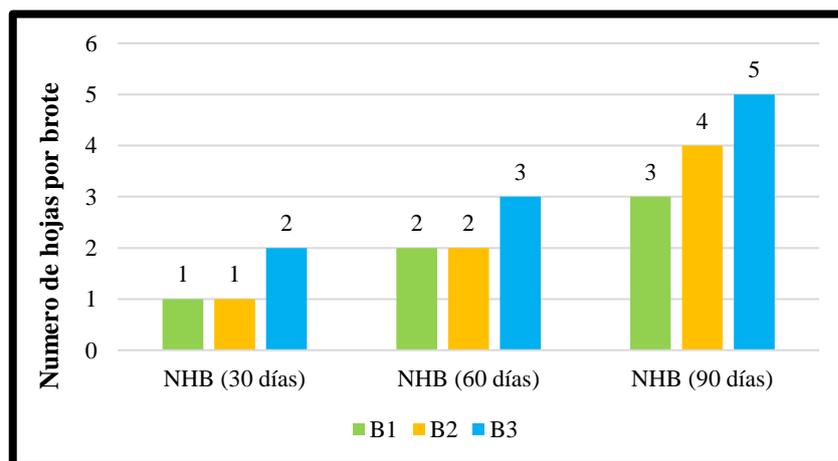


Gráfico N° 7 Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB a los 30, 60 y 90 días para el factor B (Tipos de fitorreguladores Citoquininas).

Análisis e interpretación

Al evaluar los tipos de fitorreguladores en la variable número de hojas por brote en su primera evaluación a los 30 días no se reflejaron diferencias significativas (N/S), en tanto que a los 60 y 90 días se reflejaron diferencias (*) (Cuadro N° 2).

A los 90 días, existió un incremento significativo en el número de hojas por brote, presentándose así en el Bencil aminopurina (B3) 5 brotes, mientras que los fitorreguladores Bencil adenina (B1) y Kinetina (B2) llegaron a determinar 3 y 4 brotes respectivamente, en cuanto a los 30 días se reflejó un menor número de hojas en Bencil adenina (B1) y Kinetina con 1 hoja por brote a diferencia del Bencil aminopurina (B3) de 2 hojas (Gráfico N° 7).

La respuesta de la variable número de hojas por brote al igual que la variable número de brotes por explante dependió una de la otra, debido a que se desarrollaron y se formaron por hormonas con un alto contenido de nutrientes interviniendo el tiempo transcurrido en la investigación.

Las citoquininas forman cambios morfológicos en los tejidos cultivados in vitro, derivación del estímulo de la actividad mitótica celular; lo que forma brotación de hojas en el explante. (Hernández, 2021)

4.2.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB)

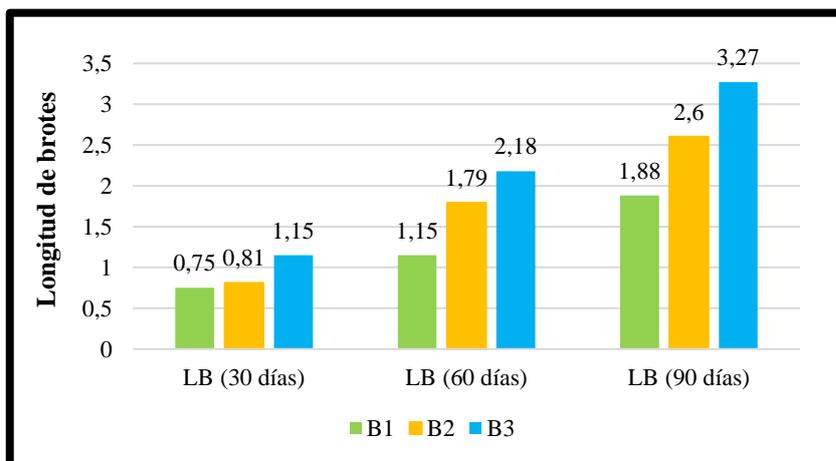


Gráfico N° 8 Prueba de Tukey al 1% para la variable LB a los 30, 60 y 90 días para el factor B (Tipos de fitorreguladores citoquininas).

Análisis e interpretación

Al examinar los tipos de fitorreguladores en la variable longitud del brote, no se presentaron diferencias significativas en las dos primeras evaluaciones (a los 30 y 60 días) (N/S) mientras que en la tercera evaluación se reflejaron diferencias altamente significativas (**) (Cuadro N° 2).

En la tercera evaluación se presentaron notables diferencias, reflejando así alto valor en Bencil aminopurina (B3) con 3,27 cm seguidamente el Bencil adenina (B1) presento bajo promedio con 1,88 cm. A los 30 días se demostró alto promedio en Bencil aminopurina (B3) con 1,15 cm mientras que el fitorregulador con menos longitud de brote se reflejó en Bencil adenina (B1) con 0,75 cm (Gráfico N° 8).

Mediante los resultados obtenidos podemos inferir que en la propagación in vitro es importante considerar aspectos como: el fotoperíodo, la temperatura, alto contenido de nutrientes y adaptabilidad.

La (BAP) es la mejor citoquinina para el incremento de la longitud de brotes ya que esta hormona intercede en la división celular y la elongación. (Vaca, 2018)

La distribución y longitud de los brotes son dos aspectos que causa efecto en la adaptación; un material con raíces bien formadas (no extremadamente alargadas) y distribuidas, desarrollan la probabilidad de sobrevivencia; posiblemente por tener mayores sitios de contacto y de exploración. (Rubio, 2019)

4.3. Factor C

Al evaluar los fitorreguladores de crecimiento es importante evaluar la dosis correcta que permita el desarrollo oportuno de las partes somáticas de las rosas, es así que en esta investigación se utilizaron 3 de dosis que permitirán dar respuesta a la cantidad óptima que utilización en este tipo de propagación.

Cuadro N° 3 Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en el factor C.

Variables	Factor C: Dosis de fitorreguladores		
	C1	C2	C3
DB (N/S)	11.22 A	10.44 A	10.66 A
NBE (30 días) (N/S)	0.94 B	1.55 A	0.94 B
NBE (60 días) (*)	1.38 AB	1.83 A	1.16 B
NBE (90 días) (N/S)	1.44 A	1.44 A	1.44 A
NHB (30 días) (*)	2.00 A	2.05 A	1.38 B
NHB (60 días) (N/S)	2.22 B	3.16 A	2.77 A
NHB (90 días) (*)	3.16 B	4.33 A	3.88 AB
LB (30 días) (*)	0.61 B	1.07 A	1.03 A
LB (60 días) (*)	1.36 B	2.03 A	1.73 AB
LB (90 días) (*)	1.98 B	3.14 A	2.63 AB
TVM (*)	0.20 A	0.20 A	0.01 B

N/S: No significativo.

*Significativos al 1%

**Altamente significativos al 1%

4.3.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM)

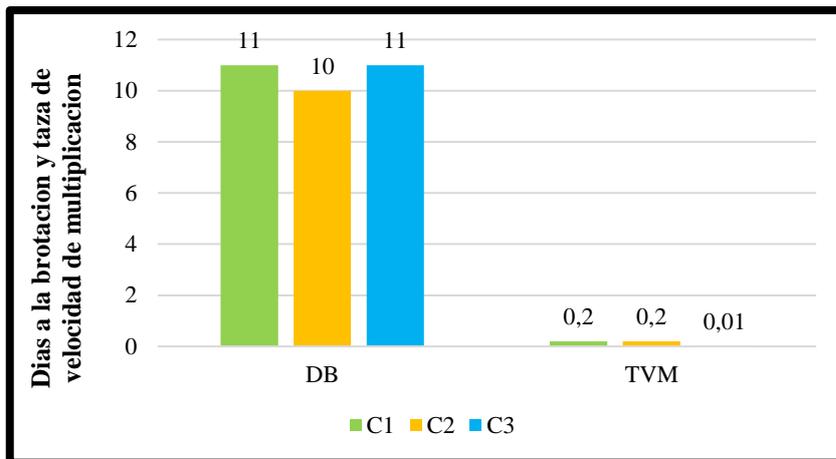


Gráfico N° 9 Prueba de Tukey al 1% la variable DB y TVM para el factor C (Dosis de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

La respuesta de la dosis de fitorreguladores evaluados en la variable días a la brotación demostró ser iguales (N/S), en cuanto a la variable tasa de velocidad de multiplicación reportó diferencias significativas (*) (Cuadro N° 3).

La evaluación de las dosis de fitorregulador en la variable días a la brotación se reflejó una similitud, sin embargo, numéricamente la dosis con menos días a brotar fue 5 mg/lt (C2) con 10 días, mientras que las dosis 3 mg/lt (C1) y 7 mg/lt (C3) presentaron 11 días a la brotación (Gráfico N° 9).

La respuesta del factor C, referente a la tasa de velocidad de multiplicación, presentó diferencias significativas, las dosis 3 mg/lt (C1) y 5 mg/lt (C2) reflejaron un tiempo de 0,20 mientras que menos tiempo se presentó en 7 mg/lt (C3) con 0,01 tiempo (Gráfico N° 9).

Mediante los resultados expuestos se hace referencia que los valores nutricionales del medio de cultivo y los debidos cuidados asépticos presentes en el crecimiento de los explantes, ayudaron a la formación y emisión de las raíces para cada dosis de hormona.

4.3.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)

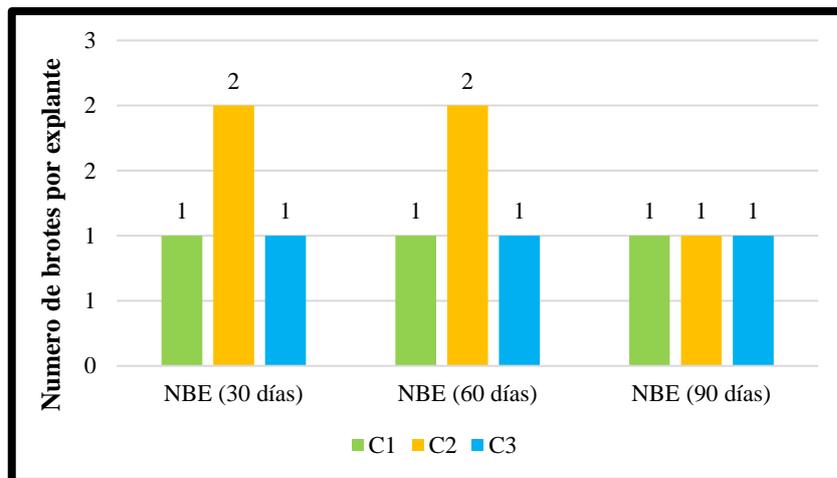


Gráfico N° 10 Prueba de Tukey al 1% para la variable NBE a los 30, 60 y 90 días para el factor C (Dosis de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

Al efectuar el análisis de número de brotes por explantes en dosis de fitorregulador a los 30 y 60 días de evaluación no se encontraron diferencias significativas (N/S) entre factores (Cuadro N° 3).

A los 30 días de evaluación de la variable número de brotes por explantes en las dosis de fitorregulador presentó un porcentaje superior en 5 mg/lit (C2) con 2 brotes, mientras que las dosis 3 mg/lit (C1) y 7 mg/lit (C3) reflejaron 1 brote por explante y en la tercera evaluación a los 90 días, no se presentaron diferencias estadísticas, reflejando 1 brote por explante en las tres dosis (Gráfico N° 10).

Mismos resultados obtenidos que dependieron de la influencia y dosificación de los fitorreguladores permitiendo la formación y desarrollo de nuevos brotes, adaptabilidad y medio de cultivo.

4.3.3. Número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días (NHB)

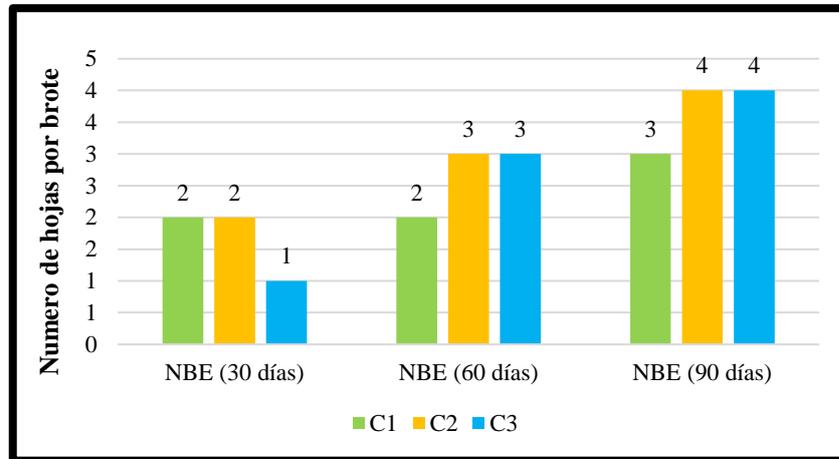


Gráfico N° 11 Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB a los 30, 60 y 90 días para el factor C (Dosis de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

La respuesta de las dosis de fitorreguladores en la variable número de brotes por explantes presentaron diferencias significativas (*), en la evaluación a los 30 y 90 días, mientras que a los 60 días no presentaron diferencias estadísticas significativas (N/S) (Cuadro N° 3).

En la tercera evaluación a los 90 días, las dosis 5 mg/lit (C2) y 7 mg/lit (C3) reflejaron 4 hojas, mientras que la dosis 3 mg/lit (C1) presentó 3 hojas por explantes mientras que en la primera evaluación a los 30 días se obtuvo una cantidad superior en 3 mg/lit (C1) y 5 mg/lit (C2) con 2 brotes, mientras que el 7 mg/lit (C3) presentó 1 hoja por explante (Gráfico N° 11).

Los resultados obtenidos en la variable número de hojas por explantes dependió de la alta concentración de macro y micronutrientes presentes en el medio de cultivo, asepsia y el tiempo transcurrido.

4.3.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB)

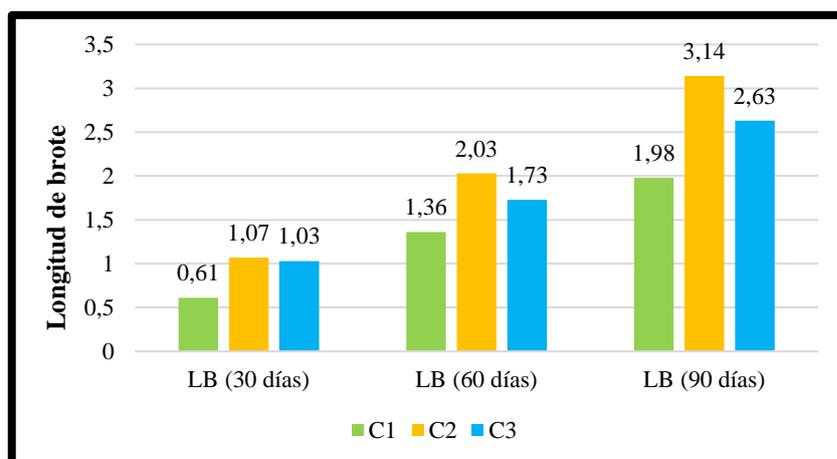


Gráfico N° 12 Prueba de Tukey al 1% para la variable LB a los 30, 60 y 90 días para el factor C (Dosis de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

Estimando el factor dosis de fitorreguladores (Factor C) en la variable longitud de brotes evaluados a los 30, 60 y 90 días se demostró diferencias (*) (Cuadro N° 3).

En la longitud de brotes evaluados a los 90 días, se presentó alto promedio en 5 mg/lt (C2) con 3,14 cm mientras que el menor promedio se reflejó en la dosis 3 mg/lt (C1) con 1,98 cm, a diferencia de la primera evaluación a los 30 días, reflejando un mayor promedio en 7 mg/lt (C3) con 1,03 cm, mientras que el menor promedio se dio en 3 mg/lt (C1) con 0,61 cm de longitud (Gráfico N° 12).

En relación a los resultados obtenidos, se demostró que a una adecuada dosificación de citoquinina adaptadas dentro del medio de cultivo se presentaron brotes con mayor longitud donde tuvieron dependencia de las características genéticas de las variedades.

En el cultivo de rosas, se puede obtener una mayor proliferación y multiplicación de brotes al disminuir las sales en el medio de cultivo. (Curir, 2017) y (Valles, 2017)

El potencial osmótico del medio de cultivo, obedece de la concentración de sales, en tanto, al aumentar la concentración de sales en el medio, el crecimiento y

multiplicación de los brotes se reduce por la baja absorción de agua y nutrientes, el medio MS al 25 %, mientras que al mostrar un mayor potencial osmótico, accede la hidratación de los brotes, pero la cantidad de nutrientes es limitante; por el contrario, a pesar de que el medio MS al 50 %, presenta una mayor cantidad de nutrientes, la organogénesis in vitro reduce. (Pierik, 2018)

4.4. Interacción AxB

Cuadro N° 4 Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en la interacción AXB.

Variables	Factor A x B					
	Variedades de rosas en tipos de fitoreguladores					
	Citoquininas					
	A1B1	A1B2	A1B3	A2B1	A2B2	A2B3
DB (*)	17,66 A	5,11 C	10,55	0,00 D	15,22 A	16,11 A
NBE (30 días) (*)	1,33 AB	0,77 BC	1,11 B	0,00 C	2,11 A	1,55 AB
NBE (60 días) (*)	2,33 A	0,88 CD	1,11 BC	0,00 D	2,55 A	1,88 AB
NBE (90 días) (*)	3,22 A	1,00 B	0,88 BC	0,00 C	3,22 A	2,44 A
NHB (30 días) (*)	2,77 A	0,66 C	1,44 B	0,00 C	2,11 AB	1,66 B
NHB (60 días) (*)	4,55 A	1,33 C	3,55 B	0,00 D	3,55 B	3,33 B
NHB (90 días) (*)	6,22 A	1,77 C	4,00 B	0,00 D	5,77 A	5,00 AB
LB (30 días) (*)	1,50 A	0,44 B	1,31 A	0,00 B	1,18 A	1,00 A
LB (60 días) (*)	2,31 A	1,10 B	2,77 A	0,00 C	2,48 A	2,10 A
LB (90 días) (*)	3,77 A	1,16 B	3,00 A	0,00 B	4,03 A	3,55 A
TVM (*)	0,03 A	0,02 B	0,02 B	0,00 C	0,03 A	0,02 A

N/S: No significativo.

*Significativos al 1%

**Altamente significativos al 1%

4.4.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM)

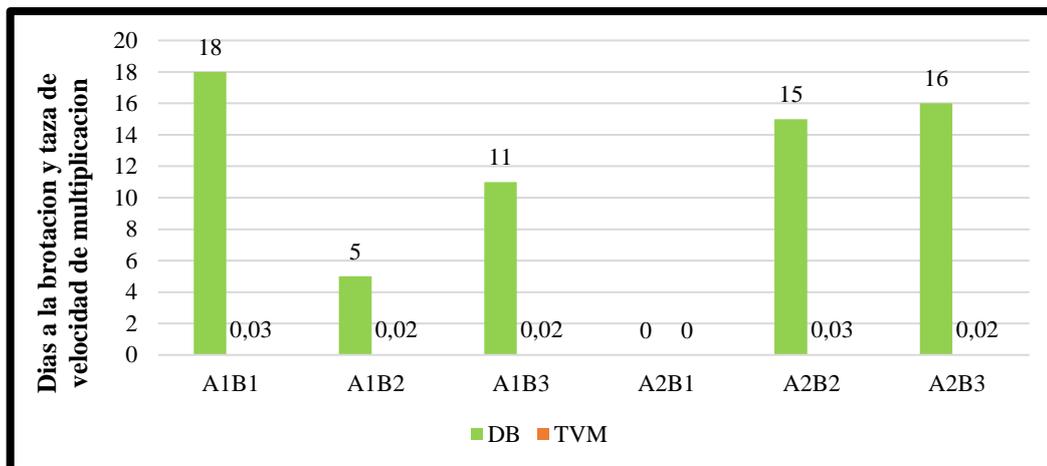


Gráfico N° 13 Prueba de Tukey al 1% para las variables DB y TVM para la interacción AxB (Variedades de rosas en tipos de fitorreguladores) Citoquininas)

Análisis e interpretación

En el análisis de la interacción de los factores AxB (Variedades de rosas en tipos de fitorreguladores citoquininas) en las variables días a brotación y tasa de velocidad de multiplicación demostraron existir diferencias significativas (*) (Cuadro N° 4).

En la evaluación de los días a la brotación en la interacción de factores AxB, se presentó alto porcentaje en Explorer + Bencil adenina (A1B1) con 18 días a la brotación, en tanto que la combinación más precoz se dio en la variedad Explorer + Kinetina (A1B2) presentando sus primeros brotes a los 5 días, mientras que la variedad Quicksand + Bencil adenina (A2B1) se presentó 0 días a la emergencia, por tanto, en esta combinación no se tuvieron resultados positivos (Gráfico N° 13).

Al analizar la variable tasa de velocidad de multiplicación en la interacción AxB, la variedad que presentó menos tiempo de multiplicación fue la Explorer en combinación con Kinetina y Bencil aminopurina (A1B2 y A1B3) de 0,02 tiempo al igual que la interacción entre Quicksand con bencilo aminopurina (A2B3) con 0,02 tiempo respectivamente, en tanto que las combinaciones con más tiempo de

multiplicación fueron la variedad Explore con Bencil adenina (A1B1) y Quicksand con Kinetina (A2B2) con 0,03 tiempo de multiplicación (Gráfico N° 13).

Los resultados obtenidos en la combinación de factores AxB, se pudo inferir que la multiplicación in vitro dependió de la variedad, planta madre, tipo de explante y tipo de citoquininas.

El éxito de la regeneración de las plantas obtenidas en condición de cultivo in vitro depende de factores como el genotipo, tipo de explante, edad de las plantas donadoras, número de subcultivos, así como de la composición del medio de cultivo, en especial del tipo de reguladores de crecimiento utilizados, debido a que puede existir variación en la respuesta entre especies, cultivares e inclusive entre plantas del mismo cultivar. (Kaviani, 2015)

4.4.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)

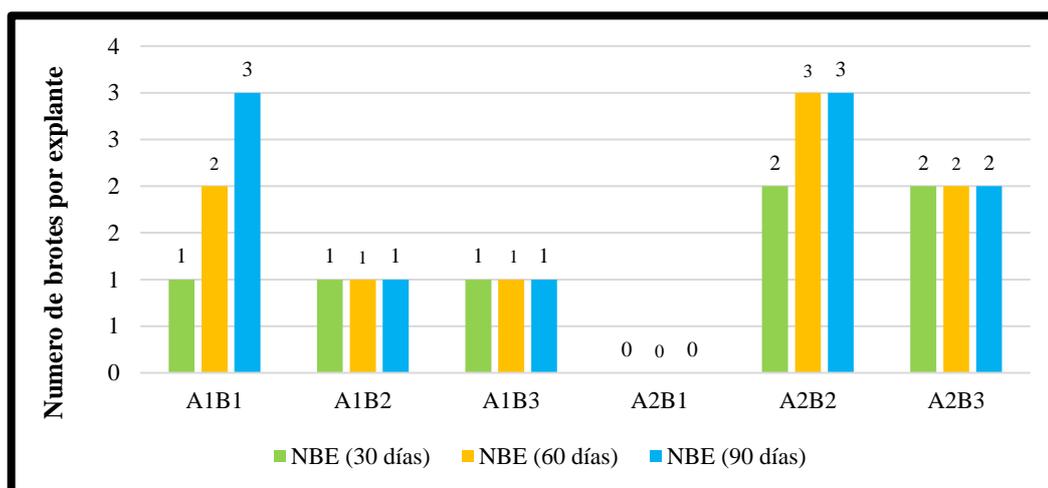


Gráfico N° 14 Prueba de Tukey al 1% para la variable NBE a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxB (Variedades de rosas en tipos de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

En respuesta al número de brotes por explantes evaluados a los 30, 60 y 90 días en la interacción de variedades de rosas en tipos de fitorreguladores Citoquininas, se mostró diferencias estadísticas (*) en cada una de las evaluaciones (Cuadro N° 4).

En cuanto a la variable número de brotes por explantes de la interacción AxB a los 30, 60 y 90 días, se presentó un promedio de 2 a 3 brotes en la combinación Quicksand usando Kinetina siendo esta la mejor, mientras que Quicksand con Bencil adenina no se obtuvo resultados siendo esta la menor (Gráfico N° 14).

Estos resultados dependieron de las variedades y actuación de los fitorreguladores dentro del medio de cultivo, las mismas que ayudaron a la formación de brotes axilares, la inducción, crecimiento, desarrollo y proliferación además influyo las condiciones asépticas, temperatura y fotoperiodo metabólico.

4.4.3. Número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días (NHB)

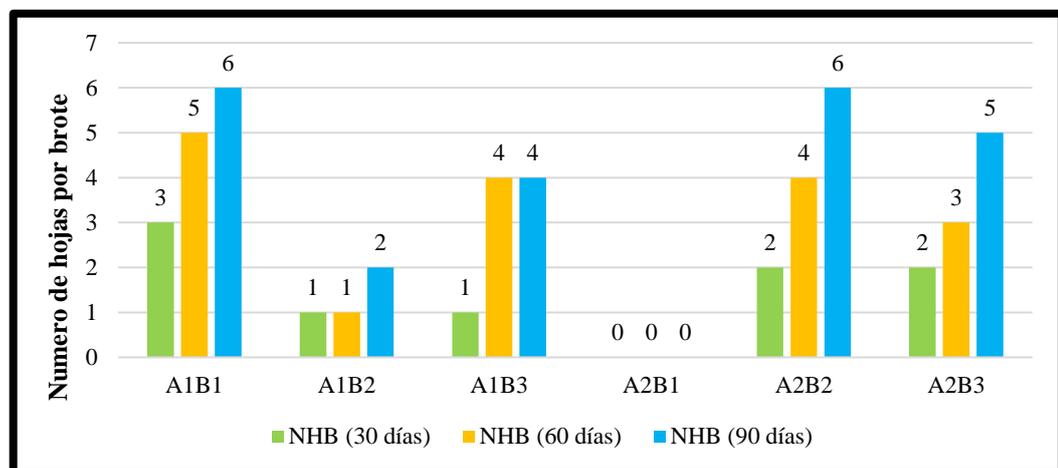


Gráfico N° 15 Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB para la interacción AxB (Variedades de rosas en tipos de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

La respuesta de la variable número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días en la interacción de los factores AxB, se demostraron diferencias significativas (*) en las tres evaluaciones realizadas (Cuadro N° 4).

En el periodo de las tres evaluaciones registradas en la variable número de hojas por brote, la combinación Explorer con Bencil adenina (A1B1) presentó de 3, 5 y 6 hojas por brote, seguida de la combinación Quicksand con Kinetina (A2B2) con promedios de 2, 4 y 6 siendo estas dos combinaciones las mejores (Gráfico N° 15).

En cuanto a los resultados obtenidos en la presente investigación, la variable número de hojas dependió de la longitud de brote, debido a que mayor tamaño, mayor número de hojas, el cual fue complementado con los macro y micronutrientes dentro del medio de cultivo, cuidados asépticos y adaptabilidad de las variedades.

4.4.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB)

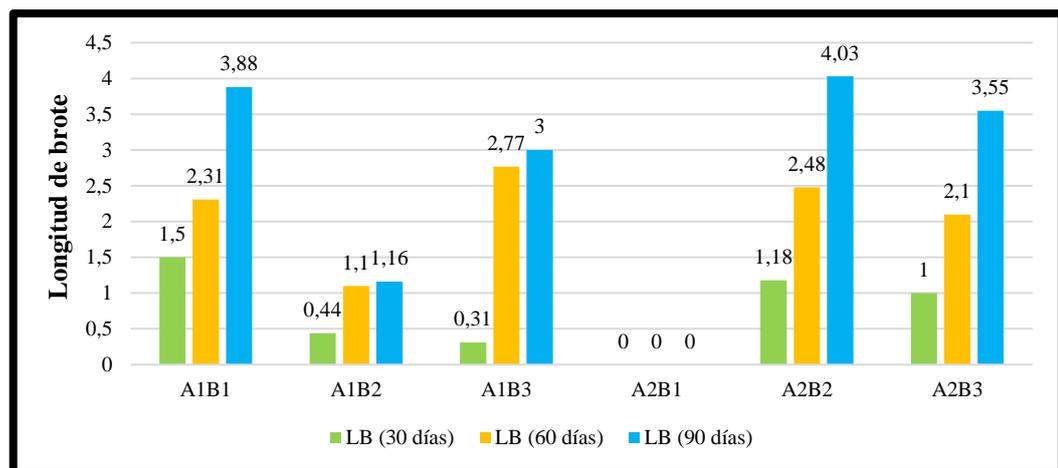


Gráfico N° 16 Prueba de Tukey al 1% para la variable LB a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxB (Variedades de rosas en tipos de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

La respuesta de las variedades de rosa en tipos de fitorreguladores de Citoquininas, en la variable longitud de brotes a los 30, 60 y 90 días de evaluación se determinaron diferencias significativas (Cuadro N° 4).

En la variable LB dentro de los factores AxB, a los 30, 60 y 90 días se presentó los promedios más altos en la combinación Quicksand con Kinetina (A2B2) de 1.18 cm, 2.48 cm y 4.03 cm de longitud y en Explorer con Bencil adenina (A1B1) con 1.5 cm, 2.31 cm y 3.88 cm de longitud (Gráfico N° 16).

Los resultados de la variable en estudio dependieron de la calidad con el que fue desarrollado el medio de cultivo, así como los cuidados asépticos al momento de la preparación del medio que se utilizó y el alto contenido de minerales.

La variedad Explore en combinación con el regulador Bencil aminopurina reflejan datos significativos con un valor promedio de 2,90 mm, en la evaluación de variedades de rosas tipo roa con importancia a nivel local. (Chavez, 2019)

4.5. Interacción AxC

Cuadro N° 5 Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en la interacción AXC.

Variables	Factor A x C					
	Variedades de rosas en dosis de fitorreguladores					
	A1C1	A1C2	A1C3	A2C1	A2C2	A2C3
DB (N/S)	12,33 A	10,33 A	10,66 A	10,11 A	10,55 A	10,66 A
NBE (30 días) (*)	1,22 AB	1,11 B	0,88 B	0,66 B	2,00 A	1,00 B
NBE (60 días) (*)	1,88 AB	1,33 BC	1,11 BC	0,88 C	2,33 A	1,22 BC
NBE (90 días) (*)	2,66 A	1,33 B	1,22 B	1,33 B	2,77 A	1,55 B
NHB (30 días) (N/S)	1,77 A	1,33 A	1,77 A	1,11 A	1,55 A	1,11 A
NHB (60 días) (*)	2,55 BCD	3,55 A	3,33 AB	1,88 D	2,77 ABC	2,22 D
NHB (90 días) (*)	3,55 AB	4,33 A	4,11 AB	2,77 B	4,33 A	3,66 AB
LB (30 días) (*)	0,74 BC	1,20 AB	1,31 A	0,48 C	0,94 ABC	0,75 BC
LB (60 días) (*)	1,62 AB	2,13 A	1,93 AB	1,11 B	1,94 AB	1,53 AB
LB (90 días) (N/S)	1,95 A	3,32 A	2,66 A	2,02 A	2,96 A	2,60 A
TVM (*)	0,02 A	0,01 B	0,01 B	0,01 B	0,02 A	0,01 B

N/S: No significativo.

*Significativos al 1%

**Altamente significativos al 1%

4.5.1. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM)

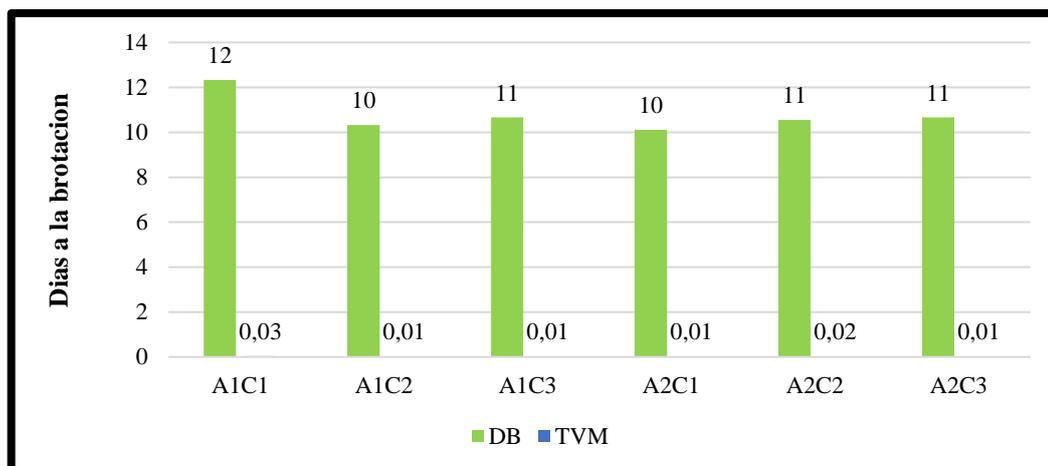


Gráfico N° 17 Prueba de Tukey al 1% para las variables DB y TVM para la interacción Ax C (Variedades de rosas en dosis de fitoreguladores).

Análisis e interpretación

En respuesta a la interacción de los factores Ax C, se determinó diferencias estadísticas en la variable Días a la brotación, mientras que en la Taza de velocidad de multiplicación no hubo diferencias significativas (N/S) (Cuadro N° 5).

Los días a la brotación en cuanto a los factores, se demostraron que en las combinaciones A1C2: Explorer + 5 mg/l y A2C1: Quicksad + 3 mg/l presentaron a los 10 días sus primeros brotes mientras que las combinaciones restantes obtuvieron una brotación tardía en un rango de 11 a 12. La TVM en la combinación con promedio alto fue A1C1: Explorer + 3 mg/l seguida de las combinaciones restantes tuvieron promedios menores de 0,01 a 0,02 tiempo (Gráfico N° 17).

En estos resultados obtenidos en las dos variables, dependieron de los cuidados asepticos dentro del medio de cultivo así también influyó la variedad de la planta madre y la parte del brote.

4.5.2. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)

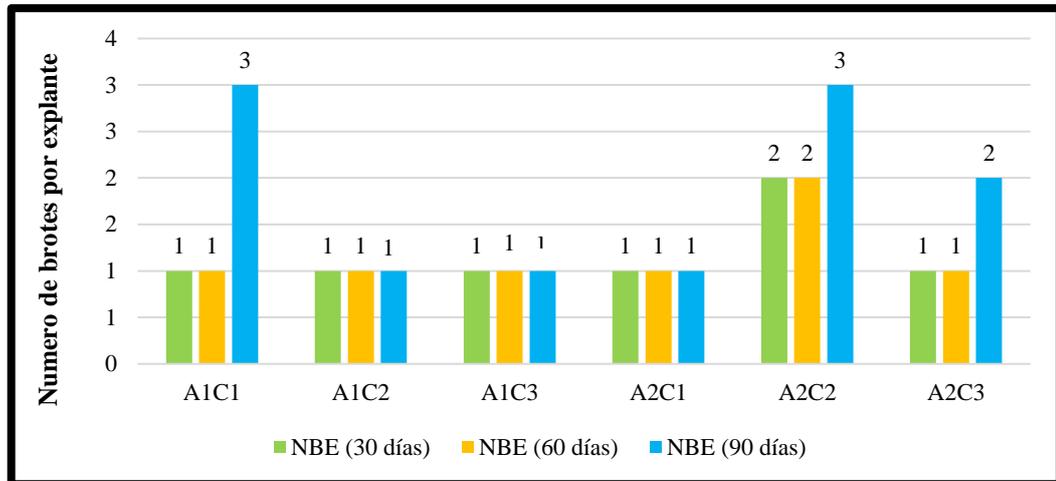


Gráfico N° 18 Prueba de Tukey al 1% para la variable NBE a los 30, 60 y 90 días para la interacción Ax C (Variedades de rosas en dosis de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

En respuesta de la variable número de brotes por explantes evaluados a los 30, 60 y 90 días se demostraron diferencias significativas (*) entre factores en las tres fechas de examinación (Cuadro N° 5).

A los 30, 60 y 90 días de evaluación, se registró mayores promedios en dos combinaciones las cuales fueron A1C1: Explorer + 3 mg/l contando con 1 a 3 brotes y A2C2: Quicksad + 5 mg/l de 2 a 3 brotes por explante (Gráfico N° 18).

Mismos resultados obtenidos que dependieron de la utilización de las técnicas de cultivo de tejidos, calidad de la planta, alta concentración de macro y micronutrientes y adaptabilidad.

4.5.3. Número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días (NHB)

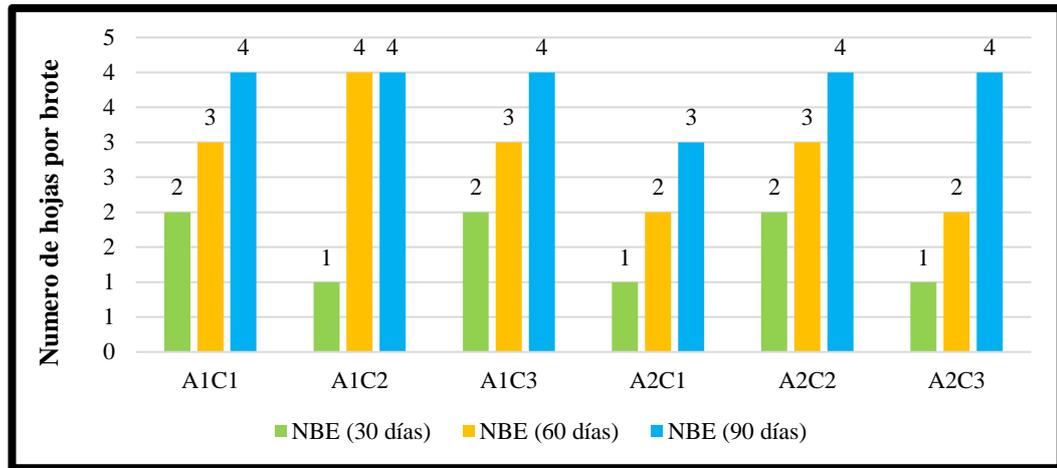


Gráfico N° 19 Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB a los 30, 60 y 90 días para la interacción Ax C (Variedades de rosas en dosis de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

En respuesta a la variable número de hojas por brote en la interacción variedades de rosas en dosis de fitorreguladores evaluada a los 30 días no se reflejaron diferencias (N/S) entre factores, en tanto que en las evaluaciones registradas a los 60 y 90 días se determinó diferencias significativas (*) (Cuadro N° 5).

En las evaluaciones a los 30, 60 y 90 días, el promedio más bajo se presentó en la combinación A2C1: Quicksad + 3 mg/l de 1 a 3 hojas por brote a diferencia de las combinaciones restantes a los 60 y 90 días, obtuvieron un mayor aumento de hojas que va desde 3 a 4 hojas por brote (Gráfico N° 19).

Los resultados dependieron de la asepsia al momento de preparar el medio de cultivo, así también como las características de los fitorreguladores con sus respectivas dosificaciones adaptadas dentro de las mismas y las características varietales de cada variedad.

Quispe (2017) menciona que los virus y organismos de tipo virus se localizan en los tejidos de las plantas sin que se manifiesten síntomas específicos. En tanto se debe obtener explantes de plantas madres certificadas. Por otro lado, para distanciar

los explantes de los virus que haya en la planta madre, se consideran las puntas meristemáticas de los brotes.

4.5.4. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB)

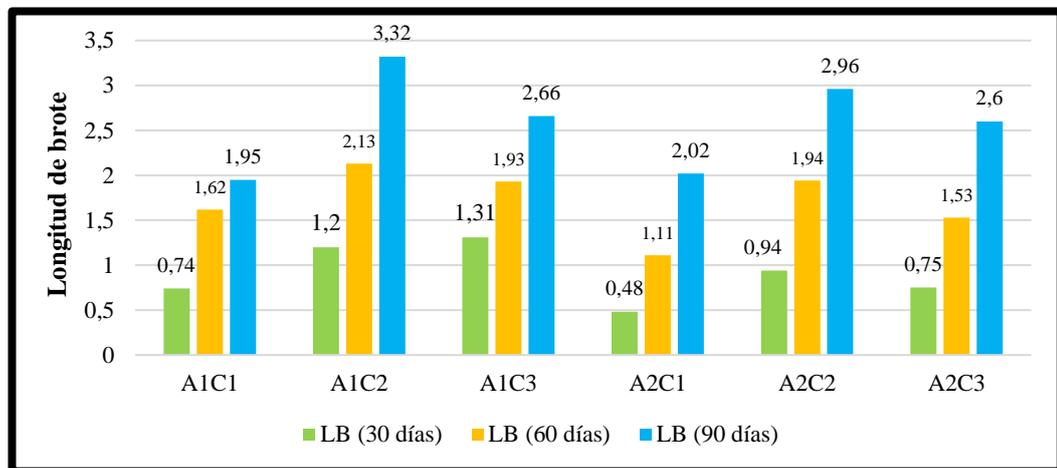


Gráfico N° 20 Prueba de Tukey al 1% para la variable LB a los 30, 60 y 90 días para la interacción Ax C (Variedades de rosas en dosis de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

Al analizar la variable Longitud de brote a los 30 y 60 días en la interacción variedades de rosas en dosis de fitorreguladores se determinaron diferencias significativas (*), mientras que a los 90 días de evaluación se no encontraron diferencias (N/S) (Cuadro N° 5).

A los 90 días de evaluación se reflejó una mayor longitud en A1C2: Explorer + 5 mg/l con 3,32 cm mientras que a los 30 días en la combinación A2C1: Quicksad + 3 mg/l de 0,48 cm de longitud siendo este el promedio menor (Gráfico N° 20).

Podemos inferir que estos resultados dependieron mucho de la selección de plantas madres, dosificación, medio de cultivo, temperatura, horas luz y oscuridad.

4.6. Interacción AxBxC

Cuadro N° 6 Prueba de Tukey al 1% de las variables: DB, NBE, NHB, LB, TVM en la interacción AXBXC.

Variables	Tratamientos																		MG	CV
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18		
DB (**)	21.66 A	15.00 B	16.33 AB	15.33 B	0.00 C	0.00 C	0.00 C	16.00 AB	15.66 AB	0.00 C	0.00 C	0.00 C	14.33 B	15.66 AB	15.66 AB	16.00 AB	16.00 AB	16.33 AB	10.77 días	19.04%
NBE (30 días) (**)	1.33 BC	1.33 BC	1.33 BC	2.33 AB	0.00 C	0.00 C	0.00 C	2.00 AB	1.33 BC	0.00 C	0.00 C	0.00 C	1.00 BC	3.66 A	1.66 BC	1.00 BC	2.33 AB	1.33 BC	1.14 brotes	48.19%
NBE (60 días) (N/S)	3.00 AB	2.00 BC	2.00 BC	2.66 AB	0.00 C	0.00 C	0.00 C	2.00 BC	1.33 BC	0.00 C	0.00 C	0.00 C	1.33 BC	4.22 A	2.00 BC	1.33 BC	2.66 AB	1.66 BC	1.46 brotes	45.51%
NBE (90 días) (**)	5.00 AB	2.66 C	2.33 C	3.00 BC	0.00 C	0.00 C	0.00 C	1.33 CD	1.33 CD	0.00 C	0.00 C	0.00 C	2.00 CD	5.33 A	2.33 C	2.00 CD	3.00 BC	2.33 C	1.81 brotes	36.42
NHB (30 días) (**)	3.33 A	2.00 AB	3.00 AB	2.00 AB	0.00 C	0.00 C	0.00 C	2.00 AB	2.33 AB	0.00 C	0.00 C	0.00 C	1.66 B	3.00 AB	1.66 B	1.66 B	1.66 B	1.66 B	1.44 hojas	34.27%
NHB (60 días) (**)	3.66 CD	4.33 BC	5.66 AB	4.00 BCD	0.00 C	0.00 C	0.00 C	6.33 A	4.33 BC	0.00 C	0.00 C	0.00 C	3.33 CD	5.00 ABC	3.33 CD	3.33 CD	3.33 CD	3.33 CD	2.72 hojas	21.10%
NHB (90 días) (**)	5.33 ABC	6.33 ABC	7.00 AB	5.33 ABC	0.00 D	0.00 D	0.00 D	6.66 ABC	5.33 ABC	0.00 D	0.00 D	0.00 D	4.00 C	8.00 A	5.33 ABC	4.33 BC	5.00 BC	5.66 ABC	3.79 hojas	25%
LB (30 días) (**)	0,90 CD	2.06 AB	1.53 ABC	1.53 ABC	0.00 D	0.00 D	0.00 D	1.53 ABC	2.40 A	0.00 D	0.00 D	0.00 D	0,93 CD	1.56 ABC	1.06 BCD	0.53 CD	1.26 BC	1.20 BC	0,90 cm	40.48%
LB (60 días) (**)	1.56 CD	3.30 AB	2.06 ABC	3.30 AB	0.00 D	0.00 D	0.00 D	3.10 ABC	3.73 A	0.00 D	0.00 D	0.00 D	2.06 ABC	3.20 AB	2.20 ABC	1.26 CD	2.63 ABC	2.40 ABC	1.71 cm	34.84%
LB (90 días) (*)	2.26 AB	5.00 A	3.96 A	3.50 A	0.00 B	0.00 B	0.00 B	4.96 A	4.03 A	0.00 B	0.00 B	0.00 B	3.40 A	4.90 A	3.80 A	2.66 AB	4.00 A	4.00 A	2.58 cm	38.48%
TVM (**)	0.05 AB	0.26 C	0.02 C	0.03 BC	0.00 D	0.00 D	0.00 D	0.01 CD	0.01 CD	0.00 D	0.00 D	0.00 D	0.02 CD	0.05 A	0.02 C	0.02 C	0.33 ABC	0.02 C	0.018	37.26%

N/S: No significativo. *Significativos al 1% **Altamente significativos al 1%

4.7. Días a la brotación (DB) y Taza de velocidad de multiplicación (TVM)

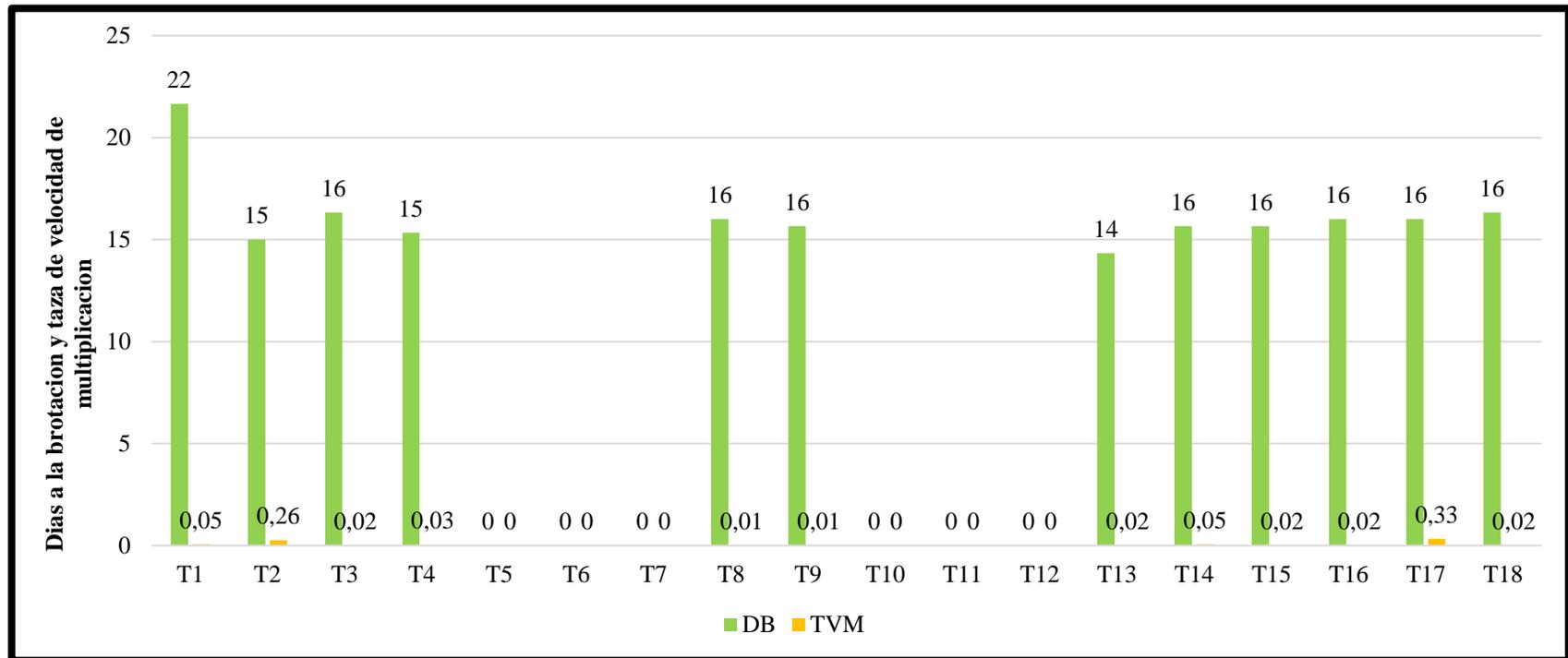


Gráfico N° 21 Prueba de Tukey al 1% para las variables DB y TVM para la interacción AxBxC (Variedades de rosas x tipos de fitorreguladores citoquininas x dosis de fitorreguladores)

Análisis e interpretación

La respuesta de interacción de los tratamientos referente a variable días a la brotación, se determinó diferencias altamente significativas (**), con una media general de 11 días a la brotación. En cuanto a la variable tasa de velocidad de multiplicación se registró diferencias altamente significativas con una media general de 0,18 en tiempo (Cuadro N° 6).

En los días a la brotación se refleja que el tratamiento con menos días en presentar sus primeros brotes es el T13 Quicksand + Kinetina + 3 mg/lit con 14 días a la brotación. Mientras que el tratamiento que más días necesito para brotar fue T1 Explorer + Bencil adenina + 3mg/lit de 22 días a la brotación (Gráfico N° 21).

En la TVM se registró una mayor cantidad de tiempo en T1 Explorer + Bencil adenina + 3 mg/lit y T14 Quicksand + Bencil adenina + 3 mg/lit con 0,05 tiempo, mientras que el tratamiento que menos tiempo necesito para la multiplicación fue T8 Explorer + Bencil aminopurina + 5 mg/lit y T9 Explorer + Bencil aminopurina + 7 mg/lit con 0,01 tiempo (Gráfico N° 21).

Estos resultados confirman que las variables en estudio son características varietales y tienen dependencia de su interacción con el medio de cultivo utilizado, el mismo que se encuentra compuesto por minerales, vitaminas, reguladores de crecimiento, variedades y características fisiológicas.

El éxito de la regeneración de las plantas obtenidas en condición de cultivo in vitro depende de componentes como el genotipo, el tipo de explante, la edad de las plantas donadoras, el número de subcultivos y la estructura del medio de cultivo, en especial del tipo de reguladores de crecimiento usados ya que puede existir variación en la respuesta entre especies, cultivares e incluso entre plantas del mismo cultivar. (Kaviani, 2015)

4.7.1. Número de brotes por explantes a los 30, 60 y 90 días (NBE)

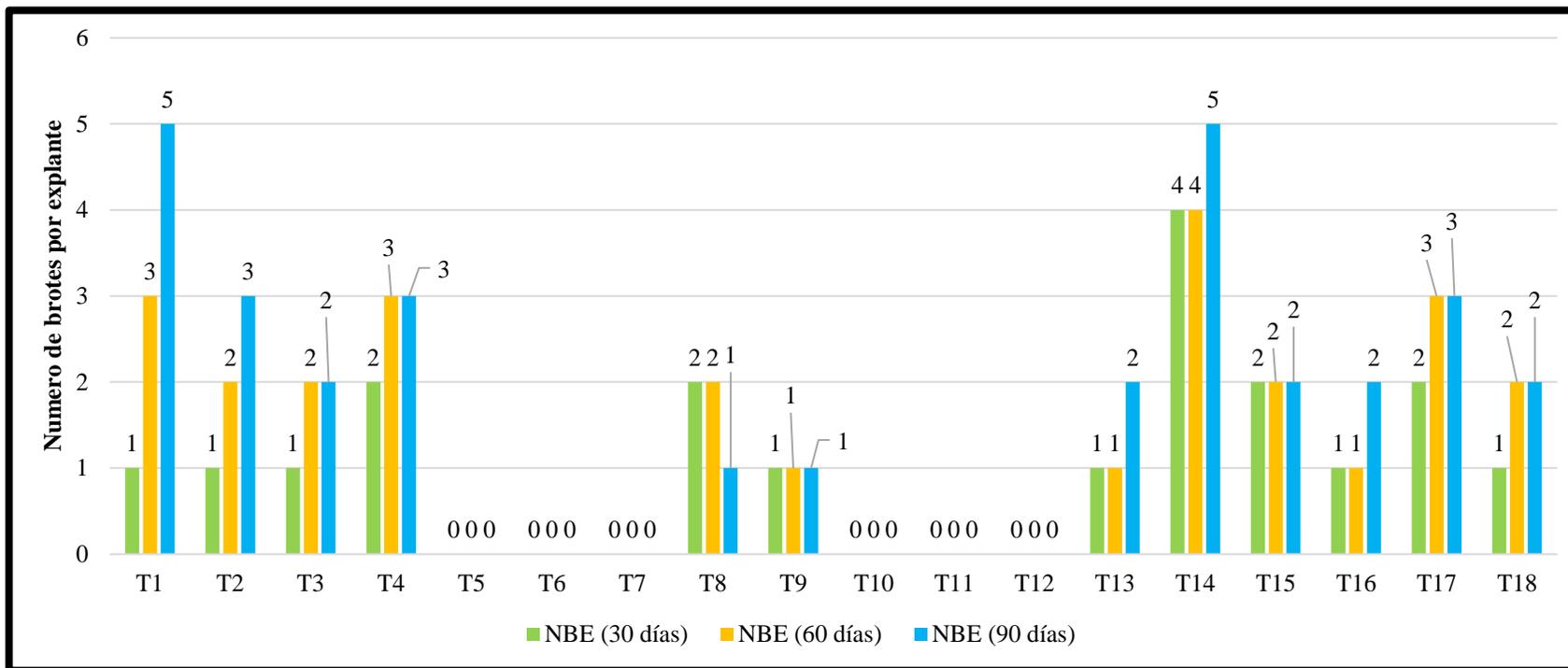


Gráfico N° 22 Prueba de Tukey al 1% para la variable NBE a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxBxC (Variedades de rosas x tipos de fitorreguladores citoquininas x dosis de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

De acuerdo con los promedios evaluados en cuanto a la variable número de brotes por explantes a los 30 y 90 días se determinaron diferencias altamente significativas (**) con una media general de 1 y 2 brotes respectivamente, mientras que en la evaluación a los 60 días demostró no existir diferencia entre tratamientos (N/S) con media general de 1 brote (Cuadro N° 6).

A los 30, 60 y 90 días, se presentó que en el T14: Quicksand + Kinetina + 5 mg/lt obtuvo mayor número de brotes por explante con un rango de 4 a 5 brotes mientras que el T9: Explorer + Bencil aminopurina + 7 mg/lt tuvieron un promedio similar de 1 brote por explante, en las tres evaluaciones antes mencionadas (Gráfico N° 22).

La variable en estudio, en sus tres evaluaciones, dependió del desarrollo y condiciones del medio del cultivo que se utilizó dentro de este trabajo investigativo, así como de factores tales cuales son el contenido de macro y micro nutrientes, los mismos que favorecen el desarrollo de los brotes.

4.7.2. Número de hojas por brote a los 30, 60 y 90 días (NHB)

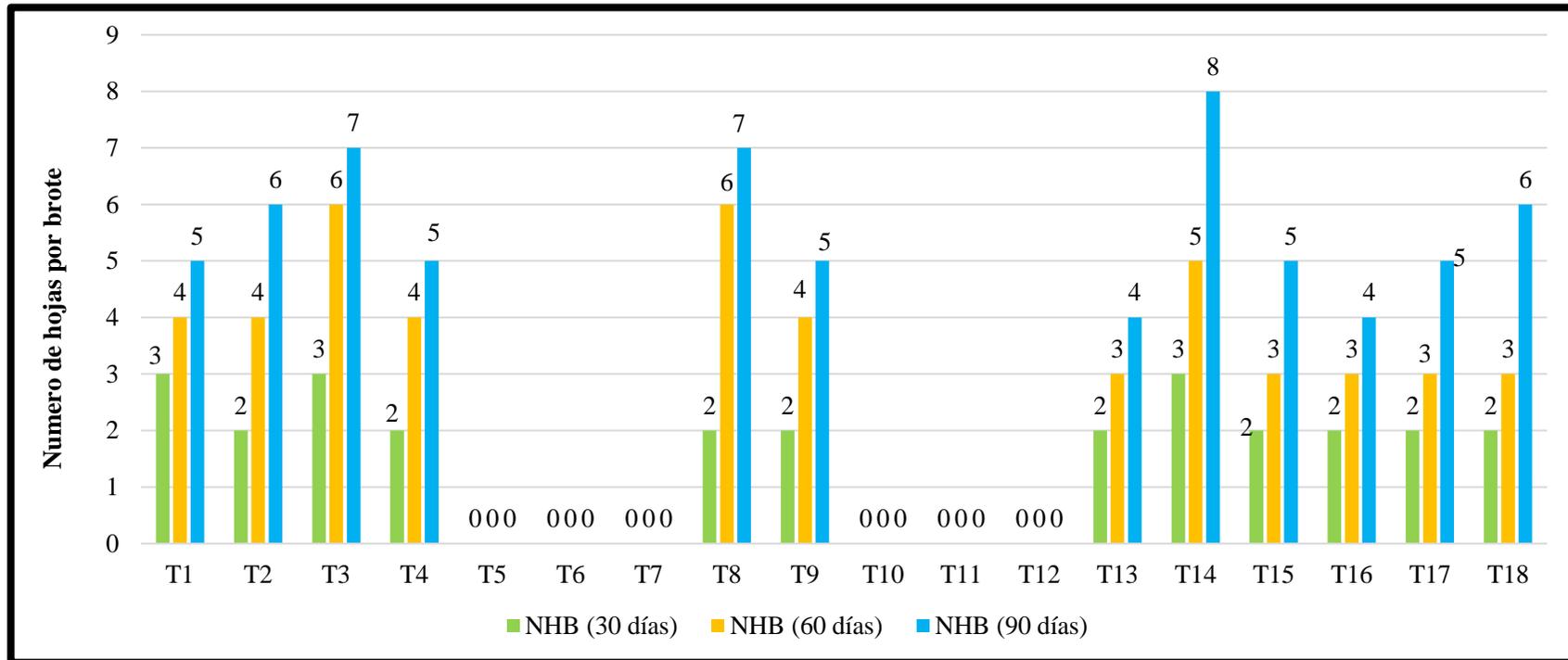


Gráfico N° 23 Prueba de Tukey al 1% para la variable NHB para la interacción AxBxC (Variedades de rosas x tipos de fitorreguladores citoquininas x dosis de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

Se reflejaron diferencias altamente significativas (**) en las tres evaluaciones, mostrando 1 hoja a los 30 días, mientras que a los 60 se determinó 3 hojas y a los 90 días 4 hojas por explante (Cuadro N° 6).

En las tres evaluaciones registradas a los 30, 60 y 90 días, el T14: Quicksand + Kinetina + 5 mg/lt presento un promedio que va de 3 a 8 hojas y T3: Explorer + Bencil adenina + 7 mg/lt de 3 a 7 hojas por brote siendo estos los mejores tratamientos dentro de esta investigación (Gráfico N° 23).

Mediante los resultados obtenidos se pudo inferir que estos tratamientos dependieron de los factores como son: variedades, tipos de fitorreguladores y dosis además influyó el fotoperíodo, medio de cultivos, minerales, tipo de explante (basal o terminal), condiciones asépticas y el tiempo transcurrido.

4.7.3. Longitud de brote a los 30, 60 y 90 días (LB)

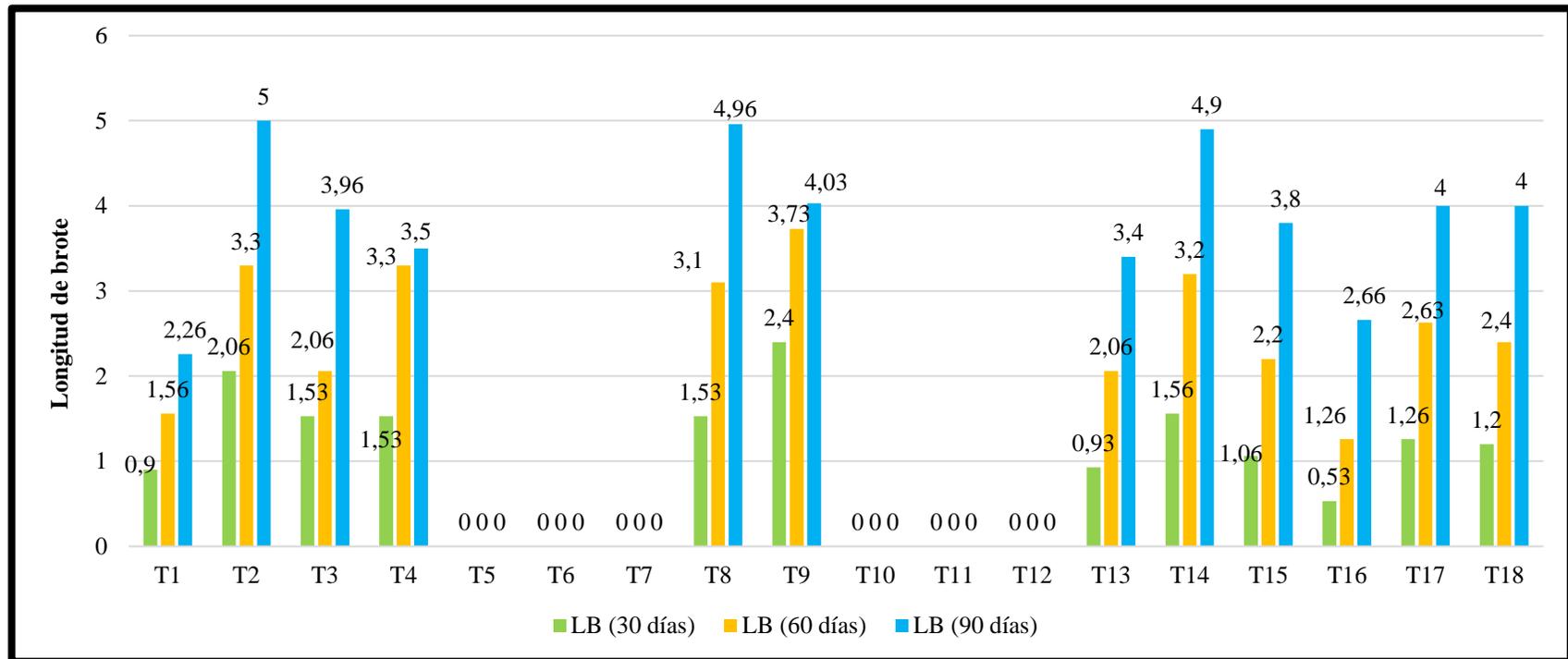


Gráfico N° 24 Prueba de Tukey al 1% para la variable LB a los 30, 60 y 90 días para la interacción AxBxC (Variedades de rosas x tipos de fitorreguladores citoquininas x dosis de fitorreguladores).

Análisis e interpretación

Al analizar los tratamientos en la variable longitud del brote evaluado a los 30 y 60 días se determinó diferencias altamente significativas (**) presentando una media general de 0,90 y 1,71 cm respectivamente, mientras que a los 90 días de análisis se determinó diferencias estadísticas (*) con una media general de 2,58 cm (Cuadro N° 6).

A los 90 días de evaluación, se determinó un crecimiento de brote en el T2: Explorer + Bencil adenina + 5 mg/lit con 5 cm seguido del T8: Explorer + Bencil aminopurina + 5 mg/lit con 4,96 cm y T14 Quicksand + Kinetina + 5 mg/lit de 4,90 cm de longitud del brote, mientras que el tratamiento con menor longitud se dio en el T1: Explorer + Bencil adenina + 3 mg/lit de 2,26 cm (Gráfico N° 24).

Estos resultados obtenidos en la variable LB, dependió de las variables antes mencionadas ya que son características varietales donde influyeron las variedades, tipos de citoquininas y dosificación así mismo de la temperatura, fotoperíodo y cuidados asépticos.

En la presente investigación el uso de fitorreguladores favoreció el control de la contaminación microbiana, puesto que, al adicionar agentes químicos en el medio, puede provocar un efecto abrasivo sobre los órganos y tejidos vegetales, llegando a provocar así la inhibición en su crecimiento, necrosamiento e incluso la muerte del tejido. (Beckman, 2020)

4.8. Análisis económico de la relación B/C

Cuadro N° 7 Costo producción de variedades de rosa (*Rosa sp.*) utilizando tres tipos de fitoreguladores.

ACTIVIDADES	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18
Brotos	5	3	2	3	0	0	0	1	1	0	0	0	2	5	2	2	3	2
Plantas	10	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	10	10
Citoquininas	0,09	0,15	0,21	0,09	0,15	0,21	0,09	0,15	0,21	0,09	0,15	0,21	0,09	0,15	0,21	0,09	0,15	0,21
Agar	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12
Frascos	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Papel aluminio	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Papel film	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52
Costo total	13,88	18,94	19	18,88	18,94	19	18,88	18,94	19	18,88	18,94	19	18,88	18,94	19	18,88	13,94	14
Ingreso bruto	66,5	21	14	21	0	0	0	7	7	0	0	0	14	35	14	14	21	14
Ingreso neto	52,62	2,06	-5	2,12	-18,94	-19	-18,88	-11,94	-12	-18,88	-18,94	-19	-4,88	16,06	-5	-4,88	7,06	0
R.IN	4,79	1,11	0,74	1,11	0,00	0,00	0,00	0,37	0,37	0,00	0,00	0,00	0,74	1,85	0,74	0,74	1,51	1,00
R.B/C	3,79	0,11	-0,26	0,11	-1,00	-1,00	-1,00	-0,63	-0,63	-1,00	-1,00	-1,00	-0,26	0,85	-0,26	-0,26	0,51	0,00

4.8.1. Análisis de la relación beneficio/costo

La relación B/C se define como la pérdida o ganancia bruta por cada unidad invertida. En tanto que, si la relación es mayor que uno, se valora que existe un adecuado beneficio; si es similar a uno, los beneficios son iguales a los costos y la actividad no es rentable. Valores menores que uno manifiestan pérdida y la actividad no es rentable. Para decretar la Relación Beneficio-Costo, se ejecuta a dividir el Ingreso Bruto para el Total de Costos de Producción (León, C. y Quiroz, R. 1994).

Debido a los resultados que se obtuvieron dentro de la investigación y en consideración con los brotes por explantes presentados en los tratamientos, es la línea de partida para poder analizar el aspecto económico; teniendo en cuenta el ingreso bruto e ingreso neto, así como los factores que varían.

Se hace referencia que el mejor tratamiento con un beneficio costo es el T1 Explorer + Bencil adenina + 3 mg/lit es decir por cada unidad invertida existe una ganancia de \$3,79. Seguido del tratamiento T14 Quicksand + Kinetina + 5 mg/lit con una ganancia por cada unidad invertida de \$0,85 (Cuadro N° 7).

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede inferir que la relación B/C en la producción de explantes de rosa (*Rosa sp*) mediante la propagación el cultivo in vitro, en la mayoría de tratamientos que tuvieron presencia de brotes superaron la unidad invertida, a lo que se deduce que existe una buena rentabilidad y por tanto recuperación del capital invertido.

4.9. Comprobación de hipótesis

La hipótesis alterna planteada en esta investigación fue: La propagación de dos variedades de rosas en cultivo in vitro dependerá de las variedades en estudio, tipos y dosis de fitorreguladores.

De acuerdo a la hipótesis planteada y mediante los resultados estadísticos presentados y con evidencia del 99% de seguridad, se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula ya que en las variables estudiadas en respuesta de las variedades de rosas en los fitorreguladores en distintas dosificaciones se presentó diferencias significativas y altamente significativas en la mayoría de las variables de rendimiento, de este modo corroborando la aceptación de la hipótesis alterna.

4.10. Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis estadísticos y económicos se desglosan las siguientes conclusiones:

- La propagación de rosa mediante la multiplicación *in vitro* es viable y de manera segura. El medio de cultivo empleado, así como el M&S y los reguladores de crecimiento: BA, BAP y KN en dosificaciones de 3, 5 y 7 mg/lit, presentaron buenos resultados dentro de la investigación.
- En lo que se refiere al factor A variedades de rosa, las que mejor adaptación y resultados obtuvo fue Quicksand (A2) presentando una mayor cantidad de brotes y hojas por explantes. Para el factor B lo que es fitoreguladores se determinó mejor influencia en Bencil aminopurina (B3), mientras que la dosificación, la más viable fue 5 mg/lit (C2).
- Se estableció que la interacción de factores AxBxC: variedades de rosa x tipos de fitoreguladores x dosis el tratamiento que mejor adaptación y resultados obtuvo fue el T14 (Quicksand + kinetina + 5mg/lit) con un promedio de 5 brotes por explante, 8 hojas por brote y 4.90 de altura por cada brote, mientras que el tratamiento que menos brotes por explante presentó fue el T8 (Explorer + bencil aminopuina + 5 mg/lit) y T9 (Explorer + bencil aminopuina + 7 mg/lit) con 1 brote a los 90 días de evaluación
- En los frascos de vidrio donde se encontraba el material vegetal, aquellos que presentaron alguna contaminación ya sea en el medio de cultivo o en el explante se desecharon y se clasificaron el grado de contaminación, teniendo así un porcentaje de sobrevivencia del 90% dentro de la investigación.

4.11. Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos y conclusiones presentadas, se consideran las siguientes recomendaciones:

- Para un buen desarrollo de explantes in vitro se debe seguir de forma cautelosa y rigurosa los protocolos de asepsia en el laboratorio de Biotecnología y para que de esta manera se reduzcan los índices de contaminación y que el material a propagar se ajuste a las características ideales para obtener plántulas de alta calidad higiénica.
- Desarrollar futuras investigaciones en el laboratorio de biotecnología de la Universidad Estatal de Bolívar utilizando distintas variedades de rosas con sus respectivos fitorreguladores ya que con esta investigación se pudo constatar que la propagación in vitro es una alternativa para la producción rápida y segura de plantas que permitirán reducir los costos de producción y garantizar la sanidad vegetal
- Con base a los resultados, para la multiplicación in vitro de rosas, se recomienda la variedad Quicksand usando el fitorregulador Kinetina en dosis de 5 mg/l, debido a que su combinación presentó mayores resultados principalmente en el componente número de brotes por explantes y a su vez presentó la mejor relación beneficio/costo.
- Extraer explantes de plantas madres seleccionadas de buena calidad, plantas de edad media, libre de problemas fitosanitarios y seguidamente realizar procesos de desinfección antes de que sean ingresadas al laboratorio y previo a la extracción de las yemas

BIBLIOGRAFÍA

- Abrahamian, P. &. (2011). Obtenido de Effect of vitamins on in vitro organogenesis of plant. American Journal of Plant Sciences, 2(5), 669-674. doi:10.4236/ajps.2011.25080.
- Abreu, E., Castillo, M., Sol, G., & González, G. (2016). Obtenido de Efecto de antibióticos en la propagación in vitro de *Agave fourcroydes* Lem. Biotecnología Vegetal, 16(1), 31-36.:
<https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/507/html>
- Acosta, J. (2017). Embriogénesis somática en café (*Coffea canephora* y *Coffea arabica*) para su aplicación y adopción de sistemas de micropropagación masal. (Tesis de grado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil.:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/19601/1/UPS-TTQ185.pdf>
- Alcántara, J., Acero, J. Alcántara Cortés, J., Sánchez, R. (2019) Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal
<http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>
- Álvarez, J. (2021). Desarrollo de un protocolo para el cultivo in vitro de rosa hinensis. Tesis. Universidad Politécnica Salesiana sede Quito.
- Alvarez, J. B. (2020). Hormonal and gene dynamics in de novo shoot meristem formation during adventitious caulogenesis in cotyledons of *Pinus pinea*. Plant Cell Reports, 39, 527-541 doi:10.1007/s00299-020-02508
- Arellano, J. (2020). Evaluación del desarrollo morfológico de diferentes variedades de brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*) bajo un sistema hidropónico NFT trabajo experimental. Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria del Ecuador Facultad de Ciencias Agrarias Carrera de Ingeniería Agronómica. Guayaquil. Ecuador.
- Banco Central Del Ecuador. (2019). Micrositio de información económica, sector externo. Quito, Ecuador

- Batista, M. (2014). Técnicas tradicionales y biotecnológicas. Obtenido de:
<http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/21611/T%C3%A9cnicas%20rosal.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Beckman, C. (2020). Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? *Physiological and Molecular*, 101-110.
- Caillante, R. (2017). Establecimiento de medios de cultivo y tipo de explante en vitro plantas de papa variedad Huaycha (*Solanum tuberosum* sp.) para mejorar los sistemas de producción de semilla:
- Camacho M. (2020). Universidad central del Ecuador. Obtenido de Respuesta de la rosa (*Rosa* sp.) a la aplicación de Back Humus (ácidos húmicos) en dos localidades. Obtenido de:
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23048/3/UCE-FAG-CHAMORRO%20MARINA.pdf>
- Camacho M. (2020). Universidad central del Ecuador. Respuesta de la rosa (*Rosa* sp.) a la aplicación de Back Humus (ácidos húmicos) en dos localidades.:<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23048/3/UCE-FAG-CHAMORRO%20MARINA.pdf>
- Castro, Job., Solís, María., Castro, Rigoberto y Calderón, Carlos. (2019). Uso de fitorreguladores en el manejo de cultivos agrícolas. Centro de investigación en biotecnología aplicada, Instituto Politécnico Nacional. Sinaloa, México
- Castro, N. (2015). Es global. Recuperado de: <Http://www.esglobal.Org/Las-flores-sector-estrategico-para-la-economia-colombiana/>
- Chamorro, M. (2020). Respuesta de la rosa (*Rosa* sp.) a la aplicación de Back Humus (ácidos húmicos) en dos localidades. Universidad central del Ecuador.:
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23048/3/UCE-FAG-CHAMORRO%20MARINA.pdf>

- Chavarro J. (2021). Evolución y desafíos de la floricultura ecuatoriana en el futuro próximo: <https://www.metroflorcolombia.com/evolucion-y-desafios-de-la-floricultura-ecuatoriana-en-el-futuro-proximo/>
- Chávez, A. (2019). Evaluación de tres sistemas de cultivo in vitro para la multiplicación de microcormos de gladiolo.
- Cedeño, G. (2021). Efectos de Bencil aminopurina y tipo de brotes en la producción y calidad de plántulas de plátano vía micropropagación. *Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias*. Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo-Ecuador. Pag: 387.
- Certis Belchim. (2022). Aminoácidos para plantas: cuando y como aplicarlos. <https://certisbelchim.es/C3%89stas%20sintetizan%20los%20amino%20%C3%A1cidos%20a,%20%C2%20arginina%20%C2%20alanina%20y%20glicinicos>
- CIAT. (2017). El Centro Internacional de Agricultura Tropical Cultivo de tejidos en la agricultura. Cali-Colombia.
- Cluster Flor. (2018). Las rosas ecuatorianas a la conquista del mercado chino - Cluster Flor. Obtenido de Cluster Flor: obtenido de:
- Cuchut, J., & Murillo, R. (2019). Efecto de tres concentraciones de carbón activo y diferentes fuentes de carbono, en multiplicación de vitroplantas de papa imilla negra (*Solanum tuberosum* L. Ssp.andigena). *Revista Apthapi*, 5(2), 1616-1631.
- Curir, P. (2017). In vitro propagation of some rose cultivars. *Acta Horti*. doi:10.17660/ActaHortic.1986.189.27.
- De Lima Franzen, F., Rodrigues de Oliveira, M. S., Lidório, H. F., Farias Menegaes, J., & Martins Fries, L. L. (2019). Composición química de pétalos de flores de rosa, girasol y caléndula para su uso en la alimentación humana. *Ciencia y tecnología agropecuaria*, 20(1), 149-158.
- FAO (La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2019. El estado mundial de la agricultura y la

alimentación. progresos en la lucha contra la pérdida y el desperdicio de alimentos. Roma.

Fernández, C., Díaz, M., & González, L. (2016). Enraizamiento in vitro de embriones cigóticos de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd ex Mart. *Colombia Forestal*, 19(1), 67- 78.

Franzen, F. R. (2018). *AGROSAVIA*. Composición química de pétalos de flores de rosa, girasol y caléndula para su uso en la alimentación humana: Recuperado el 1 de mayo de 2022, de obtenido de: <https://www.redalyc.org/journal/4499/449960534013/html/>

García, M. (2017). Obtenido de Taxonomías en plantas:
<http://taxonomiaenplantas2017.blogspot.com/>

García, Y. (2019). Universidad de Cundinamarca. Facultad de ciencias agropecuarias. Obtenido de Efecto de la aplicación de hormonas para reducir cambios del tamaño de la cabeza floral de la rosa (*Rosa* sp) variedad freedom en el Municipio de Sisqueli, Cundinamarca: <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/bitstream/handle/20.500.12558/3097/EFFECTO%20DE%20LA%20APLICACION%20DE%20HORMONAS%20PARA%20INDUCIR%20EL%20CAMBIO%20DEL%20TAMA%20DE%20CABEZA%20FLORAL%20DE%20LA%20ROSA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Guerrero, M., Gómez-Kosky, R., & Bermúdez-Caraballosa, I. (2016). Plantas madre de *Vasconcellea x helbornii* (Badillo) Badillo a partir de estacas en condiciones semicontroladas. *Bioteología Vegetal*, 16(1), 13-20. Obtenido de <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/505/pdf>.

Gutiérrez, L. Arellano Pimentel, E., Gutiérrez, C., Escalera, E., Romero, A., Saucedo, J., González, J., Zamudio, M., Martínez, M., Ortiz, M., Flores, Y., (2020) Manual de Microbiología General I. Química Farmacéutico Biológica. Universidad Nacional Autónoma de México: <https://www.>

zaragoza.unam.mx/wpcontent/Portal2015/Licenciaturas/qfb/manuales/
10MANUALMICROBIOLOGIAGENERALI2020.pdf

Hartung, A. (2018). *Latercera*. Los beneficios de la rosa Recuperado el 29 de marzo, de: <https://www.latercera.com/paula/los-beneficios-la-rosa/>

Hernández, E. (2017). Brasinoesteroides en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Obtenido de página web.: <https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/editorial/index.php/agricolas/article/view/356/2>

Hernández, F. (2021). Regeneración in vitro de brotes de *Polianthes tuberosa* L. a partir de yemas vegetativas de la inflorescencia y de tejido de cormo. *Revista Electrónica Nova Scientia*

Hugo, S. (2016). Evaluación del efecto de bioestimulante orgánico en la producción de rosas. Tesis. Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencias Agropecuarias, Ambato.

Indacochea, B., Julio, G. & Parrales, J. (2017). Contribuciones de la UNESUM a la biotecnología vegetal. Guayaquil, Ecuador: Grupo COMPAS, UNESUM.

Infoagro. (2019). El cultivo de la rosa Recuperado de: https://www.infoagro.com/documentos/elcultivo_rosa.asp

Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) (2016). Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua 2016. Quito, Ecuador

INTAGRI. (2017). Las hormonas vegetales en las plantas. Obtenido de: <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/las-hormonas-vegetalesplantas#:~:text=Las%20auxinas%20y%20su%20papel%20en%20las%20plantas&text=y%20particularmente%20inducen%20la%20formaci%C3%B3n,inhiben%20la%20ca%C3%ADda%20de%20%C3%B3rganos.>

Jiménez, Z. (2018). Respuesta de la rosa (*Rosa* sp.) a la aplicación de Back Humus ácidos húmicos) en dos localidades. Obtenido de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23048/3/UCE-FAG-CHAMORRO%20MARINA.pdf>

- Jiménez-Mariña, L. (2016). Conservación in vitro del cultivo de clavel español (*Dianthus caryophyllus* L.) a partir de sales minerales. *Agronomía Mesoamericana*, 27(1), 177-181. Obtenido de: <http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1659-13212016000100177>
- Julio, & Parrales. (2017). Cultivos in vitro. Obtenido de página web: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/19601/1/UPSTTQ185.pdf>.
- Kaur, N., R. Sharma, M. Singh, P.S. Ahuja (2007), “Molecular evaluation and micropropagation of field selected elites Of R. Damascene”, *gen.appl. plant physiology* 33(3-4), Pp. 171-186
- Kaviani, B. (2015). Some useful information about micropropagation. *Journal of Ornamental Plant*, 29-40.
- L’bachir El Kbiach, M. E. (2017). Callogenesis of cork oak (*Quercus suber* L.) through in vitro culture of nodes and Internodes. *American Journal of Plant Sciences*, 8(8), 1801-1819.: Obtenido de://www.scirp.org/html/4-260324077448.htm
- Lanchimba, Z. (2018). Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23048/3/UCE-FAG-CHAMORRO%20MARINA.pdf>
- López, G. (2021). Obtenido de Alcances y perspectivas del área de biotecnología vegetal de cultivos in vitro en el sureste de México.: https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_6039859dc0d94.pdf
- Megías, M; Molist, P & Pombal. (2020). Atlas de histología animal y vegetal. <https://mmegias.webs.uvigo.es/cita-celula.php>
- MEMMERT. (2019). Cámara de clima constante HPP Incubador refrigerado por sistema Peltier IPPplus. Alemania.
- Micocci, L. (2018) Biomoléculas: carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. *Química biológica*. Universidad Nacional del Litoral <http://www.unl.edu.ar/ingreso/cursos/medicina/wpcontent/uploads/sites/8/2017/10/Quimica09.pdf>

- Ministerio De Agricultura Y Ganadería. (2017). Manejo agroecológico de suelos. Empresa pública medios públicos del Ecuador. Quito, Ecuador.
- Moreira, J. (2017). La orientación y la polaridad del explante determinan la respuesta morfogénica de los segmentos epicotilo del citrange de troyer. *Annals of Botany*, 715-723. doi:10.1006/anbo.1999.0972
- Moreno, J. A. (2019). Obtenido de Effect of culture medium on morphogenic processes in vitro in *Cinchona officinalis* L. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 51(1), 55-68. Obtenido: <http://revistas.uncu.edu.ar/ojs3/index>.
- Murillo-Talavera, M., Pedraza-Santos, M., Gutiérrez-Rangel, N., Rodríguez-Mendoza, M., Lobit, P., & Martínez-Palacios, A. (2016). Calidad de luz y desarrollo in vitro de *Oncidium tigrinum* y *Laelia autumnalis* (Orquidaceae). *Agrociencia*, 50(8), 1065-1080. Obtenido de página web: <https://www.redalyc.org/pdf/302/30249305009.pdf>
- Narváez, G. (2019). Regeneración de brotes a partir de hojas provenientes de plantas in vitro de rosas variedad Akito (rosa sp Var Akito). Obtenido de página web: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2606/1/T-ESPIASA%20I-003878.pdf>
- Palacios, A. (2019). Efecto de diferentes medios y sustratos en el enraizamiento y adaptación de rosa transgénica. *Agronomía Mesoamericana*, 30, 115-129.
- Parismoreno, L., Gordillo, F., & Santos, E. (2016). Determinación de tiazurón (tdz) para la fase de multiplicación in vitro de caimito (*Chrysophyllum cainito* l.). *Yachana Revista Científica*, 5(2), 25-31.
- Pérez, F. (2017) Nutrición mineral. Fisiología vegetal obtenido de: <http://www.repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/3201/000026082L.pdf?>
- Piaveri, J. (2017). Características de las variedades de rosa (J.Taco, Entrevistador

- Pierik, R. (2018). Analysis of adventitious root formation in isolated stem explants of *Rhododendron*. *Scientia Horticulturae*, 1-20.
- Porta, H., & Jiménez, G. (2019). Papel de las hormonas vegetales en la regulación de la autofagia en plantas. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 1-11. doi:10.22201/fesz.23958723e.2019.0.160
- Portillo, G. (2018). Respuesta de tres cultivares de rosal (*Rosa* sp) variedades Samantha, Cristaline y Peach, a la multiplicación y enraizamiento de brotes In vitro en diferentes proporciones de Auxinas - Citocininas. Obtenido de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_1849.pdf
- Pozo, M. (2021). Desarrollo de un protocolo para el cultivo de rosas chinensis. Trabajo de titulación. Universidad Politécnica Salesiana, Quito.
- Quiroz, W. (2015). Evaluación del comportamiento del botón de la variedad de rosa (*rosa* sp) freedom, utilizando cinco colores de capuchón en finca florícola manuela tabacundo 2014. Tesis. Universidad Politecnica Salesiana, Quito.
- Quispe, C. (2017). Comportamiento in vitro de tres variedades de clavel (*Dianthus caryophyllus*) y reducción de la fase de enraizamiento para la obtención de las plantas madres. Obtenido de: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/5102/T1169pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ríos, D., Becerra, J., & Sánchez, M. (2016). Caracterización fisiológica del enraizamiento in vitro de *Eucalyptus nitens* y *Eucalyptus globulus*. *Gayana. Botánica*, 73(2), 421-429. CHAMORRO%20MARINA.pdf
- Rubio, L. (2019). Efecto de diferentes métodos de desinfección en el establecimiento in vitro de *Guadua angustifolia* Kunth Biotecnología vegetal. Obtenido de: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/434/html>
- Salazar, F. (2017). Respuesta a tres programas de fertilización en el cultivo de rosa (*Rosa* sp.) Var. Freedom. Obtenido de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8734/1/T-UCE-0004-03.pdf>

- Sharry, S. (2015). Plantas de probeta. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).
- Singh, C. (2018). Obtenido de Review on problems and its remedy in plant tissue culture. Asian Journal of Biological Sciences, 11(4), 165-172.
- Singh, C. (2018). Review on problems and its remedy in plant tissue culture. Asian Journal of Biological Sciences, 11(4), 165-172.
- Suárez, I. (2020). Cultivo de tejidos vegetales. Montería, Colombia: Fondo Editorial Universidad de Córdoba. Obtenido de:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/19601/1/UPSTTQ185.pdf>.
- Tandazo, J. (2015). Evaluación de medios de cultivo in-vitro para la inducción de callos y vástagos de naranjilla Solanum quitoense Var. Quitoense, UCEFCA,2015:
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/7778/1/TUCE000459.pdf>.
- Tipán, J. M. (2015). Estudio fenológico y productivo de diez variedades de rosa (Rosa sp) en dos ciclos de producción en Cayambe. Trabajo de grado, Universidad Central del Ecuador.
- Trinidad, R. (2015). Multiplicación in vitro de *Astrophytum myriostigma* Lem. y *Turbincarpus knuthianus* Boed. y Aclimatación de estas especies y *T. lophophoroides* Werd. Obtenido de página web:
<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6795/T14976%20TRINIDAD%20GARC%20C3%8DA.%20RICARDO%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vaca, I. (2018). Regeneración de plantas completas de *Rubus glaucus* (Benth), mediante el uso de reguladores de crecimiento. Obtenido de
<http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/25141>
- Valencia, J. (2016). El cultivo del rosal (*Rosa* sp.) como flor de corte bajo condiciones de invernadero. Buenavista. Trabajo de Grado presentado

como requisito parcial para optar al Título de Ing. Agr. México:
Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro, Facultad de
Agronomía.

Valles, M. (2017). Micropropagation of several Rosa hybrida. Acta Horti, 611-
617. Obtenido de doi:10.17660/ActaHortic.1987.212.102

Villa, R., & Arbeláez, L. (2019). Micropropagacion in vitro de rosa Rosa sp. a
partir de yemas axilares y respuesta callogénica. Revista de la
Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas, 1(31), 10-17.

ANEXOS

Anexo N° 1 Ubicación del experimento

Granja Experimental Laguacoto II, laboratorio de biotecnología



Anexo N° 2 Base de datos de rosas

V1	V2	V3	V4	V5	V6			V7	V8			V9			V10			V11	V12
TRAT	REP.	FA	FB	FC	NEC			DB	NBE			NHB			LB			TVM	PC
					30	60	90	30	30	60	90	30	60	90	30	60	90	90	90
1	1	1	1	1	0	0	0	15	2	3	6	5	8	13	0.93	1.8	2.8	0.06	0
2	1	1	1	2	0	0	0	15	1	3	4	2	4	8	2.3	4.6	7.0	0.04	0
3	1	1	1	3	0	0	0	18	2	3	3	3	6	9	1.5	3.0	4.5	0.03	0
4	1	1	2	1	0	0	0	15	3	4	4	2	4	7	2.7	5.3	6.5	0.04	0
5	1	1	2	2	0	1	1	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	1	1	2	3	0	0	0	0	1	1	3	2	3	5	1.3	2.6	4.0	0.03	0
7	1	1	3	1	0	0	0	15	2	3	4	3	4	8	0.8	1.6	2.5	0.04	0
8	1	1	3	2	0	0	0	15	2	2	2	2	8	8	1.6	3.2	5.0	0.02	0
9	1	1	3	3	0	0	0	14	2	2	2	3	4	6	2.3	4.3	6.5	0.02	0
10	1	2	1	1	0	0	1	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	1	2	1	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	1	2	1	3	0	0	0	0	2	2	4	3	4	9	1.4	2.9	4.5	0.04	0
13	1	2	2	1	0	0	0	15	1	1	1	2	2	5	0.7	1.4	2.5	0.01	0
14	1	2	2	2	0	0	0	15	5	6	6	3	5	10	1.5	3.1	4.7	0.06	0
15	1	2	2	3	0	0	0	17	2	3	3	2	3	6	1.2	2.4	4.5	0.03	0
16	1	2	3	1	0	0	1	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	1	2	3	2	0	0	0	0	2	3	5	2	3	4	1.6	3.3	5.0	0.05	0
18	1	2	3	3	0	0	0	18	2	2	4	2	3	8	1.5	3.0	4.5	0.04	0
1	2	1	1	1	0	0	0	15	1	3	4	2	4	5	0.9	1.4	2.2	0.04	0
2	2	1	1	2	0	0	0	15	2	2	2	2	5	6	2.3	2.0	3.0	0.02	0
3	2	1	1	3	0	0	0	15	1	2	3	3	6	6	1.5	1.9	3.5	0.03	0
4	2	1	2	1	0	0	0	16	3	3	3	2	4	5	0	2.0	0	0.03	0
5	2	1	2	2	0	0	0	16	1	2	2	2	4	5	0.83	2.0	3.0	0.02	0
6	2	1	2	3	1	1	1	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	2	1	3	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	2	1	3	2	0	0	0	0	1	1	1	2	4	6	1.6	3.2	5.0	0.01	0
9	2	1	3	3	0	0	0	15	1	1	1	2	5	5	2.5	3.0	3.6	0.01	0

10	2	2	1	1	0	0	0	16	1	1	1	1	2	5	1.1	2.2	3.0	0.01	0
11	2	2	1	2	0	0	0	15	1	3	3	2	4	5	0.8	1.6	3.01	0.03	0
12	2	2	1	3	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	2	2	2	1	0	0	0	15	1	2	2	2	3	5	1.2	2.5	4.0	0.02	0
14	2	2	2	2	0	0	0	16	3	4	5	4	4	9	1.7	3.4	5.0	0.05	0
15	2	2	2	3	0	0	0	15	2	2	2	2	4	6	1.1	2.3	3.5	0.02	0
16	2	2	3	1	0	0	0	18	1	1	2	2	4	5	0.7	1.5	3.0	0.02	0
17	2	2	3	2	0	0	0	15	2	2	2	2	4	6	1.4	2.9	4.5	0.02	0
18	2	2	3	3	0	0	0	15	1	2	2	2	4	5	1.3	2.6	4.5	0.02	0
1	3	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	3	1	1	2	0	0	0	15	1	1	2	2	4	5	1.6	3.3	5	0.02	0
3	3	1	1	3	0	0	0	16	1	1	1	3	5	7	1.6	3.3	5	0.01	0
4	3	1	2	1	0	0	0	15	1	1	2	2	4	4	1.3	2.6	4	0.02	0
5	3	1	2	2	0	0	0	15	1	1	1	2	4	8	1.3	2.6	4	0.01	0
6	3	1	2	3	0	0	0	17	2	2	3	2	5	5	1.9	3.8	5.7	0.03	0
7	3	1	3	1	0	0	0	15	1	1	1	3	4	10	1.6	3.2	5.0	0.01	0
8	3	1	3	2	0	0	0	17	3	3	1	2	5	6	0.6	1.2	2.0	0.01	0
9	3	1	3	3	0	0	0	18	1	1	1	2	4	5	1.3	2.6	4.0	0.01	0
10	3	2	1	1	0	0	0	15	1	1	4	2	5	6	1.2	2.4	4.5	0.4	0
11	3	2	1	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	3	2	1	3	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	3	2	2	1	0	0	0	0	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0.03	0
14	3	2	2	2	0	0	0	16	3	3	5	2	6	12	1.5	3.1	5	0.05	0
15	3	2	2	3	0	0	0	15	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0.02	0
16	3	2	3	1	0	0	0	15	1	1	2	1	3	5	0.6	1.2	2	0.02	0
17	3	2	3	2	0	0	0	17	3	3	3	1	3	5	0.8	1.7	2.5	0.03	0
18	3	2	3	3	0	0	0	0	1	1	1	1	3	4	0.8	1.6	3.0	0.01	0

Anexo N° 3 Manejo de ensayo



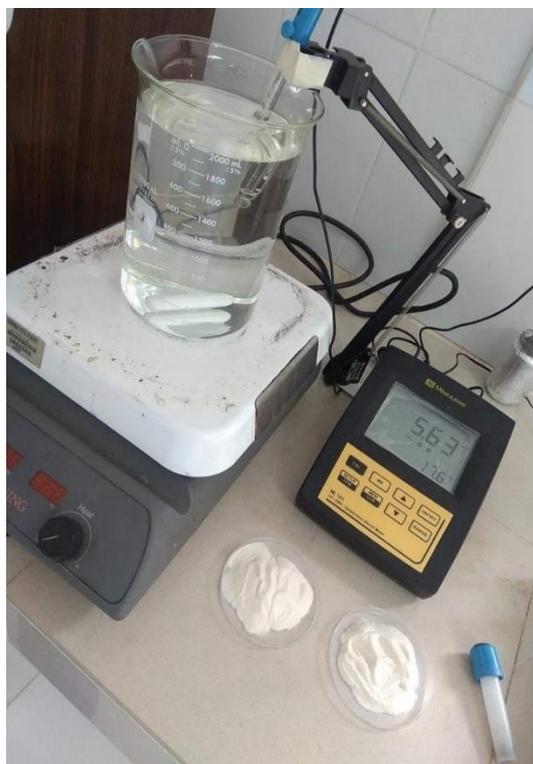
Fotografía 1: Selección de las baretas.



Fotografía 2: Corte de las plántulas.



Fotografía 3: Materiales para la preparación



Fotografía 4: Peso del Agar y del sacarosa.



Fotografía 5: Preparación del medio de cultivo



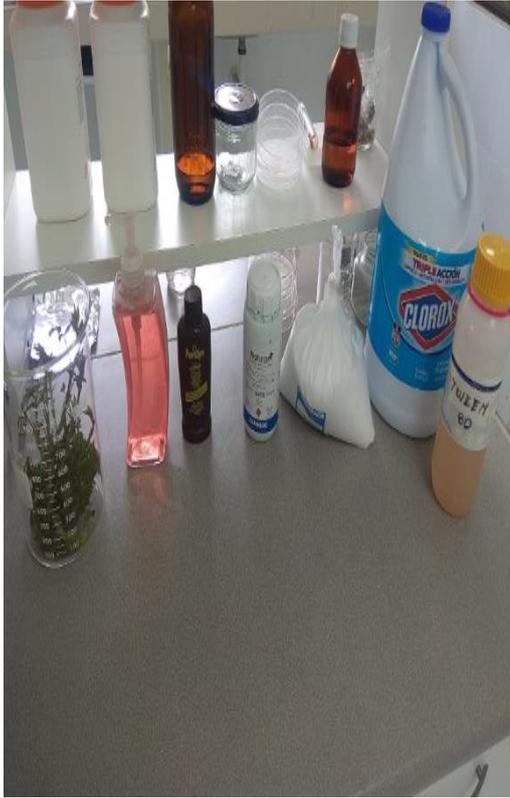
Fotografía 6: Preparación del medio de cultivo



Fotografía 7: Distribución de medios de cultivos



Fotografía 8: Medios de cultivos preparados



Fotografía 9: Materiales para desinfección de explantes



Fotografía 10: Proceso de desinfección



Fotografía 11: Toma de variable número de explantes contaminados



Fotografía 12: Toma de variable longitud de brotes



Fotografía 13: Toma de variable número de explantes por brote



Fotografía 14: Explantes en tratamientos



Fotografía 15: Tratamiento de área de incubación con sus respectivas etiquetas



Fotografía 16: Visita de campo

Anexo N° 4 Glosario de términos técnicos

- **Agar:** Agente gelificante que se utiliza para la preparación de un medio de cultivo.
- **Autoclave:** Es un contenedor de presión metálico que soporta alta presión para realizar una esterilización con vapor de agua, el agua en la autoclave puede alcanzar temperaturas superiores a los 100 °C.
- **Biotecnología:** Área multidisciplinaria, que utiliza la biología, química y diferentes procesos, con enorme aplicación en agricultura, la farmacia y la medicina.
- **Citoquinina:** Hormona vegetal que impulsan la división y la diferenciación celular.
- **Cámara de flujo laminar:** Es un espacio que utiliza una ventilación para coaccionar el paso de aire a través de un filtro y proveer un aire limpio a la zona de trabajo para que se encuentre siempre libre de partículas.
- **Explantos:** Tejido vivo separado de su órgano propio y transferido a un medio artificial de crecimiento
- **Esterilización:** Destrucción de todas las formas de vida microscópicas, incluidos virus y esporas.
- **Fitorregulador:** Producto que ayuda a regular el crecimiento de las plantas, árboles o arbustos que generalmente se trata de hormonas vegetales también conocidas como fitohormonas, y una de sus principales funciones son estimular el desarrollo de las raíces y las partes aéreas.
- **Fructificación:** Son partes generativas de la planta. A veces se aplica más ampliamente a las partes generativas de gimnospermas, helechos, colas de caballo y lycophytes, aunque no producen frutos ni flore
- **florifagia:** Consumo de flores como alimento, no todas las flores pueden consumirse como alimento hay otro grupo de flores que pueden resultar tóxicas e incluso su ingesta puede ser mortal

- **fenoles:** El fenol tiene un olor repugnantemente dulce y alquitranado característico. El fenol es una sustancia tanto manufacturada como natural
- **Genotipos:** Colección de genes de un individuo. Se manifiesta en el momento que la información encriptado en el ADN de los genes se puede utilizar para elaborar proteínas y moléculas de ARN.
- **Porta injertos:** Planta, arbusto o un árbol que recibe el injerto y estimula posteriormente la formación de raíces con las que provee la nutrición mineral debido a la asociación patrón - variedad.
- **Propagación in vitro:** Trabajar con segmentos de hojas, tallos y raíces, en la parte interior de un frasco de cristal en un medio artificial.
- **Reactivos:** Sustancias que interaccionan con otras en una reacción química con características y conformaciones distintas, llamadas productos de reacción o simplemente productos.
- **Subcultivos:** Trasplante de células de un envase de cultivo a otro u otros
- **Totipotencia:** Capacidad de una célula de dirigir el desarrollo total de un organismo. Esto sucede si el núcleo de una célula es idéntico al de un cigoto