



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS
NATURALES Y DEL AMBIENTE**

CARRERA DE AGRONOMÍA

TEMA:

EVALUACIÓN DE EXPLANTES DE DOS VARIEDADES COMERCIALES DE CLAVEL (*Dianthus caryophyllus L.*) MEDIANTE PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO DOS CITOQUININAS EN CUATRO 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

AUTOR:

FRANCISCO JAVIER CAMACHO SUÁREZ

DIRECTORA:

ING. SONIA SALAZAR RAMOS MSc.

GUARANDA – ECUADOR

2024

EVALUACIÓN DE EXPLANTES DE DOS VARIEDADES
COMERCIALES DE CLAVEL (*Dianthus caryophyllus L.*) MEDIANTE
PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO DOS CITOQUININAS EN
CUATRO DOSIS.

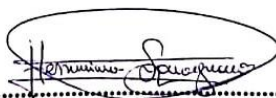
REVISADO Y APROBADO POR:



.....
ING. SONIA SALAZAR RAMOS
DIRECTORA



.....
ING. ALEJANDRO BOSQUEZ
BIOMETRISTA



.....
ING. HERMINIA SANAGUANO Ph.D
REDACCIÓN TÉCNICA

CERTIFICADO DE AUTORÍA

Yo, Francisco Javier Camacho Suárez con cédula de identidad número 0202346367, declaro que el trabajo y los resultados reportados 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.



.....
FRANCISCO JAVIER CAMACHO SUÁREZ
AUTOR
CI: 0202346367



.....
ING. SONIA SALAZAR RAMOS
DIRECTORA
CI:0200933067



.....
ING. HERMINIA SANAGUANO Ph.D
REDACCIÓN TÉCNICA
CI: 0601587280



.....
ING. ALEJANDRO BOSQUEZ
BIOMETRISTA
CI:0201819570



Doctora MSc. GINA CLAVIJO CARRION
Notaria Cuarta del Cantón Guaranda.

ESCRITURA N°20240201004P00571

DECLARACIÓN JURAMENTADA

OTORGA:

FRANCISCO JAVIER CAMACHO SUAREZ.

CUANTÍA: INDETERMINADA

Di 2 COPIAS

En el Cantón Guaranda, Provincia de Bolívar, República del Ecuador, hoy jueves a los dieciocho días del mes de julio del año dos mil veinticuatro, ante mí **DOCTORA MSC. GINA LUCIA CLAVIJO CARRIÓN, NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA** comparece con plena capacidad, libertad y conocimiento, a la celebración de la presente escritura, el señor **FRANCISCO JAVIER CAMACHO SUAREZ**, de estado civil soltero, por sus propios y personales derechos. El compareciente declara ser de nacionalidad ecuatoriana, mayor de edad, de estado civil como se deja expresado, de ocupación estudiante, domiciliado en la parroquia Gabriel Ignacio Veintimilla, cantón Guaranda, Provincia Bolívar, con celular número cero nueve ocho cinco cero seis cinco ocho cinco dos; y, con correo electrónico camachofrancisco114@gmail.com, hábil en derecho para contratar y contraer obligaciones, a quien de conocer doy fe, en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación, en base a los cuales obtengo la certificación de datos biométricos del Registro Civil, mismo que agrego a esta escritura, a petición del compareciente se incorpora los documentos personales como son la cedula de ciudadanía y certificado de votación. Advertido el compareciente por mí la Notaria de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinado que fue en forma aislada y separada de que comparece al otorgamiento de esta escritura sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción, instruido por mí de la obligación que tiene que decir la verdad con claridad y exactitud, y advertido sobre la gravedad del juramento y de las penas de perjurio me solicita se recepte su declaración juramentada: Yo, **FRANCISCO JAVIER CAMACHO SUAREZ**, de estado civil soltero, declaro bajo juramento que: Los criterios e ideas emitidos en el presente trabajo de investigación titulado: **EVALUACIÓN DE EXPLANTES DE DOS VARIEDADES COMERCIALES DE CLAVEL (*Dianthus Caryophyllus* L.) MEDIANTE PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO DOS CITOQUINAS EN CUATRO DOSIS**. Autorizo a la Universidad Estatal de Bolívar hacer uso de todos los contenidos que me pertenece o parte de lo que contiene la obra, con fines estrictamente académicos o de investigación expuestos en el mismo. En el 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, Recurso Naturales y del Ambiente, Carrera de Agronomía, previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo. Para su celebración y otorgamiento se observaron los preceptos de ley que el caso requiere; y, leída que le fue al compareciente íntegramente por mí la Notaria, aquel se afirma y ratifica en la aceptación de todo su contenido y firma junto conmigo en unidad de acto, incorporándose al protocolo de esta Notaría, la presente declaración juramentada, de todo lo cual doy Fe. -----

SR. FRANCISCO JAVIER CAMACHO SUAREZ.
C.C. 020134636-7

DOCTORA MSc. GINA CLAVIJO CARRIÓN
NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA



Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO
TESIS CLAVEL_Perfil_fj_FINAL.pdf

AUTOR
FRANCISCO JAVIER CAMACHO SUÁREZ

RECuento DE PALABRAS
28862 Words

RECuento DE CARACTERES
139782 Characters

RECuento DE PÁGINAS
140 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO
4.0MB

FECHA DE ENTREGA
Jul 17, 2024 11:29 AM GMT-5

FECHA DEL INFORME
Jul 17, 2024 11:31 AM GMT-5

● **9% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 3% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 2% Base de datos de trabajos entregados
- 4% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref



Resumen

DEDICATORIA

La presente Tesis dedico a cada una de las personas que han estado presentes en mi vida a mi MADRE Dra. Marcela Suárez Pazmiño, quien ha sido la proveedora como padre y madre, pilar fundamental de nuestro hogar, a MI HERMANO Lic. MARCELO SEBASTIÁN, quien ha sido mi soporte en mis momentos de flaqueza en mi vida y a mis GRANDES AMIGOS; Arq. Adrián N, Ing. Civil Michael Q, Lic. Galo J, y Mvz. Luis S; que han sido mis hermanos de crianza, su apoyo en mis distintas etapas, en donde he requerido de un soporte emocional y supieron oportunamente brindarla, MIL GRACIAS. Les agradezco, en base a la frase “*La fortuna juega a favor de una mente preparada*” de Louis Pasteur.

Quién les estima su HIJO, HERMANO Y AMIGO INCONDICIONAL

FRANCISCO JAVIER CAMACHO SUÁREZ

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a la UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR, a la FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE - CARRERA DE AGRONOMÍA, a mis profesores en cada etapa de mi preparación, a mis tutores de Tesis Ing. Sonia Salazar Ramos, Directora; Ing. Alejandro Bosquez, Biometrista; y Dra. Herminia Sanaguano, Redacción Técnica; por guiarme en este proceso de investigación.

Expreso un AGRADECIMIENTO MUY SENTIDO al Ing. Víctor Hugo Cortez S; Docente del Laboratorio de mi Facultad, quién desde el primer día y sin ningún egoísmo con toda su predisposición me impartió sus conocimientos para terminar con éxito mi investigación.

Y con mi corazón doy un agradecimiento muy profundo a mi Prima Lic. Karina Álvarez Bonilla, quién con su compañía, palabras, mensajes me apoyó incondicionalmente, con su fortaleza para cumplir con mi propósito de ser un profesional al servicio de la colectividad.

Reitero a todos mil y mil gracias.

FRANCISCO JAVIER CAMACHO SUÁREZ

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
1.1.INTRODUCCIÓN	1
1.2.PROBLEMA	3
1.3.OBJETIVOS	5
1.3.1.Objetivo general:	5
1.3.2.Objetivos específicos:	5
1.4.HIPÓTESIS	6
CAPÍTULO II	7
2.1.MARCO TEÓRICO.....	7
2.1.1.Historia.....	7
2.1.2.Etimología	8
2.1.3.Clasificación Taxonómica.....	8
2.1.4.Características Botánicas	9
• Raíz	9
• Tallo	9
• Hojas	9
• Flores.....	9
• Fruto	10
2.1.5.Climatología del cultivo.....	10
2.1.6.Suelos del cultivo	10
2.1.7.Requerimientos de macro y micro nutrientes del clavel	10
2.1.8.Plagas y enfermedades	11
• Plagas	11
• Enfermedades	12
2.1.9.Variedades de clavel	15
2.1.10.Propagación in vitro	16
2.1.11.Citoquininas	17

CAPÍTULO III	19
3.1.MARCO METODOLÓGICO	19
3.1.1.Localización de la investigación	19
3.1.2.Situación geográfica y climática	19
3.1.3.Zona de vida.....	19
3.1.4.Material experimental	19
3.1.5.Equipo de laboratorio.....	20
3.1.6.Material de campo.....	20
3.1.7.Material de laboratorio	20
3.1.8.Materiales de oficina	21
3.1.9.Métodos.....	21
• Factores en estudio.....	21
• Factor A: Variedades	21
• Factor B: Citoquininas	21
• Factor C: Dosis de reguladores de crecimiento	22
3.1.10.Tratamientos.....	22
3.1.11.Tipo de diseño experimental	22
3.1.12.Procedimiento	23
3.1.13.Tipo de análisis	23
3.1.14.Métodos de evaluación y datos a tomarse.....	23
• Número de brotes por explante (NBE).....	23
• Longitud de los brotes (LB)	24
• Número de hojas por brote (NHB).....	24
• Días a la emisión de raíces (DER)	24
• Número de raíces (NR)	24
• Longitud de raíz (LR).....	24
• Número de explantes contaminados (NEC).....	24
3.1.15.Manejo del experimento.....	25

• Transporte de las plantas madres a invernadero	25
• Adaptación en el invernadero.....	25
• Selección del medio a utilizar	25
• Preparación de la solución madre	25
• Preparación de la solución madre en 100 mL con BA (Bencil Adenina)..	26
• Preparación de la solución madre 100 mL con K (Kinetina).....	27
• Preparación de la solución madre 100 mL Testigo.....	28
• Selección de la planta.....	29
• Desinfección del material experimental.....	29
• Introducción del material in vitro.....	29
CAPÍTULO IV.....	30
4.1.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1.1.Resultados ADEVA	30
• Supuestos de normalidad NBE.....	30
• Supuestos de varianzas homogéneas NBE 45 días	32
• Supuestos de varianzas homogéneas NBE 60 días	32
• Supuestos de varianzas homogéneas NBE 75 días	33
• Número de brotes por explante (NBE) a los 45, 60 y 75 días.....	34
• Supuestos de normalidad LB	42
• Supuestos de varianzas homogéneas LB 45 días	43
• Supuestos de varianzas homogéneas LB 60 días	44
• Supuestos de varianzas homogéneas LB 75 días	45
• Longitud de los brotes (LB) a los 45, 60 y 75 días	46
• Supuestos de normalidad NHB	54
• Supuestos de varianzas homogéneas NHB 45 días.....	55
• Supuestos de varianzas homogéneas NHB 60 días.....	55
• Supuestos de varianzas homogéneas NHB 75 días.....	56

• Número de hojas por brote (NHB) a los 45, 60 y 75 días.....	57
• Supuestos de normalidad DER.....	65
• Supuestos de varianzas homogéneas DER 75 días	65
• Días a la emisión de raíces (DER) a los 75 días	66
• Supuestos de normalidad NR.....	72
• Supuestos de varianzas homogéneas NR 60 días.....	73
• Supuestos de varianzas homogéneas NR 75 días.....	73
• Supuestos de varianzas homogéneas NR 90 días.....	74
• Número de raíces (NR) a los 60, 75 y 90 días	75
• Supuestos de normalidad LR	83
• Supuestos de varianzas homogéneas LR	84
• Supuestos de varianzas homogéneas LR 75 días	85
• Supuestos de varianzas homogéneas LR 90 días	86
• Longitud de raíz (LR) a los 60, 75 y 90 días.....	87
• Supuestos de normalidad NEC.....	95
• Supuestos de varianzas homogéneas NEC 90 días	96
• Número de explantes contaminados (NEC) a los 90 días	97
• Análisis económico, relación beneficio/costo (AE).....	100
• Análisis de correlación y regresión lineal	101
• Coeficiente de Correlación (r).....	103
• Coeficiente de Regresión (b).....	103
• Coeficiente de Determinación (R^2)	103
4.1.2.COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS	104
4.1.3.CONCLUSIONES	104
4.1.4.RECOMENDACIONES	105
Bibliografía	107
ANEXOS	111

ÍNDICE DE CUADROS

Nº 1 Prueba de normalidad de Shapiro Wilks NBE	30
Nº 2 Prueba de Levene NBE 45 días	32
Nº 3 Prueba de Levene NBE 60 días	32
Nº 4 Prueba de Levene NBE 75 días	33
Nº 5 ADEVA número de brotes por explante (NBE) a los 45 días	34
Nº 6 ADEVA número de brotes por explante (NBE) a los 60 días	35
Nº 7 ADEVA número de brotes por explante (NBE) a los 75 días	36
Nº 8 Tukey al 5%, promedios, número de brotes por explante (NBE)	37
Nº 9 Factor B (Citoquininas), número de brotes por explante (NBE).....	39
Nº 10 Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), número de brotes por explante (NBE)	41
Nº 11 Prueba de normalidad de Shapiro Wilks LB	42
Nº 12 Prueba de Levene LB 45 días	43
Nº 13 Prueba de Levene LB 60 días	44
Nº 14 Prueba de Levene LB 75 días	45
Nº 15 ADEVA longitud de los brotes (LB) a los 45 días	46
Nº 16 ADEVA longitud de los brotes (LB) a los 60 días	47
Nº 17 ADEVA longitud de los brotes (LB) a los 75 días	48
Nº 18 Tukey al 5%, promedios, Longitud de los brotes (LB)	49
Nº 19 Factor B (Citoquininas), longitud de brote por explante (LB).....	51
Nº 20 Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), longitud de brote (LB).....	52
Nº 21 Prueba de normalidad de Shapiro Wilks NHB	54
Nº 22 Prueba de Levene NHB 45 días	55
Nº 23 Prueba de Levene NHB 60 días	55
Nº 24 Prueba de Levene NHB 75 días	56
Nº 25 ADEVA número de hojas por brotes (NHB) a los 45 días.....	57

Nº 26 ADEVA número de hojas por brotes (NHB) a los 60 días.....	58
Nº 27 ADEVA número de hojas por brotes (NHB) a los 75 días.....	59
Nº 28 Tukey al 5%, promedios, número de hojas por brote (NHB)	60
Nº 29 Factor B (Citoquininas) número de hojas por brote (NHB).....	62
Nº 30 Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), número de hojas por brote (NHB)	63
Nº 31 Prueba de normalidad de Shapiro Wilks DER	65
Nº 32 Prueba de Levene DER 75 días	65
Nº 33 ADEVA días a la emisión de raíces (DER) a los 75 días	66
Nº 34 Tukey al 5%, días a la emisión de raíces (DER)	67
Nº 35 Tukey al 5%, factor B (Citoquininas), días a la emisión de raíces (DER)	69
Nº 36 Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), días a la emisión de raíces (DER)	70
Nº 37 Prueba de normalidad de Shapiro Wilks NR.....	72
Nº 38 Prueba de Levene NR 60 días	73
Nº 39 Prueba de Levene NR 75 días	73
Nº 40 Prueba de Levene NR 90 días	74
Nº 41 ADEVA número de raíces (NR) a los 60 días	75
Nº 42 ADEVA número de raíces (NR) a los 75 días	76
Nº 43 ADEVA número de raíces (NR) a los 90 días	77
Nº 44 Tukey al 5%, número de raíces (NR).....	78
Nº 45 Tukey al 5%, factor B (Citoquininas), número de raíces (NR).....	80
Nº 46 Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), número de raíces (NR).....	82
Nº 47 Prueba de normalidad de Shapiro Wilks LR	83
Nº 48 Prueba de Levene NR 60 días	84
Nº 49 Prueba de Levene NR 75 días	85
Nº 50 Prueba de Levene LR 90 días	86
Nº 51 ADEVA longitud de raíz (LR) a los 60 días	87

Nº 52 ADEVA longitud de raíz (LR) a los 75 días	88
Nº 53 ADEVA longitud de raíz (LR) a los 90 días	89
Nº 54 Tukey al 5%, longitud de raíz (LR)	90
Nº 55 Factor B (Citoquininas), longitud de raíz (LR)	92
Nº 56 Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), longitud de raíz (LR)	94
Nº 57 Prueba de normalidad de Shapiro Wilks NEC	95
Nº 58 Prueba de Levene NEC 90 días	96
Nº 59 ADEVA número de explantes contaminados (NEC) a los 90 días.....	97
Nº 60 Tukey al 5%, número de explantes contaminados (NEC).....	98
Nº61 B/C	100
Nº62 Análisis de correlación y regresión lineal	101

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Nº1 <i>QQ-Plot NBE</i>	31
Nº2 <i>Dispersión NBE 45 días</i>	32
Nº3 <i>Dispersión NBE 60 días</i>	33
Nº4 <i>Dispersión NBE 75 días</i>	34
Nº5 <i>Promedios, número de brotes por explante</i>	38
Nº6 <i>Promedios, número de brotes por explante</i>	40
Nº7 <i>Promedios, número de brotes por explante</i>	41
Nº8 <i>QQ-Plot LB</i>	43
Nº9 <i>Dispersión LB 45 días</i>	44
Nº10 <i>Dispersión LB 60 días</i>	45
Nº11 <i>Dispersión LB 75 días</i>	46
Nº12 <i>Promedios, longitud de brotes por explante</i>	50
Nº13 <i>Promedios, longitud de brotes</i>	51
Nº14 <i>Promedios, longitud de brote</i>	53
Nº15 <i>QQ-Plot NHB</i>	54
Nº16 <i>Dispersión NHB 45 días</i>	55
Nº17 <i>Dispersión NHB 60 días</i>	56
Nº18 <i>Dispersión NHB 75 días</i>	57
Nº19 <i>Promedios, número de hojas por brote</i>	61
Nº20 <i>Promedios, número de hojas por brote</i>	62
Nº21 <i>Promedios, número de hojas por brote</i>	64
Nº22 <i>QQ-Plot DER</i>	65
Nº23 <i>Dispersión DER 75 días</i>	66
Nº24 <i>Promedios, días a la emisión de raíces</i>	68
Nº25 <i>Promedios, días a la emisión de raíces</i>	69
Nº26 <i>Promedios, días a la emisión de raíces</i>	71

Nº27 <i>QQ-Plot NR</i>	72
Nº28 <i>Dispersión NR 60 días</i>	73
Nº29 <i>Dispersión NR 75 días</i>	74
Nº30 <i>Dispersión NR 90 días</i>	75
Nº31 <i>Promedios, número de raíces (NR)</i>	79
Nº32 <i>Promedios, número de raíces (NR)</i>	81
Nº33 <i>Promedios, variable número de raíces</i>	82
Nº34 <i>QQ-Plot LR</i>	84
Nº35 <i>Dispersión LR 60 días</i>	85
Nº36 <i>Dispersión NR 75 días</i>	86
Nº37 <i>Dispersión LR 90 días</i>	87
Nº38 <i>Promedios, variable longitud de raíz (LR)</i>	91
Nº39 <i>Promedios, variable longitud de raíz</i>	93
Nº40 <i>Promedios, variable en la variable longitud de raíz</i>	94
Nº41 <i>QQ-Plot DER</i>	96
Nº42 <i>Dispersión NEC 90 días</i>	97
Nº43 <i>Promedios de la variable número de explantes contaminados</i>	99
Nº44 <i>VAN y TIR</i>	101

ÍNDICE DE ANEXOS

Nº1. Ubicación de la investigación	112
Nº2. Base de datos.....	113
Nº3. Presupuesto estimado.....	116
Nº4. Cuadro comparativo 1	117
Nº5. Cuadro comparativo 2.....	118
Nº6. Cultivo según Murashige y Skoog.....	119
Nº7. Clavel	120
Nº8. Empresas de flores por provincia.....	121
Nº9. Fotografías de la instalación, seguimiento y evaluación del ensayo	122
Nº10. Glosario de términos	124

RESUMEN

El presente proyecto denominado: “EVALUACIÓN DE EXPLANTES DE DOS VARIEDADES COMERCIALES DE CLAVEL (*Dianthus caryophyllus* L.) MEDIANTE PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO DOS CITOQUININAS EN CUATRO DOSIS” se ha desarrollado de acuerdo al reglamento de la unidad de titulación de la carrera de Agronomía; vigente en la Universidad Estatal de Bolívar. El objetivo general que se ha planteado en la investigación es el de evaluar explantes de dos variedades de clavel; “Lege verde” (verde) & “Amapola” (roja), mediante propagación in vitro utilizando dos citoquininas; Kinetina & Bencil adenina, en cuatro dosis; 0mg/L, 2mg/L, 4mg/L y 6mg/L. Y como objetivos específicos identificar que variedad tiene una mayor propagación; determinar la dosis óptima de citoquinina que ayuda a una mayor propagación; valorar el costo-beneficio del proceso de obtener explantes de clavel con la óptima dosis de citoquininas.

Los resultados fueron evaluados mediante la prueba de Tukey al 5%; usando un diseño DCA en arreglo factorial AxBxC (2x2x4xRepeticiones 3), con un total de 16 tratamientos; obteniendo por resultados que la mejor variedad el “Lege verde” tratamiento 8 (T8), en arreglo factorial A1B2C4 (Clavel verde + 6mg/L de Bencil adenina) con los mejores resultados en las variables evaluadas como fueron; número de brotes por explante (NBE), longitud de los brotes (LB), número de hojas por brote (NHB), días a la emisión de raíces (DER), número de raíces (NR), longitud de raíz (LR),y número de explantes contaminados (NEC); con un costo/beneficio de 1,10.

Palabras clave: Bencil adenina, costo/beneficio, propagación in vitro, prueba de Tukey, kinetina, y variedad.

SUMMARY

This project called: "EVALUATION OF EXPLANTS OF TWO COMMERCIAL VARIETIES OF CARNATION (*Dianthus caryophyllus* L.) BY IN VITRO PROPAGATION USING TWO CYTOKININS IN FOUR DOSES" has been developed in accordance with the regulations of the degree unit of the Agronomy career; current at the State University of Bolívar. The general objective that has been set in the research is to evaluate explants of two varieties of carnation; "Lege verde" (green) & "Amapola" (red), by in vitro propagation using two cytokinins; Kinetin & Benzyl adenine, in four doses; 0mg/L, 2mg/L, 4mg/L and 6mg/L. And as specific objectives, to identify which variety has a greater spread; determine the optimal dose of cytokinin that aids further spread; To assess the cost-benefit of the process of obtaining carnation explants with the optimal dose of cytokinins.

The results were evaluated using Tukey's test at 5%; using a DCA design in factorial arrangement AxBxC (2x2x4xRepetitions 3), with a total of 16 treatments; obtaining by results that the best variety the "Lege verde" treatment 8 (T8), in factorial arrangement A1B2C4 (Green carnation + 6mg/L of Benzil adenine) with the best results in the variables evaluated as they were; number of shoots per explant (NBE), shoot length (LB), number of leaves per shoot (NHB), days to root emission (DER), number of roots (NR), root length (LR), and number of contaminated explants (NEC); with a benefit/cost of 1.10.

Keywords: Benzyl adenine, benefit/cost, in vitro propagation, Tukey's test, kinetin, and variety.

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de flores en sus comienzos era impulsada por el desarrollo de las economías de los países, en especial se destaca el auge propagado por Europa Occidental, América del Norte, Canadá y Japón los cuales, aportan con el 50% de la comercialización de flores de corte. Además, los países que tienen la demanda de importación de flores, podemos indicar que sus requerimientos de este producto oscilan desde el 10% al 15%. (Solano & García, 2020)

A nivel nacional los cultivos permanentes ocupan 1.4 millones de hectáreas; el cultivo permanente del clavel registra 88 hectáreas sembradas y 82 hectáreas cosechadas, por lo que se encuentra en tercer puesto con 143 millones de tallos cortados; en segundo lugar gypsophila con 284 millones y primer lugar la rosa con 3.648 millones. (Instituto Nacional de Estadística y Censos, 2021)

El 97% de las empresas productoras de flores en Ecuador se encuentran ubicadas en las provincias de Cotopaxi, Pichincha, Carchi, Tungurahua, Imbabura y Azuay. (Bastidas Ramírez & Bucheli Rosales, 2020). El sector florícola genera el 7,3% de ingreso de divisas al país. En la información estadística mensual de exportaciones FOB (*Free on Board*) en producto principal en el año 2020 las exportaciones de Primarios el rubro “Flores naturales” registro 827.142,105 USD FOB lo que representa el 5,14%, de un Total de Exportaciones Primarios de 16.092.164,552 USD FOB y el 4,09%, de un Total de Exportaciones (Exportaciones Primarios + Exportaciones Industrializados) de 20.226.568,002 USD FOB. (Banco Central del Ecuador, 2020)

En este proceso de investigación, la hormona vegetal es un compuesto orgánico sintetizado en un lugar de la planta y traslocado a otra parte donde, en concentraciones muy bajas, produce una respuesta fisiológica. Citoquininas; se encuentran en tejidos que se dividen de forma activa como meristemas, semillas en germinación, frutos en maduración y raíces en desarrollo, interactúan con las

auxinas, ya que estimulan el desarrollo de las yemas laterales, contrarrestando la dominancia apical, retrasan la senescencia foliar al estimular la movilización de nutrientes y la síntesis de clorofila; antecedentes sugieren, que se sintetizan en la raíz y son transportadas a las hojas por la corriente de transpiración. (Blanco, 2019)

Cabe indicar que en la provincia de Bolívar no existe información acerca del presente cultivo estudiado, por tanto con mi análisis previo, estoy convencido que la presente tesis contribuye con información muy importante, sobre la multiplicación in vitro de explantes de clavel de las variedades verde (Lege verde) y roja (Amapola). Para lo cual esta investigación se planteó determinar la dosis adecuada para desarrollar los explantes de clavel (*Dianthus caryophyllus L.*) mediante una micropropagación in vitro, con la obtención de esta información se tiene un expediente práctico para obtener plántulas de clavel saludables y de gran valor comercial. Además con la micropropagación, en periodos cortos de tiempo el nivel poblacional es significativamente mayor, así he conseguido con la presente investigación práctica, proveer a los productores florícolas una herramienta teórica útil para mejorar sus cultivos a mayor escala, con mejores ingresos económicos.

1.2. PROBLEMA

La propagación del clavel a campo abierto o bajo invernadero tiene una serie de problemas de plagas y enfermedades lo que no permite al floricultor obtener la rentabilidad deseada, cuando realiza su producción de manera tradicional; en cambio, mediante la producción por explantes con la técnica que he estudiado se pretende disminuir los problemas mencionados anteriormente, por lo tanto al realizar estos trabajos de investigación se proyectó dar un mejor manejo integral del cultivo del clavel al proporcionar explantes sanos y en grandes cantidades para un inicio de un buen cultivo minimizando pérdidas y costos en las primeras etapas del cultivo.

La producción de flores, como el clavel, la rosa y el crisantemo, son de mayor comercialización en el ámbito Internacional, es una muestra clara del desarrollo que ha tenido el sector florícola, en especial en la última década, cuando su calidad y reconocimiento han dado la vuelta al mundo.

Dada la importancia del cultivo de clavel a nivel Nacional y particularmente en la región Sierra de nuestro País, considerando que la planta de clavel presenta una vida útil de 2 años aproximadamente, es necesario que se deba proveer de plántulas adecuadas periódicamente, para lo cual se debe enraizar esquejes obtenidos a partir de plantas madre. Dicha actividad se viene realizando de diferentes maneras en las empresas productoras de clavel, hasta el momento no existe una investigación que valide los procesos ejecutados por los mismos o que se haya determinado las mejores condiciones para obtener plántulas de clavel de buena calidad, lo cual es imprescindible y determinante realizarlo para una producción exitosa.

La presente investigación pretende adaptar una metodología existente, como es la multiplicación in vitro utilizando dos variedades de clavel con dos tipos de citoquininas en cuatro dosis y mejorar la calidad de plantas para poder ofertar a los diferentes productores de la región lo que permitirá formar viveros ornamentales con plantas de calidad lo que facilitará un mayor desarrollo en

menor tiempo e igual que el inicio de su producción en nuestro territorio provincial.

Con la información que se recabó de esta investigación, se pretende beneficiar a pequeños y medianos floricultores, al proporcionar un referente sobre sí optar por el uso de explantes in vitro y así estos reduzcan sus gastos en cuestión de mermas por la no germinación o contaminación en el semillero, esta alternativa en el que el material es de gran calidad también se reducirían los insumos a usar de forma preventiva durante la etapa germinativa del clavel.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general:

Evaluar explantes de dos variedades de clavel (*Dianthus caryophyllus L.*) mediante propagación in vitro utilizando dos citoquininas en cuatro dosis.

1.3.2. Objetivos específicos:

- Identificar que variedad tiene una mayor propagación.
- Determinar la dosis óptima de citoquinina que ayuda a una mayor propagación.
- Valorar el costo-beneficio del proceso de obtener explantes de clavel con la óptima dosis de citoquininas.

1.4. HIPÓTESIS

H₀: La evaluación de los explantes de clavel mediante propagación in vitro, utilizando dos tipos de citoquininas, en cuatro dosis; son similares.

H_a: La evaluación de los explantes de clavel mediante propagación in vitro, utilizando dos tipos de citoquininas, en cuatro dosis; son diferentes.

CAPÍTULO II

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. Historia

En el año 300 a.c; Teofrasto escribió que *Dianthus* traducido al griego significa Flor divina, por su deliciosa fragancia, y el nombre de la especie *caryophyllus*, se utilizó un nombre genérico (clavo), nombre común que probablemente se derive de coronación ya que los griegos tejían haciendo coronas para sus atletas, sin embargo, el nombre común del clavel deriva del latín *caryophyllus*, por su semejanza del perfume de la flor de clavo usado como condimento de cocina. (Larson, 2020)

El clavel (*Dianthus caryophyllus L.*) comercial pertenece al género *Dianthus*, familia *Caryophyllaceae*, especie *Dianthus caryophyllus*, esta especie en la actualidad es derivada de especies ancestrales de *D. caryophyllus*, originario del mediterráneo y es nativo de Europa Meridional y Asia Occidental (Asia menor, África, Japón e Himalaya). Son plantas con tallos largos y derechos, con flores de todos los colores, los más utilizados son “Clavel estándar o uniflora” tiene una sola flor por tallo y el “clavel spray” múltiflora o mini. Florecen todo el año y en sus variedades comerciales pueden llegar a producir hasta 20 tallos al año. (Filgueira, 2021)

Las flores de verano en algunos países se siembran y se cosecha solamente en verano. Sin embargo, en Ecuador por sus condiciones climáticas florecen en todo el año a una altura de entre 2200 y 2700 metros, lo cual da como resultado una flor de calidad atractiva para los compradores en el exterior. (PRO ECUADOR, 2020)

El clavel silvestre es una planta perenne corta / mediana (30-100 cm), sin pelo, con hojas cerosas, lisas, lineales, planas, glaucas en varios tallos verticales con brotes laterales cortos y estériles. Las flores miden 35-40 mm de ancho, nacen en grupos sueltos de hasta cinco, muy fragantes, con cuatro pétalos de color rosa

púrpura (a veces blancos) que están finamente dentados. Epicalyx con dos a cuatro segmentos cortos, puntiagudos, un cuarto del largo del cáliz. Hoy en día, se cultivan cientos de variedades, tanto como 'estándares' como 'aerosoles'; estos últimos a menudo se denominan "miniaturas". En los estándares, los botones florales laterales se eliminan para dejar una sola flor terminal, de 5-7,5 cm de ancho, que es doble, generalmente roja, rosada o blanca (o incluso de dos tonos) y, a veces, muy fragante. (CABI digital library, 2019)

2.1.2. Etimología

Del griego *karya*= nogal y *phyllon*= hoja, en referencia al aroma de las hojas del nogal, de donde se tomó el nombre para el clavo de olor y luego para el clavel. Es una planta perenne de base leñosa con tallos de hasta 80 cm de altura, glabros y de día largo. (Infoagro, 2019)

2.1.3. Clasificación Taxonómica

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Caryophyllidae</i>
Orden	<i>Caryophyllales</i>
Familia	<i>Caryophyllaceae</i>
Tribu	<i>Caryophylleae</i>
Género	<i>Dianthus</i>
Especie	<i>Dianthus caryophyllus L.</i>

Fuente: (CABI digital library, 2019)

2.1.4. Características Botánicas

- **Raíz**

Es un órgano cuyas principales funciones son; Anclaje y Absorción del agua y minerales del suelo. Ella realiza la absorción del agua como función principal en mayor cantidad en esta región a través de los pelos absorbentes, penetrando en un grado menor en otras células de la epidermis de la misma. La raíz del clavel es de tipo fibroso y cuenta con numerosas raicillas primarias, secundarias y terciarias a partir de su tallo. (Pizano de Marquez, 2020)

- **Tallo**

Es un órgano que tiene como funciones principales: el soporte, la exposición de las hojas, el transporte de agua y nutrientes. Cada tallo de floración se origina de una rama o brote que emerge de un lado de un nudo inferior desarrollando de 15-18 nudos con 2 hojas opuestas en cada uno; el primer nudo que se origina en la base es el más vegetativo que los otros nudos sucesivos hacia arriba. (Larson, 2020)

- **Hojas**

Las hojas son opuestas, simples, lineales, gris verdes y a menudo fuertemente glaucas a azul verde. Las flores tienen cinco pétalos, con un margen festoneado típico, y (en casi todas las especies) de color rosa fuerte a rosa pálido. Las hojas son lineales de 0.8-1.5 cm de longitud, planas y blandas, acuminadas y glaucas, con la base envainada. Son hojas simples de disposición opuestas; estípulas presentes, reducidas o ausentes, son hojas angostas parecidas a hierba a menudo gris-verdosa áspera y dura en el margen. (Lamborn, 2019)

- **Flores**

Son terminales de ramas pedunculadas que salen de los nudos superiores del tallo y pueden ser de colores variados. Presentan de 4-5 pétalos, (del clavel) de 8-10 estambres y ovarios supero. (Lamborn, 2019)

- **Fruto**

Es una cápsula dehiscente apicalmente para válvula, con placentación central. (Lamborn, 2019)

2.1.5. Climatología del cultivo

- Temperatura diurna sobre los 15-18°C, no superando los 21°C en verano.
- Temperatura nocturna entre los 10-12°C.
- Temperaturas más frescas reducen la producción, pero mejoran la calidad de las flores.
- El mínimo de temperatura para el crecimiento vegetativo está situado en torno a los 8°C, aunque el clavel soporta hasta los -3/-4°C sin helarse
- La temperatura máxima está alrededor de los 35°C.
- Necesita una iluminación de 40.000 lux. La luz también determina la rigidez del tallo y el tamaño y número de flores.
- Requiere de una humedad relativa media en torno al 60-70% (Novagric, 2020)

2.1.6. Suelos del cultivo

El cultivo del clavel prefiere suelos arenosos, porosos, con elevada capacidad de drenaje y en ninguna variedad es adecuado un alto contenido de arcillas. Soporta salinidades altas tanto del suelo como del agua de riego; siendo el óptimo de producción de 2 mmhos/cm. Además requiere pH entre 6,5 y 7,5. (Infoagro, 2019)

2.1.7. Requerimientos de macro y micro nutrientes del clavel

En plantas de clavel el Sodio y el Potasio son competitivos, independiente de otros iones presentes; probablemente hay un cierto nivel de sodio en el cual se mejora considerablemente la absorción de otros cationes; sin embargo, el sodio puede ser un problema cuando el potasio en la solución nutritiva es extremadamente bajo. El clavel también tiene la capacidad absorber calcio tan fácilmente como potasio, lo cual es diferente de muchas otras plantas reportadas en la literatura. Los autores también sugieren que probablemente hay tres sistemas

que operan en la absorción de cationes por la planta de clavel: cuando hay un buen suministro de potasio, la presencia de potasio suprime la absorción de sodio; cuando hay un suministro deficiente de potasio los cuatro iones K, Na, Ca y Mg compiten por absorción; magnesio y calcio pueden ser absorbidos por un sistema separado en el que compiten por igual para la absorción. (Holly & Baker, 1991)

2.1.8. Plagas y enfermedades

- **Plagas**

Nombre Común	Nombre científico	Descripción
• Tortrix surafricana	<i>Epichoristodes acerbella</i>	Lepidóptero cuyas larvas comen las hojas y perforan los botones florales, devorándolos. Tienen entre tres y cuatro generaciones anuales.
• Tortrix europeo	<i>Cacoecimorpha pronubana</i>	Lepidóptero cuyas larvas comen las hojas y perforan los botones florales, devorándolos. Tienen entre tres y cuatro generaciones anuales.
• Pulgones	<i>Myzus persicae</i>	<p>Es una plaga muy frecuente en el cultivo del clavel. Los pulgones pican las hojas y flores para succionar los azúcares que se transportan por el floema.</p> <p>En el invernadero, se reproducen por partenogénesis sin necesidad de machos. Todos los individuos son hembras y cada hembra origina varias más. Esta facultad de reproducirse una hembra sin necesidad del macho es la que origina la violencia de la plaga, ya que un individuo puede madurar y reproducirse a la semana de su nacimiento.</p> <p>Solo cuando llegan los días cortos del invierno los pulgones producen huevos.</p> <p>La plaga se reaviva en la primavera y baja con los fuertes calores del verano.</p>
• Trips	<i>Frankliniella occidentalis</i>	Son pequeños insectos chupadores que tienen varias generaciones anuales. Debido a su pequeño tamaño, un adulto

		<p>puede penetrar fácilmente cuando se haya formado el botón floral al interior de este y realizar allí su puesta. Los nuevos individuos se alimentan de los pétalos que se están desarrollando y cuando la flor madura aparecen decoloraciones sobre los bordes de los pétalos.</p> <p>En algunas ocasiones atacan a los nuevos brotes, retrasando el desarrollo.</p> <p>Suelen atacar desde la primavera y son activos también durante el verano, hasta otoño</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Minadores 	<i>Pseudonapomyza dianthicola</i>	<p>Se trata de un díptero frecuente en la zona mediterránea. Sus larvas forman galerías en las hojas. Produce un debilitamiento y una depreciación comercial de los claveles.</p>

Fuente: (Criollo Aguilar, 2019)

- **Enfermedades**

Nombre Común	Nombre científico	Descripción
<ul style="list-style-type: none"> • Fusariosis 	<i>Fusarium oxysporum f. sp. dianthi</i>	<p>Se trata de una enfermedad grave que es preciso combatir, ya que produce daños importantes. Esta enfermedad progresa de abajo hacia arriba, pues si examinamos las plantas menos afectadas se observa que las hojas inferiores están secas y las superiores no y que cuanto más afectada está la planta menos hojas superiores quedan sanas.</p> <p>Solo en los estados finales, el tallo muestra agrietamiento por la parte exterior y toma el aspecto de leña seca.</p> <p>Al principio las raíces permanecen intactas, pero más tarde se pudren y al arrancar una planta se rompe por el cuello quedando parte de las raíces en la tierra.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Roya 	<i>Uromyces</i>	<p>Produce manchas pulverulentas sobre los</p>

	<i>caryophyllinus</i>	tallos y hojas, que se deben a las esporas, amarillas y luego pardas. Aparecen sobre todo en primavera y otoño.
• Mancha foliar	<i>Pseudomonas andropogonis</i> (Smith) Stapp	Es una bacteria gram-negativa con forma de bastoncillo, crece bien en cultivo a 25-32°C, pero no se desarrolla a 37°C. Los síntomas se manifiestan en el follaje al formarse lesiones circulares a irregulares con centros marrones y bordes de color pardo rojizo, con o sin halos cloróticos. Es corriente una necrosis de color pardo rojizo en el borde de las hojas. Las lesiones pueden ser delineadas en los nervios. Pueden aparecer arrugas en las hojas y defoliación. En condiciones de elevada y prolongada humedad de las hojas, las lesiones foliares pueden ser de color negro.
• Mosaico foliar: Virus del jaspeado del clave	<i>Carnation Mottle Carmovirus</i> (CarMV)	Los virus del jaspeado (CarMV) y de las manchas anulares (CRSV) son pequeños virus isométricos de ARN. En condiciones naturales, el CarMV solo infecta prácticamente a la familia <i>Caryophyllaceae</i> , aunque ocasionalmente se le haya encontrado en la begonia. Aunque parece que las flores son poco afectadas, se ha comprobado una atenuación de la coloración en algunos cultivares de flor roja. En condiciones de cultivo intensivo de invernadero, el CarMV y el CRSV, que son transmisibles mecánicamente, se propagan fácilmente de planta a planta por las heridas.
• Mosaico foliar: Virus de las manchas anilladas del clavel	<i>Carnation Ringspot Dianthovirus</i> (CRSV)	Los virus del jaspeado (CarMV) y de las manchas anulares (CRSV) son pequeños virus isométricos de ARN. En condiciones naturales, el CarMV solo infecta prácticamente a la familia

		<p><i>Caryophyllaceae</i>, aunque ocasionalmente se le haya encontrado en la begonia.</p> <p>Aunque parece que las flores son poco afectadas, se ha comprobado una atenuación de la coloración en algunos cultivares de flor roja.</p> <p>En condiciones de cultivo intensivo de invernadero, el CarMV y el CRSV, que son transmisibles mecánicamente, se propagan fácilmente de planta a planta por las heridas.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Variegado floral: Virus del mosaico de las nerviaciones del clavel 	<p><i>Carnation Vein Mottle Potyvirus (CVMV)</i></p>	<p>Se trata de un Potyvirus que provoca sobre los cultivares americanos un jaspeado foliar difuso localizado cerca de las nerviaciones, estos síntomas bastante benignos, quedan enmascarados en invierno.</p> <p>El CVMV es transmisible mecánicamente y por pulgones bajo la forma no persistente. Esta enfermedad es más rara en invernadero.</p> <p>La gravedad de los síntomas foliares excluye cualquier tipo de comercialización.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • El grabado o etched ring 	<p><i>Carnation Etched Ring Virus (CERV)</i></p>	<p>Este virus pertenece al género de los Caulimovirus, infectando solamente a las plantas de la familia <i>Caryophyllaceae</i>.</p> <p>El grabado del clavel se manifiesta por pequeñas manchas necróticas en líneas o anillos sobre el limbo recordando a los daños ocasionados por los trips. En ocasiones, las necrosis se ensanchan en placas bordeadas de color pardo o púrpura, situadas en la punta de las hojas, provocando deformaciones en el limbo.</p> <p>Los síntomas son más o menos severos según las variedades y las condiciones de temperaturas, llegándose a agravar en el caso de infección doble con el CarMV.</p> <p>Esta enfermedad se propaga por los esquejes cosechados de plantas infectadas</p>

		y también por pulgones (<i>Myzus persicae</i>) en la forma semipersistente.
<ul style="list-style-type: none"> • El debilitamiento o stunt del clavel 	<p><i>Carnation stunt associated viroid</i> (CarSAVd)</p>	<p>El causante de esta enfermedad es un viroide llamado <i>Carnation stunt associated viroid</i> (CarSAVd) es considerado como el responsable potencial de los síntomas de debilitamiento.</p> <p>El debilitamiento del clavel es una afección que procede de alteraciones importantes del crecimiento de los claveles atacados; a continuación de una proliferación anárquica de las yemas axilares, las plantas enfermas toman un aspecto vegetativo achaparrado, siendo frecuente la ausencia total de floración.</p>

Fuente: (Criollo Aguilar, 2019)

2.1.9. Variedades de clavel

- **Clavel de Niza:** Son cada vez menos cultivados; “Legión d' Honneur” (rojo), “BB” (rosa), “Candide” (blanco).
- **Clavel americano o Sim:** Mono o uniflor, son cada vez menos cultivados; “Scania 3C” (rojo), “Le Rêve” (rosa), “Florence” (blanco), “Harvest Moon” (naranja).
- **Clavel miniatura, multiflores (a veces uniflores) o “Spray”:** “New Elsy” (rojo), “Tony” (naranja), “White Elegance” (blanco), “Tip-Top” (estriado), “Castillo” (naranja), “River Orange” (naranja), “Silver Pink” (rosa), “Teddy” (rosa). En este caso, se pretende que el clavel tenga mayor número de botones florales. Los pedúnculos de Spray no deben ser muy largos porque se pierde la flor.
- **Clavel mediterráneo o claveles híbridos uniflores o estándar:** Son cada vez más cultivados y tolerantes a fusariosis: “Amapola” (rojo), “Ronja” (rosa), “Candy” (amarillo), “Happy Candy” (bicolor), “Virginia” (blanco), “Lege verde” (verde). La flor debe ser proporcional a la longitud de la vara, la cual debe ser paralela respecto al tallo. En el caso de claveles estándar, son mejores las variedades con menos tendencia a emitir brotes laterales. Sin embargo, en

el caso del clavel spray, se seleccionan variedades capaces de emitir brotes laterales. (Infoagro, 2019)

2.1.10. Propagación in vitro

El cultivo in vitro o cultivo de tejidos vegetales, fue desarrollado a partir de la investigación de botánicos y fisiólogos vegetales desde 1950. Actualmente se ha convertido en una herramienta internacional importante en la selección, cruzamiento, control de enfermedades y producción en masa de cultivos de cosecha e involucra diferentes plantas en agricultura, horticultura, forestales y frutales. (Bisang, Campi, & Cesa, 2020)

El nombre de cultivo in vitro proviene del hecho de que todo el cultivo se realiza habitualmente en recipientes de vidrio aunque actualmente también se utilizan otros materiales como el polipropileno. El cultivo in vitro se basa en el principio de la totipotencia, el cual establece que las células son autosuficientes y que en principio tienen la capacidad de regenerar una planta completa; las células de las plantas que se encuentran ya diferenciadas están determinadas y normalmente no se dividen. La división y diferenciación de estas células puede inducirse si se colocan porciones de tejido (explantes) en un medio de cultivo adecuado que contenga los nutrientes y los aditivos necesarios. Mediante el uso de citocinas y auxinas se puede obtener respuesta en los explantes y manipulando la proporción de estos dos reguladores de crecimiento, los explantes pueden desarrollar plantas directamente o bien callos que posteriormente se diferencian aleatoriamente en tejidos vasculares brotes y/o raíces. (Estopà Bagot, 2020)

La micropropagación o propagación clonal es una de las aplicaciones más extendidas del cultivo in vitro, en el que la micropropagación obtiene descendientes idénticos genéticamente a la planta a partir de un fragmento (explante) de una planta madre, denominado clon. (Martínez & Gago, 2019)

Los explantes más comunes que se utilizan para la propagación in vitro son los brotes vegetativos de las plantas; las macetas de las plantas, se colocan en un estante con luz artificial dentro de la cámara de cultivo, donde la temperatura se

regula en valores de 21 a 23 °C, además de la posibilidad de controlar el número de horas de luz. Por su parte, la solución madre consiste en una mezcla de sales minerales, vitaminas, reguladores de crecimiento, azúcar, agua y agar. La composición del medio depende del tipo de planta y la etapa de micromejoramiento. (Castillo, 2019)

2.1.11. Citoquininas

A diferencia de las hormonas animales, las hormonas vegetales se producen en las células de la planta, sin formar glándulas y se definen como compuestos orgánicos que se sintetizan en una parte de la planta, y se trasladan a otro sitio donde ejercen su acción fisiológica en muy bajas concentraciones, muy por debajo de la concentración de otros compuestos como nutrientes y vitaminas y que en dosis más altas los afectan. Regulan procesos de correlación, es decir que, recibido el estímulo en un órgano, lo amplifican, traducen y generan una respuesta en otra parte de la planta. (Cruz Aguilar, Melgarejo, & Romero, 2019)

Una hormona vegetal o fitohormona es un compuesto producido internamente por una planta, que ejerce su función en muy bajas concentraciones y cuyo principal efecto se produce a nivel celular, cambiando los patrones de crecimiento de los vegetales y permitiendo su control. Los reguladores vegetales son compuestos sintetizados químicamente u obtenidos de otros organismos y son, en general, mucho más potentes que los análogos naturales. Es necesario tener en cuenta aspectos críticos como oportunidad de aplicación, dosis, sensibilidad de la variedad, condición de la planta, etc; ya que cada planta requerirá de unas condiciones específicas de crecimiento que pueden afectarse por la concentración de ellos en el medio. Los reguladores vegetales son productos sintéticos que se han convertido en las primeras herramientas capaces de controlar el crecimiento y actividad bioquímica de las plantas por lo que su uso ha aumentado en los últimos años. (Alcántara Cortés, Steven, Godoy, & Sánchez Mora, 2019)

Las citoquininas tienen la capacidad de estimular e inducir una alta proliferación y división celular, suelen inducir la iniciación y elongación de las raíces al igual que pueden activar la senescencia de las hojas, permitiendo estimular el desarrollo

fotomorfogénico vegetal y jugar un rol importante en el aumento y generación de la producción de brotes a nivel vegetal. Se sabe que estas fitohormonas suelen producirse de manera abundante en la punta de la raíz y suelen transportarse principalmente por el xilema vegetal hacia las partes aéreas de la planta (hojas). (Alcántara Cortés, Steven, Godoy, & Sánchez Mora, 2019)

La hormona atraviesa la membrana celular y entra al citoplasma, se une a un receptor (complejo hormona-receptor), el complejo puede disociarse o puede entrar en el núcleo como tal y afectar a la síntesis de los ARNm. La respuesta fisiológica que produce la transducción; o la hormona se une a un receptor de membrana, la unión hormona-receptor produce cambio conformacional Cascada interna de reacciones citoplásmicas, estas pueden producir efectos muy variados como nuevas actividades enzimáticas, modificación de procesos metabólicos, inducción de síntesis de ARNm, etc. (Blanco, 2019)

La kinetina es un regulador de crecimiento similar a la citoquinina que promueve la división celular. Inducción de la formación de callos y regeneración de tejido de brotes a partir de callos, se puede utilizar para producir nuevas plantas a partir del cultivo de tejidos; disminuye las características del envejecimiento, como la tasa de crecimiento y el tamaño de las células. (Squeo, 2021)

Bencil adenina esta es una citoquinina que tiene muchos efectos en las plantas, ya que favorece la absorción de nutrientes como aminoácidos, elementos y reguladores de crecimiento desde el sitio de aplicación, acelera el crecimiento y la división celular, produce nuevos brotes y mejora la ramificación y la floración de las plantas. El grosor del tallo y el tamaño de las hojas también aumentaron. Se puede utilizar desde la germinación hasta la cosecha. (Cortes, 2020)

CAPÍTULO III

3.1. MARCO METODOLÓGICO

3.1.1. Localización de la investigación

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

3.1.2. Situación geográfica y climática

Altitud:	2622 msnm
Latitud:	01° 36' 52'' S
Longitud:	78° 59' 54'' W
Temperatura media anual:	14.5 °C
Temperatura máxima:	23 °C
Temperatura mínima:	2 °C
Precipitación media anual:	880 mm
Heliofanía:	850 horas/ luz/año
Humedad relativa promedio anual:	63 %
Velocidad promedio anual del viento:	6 m/s

Fuente: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, ANAMHÍ, 2019; Estación meteorológica Laguacoto; Código: M1107

3.1.3. Zona de vida

El sitio según el sistema de zonas de vida de Leslie R. Holdridge, corresponde a la formación de Bosque seco Montano Bajo. (bs-MB). (Holdridge, 1967)

3.1.4. Material experimental

- Citoquininas; Kinetina & Bencil adenina
- Plántulas de clavel

3.1.5. Equipo de laboratorio

- Agitado magnético
- Autoclave vertical
- Balanza analítica
- Cámara de flujo laminar
- Destilador de agua
- Erlenmeyer
- Horno de microondas
- Mecheros
- pH metro
- Pinzas
- Refrigerador

3.1.6. Material de campo

- Agua
- Fundas plásticas
- Papel periódico
- Recipiente
- Sacos

3.1.7. Material de laboratorio

- Bisturí
- Cajas Petri de vidrio
- Erlenmeyer de 1000, 500, 250, y 100 mL
- Espátulas
- Frascos de vidrio de 250 mL
- Frascos de vidrio de 250mL
- Mangos para bisturí N-4
- Mecheros de alcohol
- Papel aluminio

- Pinzas de disección
- Pissetas
- Probetas aforadas de 500, 250, 100 y 25 mL
- Reactivos
- Ropa de trabajo en laboratorio
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación de 1000, 500, 250 y 100 mL

3.1.8. Materiales de oficina

- Calculadora
- Computadora
- Flash memory
- Lápices
- Papel boom
- Programas estadísticos
- Regla
- Smartphone
- Tablero de datos

3.1.9. Métodos

- **Factores en estudio**

- **Factor A: Variedades**

A1: Clavel verde (Variedad “Lege verde”)

A2: Clavel rojo (Variedad “Amapola”)

- **Factor B: Citoquininas**

B1: Kinetina

B2: Bencil adenina

• **Factor C: Dosis de reguladores de crecimiento**

C1: 0mg/L

C2: 2mg/L

C3: 4mg/L

C4: 6mg/L

3.1.10. Tratamientos

Combinación de factores A x B x C (2x2x4) como se detalla en la siguiente Cuadro:

Tratamiento	Código	Detalle
T1	A1B1C1	Clavel verde Testigo
T2	A1B1C2	Clavel verde + 2mg/L de Kinetina
T3	A1B1C3	Clavel verde + 4mg/L de Kinetina
T4	A1B1C4	Clavel verde + 6mg/L de Kinetina
T5	A1B2C1	Clavel verde Testigo
T6	A1B2C2	Clavel verde + 2mg/L de Bencil adenina
T7	A1B2C3	Clavel verde + 4mg/L de Bencil adenina
T8	A1B2C4	Clavel verde + 6mg/L de Bencil adenina
T9	A2B1C1	Clavel rojo Testigo
T10	A2B1C2	Clavel rojo + 2mg/L de Kinetina
T11	A2B1C3	Clavel rojo + 4mg/L de Kinetina
T12	A2B1C4	Clavel rojo + 6mg/L de Kinetina
T13	A2B2C1	Clavel rojo Testigo
T14	A2B2C2	Clavel rojo + 2mg/L de Bencil adenina
T15	A2B2C3	Clavel rojo + 4mg/L de Bencil adenina
T16	A2B2C4	Clavel rojo + 6mg/L de Bencil adenina

3.1.11. Tipo de diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) en arreglo factorial (2x2x4xRep. 3)

3.1.12. Procedimiento

Localidad	1
Número de tratamientos	16
Número de repeticiones	3
Número de unidades experimentales	48
Número de explantes	48

3.1.13. Tipo de análisis

Análisis de varianza (ADEVA), según el siguiente detalle: 2x2x4 rep.3

Fuente de Variación	Grados de libertad	CME
Repeticiones (r-1)	2	$l^2e + 16l^2 \text{ bloque}$
Factor A (a-1)	1	$l^2e + 24\theta^2 FA$
Factor B (b-1)	1	$l^2e + 24\theta^2 FB$
Factor C (c-1)	3	$l^2e + 12\theta^2 FC$
Factor AxB (a-1) (b-1)	1	$l^2e + 12FA \times FB$
Factor AxC (a-1) (c-1)	3	$l^2e + 6FA \times FC$
Factor BxC (b-1) (c-1)	3	$l^2e + 6FB \times FC$
Factor AxBxC (a-1) (b-1) (c-1)	3	$l^2e + 3FA \times FB \times FC$
Exp (t-1) (r-1)	30	l^2e
Total (t x r)-1	47	

- Análisis de correlación y regresión lineal simple.
- Análisis de efecto principal para factor B.
- Prueba de Tukey al 5% para comprobar promedios de tratamientos y factor C.

Se usó la prueba de Tukey ya que esta permite crear intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas entre las medias de los niveles de los factores mientras controla la tasa de error por familia en un nivel especificado.

3.1.14. Métodos de evaluación y datos a tomarse

- **Número de brotes por explante (NBE)**

El número de brotes por explante se tomó del área de incubación por observación directa a partir de los 45, 60 y 75 días del último subcultivo a sus respectivos medios de proliferación, se consideraron un brote al presentar en este, al menos, dos hojas desarrolladas.

- **Longitud de los brotes (LB)**

La longitud de los brotes se registraron tomando 4 frascos de cada uno de los tratamientos, la misma que se tomaron a los 45, 60 y 75 días, desde la base del tallo hasta el ápice de los brotes, la medición se lo efectuó por la parte exterior del frasco con la ayuda de una regla expresada en mm.

- **Número de hojas por brote (NHB)**

El número de hojas por brote se registraron contando el número de hojas en los brotes de los explantes a los 45, 60 y 75 días, por observación directa.

- **Días a la emisión de raíces (DER)**

El número de días a la emisión de raíces se registraron contando los días transcurridos desde la aparición de las primeras raicillas de los explantes en más del 50% de los mismos. Esta actividad se efectuó a través de un conteo directo.

- **Número de raíces (NR)**

El número de raíces se registraron a los 60, 75 y 90 días, contabilizando las raíces de cada explante, de forma visual en cada uno de los tratamientos.

- **Longitud de raíz (LR)**

La longitud se tomó en centímetros con la ayuda de una regla, a los 60, 75 y 90 días, desde la base del cuello hasta la parte terminal o cofia.

- **Número de explantes contaminados (NEC)**

El número de explantes contaminados, se evaluaron por observación directa la presencia de agentes patógenos causados por hongos durante los 60 días que es el tiempo que transcurrió desde la siembra de los brotes, los frascos contaminados se expresó en porcentaje. Considerando que un frasco de cristal está contaminado cuando en la solución madre se observa la presencia de esporas blanquecinas o

grises, las cuales con el transcurso del tiempo se diseminan formando una estructura algodonosa.

3.1.15. Manejo del experimento

- **Transporte de las plantas madres a invernadero**

Se trasladaron las plantas madres del invernadero ubicado en la provincia de Cotopaxi cantón Pujilí a una elevación de 2.961 m s. n. m; el invernadero que nos proveyó la materia prima del presente estudio es de propiedad del Sr. Abel Recalde, con coordenadas -0.9684560, -78.6860630, e ingresadas al invernadero del laboratorio de biotecnología de la Universidad Estatal de Bolívar, para que estas cumplan el periodo de adaptación, desarrollo y monitoreo por posibles enfermedades.

- **Adaptación en el invernadero**

Se realizaron manejos fitosanitario para asegurar que las plantas madres no contraigan enfermedades o las desarrollen; así como se realizó las podas respectivas con la finalidad de tener brotes de calidad consiguientemente se logró obtener el mejor material para los explantes.

- **Selección del medio a utilizar**

Se seleccionaron la solución madre según Murashige y Skoog en el que se añadió macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, agar y reguladores de crecimiento Kinetina y Bencil adenina en cuatro concentraciones 0mg/L, 2mg/L, 4mg/L y 6mg/L respectivamente con un pH de 5.6- 5.7.

- **Preparación de la solución madre**

Se preparó en primera instancia la solución madre se procedió a pesar en una balanza analítica, cada uno de los reactivos requeridos los cuales son: Gelificante Agar, Sacarosa, los reguladores de crecimiento como 6-Bencil adenina, Kinetina, los micro, macronutrientes y las vitaminas de acuerdo al requerimiento necesario de la cantidad de medio de cultivo según Murashige y Skoog (Anexo N°6) a

preparar para el trabajo de investigación que sirve para dar la solidificación al medio de cultivo.

• **Preparación de la solución madre en 100 mL con BA (Bencil Adenina)**

Para la preparación de la solución madre (Anexo N°6.) se procedió a pesar en una balanza analítica y medir los reactivos requeridos con ayuda del instrumental de laboratorio como son las probetas, espátulas, pipetas, agitador magnético, vasos de precipitación; para añadir los siguientes reactivos:

Sacarosa (Azúcar)= 30g

Stock N.º 1 (Macronutrientes) = 3mL

Stock N.º 2 (Micronutrientes) =3mL

Stock N.º 3 (Hierro) =3mL

Vitaminas =10mL

BA (Bencil-adenida) = 6mL, 12mL y 18mL

pH = 5.6 - 5.7

Agar = 2.7 g

IBA (ácido indolbutírico)= 9 mL

Colores de identificación de las dosis de la citoquinina

Amarillo:	BA 6 mL
Azul:	BA 12 mL
Rojo:	BA 18 mL

En un vaso de precipitación de 1000mL se colocó 450mL de agua destilada, luego coloqué en el agitador magnético y se procedió a introducir cada uno de los reactivos, seguidamente se aforó con el agua hasta que llegué a 100mL para luego continuar con la valoración del pH, en donde finalmente cuando pasó 10 minutos en el agitador a 260 rpm y 550°C de temperatura se colocó el Agar y se añadió el colorante de acuerdo a lo establecido para diferenciar dosis de la citoquinina

Bencil-adenida, se esperó hasta el punto de ebullición para seguidamente proceder a colocar en los 9 frascos por cada uno de los identificadores de color.

•Preparación de la solución madre 100 mL con K (Kinetina)

Para la preparación de la solución madre se procedió a pesar en una balanza analítica y medir los reactivos requeridos con ayuda del instrumental de laboratorio como son las probetas, espátulas, pipetas, agitador magnético, vasos de precipitación; para añadir los siguientes reactivos:

Sacarosa (Azúcar)= 30g

Stock N.º 1(Macronutrientes) = 3mL

Stock N.º 2 (Micronutrientes) =3mL

Stock N.º 3 (Hierro) =3mL

Vitaminas =10mL

K (Kinetina) = 6mL, 12mL y 18mL

pH = 5.6 - 5.7

Agar = 2.7 g

IBA (ácido indolbutírico)= 9 mL

Colores de identificación de las dosis de la citoquinina

Verde:	K 6mL
Violeta:	K 12mL
Naranja:	K 18mL

En un vaso de precipitación de 1000mL se colocó 450mL de agua destilada, luego coloqué en el agitador magnético y se procedió a introducir cada uno de los reactivos, seguidamente se aforó con el agua hasta que llegué a 100mL para luego continuar con la valoración del pH, en donde finalmente cuando haya pasado 10 minutos en el agitador a 260 rpm y 550°C de temperatura se colocó el Agar y se añadió el colorante de acuerdo a lo establecido, para diferenciar dosis de la

citoquinina Kinetina, esperé hasta el punto de ebullición para seguidamente proceder a colocar en los 9 frascos por cada uno de los identificadores de color.

•Preparación de la solución madre 100 mL Testigo

Para la preparación de la solución madre procedí a pesar en una balanza analítica y medir los reactivos requeridos con ayuda del instrumental de laboratorio como son las probetas, espátulas, pipetas, agitador magnético, vasos de precipitación; para añadir los siguientes reactivos:

Sacarosa (Azúcar)= 30g

Stock N.º 1(Macronutrientes) = 3mL

Stock N.º 2 (Micronutrientes) =3mL

Stock N.º 3 (Hierro) =3mL

Vitaminas =10mL

pH = 5.6 - 5.7

Agar = 2.7 g

IBA (ácido indolbutírico)= 9 mL

Colores de identificación del testigo

Ninguno:	TESTIGO
-----------------	----------------

En un vaso de precipitación de 1000mL coloqué 450mL de agua destilada, luego ubiqué el vaso indicado en el agitador magnético y procedí a introducir cada uno de los reactivos, seguidamente se aforó con el agua hasta que llegué a ubicar 100mL para luego continuar con la valoración del pH, en donde finalmente verifiqué que pasó 10 minutos en el agitador a 260 rpm y 55°C de temperatura se colocó el Agar no se añadió colorante, se esperó hasta el punto de ebullición para seguidamente procedí a colocar en los frascos.

- **Selección de la planta**

Seleccioné las plantas madres de las variedades verde (Lege verde) y roja (Amapola) para proceder a la extracción de brotes apicales y laterales para proceder a su desinfección previa a realizar la actividad de inoculación en la solución madre.

- **Desinfección del material experimental**

Desinfecté los brotes apicales y laterales, lavé con solución de jabón líquido al 5% más agua en un tiempo de 20 minutos, a continuación llevé a la cámara de flujo laminar donde desinfecté con cloro al 70% durante 10 minutos, luego con el agua destilada esterilizada procedí a lavar los brotes apicales y laterales por tres veces consecutivas en un lapso de tres minutos cada lavado.

- Coloqué los explantes en agua destilada con detergente líquido al 5% durante 20 a 30 minutos, y les mantuve en agitación (manual o con un agitador magnético).
- En la cámara de flujo laminar; sumergí los explantes en una solución de hipoclorito de sodio (cloro) al 70% más Tween 80 (dosis una gota por cada 100 cc) durante 10 minutos (aprox).
- Enjuagué tres veces con agua estéril para eliminar el cloro.

- **Introducción del material in vitro**

Se procedió a realizar la siembra, coloqué en la solución madre estéril, con la ayuda de las pinzas se introdujeron los explantes a los frascos de vidrio que contienen medio de cultivo, al finalizar la siembra los frascos de vidrio procedí a realizar el flameado a lo largo de los bordes superiores y sellé con plastifilm e identificados con los tratamientos correspondientes. A continuación esperé el tiempo establecido para proceder a la toma de los datos de cada una de las respectivas variables.

- Se sacaron del vaso de precipitación con una pinza estéril los explantes y coloqué en los frascos, tomando un explante a la vez y colocándolos en los frascos que contienen la solución madre.
- Se colocaron 2 explantes en cada frasco, procurando que queden separados y por supuesto en contacto con la solución madre.
- Se colocaron los recipientes con las explantes en el área de crecimiento, a una temperatura de incubación de entre 24 a 26 °C.

CAPÍTULO IV

4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.1. Resultados ADEVA

- **Supuestos de normalidad NBE**

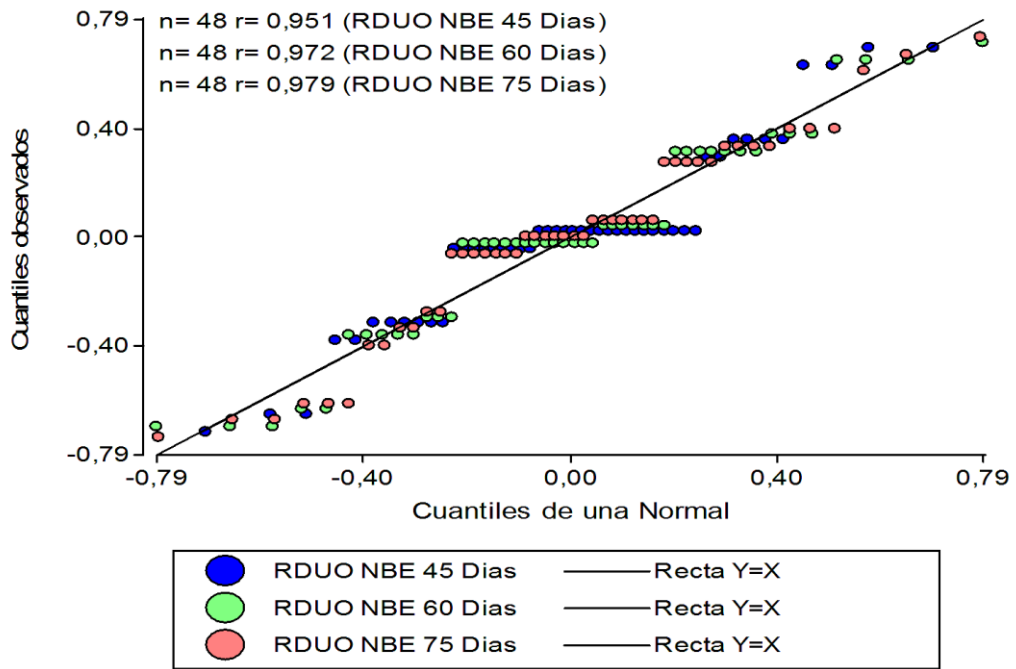
Cuadro N° 1

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks NBE

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
<i>NBE 45 Dias</i>	48	2,96	0,85	0,82	<0,0001
<i>NBE 60 Dias</i>	48	3,04	0,92	0,87	<0,0001
<i>NBE 75 Dias</i>	48	3,06	0,95	0,89	0,0002

Gráfico N°1

QQ-Plot NBE



- Supuestos de varianzas homogéneas NBE 45 días

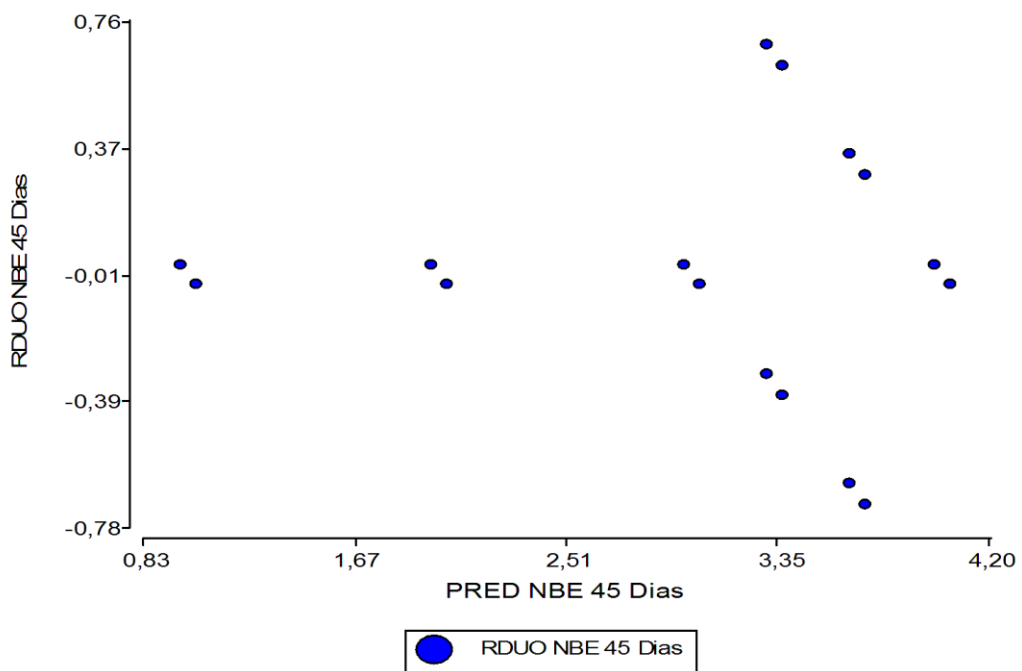
Cuadro N° 2

Prueba de Levene NBE 45 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,92	5	0,18	4,73	0,0016
FA	0,04	1	0,04	0,96	0,3337
FB	0,04	1	0,04	0,96	0,3337
FC	0,84	3	0,28	7,24	0,0005
Error	1,63	42	0,04		
Total	2,54	47			

Gráfico N°2

Dispersión NBE 45 días



- Supuestos de varianzas homogéneas NBE 60 días

Cuadro N° 3

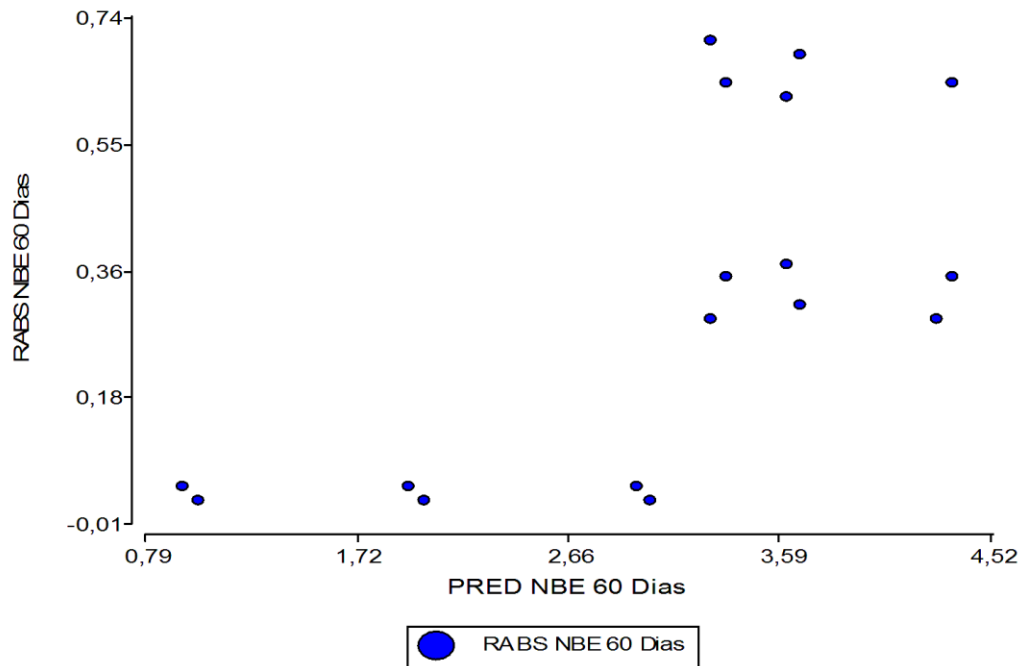
Prueba de Levene NBE 60 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,2	5	0,24	6,69	0,0001
FA	0,05	1	0,05	1,31	0,2592
FB	0,04	1	0,04	1,17	0,2862

FC	1,11	3	0,37	10,32	<0,0001
Error	1,51	42	0,04		
Total	2,7	47			

Gráfico N°3

Dispersión NBE 60 días



- Supuestos de varianzas homogéneas NBE 75 días

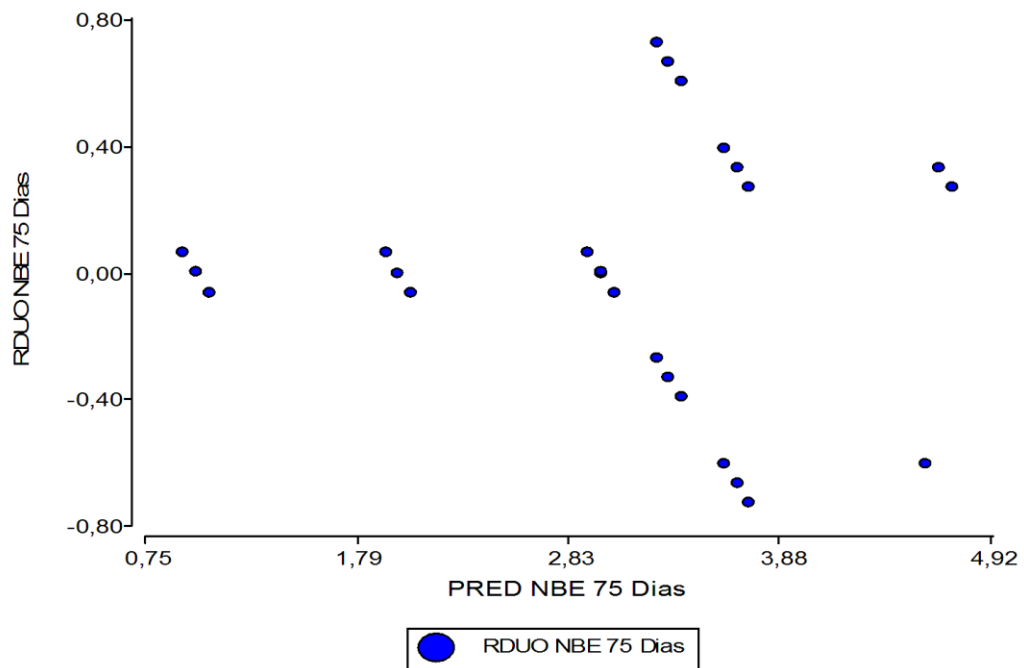
Cuadro N° 4

Prueba de Levene NBE 75 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,07	5	0,21	6,05	0,0003
FA	0,04	1	0,04	1,25	0,2694
FB	0,04	1	0,04	1,25	0,2694
FC	0,98	3	0,33	9,24	0,0001
Error	1,49	42	0,04		
Total	2,55	47			

Gráfico N°4

Dispersión NBE 75 días



- Número de brotes por explante (NBE) a los 45, 60 y 75 días

Cuadro N° 5

ADEVA número de brotes por explante (NBE) a los 45 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	29,29	17	1,72	11,18	< 0,0001
Repeticiones	0,04	2	0,02	0,14	0,8741
FA	1,33	1	1,33	8,65	0,0063
FB	1,33	1	1,33	8,65	0,0063
FC	24,75	3	8,25	53,51	< 0,0001
FA*FB	0,08	1	0,08	0,54	0,4679
FA*FC	0,17	3	0,06	0,36	0,7820
FB*FC	0,17	3	0,06	0,36	0,7820
FA*FB*FC	1,42	3	0,47	3,06	0,0431
Error	4,62	30	0,15		
Total	33,92	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor 0,0063; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor 0,0063; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor 0,4679; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor 0,7820; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor 0,7820; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron significancia (*) con un p-valor 0,0431; sobre el número de los brotes.

Cuadro N° 6

ADEVA número de brotes por explante (NBE) a los 60 días

F.V	SC	GI	CM	F	P-valor
Modelo	33,96	17	2	10,06	< 0,0001
Repeticiones	0,04	2	0,02	0,1	0,9007
FA	0,75	1	0,75	3,78	0,0614
FB	1,33	1	1,33	6,71	0,0146
FC	27,75	3	9,25	46,57	< 0,0001
FA*FB	0	1	0	0	> 0,9999
FA*FC	0,75	3	0,25	1,26	0,3062
FB*FC	1,17	3	0,39	1,96	0,1416
FA*FB*FC	2,17	3	0,72	3,64	0,0238
Error	5,96	30	0,2		
Total	39,92	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor 0,0614; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron significancia (*) con un p-valor 0,0146; que las dosis de citoquininas

(FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor $< 0,0001$; sobre la número de los brotes; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor $> 0,9999$; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor $0,3062$; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor $0,1416$; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron significancia (*) con un p-valor $0,0238$; sobre el número de los brotes.

Cuadro N° 7

ADEVA número de brotes por explante (NBE) a los 75 días

F.V	SC	GI	CM	F	P-valor
Modelo	36,94	17	2,17	11,1	$< 0,0001$
Repeticiones	0,13	2	0,06	0,32	0,7292
FA	1,02	1	1,02	5,21	0,0297
FB	1,69	1	1,69	8,62	0,0063
FC	29,06	3	9,69	49,47	$< 0,0001$
FA*FB	0,02	1	0,02	0,11	0,7466
FA*FC	0,9	3	0,3	1,52	0,2283
FB*FC	1,56	3	0,52	2,66	0,0661
FA*FB*FC	2,56	3	0,85	4,36	0,0116
Error	5,88	30	0,2		
Total	42,81	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron significancia (*) con un p-valor $0,0297$; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor $0,0063$; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor $< 0,0001$; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor $0,7466$; que la interacción de las

variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor 0,2283; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor 0,0661; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron significancia (*) con un p-valor 0,0116; sobre el número de los brotes.

Cuadro N° 8

Tukey al 5%, promedios, número de brotes por explante (NBE)

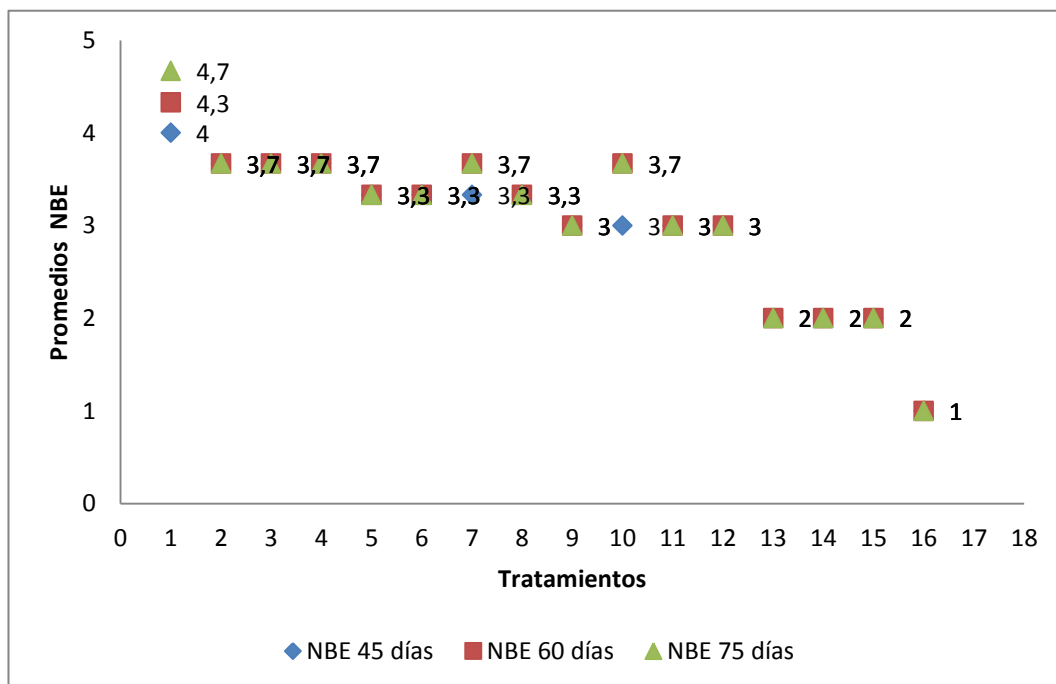
Tratamientos	NBE 45 días	NBE 60 días	NBE 75 días
	Promedio	Promedio	Promedio
T8	4	4.3	4.7
	A	A	A
T7	3.7	3.7	3.7
	A	A	AB
T3	3.7	3.7	3.7
	A	A	AB
T15	3.7	3.7	3.7
	A	A	AB
T6	3.3	3.3	3.3
	A	AB	ABC
T4	3.3	3.3	3.3
	A	AB	ABC
T16	3.3	3.7	3.7
	A	A	AB
T12	3.3	3.3	3.3
	A	AB	ABC
T11	3	3	3
	AB	AB	BC
T10	3	3.7	3.7
	AB	A	AB
T14	3	3	3
	AB	AB	BC
T2	3	3	3
	AB	AB	BC
T13	2	2	2
	BC	BC	CD
T1	2	2	2
	BC	BC	CD
T5	2	2	2
	BC	BC	CD

T9	1	1	1
	C	C	D
CV	13.27%	14.65%	14.45%
Media general	3 Brotes (*)	3 Brotes (*)	3.1 Brotes (*)

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para tratamientos de la variable número de brotes por explante (NBE), registrado a los 45, 60 y 75 días

Gráfico N°5

Promedios, número de brotes por explante



Nota: Registrado a los 45, 60 y 75 días

Los tratamientos (AxBxC) evaluados con respecto a la variable brotes por explante, en los datos recolectados a los 45, 60 y 75 días después del inicio del cultivo, presentaron diferencias estadísticas significativas (*), con un CV de 13.27%; 14.65% y 14.45% en su respectivo orden según el análisis de varianza. Estos resultados obtenidos nos determinan la dependencia de factores para el desarrollo de NBE en la solución madre. De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de Tukey al 5% realizada para separar medias de tratamientos a los 45, 60 y 75 días, en una forma similar el T8 (A1xB2xC4) registró el mayor promedio de brotes por explante a través del tiempo con 4, 4.3 y 4.7 respectivamente, mientras que el T9 (A2xB1xC1) produjo 1 brote durante toda la evaluación,

siendo este el menor valor a razón de una contaminación antropogénica durante el manejo del mismo.

Estos resultados nos sugieren que la inducción de brotes en un meristemo apical de clavel verde (Lege verde), presenta mayor eficiencia al añadirle al medio de cultivo 6 mg/L de Benciladenina; esto posiblemente ocurrió porque esta hormona utilizada en dosis altas, se unió a receptores específicos de las células del clavel, desencadenando una cascada de señalización para activar genes responsables del crecimiento y la diferenciación celular, obteniendo así; mayor división celular y crecimiento de brotes

Cuadro N° 9

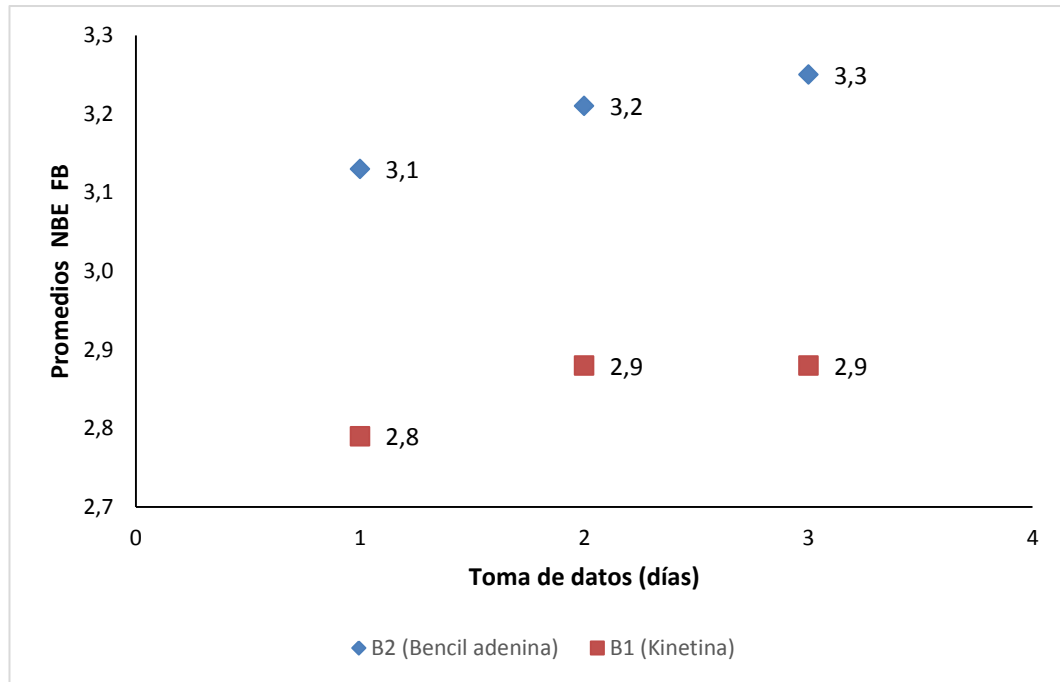
Factor B (Citoquininas), número de brotes por explante (NBE)

Factor B (Citoquininas)	NBE 45 días	NBE 60 días	NBE 75 días
	Media	Media	Media
B2 (Bencil adenina)	3.1	3.2	3.3
B1 (Kinetina)	2.8	2.9	2.9
Efecto principal	0.3 brotes (**)	0.3 (*)	0.4 (**)

Nota: Resultados del efecto principal para el Factor B (Citoquininas) de la variable número de brotes por explante (NBE), registrado a los 45, 60 y 75 días

Gráfico N°6

Promedios, número de brotes por explante



La respuesta de las Citoquininas (factor B) sobre la inducción de brotes en explantes de clavel evaluadas en esta investigación, fueron altamente significativas (**) a los 45 y 75 días; mientras que a los 60 días fue significativa (*) (Cuadro N° 9). En forma consistente hubo una diferencia de 0.3 brotes a los 45 días y el mismo número a los 60 días como efecto principal de la hormona Bencil adenina (B2) sobre Kinetina (B1), dicha diferencia se amplió a 0.4 brotes a los 75 días esto quiere decir que al transcurrir más tiempo mayor ventaja obtuvo B2 en estimular la inducción de brotes en el cultivo in vitro, esto puede deberse a que la Benciladenina Impulso la división celular en los tejidos del explante, resultando en un aumento en el número de brotes.

Otros factores que posiblemente influyeron en la respuesta de las hormonas fueron; la sección de tejido utilizado para el cultivo; genética de la planta; interacciones con otras hormonas; momento de aplicación: entre otras.

Cuadro N° 10

Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), número de brotes por explante (NBE)

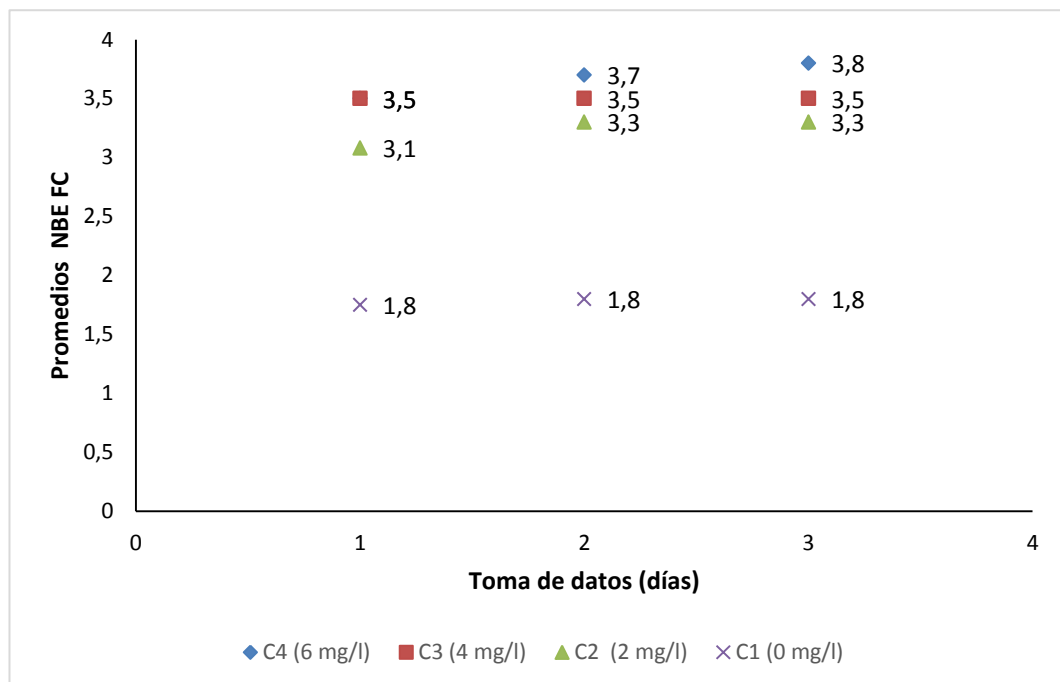
Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento)	NBE 45 días (**)	NBE 60 días (**)	NBE 75 días (**)
	Media	Media	Media
C4 (6 mg/L)	3.5	3.7	3.8
	A	A	A
C3 (4 mg/L)	3.5	3.5	3.5
	A	A	A
C2 (2 mg/L)	3.1	3.3	3.3
	A	A	B
C1 (0 mg/L)	1.8	1.8	1.8
	B	B	C

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para Factor C de la variable número de brotes por explante (NBE).

Una comparativa con el trabajo realizado por Mikhovich & Teteryuk (Anexo N°4), usado Murashige & Skoog (MS) and *Woody Plant Medium* (WPM) como medio de cultivo, se observa resultados parecidos con un número de brotes de 2.4 con medio MS.

Gráfico N°7

Promedios, número de brotes por explante



Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las diferentes dosis de reguladores de crecimiento aplicados en explantes para promover la emisión de brotes se comportaron en forma muy diferente (**) a través del tiempo que duro la evaluación (45, 60 y 75 días). Al realizar la separación de medias con la prueba de Tukey al 5%, en una forma similar se identificó la mejor respuesta en la emisión de brotes que lo obtuvo la dosis más alta de hormona (C4: 6 mg/L) con presencia 3.5; 3.7 y 3.8 NBE a los 45, 60 y 75 días respectivamente. Como respuesta lógica el promedio más bajo lo presentó aquellos explantes que no recibieron regulador de crecimiento (C1: 0 mg/L) con un valor de 1.8 durante los 90 días de ensayo, es decir no se evidencio brotación en los testigos a mas que la inicial.

Estos resultados nos confirman que la dosis óptima de reguladores de crecimiento en clavel fue de 6 mg/L, ya que promovieron el crecimiento y desarrollo saludable de los explantes estimulando el desarrollo de brotes. Es importante señalar que se debe realizar pruebas preliminares para determinar la dosis adecuada y evitar posibles efectos negativos en el cultivo in vitro, el ajuste y optimización de la dosis de reguladores son fundamentales para obtener los mejores resultados en términos de calidad y cantidad de plantas producidas en laboratorio.

- **Supuestos de normalidad LB**

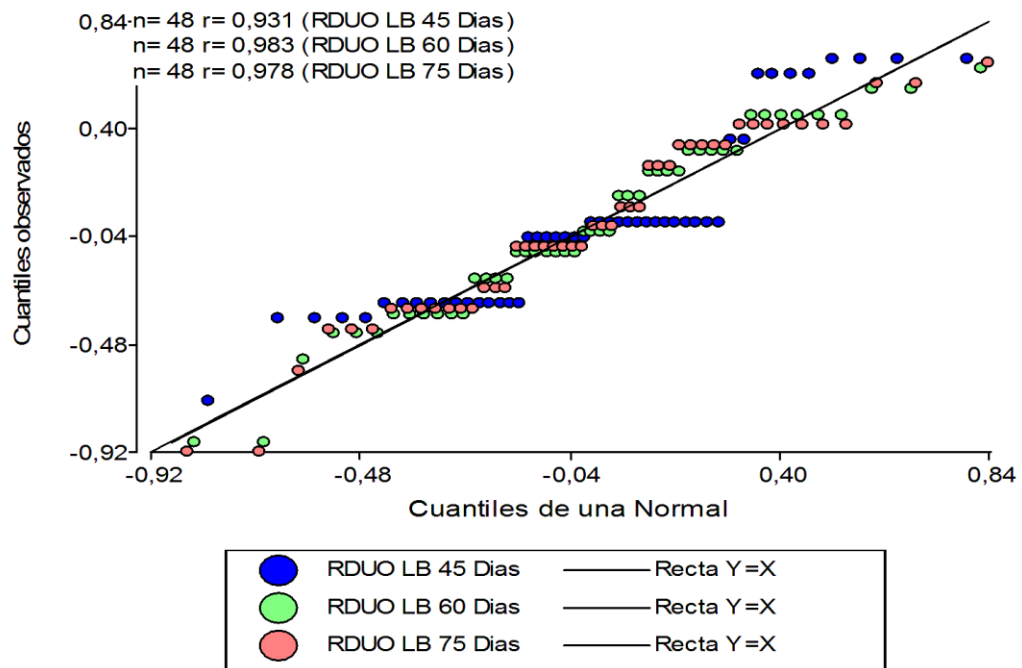
Cuadro N° 11

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks LB

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
<i>RDUO LB 45 Dias</i>	48	0	0,36	0,84	<0,0001
<i>RDUO LB 60 Dias</i>	48	0	0,37	0,94	0,0935
<i>RDUO LB 75 Dias</i>	48	0	0,38	0,94	0,0516

Gráfico N°8

QQ-Plot LB



- Supuestos de varianzas homogéneas LB 45 días

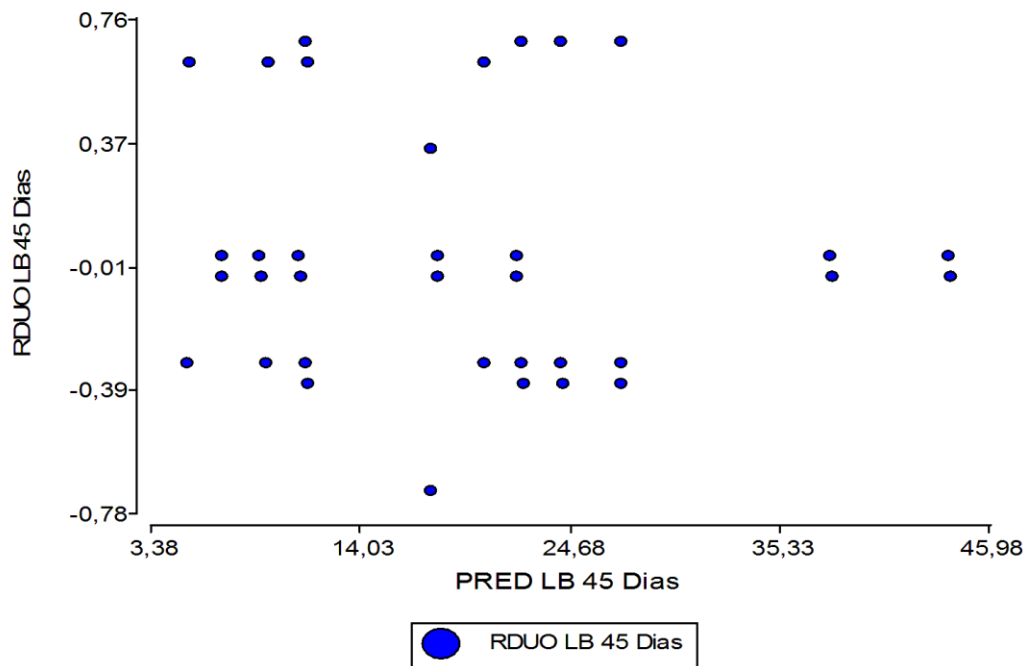
Cuadro N° 12

Prueba de Levene LB 45 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,39	5	0,08	1,43	0,2324
FA	0,28	1	0,28	5,09	0,0293
FB	0,03	1	0,03	0,59	0,4459
FC	0,08	3	0,03	0,49	0,6891
Error	2,31	42	0,05		
Total	2,7	47			

Gráfico N°9

Dispersión LB 45 días



- Supuestos de varianzas homogéneas LB 60 días

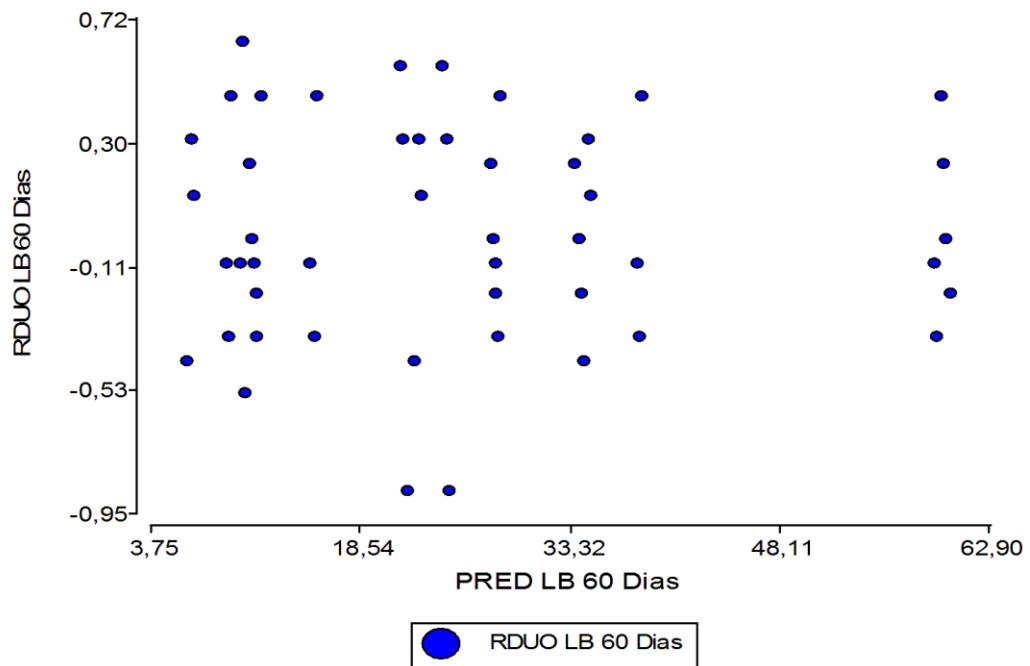
Cuadro N° 13

Prueba de Levene LB 60 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,28	5	0,06	1,46	0,2239
FA	0,1	1	0,1	2,5	0,1211
FB	2,30E-03	1	2,30E-03	0,06	0,8089
FC	0,18	3	0,06	1,58	0,2093
Error	1,64	42	0,04		
Total	1,93	47			

Gráfico N°10

Dispersión LB 60 días



- Supuestos de varianzas homogéneas LB 75 días

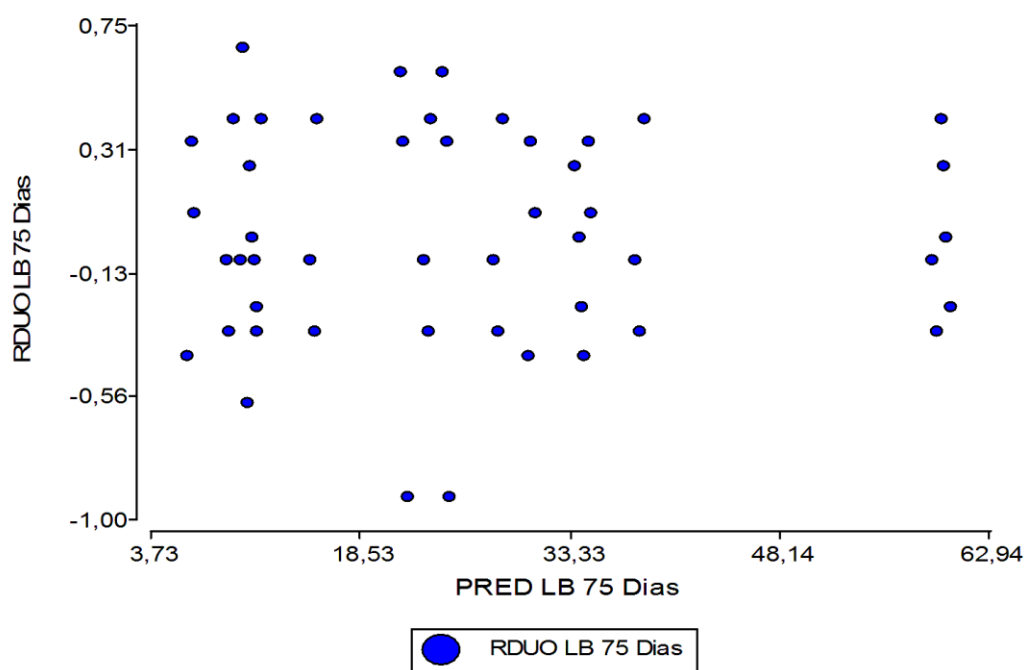
Cuadro N° 14

Prueba de Levene LB 75 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<i>Modelo</i>	0,41	5	0,08	2,06	0,0896
<i>FA</i>	0,07	1	0,07	1,76	0,192
<i>FB</i>	1,00E-02	1	1,00E-02	0,36	0,5499
<i>FC</i>	0,33	3	0,11	2,73	0,056
<i>Error</i>	1,67	42	0,04		
<i>Total</i>	2,08	47			

Gráfico N°11

Dispersión LB 75 días



- Longitud de los brotes (LB) a los 45, 60 y 75 días

Cuadro N° 15

ADEVA longitud de los brotes (LB) a los 45 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	5437,02	17	319,82	1610,31	< 0,0001
Repeticiones	0,04	2	0,02	0,1	0,9007
FA	1073,52	1	1073,52	5405,14	< 0,0001
FB	99,19	1	99,19	499,41	< 0,0001
FC	2271,4	3	757,13	3812,13	< 0,0001
FA*FB	438,02	1	438,02	2205,42	< 0,0001
FA*FC	613,23	3	204,41	1029,2	< 0,0001
FB*FC	146,23	3	48,74	245,42	< 0,0001
FA*FB*FC	795,4	3	265,13	1334,93	< 0,0001
Error	5,96	30	0,2		
Total	5442,98	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro

presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre la longitud de los brotes.

Cuadro N° 16

ADEVA longitud de los brotes (LB) a los 60 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	12152,52	17	714,85	3320,61	< 0,0001
Repeticiones	1,54	2	0,77	3,58	0,0403
FA	2898,52	1	2898,52	13464,1	< 0,0001
FB	238,52	1	238,52	1107,97	< 0,0001
FC	5016,23	3	1672,08	7767,06	< 0,0001
FA*FB	1333,52	1	1333,52	6194,42	< 0,0001
FA*FC	1283,73	3	427,91	1987,71	< 0,0001
FB*FC	136,73	3	45,58	211,71	< 0,0001
FA*FB*FC	1243,73	3	414,58	1925,77	< 0,0001
Error	6,46	30	0,22		
Total	12158,98	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la

reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre la longitud de los brotes.

Cuadro N° 17

ADEVA longitud de los brotes (LB) a los 75 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	12192,65	17	717,21	3227,47	< 0,0001
Repeticiones	2	2	1	4,5	0,0195
FA	2992,52	1	2992,52	13466,34	< 0,0001
FB	196,02	1	196,02	882,09	< 0,0001
FC	5057,9	3	1685,97	7586,84	< 0,0001
FA*FB	1271,02	1	1271,02	5719,59	< 0,0001
FA*FC	1207,06	3	402,35	1810,59	< 0,0001
FB*FC	126,56	3	42,19	189,84	< 0,0001
FA*FB*FC	1339,56	3	446,52	2009,34	< 0,0001
Error	6,67	30	0,22		
Total	12199,31	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las

dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre la longitud de los brotes.

Cuadro N° 18

Tukey al 5%, promedios, Longitud de los brotes (LB)

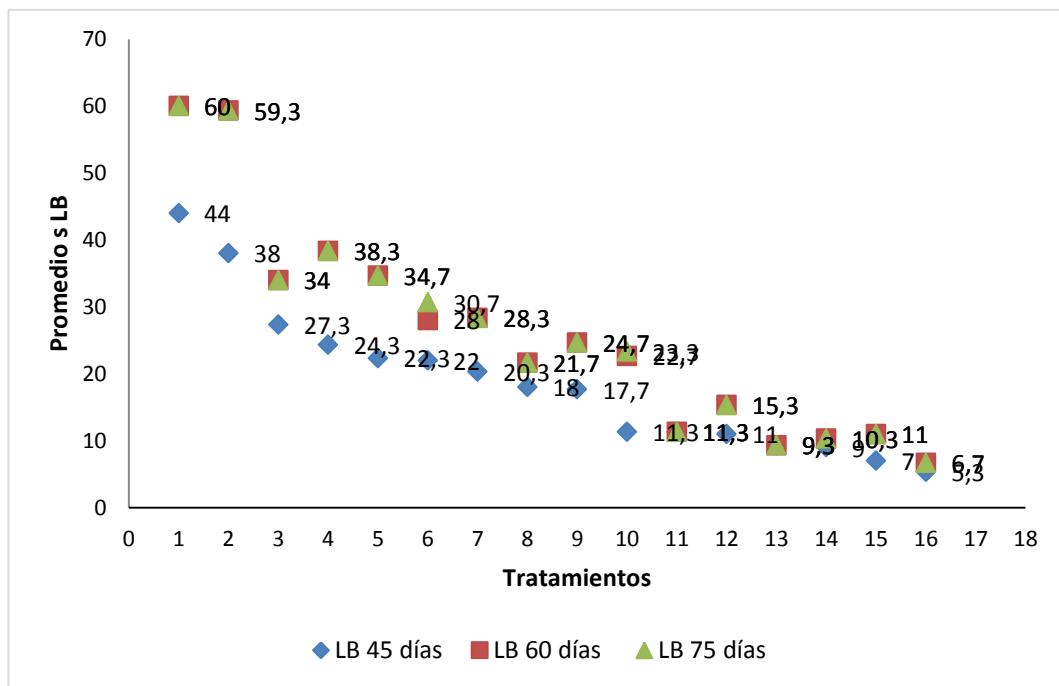
Longitud de brote (mm)			
Tratamientos	LB 45 días	LB 60 días	LB 75 días
	Promedio	Promedio	Promedio
T8	44.0	60.0	60.0
	A	A	A
T7	38.0	59.3	59.3
	B	A	A
T12	27.3	34.0	34.0
	C	C	C
T4	24.3	38.3	38.3
	D	B	B
T6	22.3	34.7	34.7
	E	C	C
T2	22.0	28.0	30.7
	E	D	D
T3	20.3	28.3	28.3
	F	D	E
T10	18.0	21.7	21.7
	G	F	G
T14	17.7	24.7	24.7
	G	E	F
T11	11.3	22.7	23.3
	H	F	F
T15	11.3	11.3	11.3
	H	H	I
T16	11.0	15.3	15.3
	H	G	H
T13	9.3	9.3	9.3
	I	I	J
T1	9.0	10.3	10.3
	I	H	I
T5	7.0	11.0	11.0
	J	H	I
T9	5.3	6.7	6.7
	K	J	K

CV	2.39%	1.79%	1.80%
Media general	18.6 mm (**)	26 mm (**)	26.2 mm (**)

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para tratamientos en la variable longitud de brotes por explante (LB), registrado a los 45, 60 y 75 días.

Gráfico N°12

Promedios, longitud de brotes por explante



Los tratamientos (AxBxC) evaluados con respecto a la variable longitud de brotes por explante, en los datos recolectados a los 45, 60 y 75 días después del inicio del cultivo, presentaron diferencias estadísticas altamente significativas (**), con un CV de 2.39%; 1.79% y 1.8% en su respectivo orden según el análisis de varianza. Estos resultados obtenidos nos determinan la dependencia de factores para la LBE en la solución madre. En promedio general se evaluó una longitud de explantes de 18.6 mm; 26 mm y 26.2 mm para cada etapa de desarrollo.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de Tukey al 5% realizada para separar medias de tratamientos a los 45, 60 y 75 días, en una forma similar el T8 (A1xB2xC4) registró la mayor longitud de brotes por explante a través del tiempo con 44, 60 y 60 mm respectivamente, mientras que el T9 (A2xB1xC1) fue considerado como el de menor longitud con 5.3, 6.7 y 6.7 mm por brote durante toda la evaluación.

Hay que indicarse con los resultados expuestos que la solución madre adecuado para el desarrollo de brotes fue aquel que contuvo los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de los explantes de clavel, incluyendo sales minerales, vitaminas, glucosa y dosis adecuadas de reguladores del crecimiento.

Cuadro N° 19

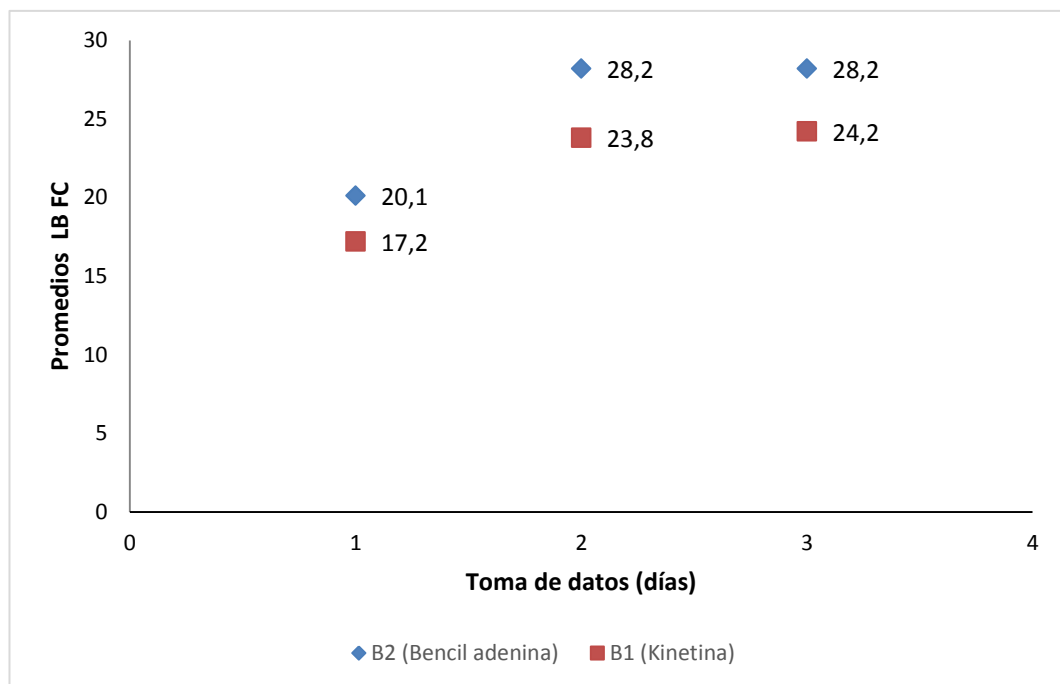
Factor B (Citoquininas), longitud de brote por explante (LB)

Longitud de brote (mm)			
Factor B (Citoquininas)	LB 45 días	LB 60 días	LB 75 días
	Media	Media	Media
B2 (Bencil adenina)	20.1	28.2	28.2
B1 (Kinetina)	17.2	23.8	24.2
Efecto principal	2.9 mm (**)	4.4 mm (*)	4 mm (**)

Nota: Resultados del efecto principal para el Factor B (Citoquininas) en la variable longitud de brote por explante (LB), registrado a los 45, 60 y 75 días.

Gráfico N°13

Promedios, longitud de brotes



La respuesta de las Citoquininas (factor B) sobre la variable longitud de brotes en clavel evaluadas en esta investigación fueron altamente significativas (**) a los 45 60 y 75 días (Cuadro N° 19). Se determinó un incremento de 2.9 mm en la

longitud de brotes a los 45 días, mientras que fue de 4.4 mm a los 60 días como efecto principal de la hormona Bencil adenina (B2) sobre Kinetina (B1), dicha diferencia se redujo a 4 mm por brote a los 75 días. Esta respuesta está en función del desarrollo fenológico del explante, esta respuesta diferente se dio porque los reguladores de crecimiento

La Benciladenina y la Kinetina tuvieron un impacto positivo en el desarrollo de la longitud de los brotes en claveles, promoviendo un crecimiento más vigoroso, posiblemente porque retrasaron el envejecimiento de los tejidos y aumentaron la tasa de multiplicación celular. Hay que hacer notar que la Benciladenina tiene la característica de permanecer hasta 2 años en percha sin perder sus características físicas y químicas por lo cual se justificaría su mejor respuesta en este ensayo.

Cuadro N° 20

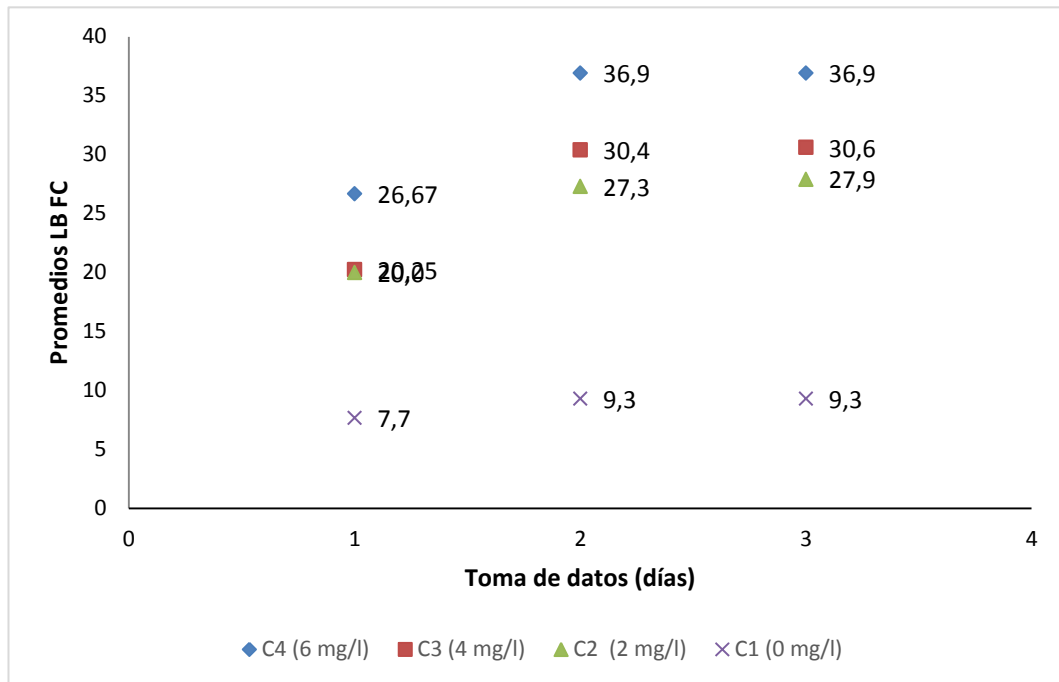
Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), longitud de brote (LB)

Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento)	Longitud de brote (mm)		
	LB 45 días (**)	LB 60 días (**)	LB 75 días (**)
	Medias	Medias	Medias
C4 (6 mg/L)	26.67	36.9	36.9
	A	A	A
C3 (4 mg/L)	20.25	30.4	30.6
	B	B	B
C2 (2 mg/L)	20.0	27.3	27.9
	B	C	C
C1 (0 mg/L)	7.7	9.3	9.3
	C	D	D

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento) en la variable longitud de brote (LB), registrado a los 45, 60 y 75 días.

Gráfico N°14

Promedios, longitud de brote



Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las diferentes dosis de reguladores de crecimiento (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron un efecto muy diferente (**) sobre la longitud de los brotes a los 45, 60 y 75 días de evaluación.

Al realizar la separación de medias con la prueba de Tukey al 5% para promedios de longitud de brote, se identificó la mejor respuesta en una forma consistente en la dosis más alta del regulador de crecimiento (C4: 6 mg/L) con valores de 26.67; 36.9 y 36.9 mm a los 45, 60 y 75 días respectivamente. Por el contrario, el promedio más bajo lo presentaron aquellos explantes que no recibieron regulador de crecimiento (C1: 0 mg/L) con un valor de 7.7, 9.3 y 9.3 mm para cada etapa de evaluación en su orden, no se observó un desarrollo longitudinal de brotes en los testigos.

Esta respuesta diferente entre dosis aplicadas puede deberse al genotipo de la planta, ya que la respuesta a los reguladores de crecimiento y sus dosis pueden variar entre diferentes variedades o genotipos de clavel y claro que esta respuesta

también guarda una estrecha relación con la edad del explante la cual puede influir en la eficacia de las dosis, ya que los explantes jóvenes pueden ser más receptivos que los explantes maduros.

- **Supuestos de normalidad NHB**

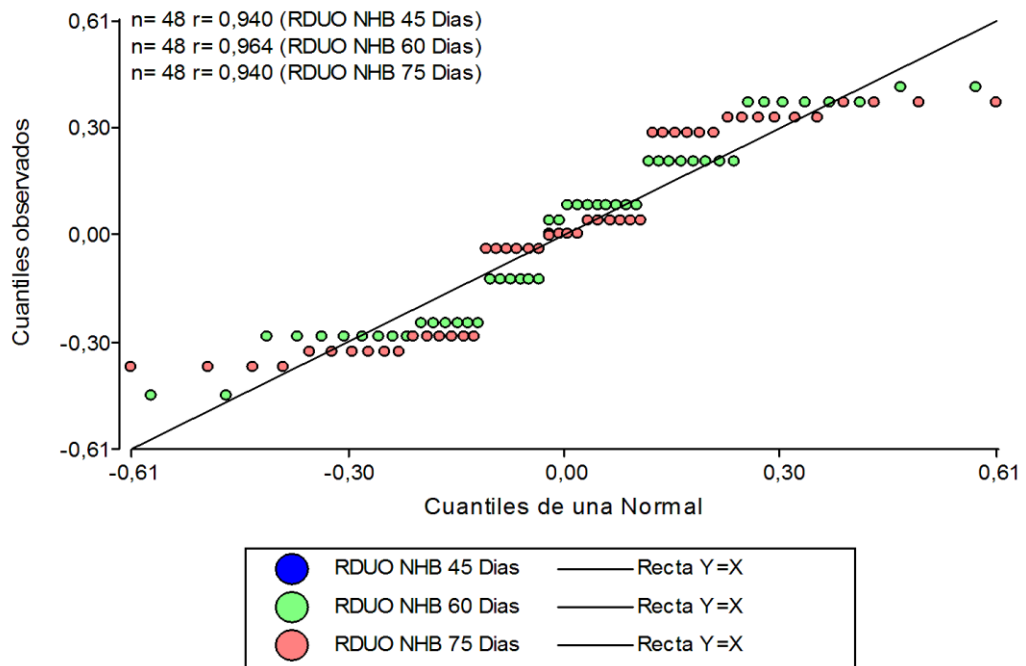
Cuadro N° 21

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks NHB

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO NHB 45 Dias	48	0	0,27	0,83	<0,0001
RDUO NHB 60 Dias	48	0	0,26	0,89	0,0002
RDUO NHB 75 Dias	48	0	0,27	0,83	<0,0001

Gráfico N°15

QQ-Plot NHB



- Supuestos de varianzas homogéneas NHB 45 días

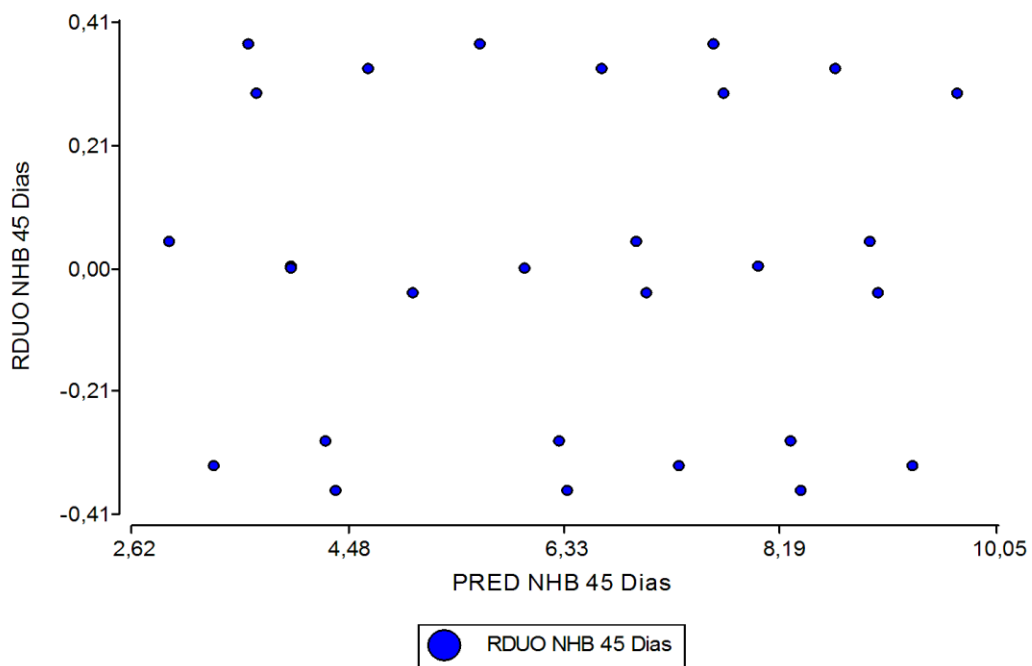
Cuadro N° 22

Prueba de Levene NHB 45 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,90E-03	5	5,80E-04	0,02	0,9997
FA	2,30E-03	1	2,30E-03	0,1	0,7539
FB	5,80E-04	1	5,80E-04	0,02	0,8754
FC	0	3	0	0	>0,9999
Error	0,98	42	0,02		
Total	0,98	47			

Gráfico N°16

Dispersión NHB 45 días



- Supuestos de varianzas homogéneas NHB 60 días

Cuadro N° 23

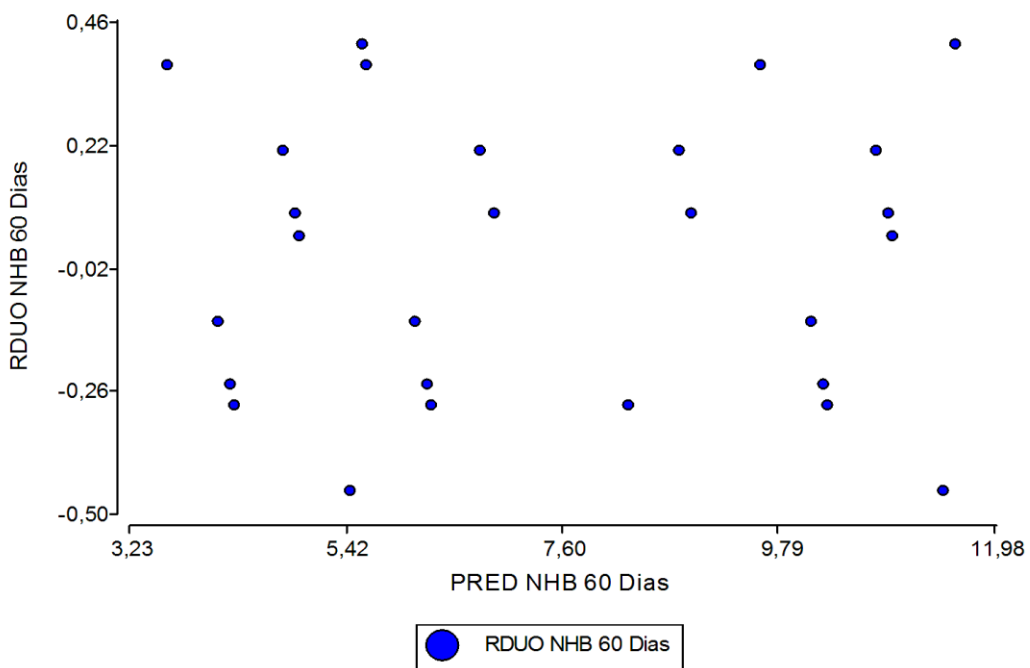
Prueba de Levene NHB 60 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,00E-02	5	2,80E-03	0,18	0,9669
FA	2,30E-03	1	2,30E-03	0,15	0,6969
FB	0,00E+00	1	0,00E+00	0	>0,9999

FC	0,01	3	3,90E-03	0,26	0,8563
Error	0,63	42	0,02		
Total	0,65	47			

Gráfico N°17

Dispersión NHB 60 días



- **Supuestos de varianzas homogéneas NHB 75 días**

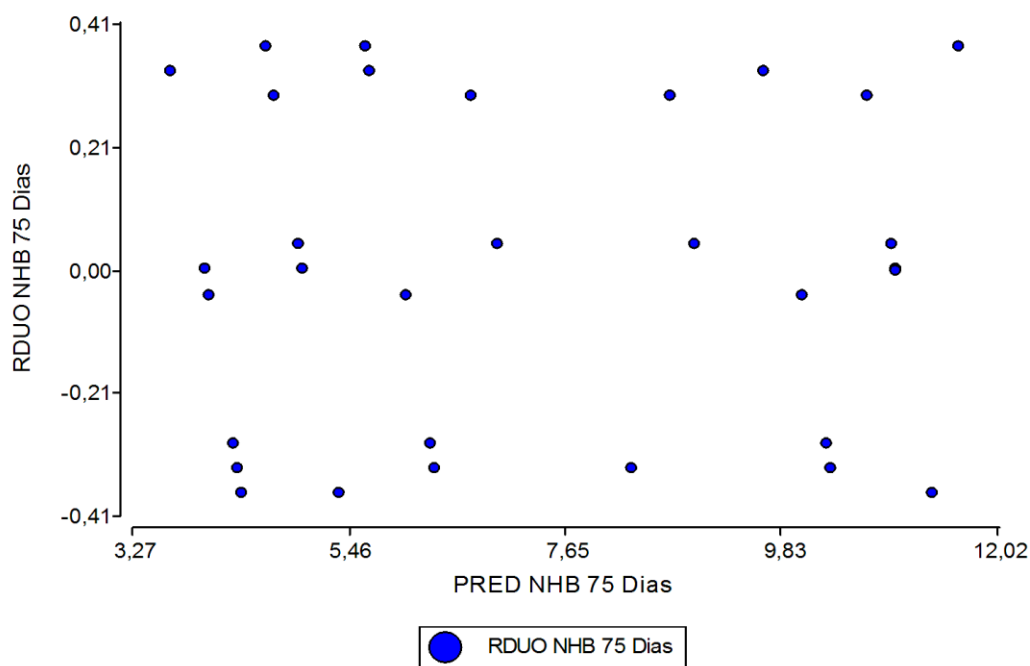
Cuadro N° 24

Prueba de Levene NHB 75 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,20E-03	5	2,30E-04	0,01	>0,9999
FA	0,00E+00	1	0,00E+00	0	>0,9999
FB	0,00E+00	1	0,00E+00	0	>0,9999
FC	1,20E-03	3	3,90E-04	0,02	0,997
Error	0,98	42	0,02		
Total	0,98	47			

Gráfico N°18

Dispersión NHB 75 días



- Número de hojas por brote (NHB) a los 45, 60 y 75 días.

Cuadro N° 25

ADEVA número de hojas por brotes (NHB) a los 45 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	215,75	17	12,69	108,78	< 0,0001
Repeticiones	4,5	2	2,25	19,29	< 0,0001
FA	18,75	1	18,75	160,71	< 0,0001
FB	18,75	1	18,75	160,71	< 0,0001
FC	114,92	3	38,31	328,33	< 0,0001
FA*FB	14,08	1	14,08	120,71	< 0,0001
FA*FC	23,58	3	7,86	67,38	< 0,0001
FB*FC	18,25	3	6,08	52,14	< 0,0001
FA*FB*FC	2,92	3	0,97	8,33	0,0004
Error	3,5	30	0,12		
Total	219,25	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro

presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor 0,0004; sobre el número de hojas por brotes.

Cuadro N° 26

ADEVA número de hojas por brotes (NHB) a los 60 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	288,08	17	16,95	160,54	< 0,0001
Repeticiones	3,5	2	1,75	16,58	< 0,0001
FA	24,08	1	24,08	228,16	< 0,0001
FB	6,75	1	6,75	63,95	< 0,0001
FC	178,92	3	59,64	565	< 0,0001
FA*FB	10,08	1	10,08	95,53	< 0,0001
FA*FC	16,92	3	5,64	53,42	< 0,0001
FB*FC	20,92	3	6,97	66,05	< 0,0001
FA*FB*FC	26,92	3	8,97	85	< 0,0001
Error	3,17	30	0,11		
Total	291,25	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la

reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre el número de hojas por brotes.

Cuadro N° 27

ADEVA número de hojas por brotes (NHB) a los 75 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	285,98	17	16,82	144,19	< 0,0001
Repeticiones	3,17	2	1,58	13,57	0,0001
FA	28,52	1	28,52	244,46	< 0,0001
FB	6,02	1	6,02	51,61	< 0,0001
FC	134,9	3	44,97	385,42	< 0,0001
FA*FB	4,69	1	4,69	40,18	< 0,0001
FA*FC	19,23	3	6,41	54,94	< 0,0001
FB*FC	31,06	3	10,35	88,75	< 0,0001
FA*FB*FC	58,4	3	19,47	166,85	< 0,0001
Error	3,5	30	0,12		
Total	289,48	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las

dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre el número de hojas por brotes.

Cuadro N° 28

Tukey al 5%, promedios, número de hojas por brote (NHB)

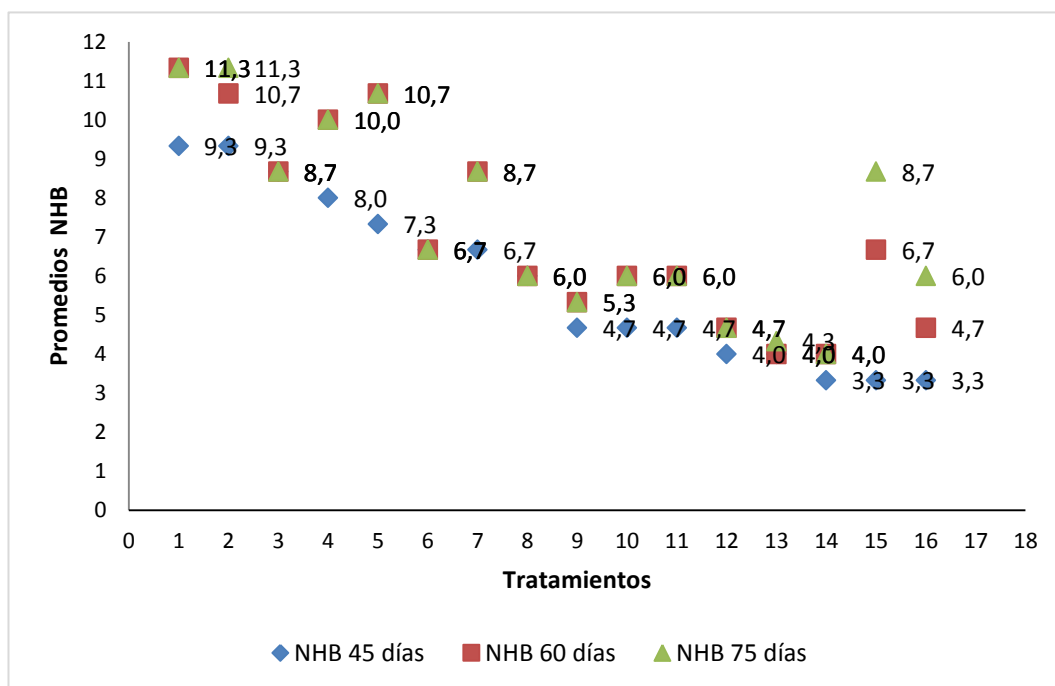
Número de hojas por brote			
Tratamientos	NHB 45 días	NHB 60 días	NHB 75 días
	Promedio	Promedio	Promedio
T8	9.3	11.3	11.3
	A	A	A
T7	9.3	10.7	11.3
	A	AB	A
T6	8.7	8.7	8.7
	AB	C	C
T16	8.0	10.0	10.0
	BC	B	B
T12	7.3	10.7	10.7
	CD	AB	AB
T2	6.7	6.7	6.7
	DE	D	D
T4	6.7	8.7	8.7
	DE	C	C
T15	6.0	6.0	6.0
	E	DE	DE
T11	4.7	5.3	5.3
	F	EF	EF
T3	4.7	6.0	6.0
	F	DE	DE
T10	4.7	6.0	6.0
	F	DE	DE
T14	4.0	4.7	4.7
	FG	FG	FG
T9	4.0	4.0	4.3
	FG	G	FG
T5	3.3	4.0	4.0
	G	G	G
T1	3.3	6.7	8.7
	G	D	C
T13	3.3	4.7	6.0
	G	FG	DE

CV	5.81%	4.56%	4.62%
Media general	5.9 (**)	7.1 (**)	7.4 (**)

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para tratamientos en la variable número de hojas por brote (NHB), registrado a los 45, 60 y 75 días.

Gráfico N°19

Promedios, número de hojas por brote



Los tratamientos (AxBxC) evaluados en esta investigación presentaron una respuesta estadística altamente significativa (**) con respecto a la variable número de hojas por explante a los 45, 60 y 75 días después del inicio del cultivo según el análisis de ADEVA, con un CV de 5.81%; 4.56% y 4.62% para cada etapa; en cuanto a la interacción de factores, estos resultados nos muestran la dependencia del regulador de crecimiento con las dosis aplicadas para el desarrollo de hojas por explante. En promedio general el NHE fue de 5.9, 7.1 y 7.4 correspondientes a su respectivo periodo de evaluación.

Al realizar la Tukey al 5% para separar medias de tratamientos en cuanto al NHB a los 45, 60 y 75 días, se determinó en forma similar que el T8 (A1xB2xC4) registró el mayor número con 9.3; 11.3 y 11.3 hojas por explante respectivamente, por el contrario, los menores promedios fueron cuantificados en el T1, T5 y T11

con 3.3 hojas para todos los tratamientos a los 45 días; mientras que el T9 y T5 a los 60 días presento 4 hojas por brote y finalmente el T5 con 4 hojas fue el de menor rango a los 75 días.

El crecimiento de hojas en los explantes de clavel es esencial para la fotosíntesis, la absorción de nutrientes, la producción de hormonas y metabolitos secundarios, y un desarrollo de la planta, por lo cual es trascendental promover un crecimiento saludable de las hojas para garantizar el éxito en la propagación y el cultivo de los claveles.

Cuadro N° 29

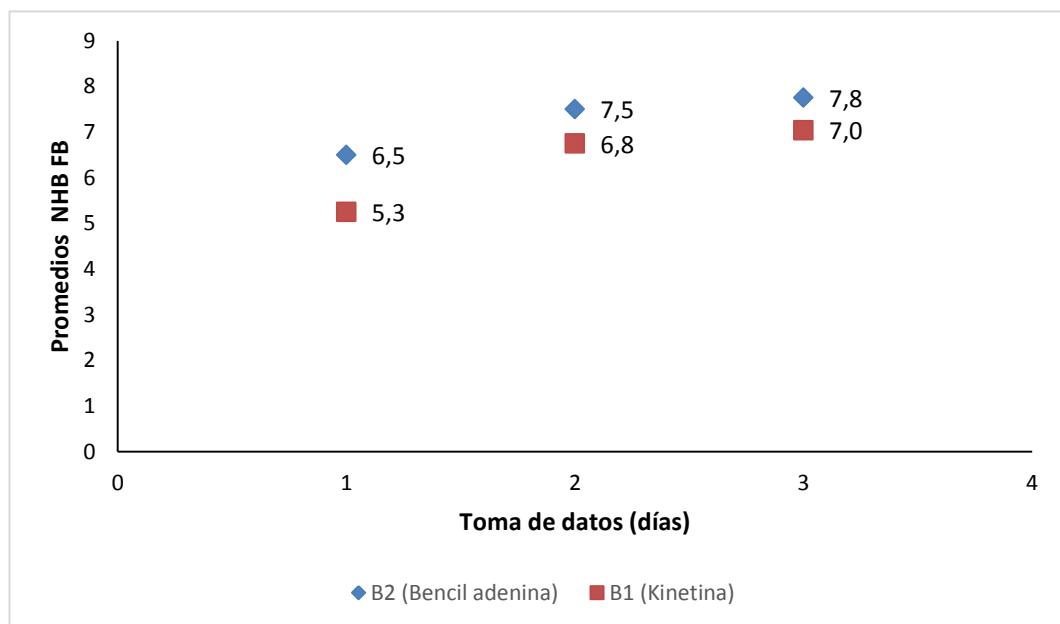
Factor B (Citoquininas) número de hojas por brote (NHB)

Número de hojas por brote			
Factor B (Citoquininas)	NHB 45 días	NHB 60 días	NHB 75 días
	Media	Media	Media
B2 (Bencil adenina)	6.5	7.5	7.8
B1 (Kinetina)	5.3	6.8	7.0
Efecto principal	1.3 (**)	0.8 (**)	0.7 (**)

Nota: Resultados del efecto principal para el Factor B (Citoquininas) en la variable número de hojas por brote (NHB), registrado a los 45, 60 y 75 días.

Gráfico N°20

Promedios, número de hojas por brote



La respuesta de las Citoquininas (factor B) sobre el número de hojas por brote en explantes de clavel fueron altamente significativas (**) a los 60, 75 y 90 días (Cuadro N° 29).

En forma consistente hubo una diferencia de 1.3 hojas a los 60 días, 0,8 hojas a los 75 días y 0.7 hojas a los 90 días como efecto principal de la hormona Bencil adenina (B2) sobre Kinetina (B1), dicha diferencia se vio favorecida por las características químicas, físicas y biológicas de B2.

Un factor a considerar para esta respuesta es que; la Benciladenina es soluble en agua y la Kinetina es ligeramente soluble en agua y la solución madre al ser elaborado en su mayoría por agua, se esperaría una respuesta más favorable de B2.

Cuadro N° 30

Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), número de hojas por brote (NHB)

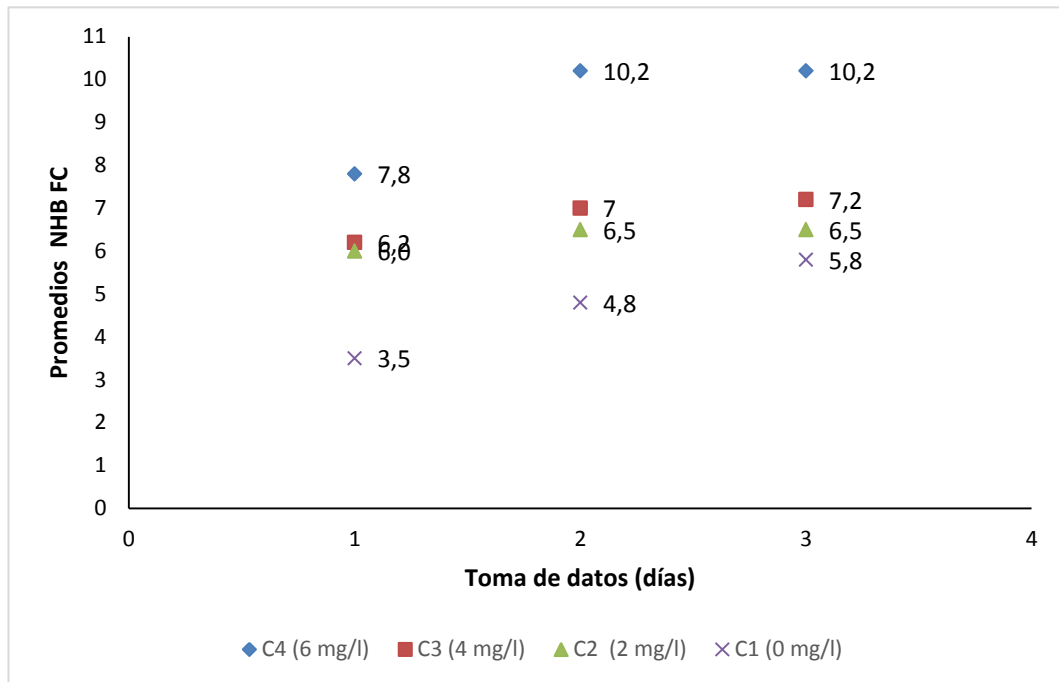
Número de hojas por brote			
Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento)	NHB 45 días (**)	NHB 60 días (**)	NHB 75 días (**)
	Medias	Medias	Medias
C4 (6 mg/L)	7.8	10.2	10.2
	A	A	A
C3 (4 mg/L)	6.2	7	7.2
	B	B	B
C2 (2 mg/L)	6.0	6.5	6.5
	B	C	C
C1 (0 mg/L)	3.5	4.8	5.8
	C	D	D

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento) en la variable número de hojas por brote (NHB), registrado a los 45, 60 y 75 días.

Una comparativa con el trabajo realizado por Mikhovich & Teteryuk (Anexo N°4), usado Murashige & Skoog (MS) and Woody Plant Medium (WPM) como medio de cultivo, se observa un resultado parecidos con un número de hojas de 5.7 con medio WPM.

Gráfico N°21

Promedios, número de hojas por brote



Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las diferentes dosis de reguladores de crecimiento (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron un efecto muy diferente (**) sobre el número de hojas por brote a los 60, 75 y 90 días de evaluación respectivamente.

Mediante la prueba de Tukey al 5% para promedios de factor C, en cuanto a la variable NHB, se identificó el mayor número en una forma consistente en la dosis más alta del regulador de crecimiento (C4: 6 mg/L) con 7.8; 10.2 y 10.2 hojas a los 60, 75 y 90 días respectivamente. Por el contrario, el promedio más bajo lo presentaron los brotes correspondientes a (C1: 0 mg/L) con un valor de 3.5, 4.8 y 5.8 hojas para cada etapa de evaluación en su orden, no se observó presencia considerable de hojas en los brotes de los testigos.

Como se infirió anteriormente la respuesta del NHE a diferentes dosis de las hormonas se debe a; la concentración del regulador de crecimiento; es decir concentraciones demasiado altas o demasiado bajas pueden tener efectos no

deseados en el crecimiento de las hojas de los explantes, como se comprueba en este ensayo.

- Supuestos de normalidad DER

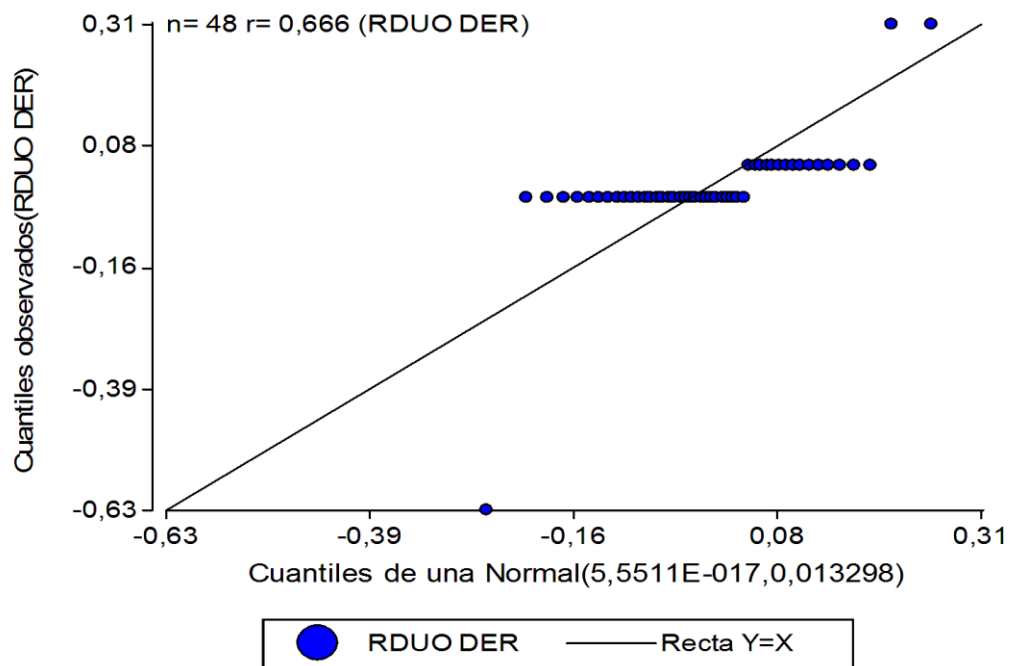
Cuadro N° 31

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks DER

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO DER	48	0	0,12	0,54	<0,0001

Gráfico N°22

QQ-Plot DER



- Supuestos de varianzas homogéneas DER 75 días

Cuadro N° 32

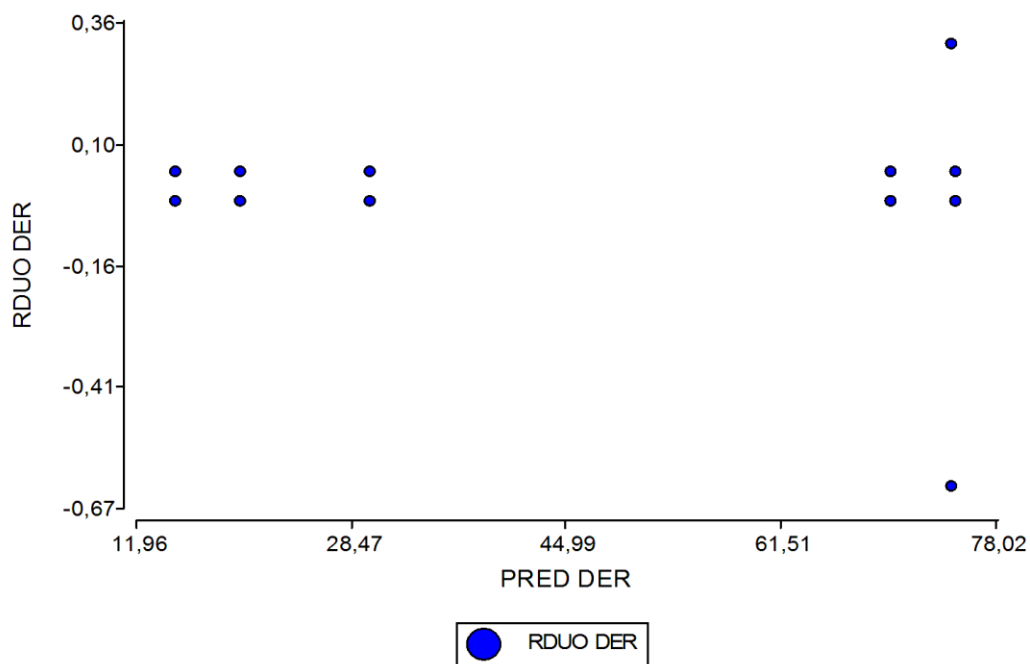
Prueba de Levene DER 75 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,14	5	0,03	3,37	0,0119
FA	0,03	1	0,03	3,37	0,0733
FB	0,03	1	0,03	3,37	0,0733
FC	0,09	3	0,03	3,37	0,0271

<i>Error</i>	0,35	42	0,01
<i>Total</i>	0,49	47	

Gráfico N°23

Dispersión DER 75 días



- **Días a la emisión de raíces (DER) a los 75 días**

Cuadro N° 33

ADEVA días a la emisión de raíces (DER) a los 75 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
<i>Modelo</i>	18140,04	17	1067,06	51218,94	< 0,0001
<i>Repeticiones</i>	0,04	2	0,02	1	0,3798
<i>FA</i>	1344,08	1	1344,08	64516	< 0,0001
<i>FB</i>	234,08	1	234,08	11236	< 0,0001
<i>FC</i>	12933,5	3	4311,17	206936	< 0,0001
<i>FA*FB</i>	40,33	1	40,33	1936	< 0,0001
<i>FA*FC</i>	974,75	3	324,92	15596	< 0,0001
<i>FB*FC</i>	1229,75	3	409,92	19676	< 0,0001
<i>FA*FB*FC</i>	1383,5	3	461,17	22136	< 0,0001
<i>Error</i>	0,62	30	0,02		
<i>Total</i>	18140,67	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre los días a emisión de raíz en una mayoría al 50% del número total de tratamientos.

La razón de la toma de datos y la extensión en la toma de datos en el proyecto, se debió a la tardía repuesta de los explantes en la emisión de raíces, lo que nos sugiere inferir se debió a la sección del clavel usada, siendo esta la sección baja de la planta madre.

Cuadro N° 34

Tukey al 5%, días a la emisión de raíces (DER)

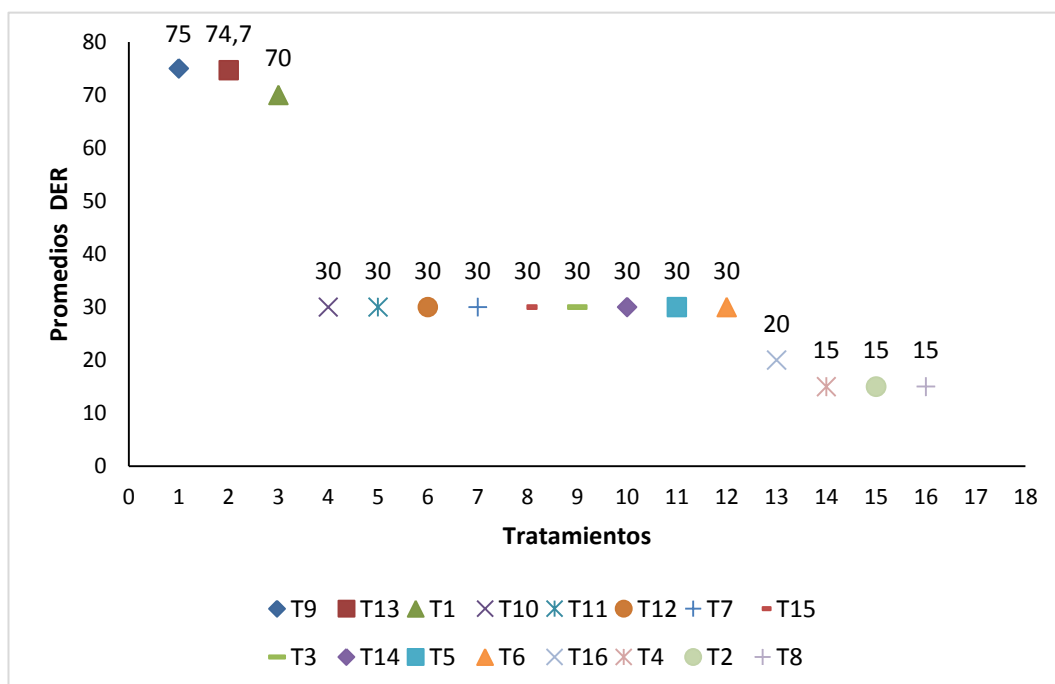
Días a la emisión de raíces		
Tratamientos	Promedio	Rango
T9	75	A
T13	74.7	A
T1	70	B
T10	30	C
T11	30	C
T12	30	C
T7	30	C
T15	30	C

T3	30	C
T14	30	C
T5	30	C
T6	30	C
T16	20	D
T4	15	E
T2	15	E
T8	15	E
CV	0.42%	
Media general	34.7 días (**)	

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para tratamientos en la variable días a la emisión de raíces (DER).

Gráfico N°24

Promedios, días a la emisión de raíces



En cuanto a los días transcurridos para la emisión de raíces de los explantes según el análisis de varianza (ADEVA), los tratamientos presentaron promedios muy diferentes (**); en cuanto a la interacción de factores estos mostraron ser dependientes, es decir la respuesta de los reguladores de crecimiento dependió de las dosis aplicadas sobre el estudio de esta variable. En este análisis se determinó un CV de 0.42%. En promedio general se determinó la emisión de raíces en los explantes a los 34.7 (35) días, en este ensayo. Según la prueba de Tukey al 5%

realizada para separar medias de tratamientos se identificó que el más tardío fue T9 con 75 días a la emisión de raíces y los más precoces fueron T2, T4 y T8 con 15 días.

El uso de reguladores de crecimiento y enraizamiento, puede acelerar el proceso en los explantes como así se muestra en estos resultados, las condiciones ambientales: como temperatura, humedad, luz y sobre todo la calidad del sustrato pueden afectar la velocidad de enraizamiento de los explantes, además de la técnica utilizada para la propagación.

Cuadro N° 35

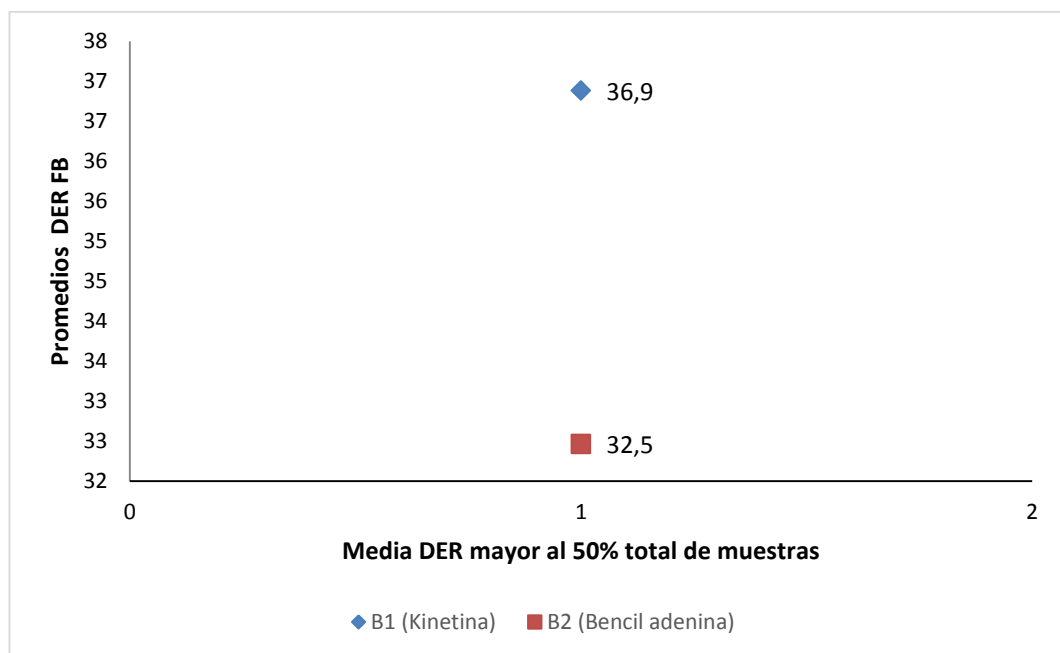
Tukey al 5%, factor B (Citoquininas), días a la emisión de raíces (DER)

Días a la emisión de raíces	
Factor B (Citoquininas)	DER
	Media
B1 (Kinetina)	36.9
B2 (Bencil adenina)	32.5
Efecto principal	4.4 días (**)

Nota: Resultados del efecto principal para el Factor B (Citoquininas) en la variable días a la emisión de raíces (DER).

Gráfico N°25

Promedios, días a la emisión de raíces



Existió un efecto principal altamente significativo (**) entre componentes del factor C, el cual fue un incremento de 4.4 (4) hojas por brote al aplicar B1 (Kinetina) con respecto a B2 (Bencil adenina); los promedios obtenidos al aplicar estos reguladores fueron de 36.9, y 32.5 hojas respectiva, mente

Cuadro N° 36

Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), días a la emisión de raíces (DER)

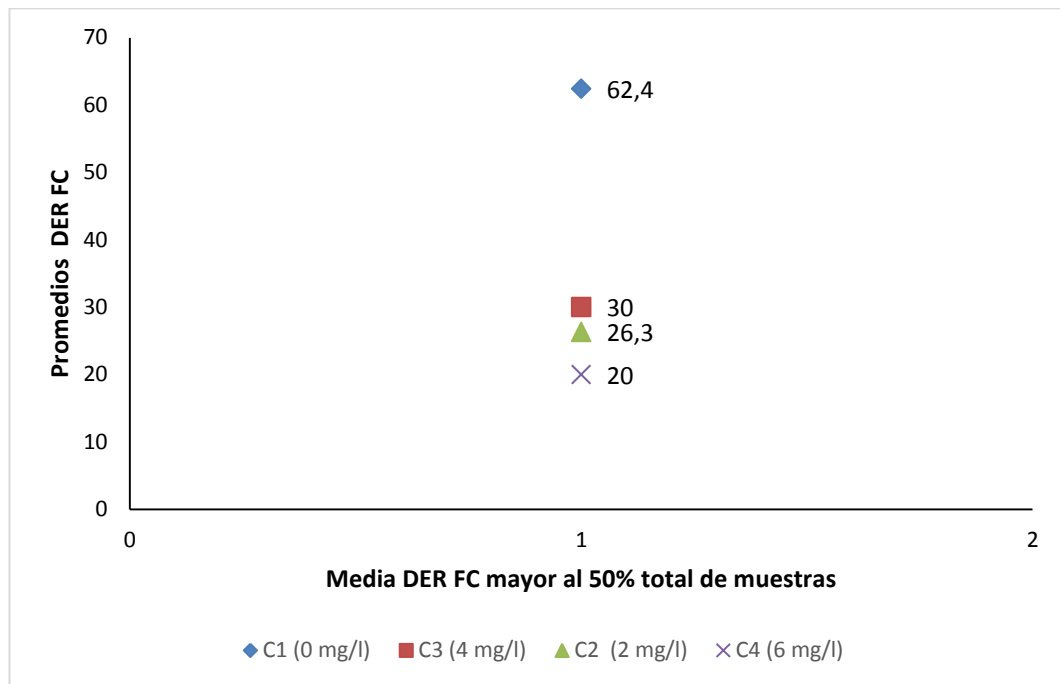
Días a la emisión de raíces	
Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento)	DER (**)
	Medias
C1 (0 mg/L)	62.4
	A
C3 (4 mg/L)	30
	B
C2 (2 mg/L)	26.3
	C
C4 (6 mg/L)	20
	D

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento) en la variable días a la emisión de raíces (DER)

Una comparativa con el trabajo realizado por Ali, Afrasiab, Naz, Rauf, & Iqbal (Anexo N°5), se observa resultados diferentes con un intervalo de 4 a 9 días a la emisión de raíces.

Gráfico N°26

Promedios, días a la emisión de raíces



La respuesta de las diferentes dosis de reguladores de crecimiento aplicados en el cultivo in vitro de explantes de clavel sobre la variable días a la formación de raíces fue totalmente diferente (**) según el análisis de varianza.

Mediante la prueba de Tukey al 5% realizado para separar las medias del factor C en cuanto a la variable DER, se evidencio que la mayor precocidad lo obtuvo la dosis 6 mg/L (C4) con 20 días; por el contrario, el tratamiento más tardío se identificó en la dosis 0 mg/L (C1) con 64.2 días la cual ocupó el primer rango de la prueba. Estos resultados diferentes nos confirman que las dosis más altas (C4) aplicadas en la evaluación tienden a dar mayor precocidad en la aparición de raíces, lo cual favorece a un mejor desarrollo de los explantes.

- Supuestos de normalidad NR

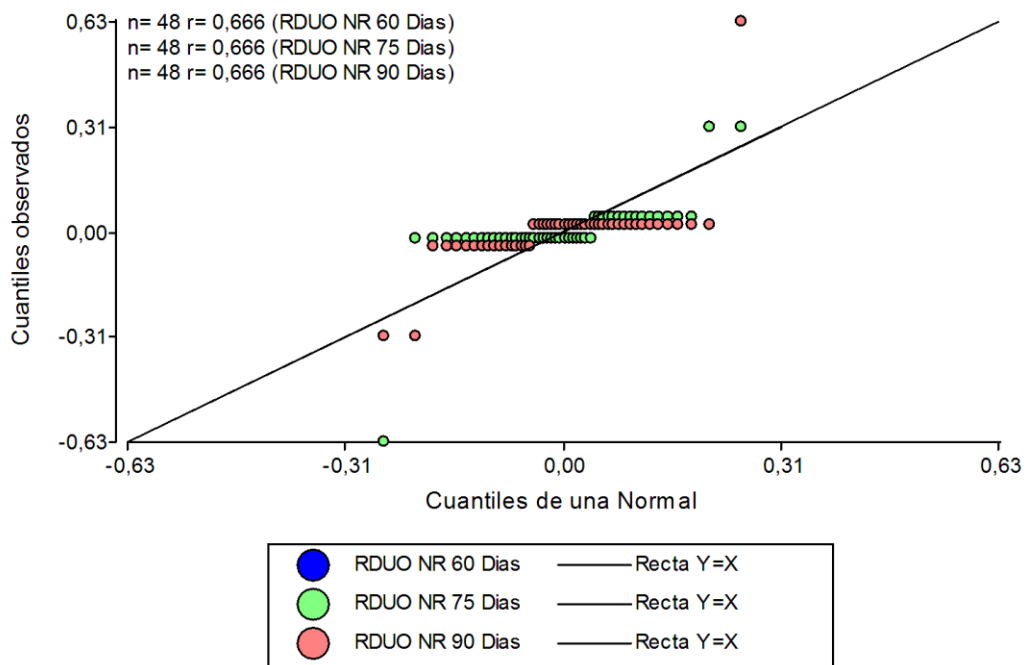
Cuadro N° 37

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks NR

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
<i>RDUO NR 60 Dias</i>	48	0	0,12	0,54	<0,0001
<i>RDUO NR 75 Dias</i>	48	0	0,12	0,54	<0,0001
<i>RDUO NR 90 Dias</i>	48	0	0,12	0,54	<0,0001

Gráfico N°27

QQ-Plot NR



- Supuestos de varianzas homogéneas NR 60 días

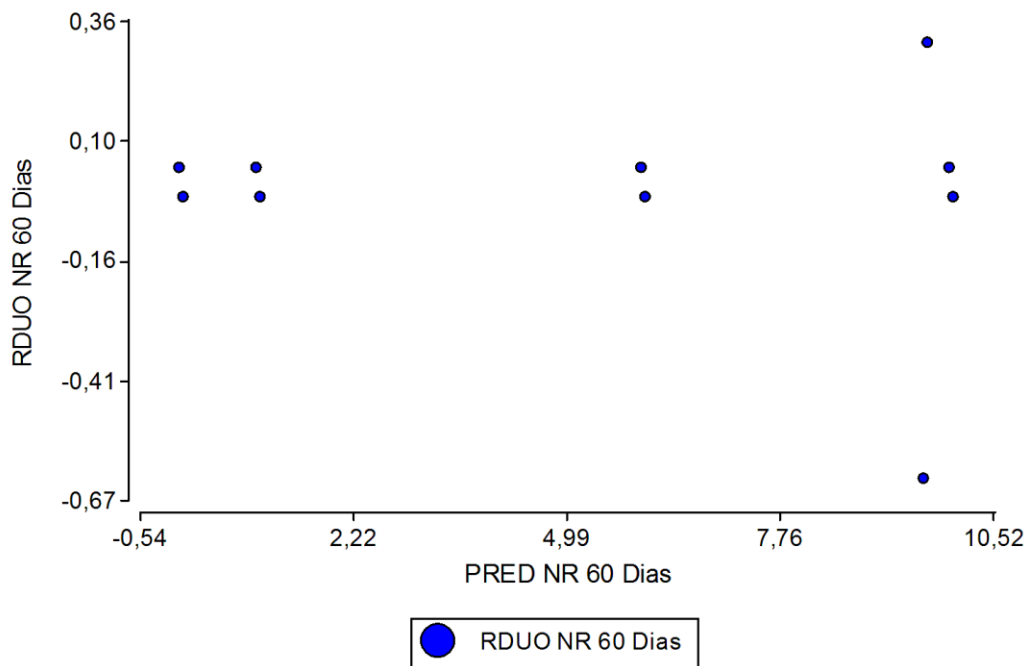
Cuadro N° 38

Prueba de Levene NR 60 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,14	5	0,03	3,37	0,0119
FA	0,03	1	0,03	3,37	0,0733
FB	0,03	1	0,03	3,37	0,0733
FC	0,09	3	0,03	3,37	0,0271
Error	0,35	42	0,01		
Total	0,49	47			

Gráfico N°28

Dispersión NR 60 días



- Supuestos de varianzas homogéneas NR 75 días

Cuadro N° 39

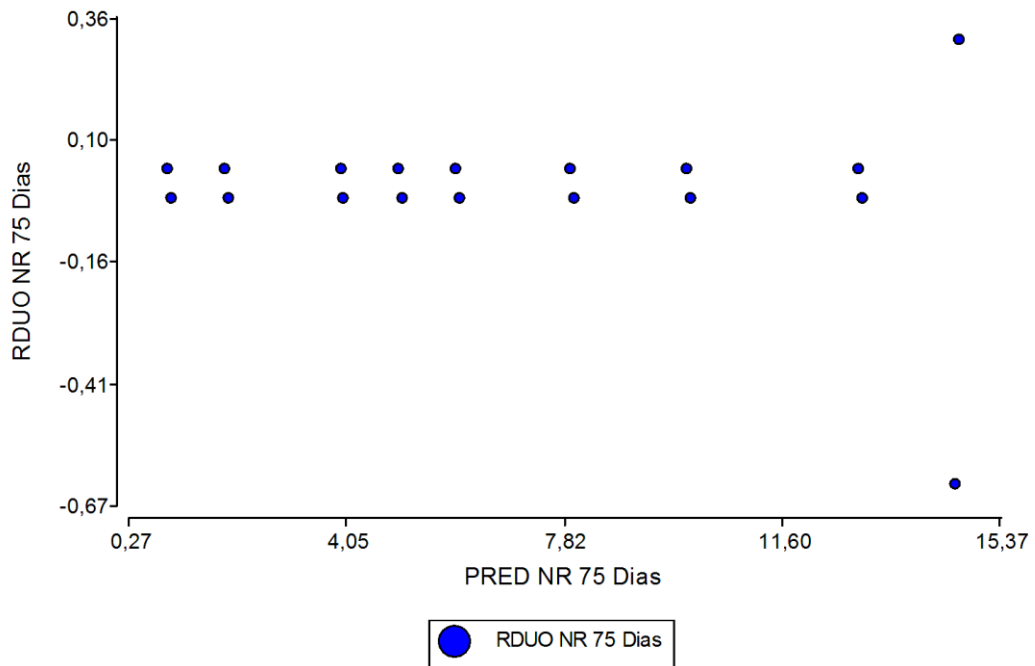
Prueba de Levene NR 75 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,14	5	0,03	3,37	0,0119
FA	0,03	1	0,03	3,37	0,0733
FB	0,03	1	0,03	3,37	0,0733

FC	0,09	3	0,03	3,37	0,0271
Error	0,35	42	0,01		
Total	0,49	47			

Gráfico N°29

Dispersión NR 75 días



- **Supuestos de varianzas homogéneas NR 90 días**

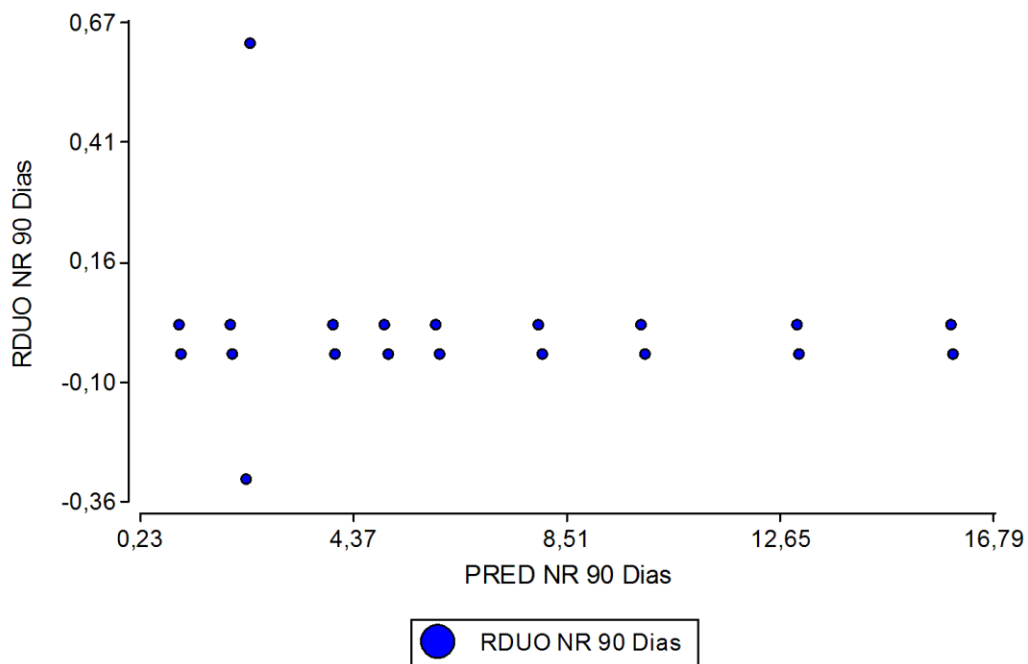
Cuadro N° 40

Prueba de Levene NR 90 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,14	5	0,03	3,37	0,0119
FA	0,03	1	0,03	3,37	0,0733
FB	0,03	1	0,03	3,37	0,0733
FC	0,09	3	0,03	3,37	0,0271
Error	0,35	42	0,01		
Total	0,49	47			

Gráfico N°30

Dispersión NR 90 días



- Número de raíces (NR) a los 60, 75 y 90 días

Cuadro N° 41

ADEVA número de raíces (NR) a los 60 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	513,29	17	30,19	1449,29	< 0,0001
Repeticiones	0,04	2	0,02	1	0,3798
FA	154,08	1	154,08	7396	< 0,0001
FB	0,08	1	0,08	4	0,0546
FC	164,25	3	54,75	2628	< 0,0001
FA*FB	0,08	1	0,08	4	0,0546
FA*FC	118,25	3	39,42	1892	< 0,0001
FB*FC	38,25	3	12,75	612	< 0,0001
FA*FB*FC	38,25	3	12,75	612	< 0,0001
Error	0,62	30	0,02		
Total	513,92	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-

valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor 0,0546; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron no significancia (ns) con un p-valor 0,0546; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre el número de raíces.

Cuadro N° 42

ADEVA número de raíces (NR) a los 75 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	796,85	17	46,87	2249,94	< 0,0001
Repeticiones	0,04	2	0,02	1	0,3798
FA	212,52	1	212,52	10201	< 0,0001
FB	2,52	1	2,52	121	< 0,0001
FC	200,56	3	66,85	3209	< 0,0001
FA*FB	46,02	1	46,02	2209	< 0,0001
FA*FC	217,56	3	72,52	3481	< 0,0001
FB*FC	99,56	3	33,19	1593	< 0,0001
FA*FB*FC	18,06	3	6,02	289	< 0,0001
Error	0,62	30	0,02		
Total	797,48	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de

las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre el número de raíces.

Cuadro N° 43

ADEVA número de raíces (NR) a los 90 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	867,29	17	51,02	2448,82	< 0,0001
Repeticiones	0,04	2	0,02	1	0,3798
FA	225,33	1	225,33	10816	< 0,0001
FB	5,33	1	5,33	256	< 0,0001
FC	230,25	3	76,75	3684	< 0,0001
FA*FB	52,08	1	52,08	2500	< 0,0001
FA*FC	238	3	79,33	3808	< 0,0001
FB*FC	98	3	32,67	1568	< 0,0001
FA*FB*FC	18,25	3	6,08	292	< 0,0001
Error	0,63	30	0,02		
Total	867,92	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**)

con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre el número de raíces.

Cuadro N° 44

Tukey al 5%, número de raíces (NR)

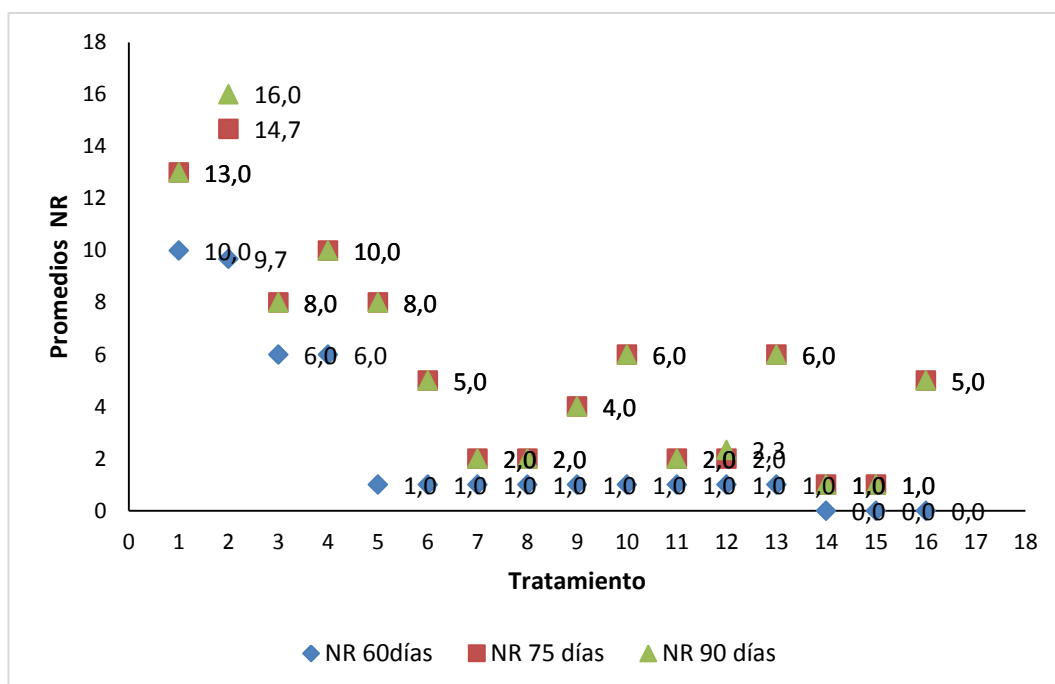
Número de raíces			
Tratamientos	NR 60días	NR 75 días	NR 90 días
	Promedio	Promedio	Promedio
T4	10.0	13.0	13.0
	A	B	B
T8	9.7	14.7	16.0
	A	A	A
T7	6.0	8.0	8.0
	B	D	D
T2	6.0	10.0	10.0
	B	C	C
T6	1.0	8.0	8.0
	C	D	D
T5	1.0	5.0	5.0
	C	F	F
T3	1.0	2.0	2.0
	C	H	H
T11	1.0	2.0	2.0
	C	H	H
T12	1.0	4.0	4.0
	C	G	G
T15	1.0	6.0	6.0
	C	E	E
T14	1.0	2.0	2.0
	C	H	H
T16	1.0	2.0	2.3
	C	H	H
T10	1.0	6.0	6.0
	C	E	E
T1	0.0	1.0	1.0
	D	I	I
T13	0.0	1.0	1.0
	D	I	I
T9	0.0	5.0	5.0

	D	F	F
CV	5.68%	2.58%	2.53%
Media general	2.5 (**)	5.6 (**)	5.7 (**)

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para tratamientos en la variable número de raíces (NR), registrado a los 60, 75 y 90 días.

Gráfico N°31

Promedios, número de raíces (NR)



Según el análisis de varianza ADEVA existió una respuesta estadística de los tratamientos (AxBxC) evaluados en esta investigación altamente significativos (**) con respecto a la variable número de raíces a los 60, 75 y 90 días y un CV de 5.68%; 2.58% y 2.53% para cada etapa, estos resultados del CV nos demuestran el buen manejo del ensayo en laboratorio. La interacción de factores AxBxC, (**) nos manifiestan la dependencia de los mismos. En promedio general se registró 2.5 raíces/explante a los 60 días; 5.6 raíces/explante a los 75 días y 5.7 raíces/explante a los 90 días.

Mediante la prueba de Tukey 5% realizada para separar medias de tratamientos en cuanto al NR a los 60 días, se identificó el mayor promedio en T4 (A1xB1xC4) con 10 raíces formadas por explante, por el contrario, a los 75 y 90 días el número

más elevado fue cuantificado en el T8 con 14.7 y 16 en cada etapa respectivamente. Se hace mención que a los 60 días los tratamientos T1, T9 y T13 no registraron presencia de raíces, sin embargo; a los 75 y 90 días solo el T1 y T13 indicaron 1 raicilla/explante por lo que estos tratamientos fueron considerados con los de menores promedios.

El número de raíces evaluadas a los 60, 75 y 90 días en esta investigación presentaron diferencias entre tratamientos, esto debido a lo manifestado anteriormente, donde se refiere a la calidad y tipo de explante utilizado, condiciones ambientales y técnicas de propagación especialmente pH de agua donde; estos factores pueden interactuar.

Cuadro N° 45

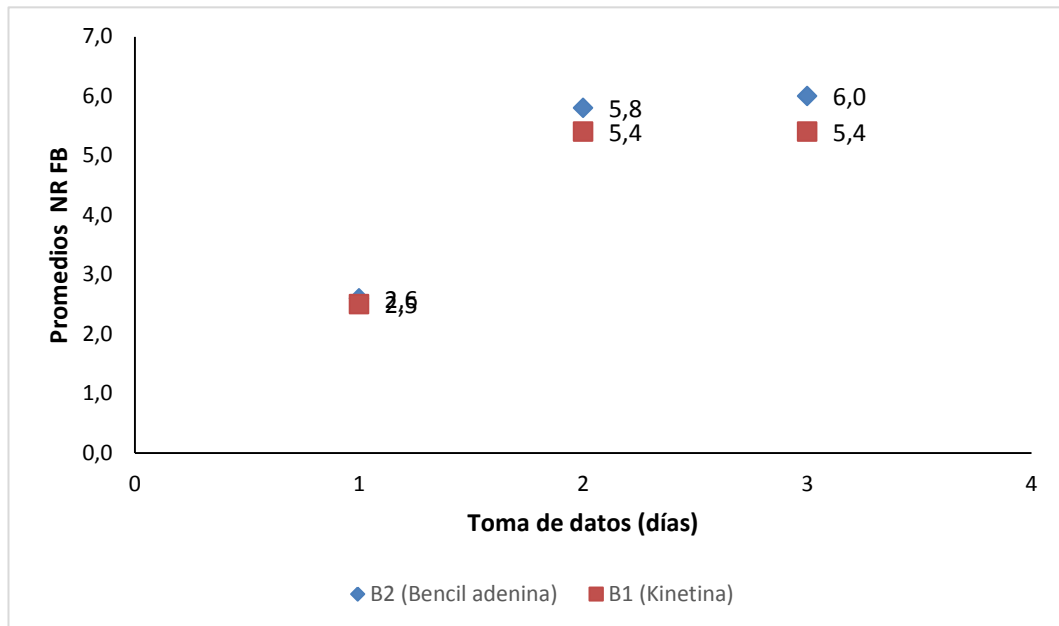
Tukey al 5%, factor B (Citoquininas), número de raíces (NR)

Número de raíces			
Factor B (Citoquininas)	NR 60 días	NR 75 días	NR 90 días
	Media	Media	Media
B2 (Bencil adenina)	2.6	5.8	6.0
B1 (Kinetina)	2.5	5.4	5.4
Efecto principal	0.1 (NS)	0.4 (**)	0.6 (**)

Nota: Resultados del efecto principal para el Factor B (Citoquininas) en la variable número de raíces (NR), registrado a los 60, 75 y 90 días.

Gráfico N°32

Promedios, número de raíces (NR)



Las Citoquininas (factor B) evaluadas en esta investigación tuvo una respuesta similar (NS) sobre la formación de hojas por brote en explantes de clavel evaluadas a los 60 días, mientras que esta fue muy diferente (**) a los 75 y 90 días (Cuadro N° 45).

Existió una diferencia muy significativa de 0.4 hojas a los 75 días y 0.6 hojas a los 90 días como efecto principal de la hormona Bencil adenina (B2) sobre Kinetina (B1), dicha diferencia no fue significativa a los 60 días (0.1 hojas). La aplicación de los dos reguladores de crecimiento dio como resultado la organogénesis directa en los explantes obteniéndose raíces de clavel a los 75 y 90 días.

La respuesta similar a los 60 días se dio por que inicialmente a todos los tratamientos con excepción de los testigos se aplicó enraizante en la solución madre, sin embargo; hay que recordar que los factores anteriormente analizados pueden interactuar de manera compleja para determinar la velocidad de enraizamiento de los explantes de claveles. Al comprender y controlar estos

factores, es posible optimizar el proceso de enraizamiento y mejorar la eficiencia de la propagación de los claveles.

Cuadro N° 46

Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), número de raíces (NR)

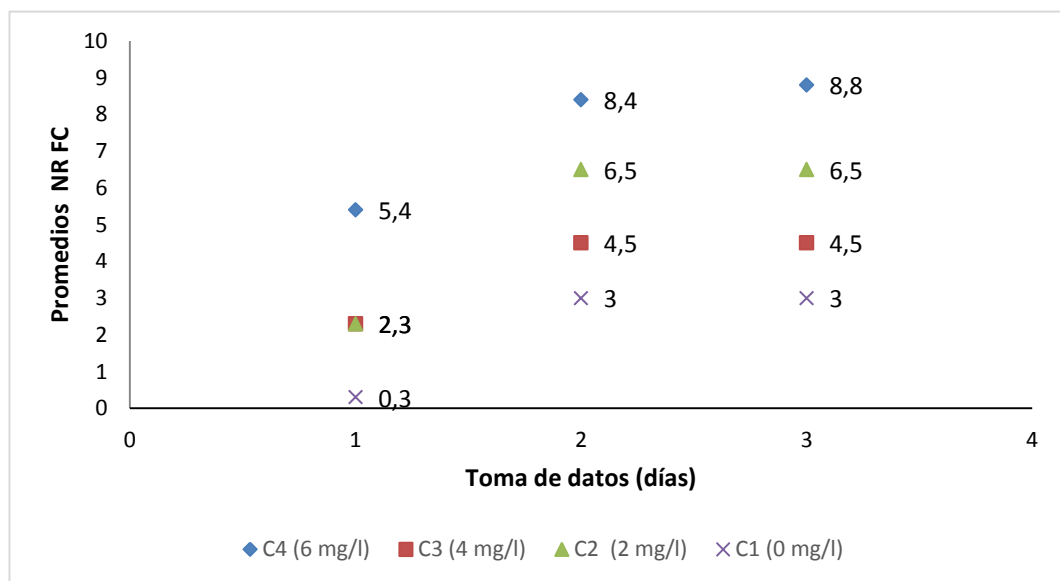
Número de raíces			
Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento)	NR 60 días (**)	NR 75 días (**)	NR 90 días (**)
	Medias	Medias	Medias
C4 (6 mg/L)	5.4	8.4	8.8
	A	A	A
C3 (4 mg/L)	2.3	4.5	4.5
	B	C	B
C2 (2 mg/L)	2.3	6.5	6.5
	B	B	C
C1 (0 mg/L)	0.3	3	3
	C	D	D

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento) en la variable número de raíces (NR), registrado a los 60, 75 y 90 días.

No se encontraron trabajos previos en un rango de 5 o 10 años previos a esta investigación que tome en cuenta esta variable como parte de la toma de datos.

Gráfico N°33

Promedios, variable número de raíces



Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las diferentes dosis de reguladores de crecimiento (Factor C) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron un efecto muy diferente (**) sobre el número de raíces a los 60, 75 y 90 días.

Mediante la prueba de Tukey al 5% para promedios del factor C, en cuanto a la variable NR, se identificó el mayor número en una forma consistente en la dosis más alta del regulador de crecimiento (C4: 6 mg/L) con 5.4; 8.4 y 8.8 raíces, a los 60, 75 y 90 días respectivamente. Por el contrario, el promedio más bajo lo presentaron aquellos explantes correspondientes a (C1: 0 mg/L) con un valor de 0.3, 3 y 3 raíces para cada etapa de evaluación en su orden, se observó presencia considerable de raicillas diminutas en los testigos, estos datos nos confirman que un explante sin regulador de crecimiento tarda mucho tiempo en formar raíces.

- **Supuestos de normalidad LR**

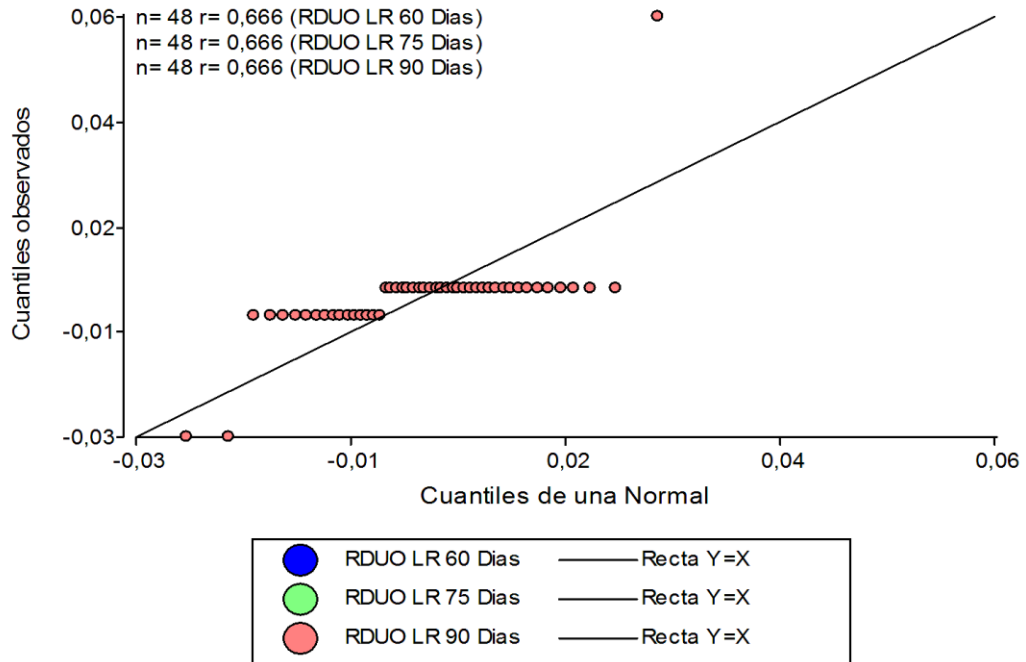
Cuadro N° 47

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks LR

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
<i>RDUO NR 60 Dias</i>	48	0	0,12	0,54	<0,0001
<i>RDUO NR 75 Dias</i>	48	0	0,12	0,54	<0,0001
<i>RDUO NR 90 Dias</i>	48	0	0,12	0,54	<0,0001

Gráfico N°34

QQ-Plot LR



- Supuestos de varianzas homogéneas LR

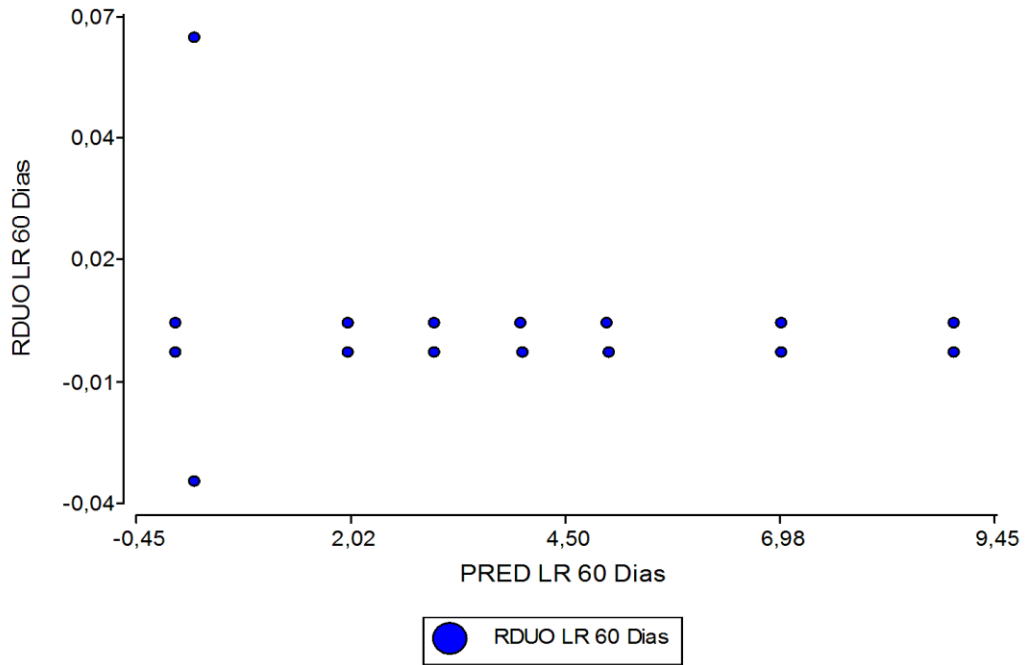
Cuadro N° 48

Prueba de Levene NR 60 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,40E-03	5	2,80E-04	3,37	0,0119
FA	2,80E-04	1	2,80E-04	3,37	0,0733
FB	2,80E-04	1	2,80E-04	3,37	0,0733
FC	8,50E-04	3	2,80E-04	3,37	0,0271
Error	3,50E-03	42	8,40E-05		
Total	4,90E-03	47			

Gráfico N°35

Dispersión LR 60 días



- **Supuestos de varianzas homogéneas LR 75 días**

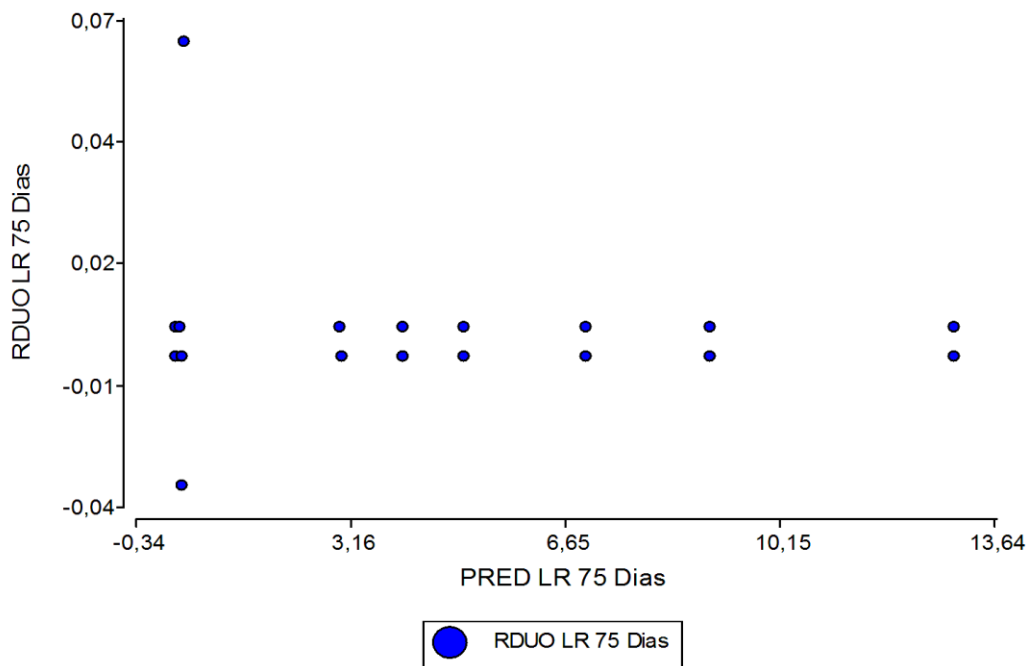
Cuadro N° 49

Prueba de Levene NR 75 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,40E-03	5	2,80E-04	3,37	0,0119
FA	2,80E-04	1	2,80E-04	3,37	0,0733
FB	2,80E-04	1	2,80E-04	3,37	0,0733
FC	8,50E-04	3	2,80E-04	3,37	0,0271
Error	3,50E-03	42	8,40E-05		
Total	4,90E-03	47			

Gráfico N°36

Dispersión NR 75 días



- Supuestos de varianzas homogéneas LR 90 días

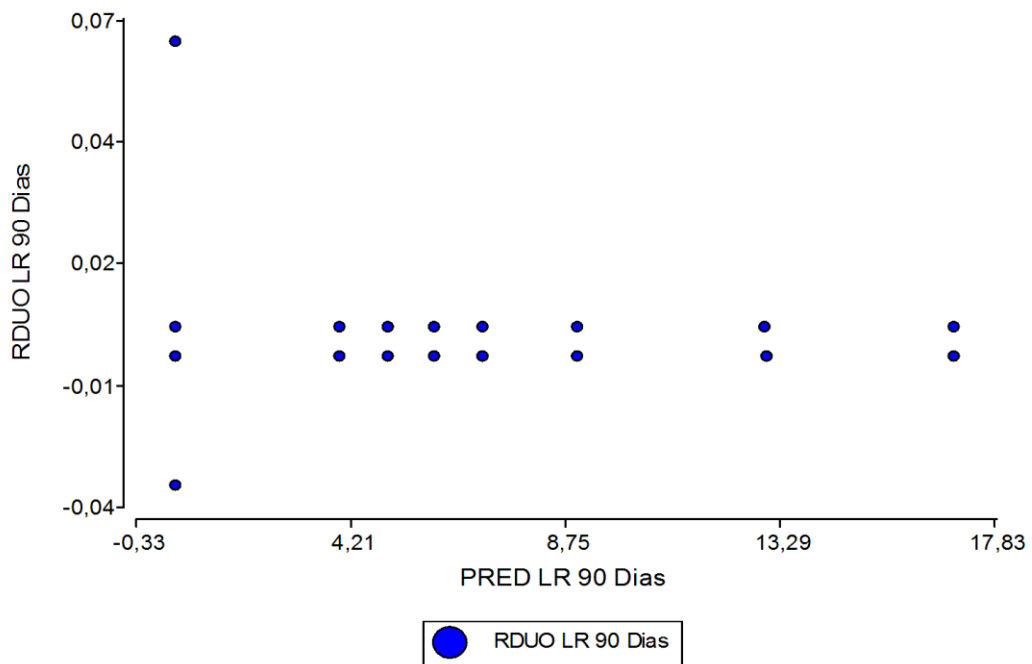
Cuadro N° 50

Prueba de Levene LR 90 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,40E-03	5	2,80E-04	3,37	0,0119
FA	2,80E-04	1	2,80E-04	3,37	0,0733
FB	2,80E-04	1	2,80E-04	3,37	0,0733
FC	8,50E-04	3	2,80E-04	3,37	0,0271
Error	3,50E-03	42	8,40E-05		
Total	4,90E-03	47			

Gráfico N°37

Dispersión LR 90 días



- Longitud de raíz (LR) a los 60, 75 y 90 días

Cuadro N° 51

ADEVA longitud de raíz (LR) a los 60 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	293,3	17	17,25	82815,12	< 0,0001
Repeticiones	0	2	0	1	0,3798
FA	76,76	1	76,76	368449	< 0,0001
FB	0,01	1	0,01	49	< 0,0001
FC	149,18	3	49,73	238689	< 0,0001
FA*FB	0,01	1	0,01	49	< 0,0001
FA*FC	55,28	3	18,43	88449	< 0,0001
FB*FC	6,03	3	2,01	9649	< 0,0001
FA*FB*FC	6,03	3	2,01	9649	< 0,0001
Error	0,01	30	0		
Total	293,31	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-

valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre la longitud de raíz.

Cuadro N° 52

ADEVA longitud de raíz (LR) a los 75 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	517,99	17	30,47	146256,12	< 0,0001
Repeticiones	0	2	0	1	0,3798
FA	53,76	1	53,76	258064	< 0,0001
FB	0,24	1	0,24	1156	< 0,0001
FC	350,71	3	116,9	561136	< 0,0001
FA*FB	0,24	1	0,24	1156	< 0,0001
FA*FC	63,99	3	21,33	102384	< 0,0001
FB*FC	33,52	3	11,17	53636	< 0,0001
FA*FB*FC	15,52	3	5,17	24836	< 0,0001
Error	0,01	30	0		
Total	518	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de

las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre la longitud de raíz.

Cuadro N° 53

ADEVA longitud de raíz (LR) a los 90 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	957,25	17	56,31	270283,35	< 0,0001
Repeticiones	0	2	0	1	0,3800
FA	158,05	1	158,05	758641	< 0,0001
FB	0,2	1	0,2	961	< 0,0001
FC	604	3	201,33	966401	< 0,0001
FA*FB	9,28	1	9,28	44521	< 0,0001
FA*FC	130,7	3	43,57	209121	< 0,0001
FB*FC	33,55	3	11,18	53681	< 0,0001
FA*FB*FC	21,48	3	7,16	34361	< 0,0001
Error	0,01	30	0		
Total	957,26	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas

(FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor < 0,0001; sobre la longitud de raíz.

Cuadro N° 54

Tukey al 5%, longitud de raíz (LR)

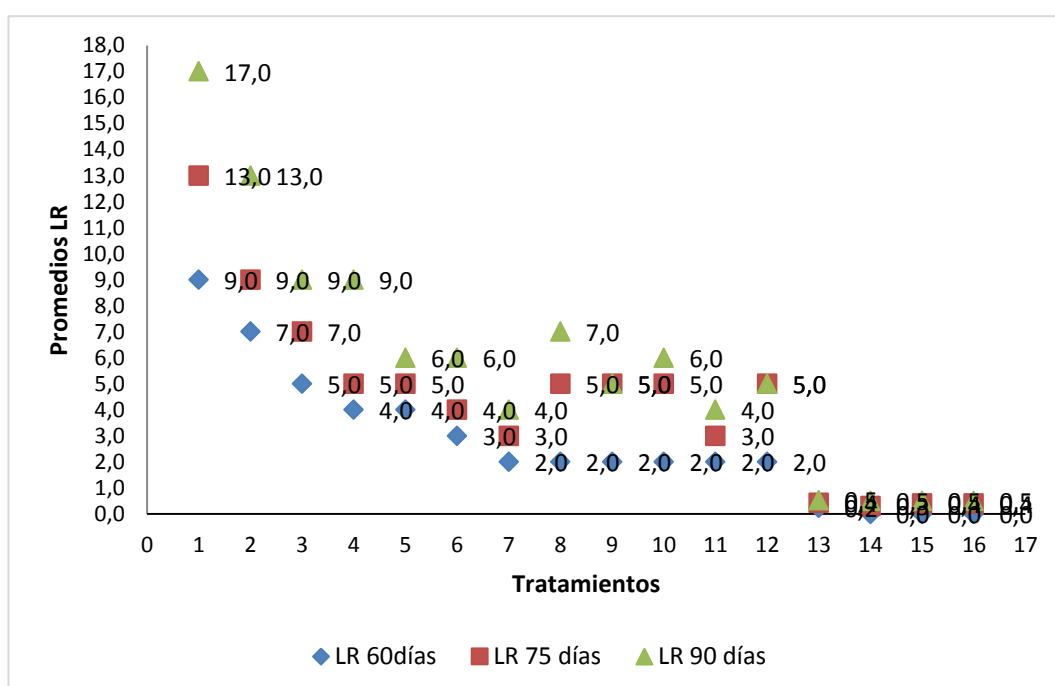
Longitud de raíz			
Tratamientos	LR 60 días	LR 75 días	LR 90 días
	Promedio	Promedio	Promedio
T8	9.0	13.0	17.0
	A	A	A
T4	7.0	9.0	13.0
	B	B	B
T2	5.0	7.0	9.0
	C	C	C
T7	4.0	5.0	9.0
	D	D	C
T3	4.0	5.0	6.0
	D	D	E
T6	3.0	4.0	6.0
	E	E	E
T11	2.0	3.0	4.0
	F	F	G
T12	2.0	5.0	7.0
	F	D	D
T15	2.0	5.0	5.0
	F	D	F
T10	2.0	5.0	6.0
	F	D	E
T14	2.0	3.0	4.0
	F	F	G
T16	2.0	5.0	5.0
	F	D	F
T5	0.2	0.4	0.5
	G	G	H
T1	0.0	0.3	0.5
	H	H	H
T13	0.0	0.4	0.5

	H	G	H
T9	0.0	0.4	0.5
	H	G	H
CV	0.52%	0.33%	0.25%
Media general	2.8 cm (**)	4.4 cm (**)	5.8 cm (**)

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para tratamientos en la variable longitud de raíz (LR), registrado a los 60, 75 y 90 días.

Gráfico N°38

Promedios, variable longitud de raíz (LR)



Los tratamientos en estudio presentaron diferencias estadísticas altamente significativas (**) en cuanto a longitud de raíz, a los 60, 75 y 90 días de evaluación del cultivo, con un CV de 0.52%; 0.33% y 0.25% en su respectivo orden según el análisis de varianza ADEVA. Estos resultados obtenidos nos determinan la dependencia de factores para la LR en la solución madre. En promedio general la longitud de raíz de los explantes evaluados registraron 2.8 cm a los 60 días; 4.4 cm a los 75 días y 5.8 cm a los 90 días

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de Tukey al 5% realizada para separar medias de tratamientos en la variable LR a los 60, 75 y 90 días, en una forma similar el T8 (A1xB2xC4) registró la mayor longitud por raíz con 9 cm; 13.0 cm y 17 cm respectivamente, cabe señalarse que el T1, T9 y T13 no registraron inducción de raíces a los 60 días por lo que su lectura fue 0; de la misma manera el testigo T1 alcanzó el promedio más bajo con 0.3 cm y 0.5 cm a los 75 y 90 días.

Una mayor longitud de las raíces en un explante puede mejorar la capacidad de la planta para absorber agua y nutrientes del sustrato, raíces más largas puede ayudar a la planta a establecerse más rápidamente en un nuevo entorno, lo que puede mejorar su supervivencia y adaptación. Confirmando así que la mejor opción para una reproducción de explante de clavel es mediante Bencil adenina en una dosis de 6 mg/L.

Cuadro N° 55

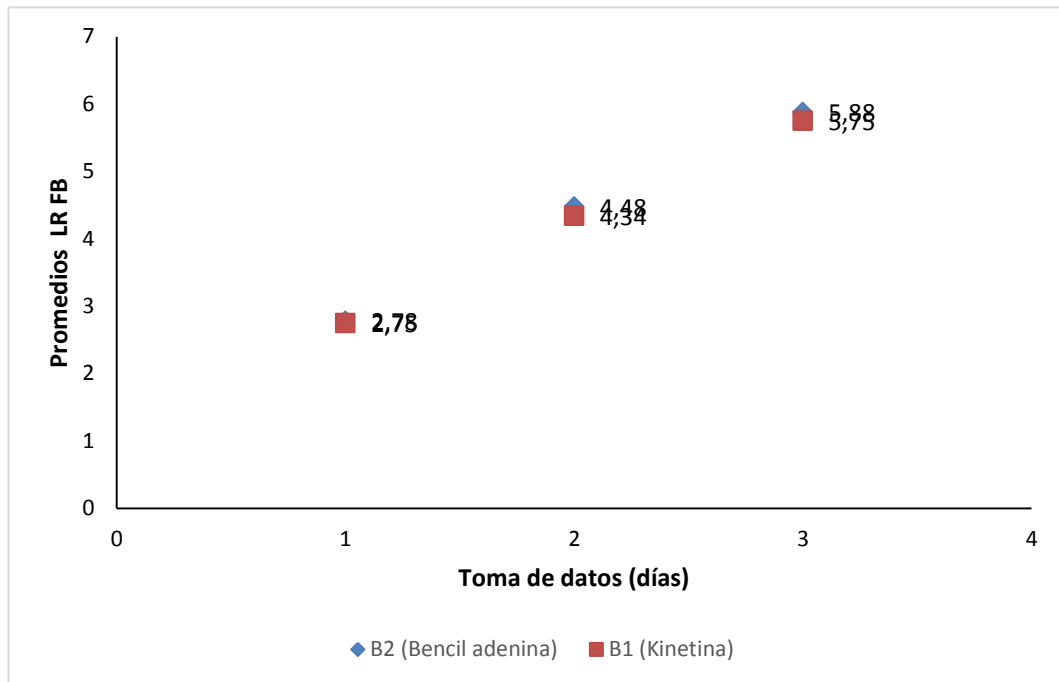
Factor B (Citoquininas), longitud de raíz (LR)

Longitud de raíz			
Factor B (Citoquininas)	LR 60 días	LR 75 días	LR 90 días
	Media	Media	Media
B2 (Bencil adenina)	2.78	4.48	5.88
B1 (Kinetina)	2.75	4.34	5.75
Efecto principal	0.03 (NS)	0.14 (**)	0.13 (**)

Nota: Resultados del efecto principal para el Factor B (Citoquininas) en la variable longitud de raíz (LR), registrado a los 60, 75 y 90 días.

Gráfico N°39

Promedios, variable longitud de raíz.



Al evaluar el efecto de las Citoquininas (factor B) sobre la variable longitud de raíz según el análisis de varianza se determinó que; a los 60 días no se presentaron diferencias estadísticas entre estos (NS); mientras que existieron diferencias estadísticas altamente significativa (**) a los 75 y 90 días (Cuadro N° 55).

En promedio a los 60 días se cuantifico 2.78 cm (B2: Bencil adenina) y 2.75 cm B1 (Kinetina) de longitud de raíz. Existió un incremento de 0.14 cm en la longitud de raíz a los 75 días, mientras que 0.13 cm a los 90 días como efecto principal de la hormona Benciladenina (B2) sobre Kinetina (B1).

Esta respuesta de la mayor longitud de raíz por parte de B2 se debe a que esta hormona, la Benciladenina tiende a promover el crecimiento de brotes laterales y el desarrollo de raíces, mientras que la Kinetina es conocida por su capacidad para promover la división celular y el crecimiento de brotes, así como para retrasar la senescencia de las hojas. Otros factores que influyeron sobre esta respuesta es el tipo de explante, genética de la planta, técnicas de propagación, entre otras.

Cuadro N° 56

Tukey al 5%, factor C (Dosis de reguladores de crecimiento), longitud de raíz (LR)

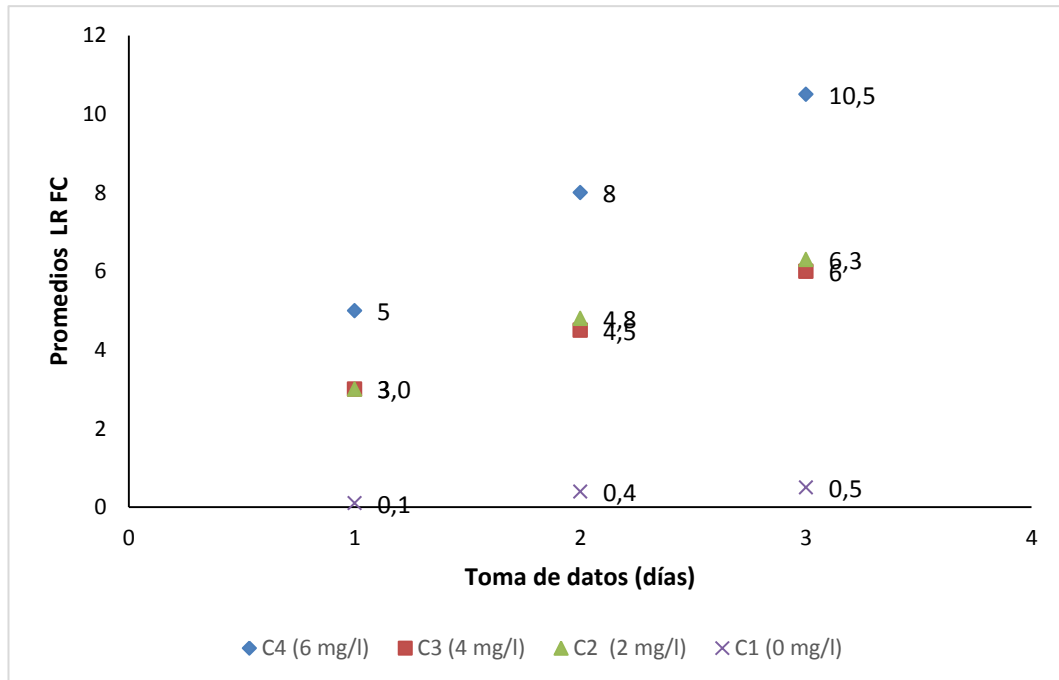
Longitud de raíz			
Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento)	LR 60 días (**)	LR 75 días (**)	LR 90 días (**)
	Medias	Medias	Medias
C4 (6 mg/L)	5	8	10.5
	A	A	A
C3 (4 mg/L)	3	4.5	6
	B	C	C
C2 (2 mg/L)	3	4.8	6.3
	B	B	B
C1 (0 mg/L)	0.1	0.4	0.5
	C	D	D

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para Factor C (Dosis de reguladores de crecimiento) en la variable longitud de raíz (LR), registrado a los 60, 75 y 90 días.

Una comparativa con el trabajo realizado por Mikhovich & Teteryuk (Anexo N°4), se observa resultados diferentes con una longitud de raíz de 2.8 sm.

Gráfico N°40

Promedios, variable en la variable longitud de raíz



Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las diferentes dosis de reguladores de crecimiento (FC) aplicados a los explantes de clavel para su producción in vitro presentaron un efecto muy diferente (**) sobre la longitud de raíz a los 60, 75 y 90 días de evaluación respectivamente.

Mediante la prueba de Tukey al 5% realizada para separar promedios del factor C, en lo que hace referencia a la variable LR, se determinó que el máximo exponente fue la dosis más alta del regulador de crecimiento (C4: 6 mg/L) con 5 cm a los 60 días; 8 cm a los 75 días y 10.5 cm a los 90 días. Por el contrario, y en respuesta lógica el menor promedio lo presentaron las raíces correspondientes a (C1: 0 mg/L) con un valor de 0.1, 0.4 y 0.5 cm, para cada etapa de evaluación respectivamente.

Con estos resultados se concluye que la eficiencia de la dosis en esta investigación se debió a la concentración del regulador de crecimiento, ya que las concentraciones demasiado bajas o ausentes (testigo) tuvieron un efecto no deseado en el crecimiento de los explantes.

- **Supuestos de normalidad NEC**

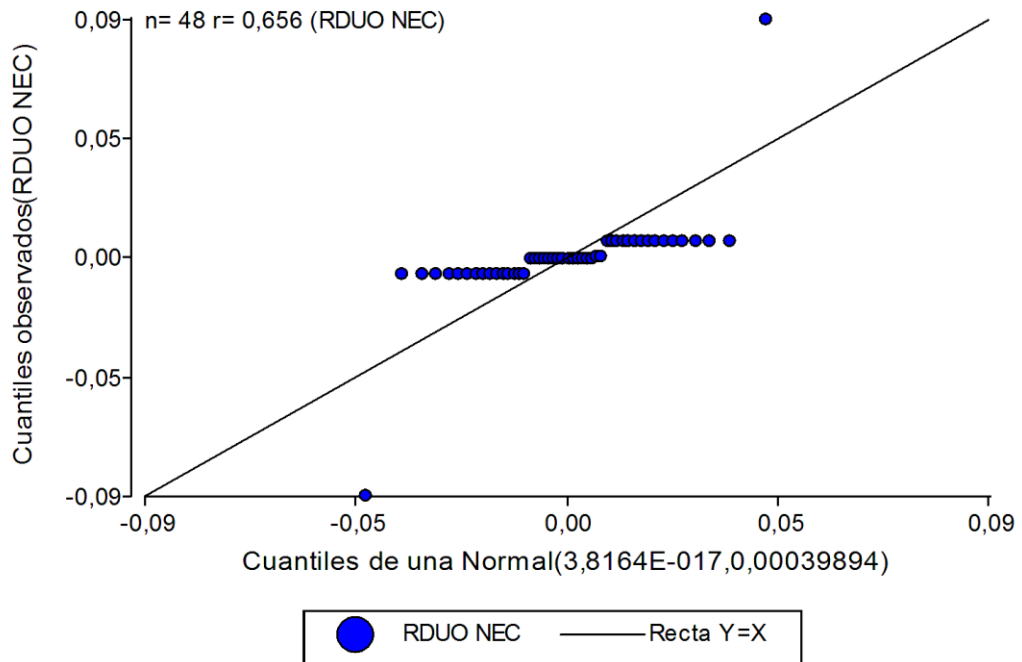
Cuadro N° 57

Prueba de normalidad de Shapiro Wilks NEC

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
<i>RDUO NEC</i>	48	0	0,02	0,55	<0,0001

Gráfico N°41

QQ-Plot DER



- Supuestos de varianzas homogéneas NEC 90 días

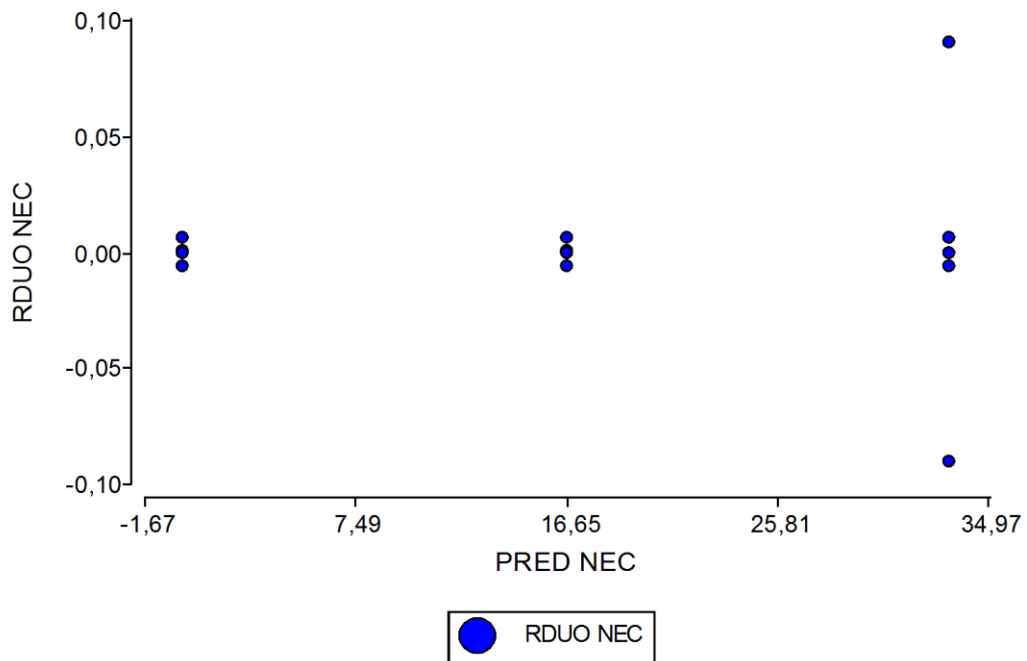
Cuadro N° 58

Prueba de Levene NEC 90 días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,20E-03	5	6,40E-04	2,12	0,0815
FA	6,40E-04	1	6,40E-04	2,12	0,1527
FB	6,40E-04	1	6,40E-04	2,12	0,1527
FC	1,90E-03	3	6,40E-04	2,12	0,1118
Error	0,01	42	3,00E-04		
Total	0,02	47			

Gráfico N°42

Dispersión NEC 90 días



- **Número de explantes contaminados (NEC) a los 90 días**

Cuadro N° 59

ADEVA número de explantes contaminados (NEC) a los 90 días

F.V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	6456,69	17	379,81	607688,59	< 0,0001
Repeticiones	0	2	0	1	0,3798
FA	0	1	0	0	>0,9999
FB	209,17	1	209,17	334668	< 0,0001
FC	1040,84	3	346,94	555112	< 0,0001
FA*FB	831,67	1	831,67	1330668	< 0,0001
FA*FC	2084,18	3	694,73	1111560	< 0,0001
FB*FC	1875,01	3	625	1000004	< 0,0001
FA*FB*FC	415,84	3	138,61	221780	< 0,0001
Error	0,02	30	0		
Total	6456,71	47			

Mediante el análisis de varianza ADEVA se determinó que las variedades (FA) usadas para la reproducción in vitro presentaron n significancia (ns) con un p-

valor $>0,9999$; que las citoquininas (FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor $< 0,0001$; que las dosis de citoquininas (FC) aplicados a los explantes de clavel para su reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor $< 0,0001$; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas (FA*FB) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor $< 0,0001$; que la interacción de las variedades en conjunto con las dosis de citoquininas (FA*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor $< 0,0001$; que la interacción de citoquininas en conjunto con las dosis de citoquininas (FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor $< 0,0001$; que la interacción de las variedades en conjunto con las citoquininas y las dosis de citoquininas (FA*FB*FC) usadas para la reproducción in vitro presentaron alta significancia (**) con un p-valor $< 0,0001$; sobre el número de explantes contaminados (NEC) a los 90 días. La contaminación se pudo deber a razones antropogénicas.

Cuadro N° 60

Tukey al 5%, número de explantes contaminados (NEC)

Número de explantes contaminados		
Tratamientos	Promedio	Rango
T14	33.3%	A
T3	33.3%	A
T5	16.7%	B
T1	16.7%	B
T10	16.7%	B
T11	16.7%	B
T16	16.7%	B
T2	16.7%	B
T15	0.0%	C
T12	0.0%	C
T6	0.0%	C
T8	0.0%	C
T4	0.0%	C
T7	0.0%	C
T13	0.0%	C
T9	0.0%	C
CV	0.24%	

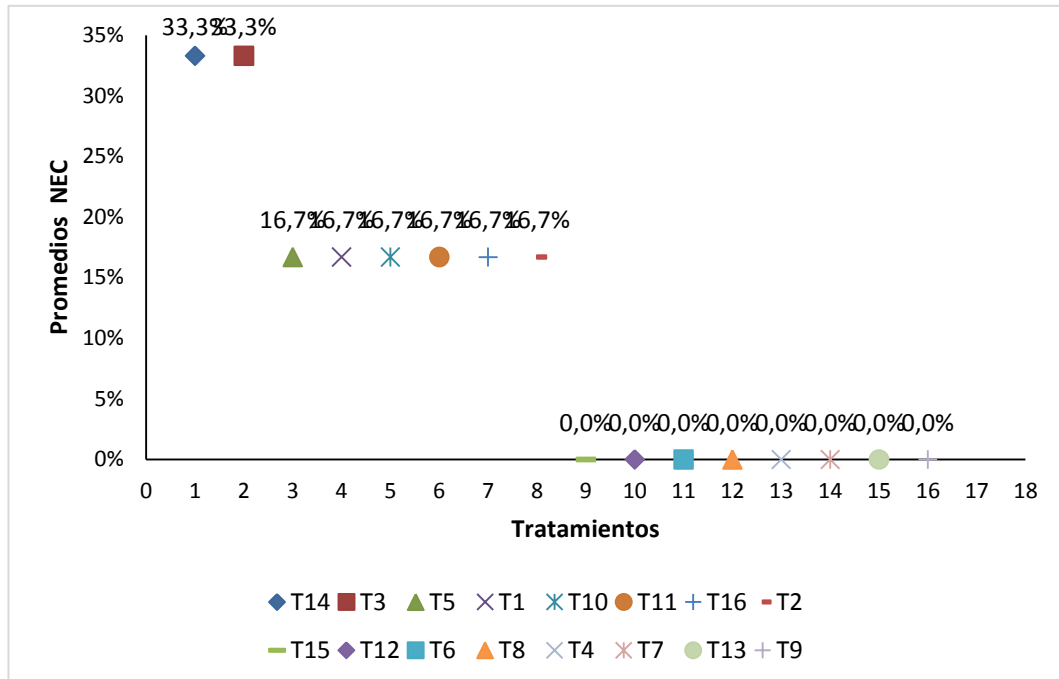
Media general

10.4% (**)

Nota: Resultados estadísticos y prueba de Tukey al 5% para tratamientos en la variable número de explantes contaminados (NEC).

Gráfico N°43

Promedios de la variable número de explantes contaminados



En cuanto al porcentaje de explantes contaminados durante el ensayo, el análisis de varianza (ADEVA) nos indica que existieron promedios de tratamientos estadísticamente muy diferentes (**) para esta variable. En este análisis se determinó un CV de 0.24%. En promedio general la contaminación de los explantes fue de 10.4%, en este ensayo. Estos resultados nos confirman el buen manejo que se dio al ensayo especialmente en la parte de inocuidad,

Según la prueba de Tukey al 5% realizada para separar promedios de tratamientos, se identificó que la mayor contaminación se dio en T3 y T14 con el 33.3%; existió 0% de contaminación en los tratamientos T4, T6, T7, T8, T9, T12, T13 y T15.

La contaminación de explantes en el laboratorio es un problema común en la propagación de plantas in vitro, en este estudio este porcentaje fue bajo y fueron causados por varios factores entre los cuales sobre salen; contaminación cruzada,

es decir la transferencia de microorganismos patógenos de un cultivo contaminado a otro cultivo estéril; manipulación incorrecta de los explantes junto a la exposición a fuentes no estériles, como el aire; el uso de agua de baja calidad en la preparación de medios de cultivo; la presencia de microorganismos en el aire, polvo o en el entorno de laboratorio y contaminación endógena entre otros.

- **Análisis económico, relación beneficio/costo (AE)**

Inversión: \$ 866,64 (Anexo 3.)

Valor neto por unidad: \$ 0,73

Unidades aproximadas vendidas cada 6 meses: 120

Valor de paquete de doce unidades de explantes: \$ 8,76

Cuadro N°61

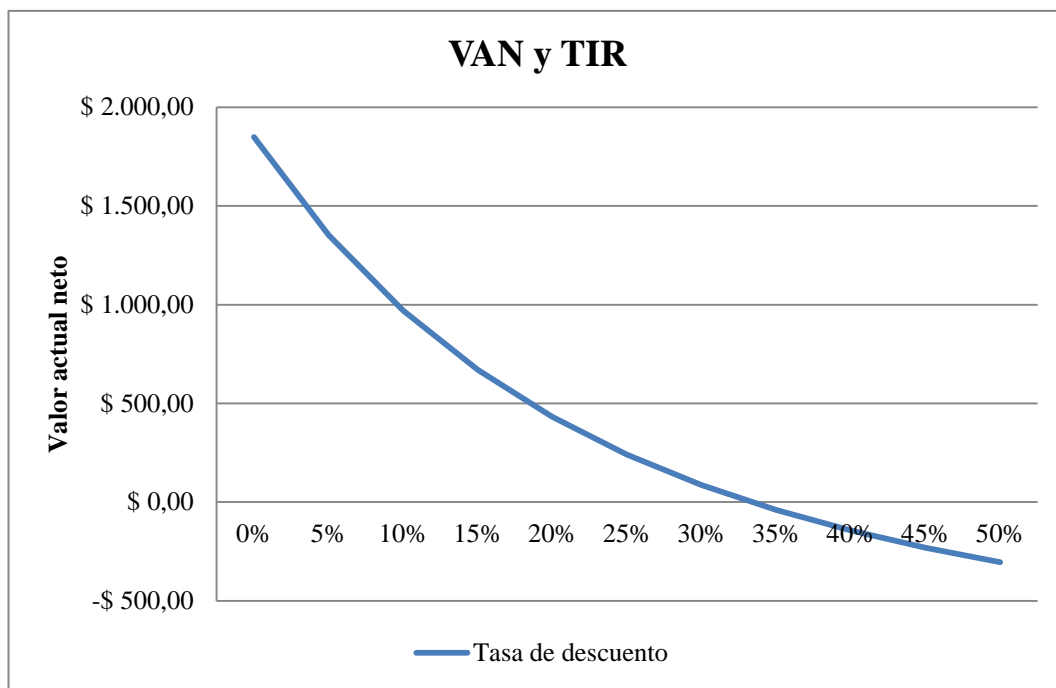
B/C

		Tasa de descuento		30%					
Tipo de producto	Inversión	6 meses	12 meses	18 meses	24 meses	30 meses	VAN	TIR	B/C
Explantes de clavel	-\$ 866,64	\$ 87,60	\$ 175,20	\$ 350,40	\$ 700,80	\$ 1.401,60	8676 %	33 %	1,100

Tasa de descuento	0%	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%	40%	45%	50%
Valor actual neto	\$ 1.848,96	\$ 1.353,13	\$ 969,99	\$ 669,93	\$ 432,04	\$ 241,30	\$ 86,76	-\$ 39,64	-\$ 143,95	-\$ 230,76	-\$ 303,55

Gráfico N°44

VAN y TIR



- **Análisis de correlación y regresión lineal**

Cuadro N°62

Análisis de correlación y regresión lineal

Componentes de longitud de raíz (Variables independientes XS)	Coefficiente de Correlación (r)	Coefficiente de regresión (b)	Coefficiente de Determinación (R² %)
Número de brotes por explante 45 días (**)	0.70	3.72	49
Número de brotes por explante 60 días (**)	0.70	3.43	49

Número de brotes por explante 75 días (**)	0.73	3.46	53
Longitud de brote 45 días (**)	0.88	0.37	77
Longitud de brote 60 días (**)	0.86	0.24	74
Longitud de brote 75 días (**)	0.86	0.24	74
Número de hojas por brote 45 días (**)	0.75	1.56	56
Número de hojas por brote 60 días (**)	0.72	1.31	52
Número de hojas por brote 75 días (**)	0.62	1.14	39
Días a la emisión de raíces (**)	-0.72	-0.17	52
Número de raíces 60 días (**)	0.90	1.22	80
Número de raíces 75 días (**)	0.84	0.92	71
Número de raíces 90 días (**)	0.85	0.90	73

Longitud de raíz 60 días (**)	0.97	1.76	95
Longitud de raíz 75 días (**)	0.98	1.33	96

Nota: Resultado del análisis de correlación y regresión lineal de las variables independientes (Xs), que tuvieron una significancia estadística sobre la longitud de raíz en explantes de claveles a los 90 días (variable dependiente Y).

- **Coefficiente de Correlación (r)**

En la presente investigación se determinó las siguientes relaciones y/o estrechas altamente significativas (**) positivas, de las variables independientes versus la dependiente longitud de raíz al final del ensayo: número de brotes por explante; longitud del brote; número de hojas a los 45, 60 y 75 días; número de raíces a los 60, 75 y 90 días y longitud de la misma a los 60 y 75 días (Cuadro N° 62).

La variable que presentó una relación negativa altamente significativa (**) con la longitud de la raíz a los 90 días fue días a la emisión de raíces (Cuadro N° 62).

- **Coefficiente de Regresión (b)**

Las variables independientes que contribuyeron a incrementar la longitud de la raíz a los 90 días fueron: número de brotes por explante; longitud del brote; número de hojas a los 45, 60 y 75 días; número de raíces a los 60, 75 y 90 días y longitud de raíz a los 60 y 75 días (Cuadro N° 62).

Por el contrario, la variable independiente que redujo la longitud fue: días a la emisión de raíces, esto quiere decir que a mayor duración de la ER en los explantes de clavel menor fue la longitud de las mismas, lo que incide directamente en la sobrevivencia del explante.

- **Coefficiente de Determinación (R²)**

En esta investigación los valores más altos de R², se dieron en la relación o asociación de longitud de raíz a los 60 y 75 días vs longitud de raíz a los 90 días

con valores del 95% y 96% respectivamente, siendo este último el mejor ajuste para la sobrevivencia de explantes (Cuadro N° 62).

La reducción de la longitud de raíz a los 90 días en un 52% fue debido a los tratamientos con emisión de raíz tardíos; es decir un mayor tiempo a la formación de raíces redujeron las posibilidades de sobrevivencia del explante fuera del medio del cultivo, ya sea por efecto de contaminación y/o autonomía del explante para nutrirse (Cuadro N° 62).

4.1.2. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Hipótesis nula:

H₀: La evaluación de los explantes de clavel mediante propagación in vitro, utilizando dos tipos de citoquininas, en cuatro dosis; son similares.

Hipótesis alterna:

H_a: La evaluación de los explantes de clavel mediante propagación in vitro, utilizando dos tipos de citoquininas, en cuatro dosis; son diferentes.

En base a los resultados de las variables evaluadas en esta investigación y considerando la dependencia existente de los factores (**) se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, la misma que nos indica que el desarrollo de explantes de clavel mediante propagación in vitro utilizando dos tipos de citoquininas en cuatro dosis; son diferentes.

4.1.3. CONCLUSIONES

Una vez procesado y analizado los distintos datos estadísticos, morfológicos y económicos, se sintetizan las siguientes conclusiones:

- La variedad que mejor propagación presentó en esta investigación fue el clavel verde con los promedios más elevados de número de brotes y raíces, longitud de brotes y raíces, mayor número de hojas y precocidad a la emisión de las mismas.

Se determinó que la citoquinina con mejores características para la reproducción de plántulas in vitro fue B2: Bencil adenina con los valores más elevados del número de brotes y raíces, longitud de brotes y raíces, mayor número de hojas y precocidad a la emisión de las mismas

- En el presente estudio se evaluó que la dosis óptima de citoquinina para una mayor propagación in vitro de explantes fue de 6 mg/L.
- En cuanto a la interacción de factores el mejor tratamiento fue el T8 (A1x B2x C4) con un promedio de 4.7 (5) brotes de 60 mm de longitud; 16 raíces de 17 mm; 11.3 (11) hojas por brote; 16 días a la emisión de raíces y 0% de contaminación.
- Los componentes que incrementaron la longitud de raíz a los 90 días fueron: número de brotes y raíces, longitud de brotes y raíces, mayor número de hojas; días a la emisión de raíces y número de explante contaminados. Se redujo el rendimiento en un 52% por los días de brotación de las raíces.
- El mejor tratamiento en este estudio, considerado desde el punto de vista económico, fue el T8. Con un costo benéfico (B/C) mayor a 1, lo que indica su viabilidad positiva (Cuadro n°37)

4.1.4. RECOMENDACIONES

- Para la propagación de clavel verde (Lege verde) in vitro se recomienda aplicar reguladores de crecimiento a base de citocinas especialmente la Benciladenina debido a su capacidad para promover la división celular y la elongación de las células, lo que resulta en un crecimiento más rápido y vigoroso de los explantes
- Se recomienda aplicar Benciladenina a los explantes en una dosis de 6 mL/l por el método de inmersión debido a su eficiencia en este estudio y su alta capacidad de solubilidad en agua.

- Continuar con el proceso de evaluación de cultivos in vitro con diferentes partes vegetativas, y otras variedades de difícil propagación.
- Tomar en cuenta que la contaminación en la gran mayoría de los explantes se debió a un factor antropogénico, a razón de una manipulación inexperta, por lo cual se recomienda realizar la siembra de la mayor cantidad de explantes bajo supervisión, o en su defecto ampliar las fechas y los números de frascos al realizar la siembra de explantes.
- Realizar la transferencia de resultados, a la comunidad Universitaria y profesionales dedicados a la propagación en laboratorio de claveles, para la sistematización de protocolos y dosis óptimas expresadas en este trabajo.
- Aumentar el número de explantes por frascos de 2 a 4, o en un mejor caso aumentar el número de frascos, con la finalidad de disminuir la contaminación antropogénica en los frascos con explantes.
- Tomar en consideración la sección tomada de las plantas madres, ya que la parte media apical superior es la que mayor tendencia a desarrollar raíces posee, facilitando la toma de variables relacionadas a la raíz.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcántara Cortés, J., Steven, J., Godoy, A., & Sánchez Mora, R. M. (2019). Recuperado el 24 de Octubre de 2022, de scielo.org: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000200109
- Ali, A., Afrasiab, H., Naz, S., Rauf, M., & Iqbal, J. (2008). Recuperado el 16 de Mayo de 2024, de [http://pakbs.org/pjbot/PDFs/40\(1\)/PJB40\(1\)111.pdf](http://pakbs.org/pjbot/PDFs/40(1)/PJB40(1)111.pdf)
- Banco Central del Ecuador. (2020). Recuperado el 18 de Agosto de 2021, de IEM-311-e: <https://contenido.bce.fin.ec/home1/estadisticas/bolmensual/IEMensual.html?fbclid=IwAR1I-hUXkE2vfMqdl7DZLbHrRp7S0784x4Yye5Ht4mQbGIJPmjPB3hHjwEY?msclkid=426ef7bfcf5011ecb7fff06740b63002?msclkid=a7104fc9d07811ecbb677d473c0bd5be?msclkid=495916a6d09311ecbe49f5>
- Bastidas Ramírez, M. T., & Bucheli Rosales, C. (2020). Recuperado el 18 de Agosto de 2021, de Análisis y propuesta de mejora de los procesos financieros de las PYME del sector florícola de Tabacundo: <https://repositorio.uasb.edu.ec/handle/10644/7447>
- Bisang, R., Campi, M., & Cesa, V. (Marzo de 2020). *Comisión Económica para América Latina y el Caribe*. Recuperado el 25 de Octubre de 2022, de repositorio.cepal.org: <https://repositorio.cepal.org/handle/11362/3650>
- Blanco, A. (28 de Octubre de 2019). Recuperado el 24 de Octubre de 2022, de Docplayer.es: <https://docplayer.es/21526313-Introduccion-a-las-hormonas-vegetales-angela-blanco-b.html>
- CABI digital library. (25 de Noviembre de 2019). *Dianthus caryophyllus (carnation)*. Recuperado el 24 de Abril de 2024, de <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompndium.19011>

- Castillo, A. (4 de Noviembre de 2019). *INIA*. Recuperado el 4 de Abril de 2022, de Institución Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay: <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
- Cortes, J. (19 de Octubre de 2020). *SciELO*. Recuperado el 4 de Abril de 2022, de Scientific Electronic Library Online: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>
- Criollo Aguilar, M. C. (17 de Enero de 2019). (V. A. Lindao Córdova, Ed.) Recuperado el 25 de Octubre de 2022, de dspace.esPOCH.edu.ec: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1361/1/13T0722%20.pdf>
- Cruz Aguilar, M., Melgarejo, L. M., & Romero, M. (Diciembre de 2019). En L. M. Melgarejo (Ed.), *EXPERIMENTOS EN FISIOLÓGIA VEGETAL* (Primera ed., págs. 1-24). Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Estopà Bagot, M. (2020). Recuperado el 25 de Octubre de 2022, de horticom.com: http://www.horticom.com/revistasonline/extras/2005/m_estopa.pdf
- Filgueira, J. (2021). *Experiencias en mejoramiento del clavel* (Primera ed.). Bogotá: Universidad Militar Nueva Granada.
- Holdridge, L. (1967). Recuperado el 2022 de Marzo de 24, de <https://www.cct.or.cr/contenido/wp-content/uploads/2017/11/Ecologia-Basada-en-Zonas-de-Vida-Libro-IV.pdf>
- Holly, W. D., & Baker, R. (1991). Carnation production II. *Iowa: Kendall/ Hunt Publishing Company*, 39-49.
- Infoagro. (4 de Marzo de 2019). Recuperado el 7 de Abril de 2022, de <https://www.infoagro.com/flores/flores/clavel.htm>

Infoagro. (15 de Febrero de 2019). Recuperado el 1 de Septiembre de 2022, de infoagro.com:

https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_del_clavel.asp

Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2021). *INEC*. Recuperado el 18 de Agosto de 2021, de Visualizador de Estadísticas Agropecuarias:

<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiZTEyY2NiZDIiYjIzYi00ZGQ1LTlkNGEtNDE1OGViM2Q1N2VlIiwidCI6ImYxNThhMmU4LWNhZWMTNDQwNi1iMGFiLWY1ZTI1OWJkYTEyMiJ9&pageName=ReportSection>

Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. (Junio de 2019). *INAMHI*. (J. Olmedo Morán, Ed.) Recuperado el 5 de Abril de 2022, de

https://www.inamhi.gob.ec/docum_institucion/anuarios/meteorologicos/Am_2019.pdf

Lamborn, L. L. (2019). *Biodiversity Heritage Library*. Recuperado el 7 de Abril de 2022, de <https://doi.org/10.5962/bhl.title.20050>

Larson, A. (2020). En *Introducción a la Floricultura* (págs. 58-63). México: AGT S.A.

Martínez, L., & Gago, J. (2019). *UVigo*. Recuperado el 4 de Abril de 2022, de Universidad de Vigo:

http://revbigo.webs.uvigo.es/images/revbigo/2008/Rebigo_2008_07.pdf

Mikhovich, Z. E., & Teteryuk, L. V. (1 de Octubre de 2020). Recuperado el 13 de Mayo de 2024, de new.journal.asu.ru:

<http://turczaninowia.asu.ru/article/view/8550>

Novagric. (2020). Recuperado el 1 de Septiembre de 2022, de novagric.com:

<https://www.novagric.com/es/invernaderos-claveles#:~:text=Condiciones%20Clim%C3%A1ticas%20para%20el%20Cultivo,la%20calidad%20de%20las%20flores.>

Pizano de Marquez, M. (2020). Clavel *Dianthus caryophyllus*. Bogotá: Hortitecnia Ltda.

PRO ECUADOR. (8 de Junio de 2020). *Análisis Sectorial de Flores de Verano*. Recuperado el 5 de Abril de 2022, de <https://issuu.com/pro-ecuador/docs/floresdeverano>

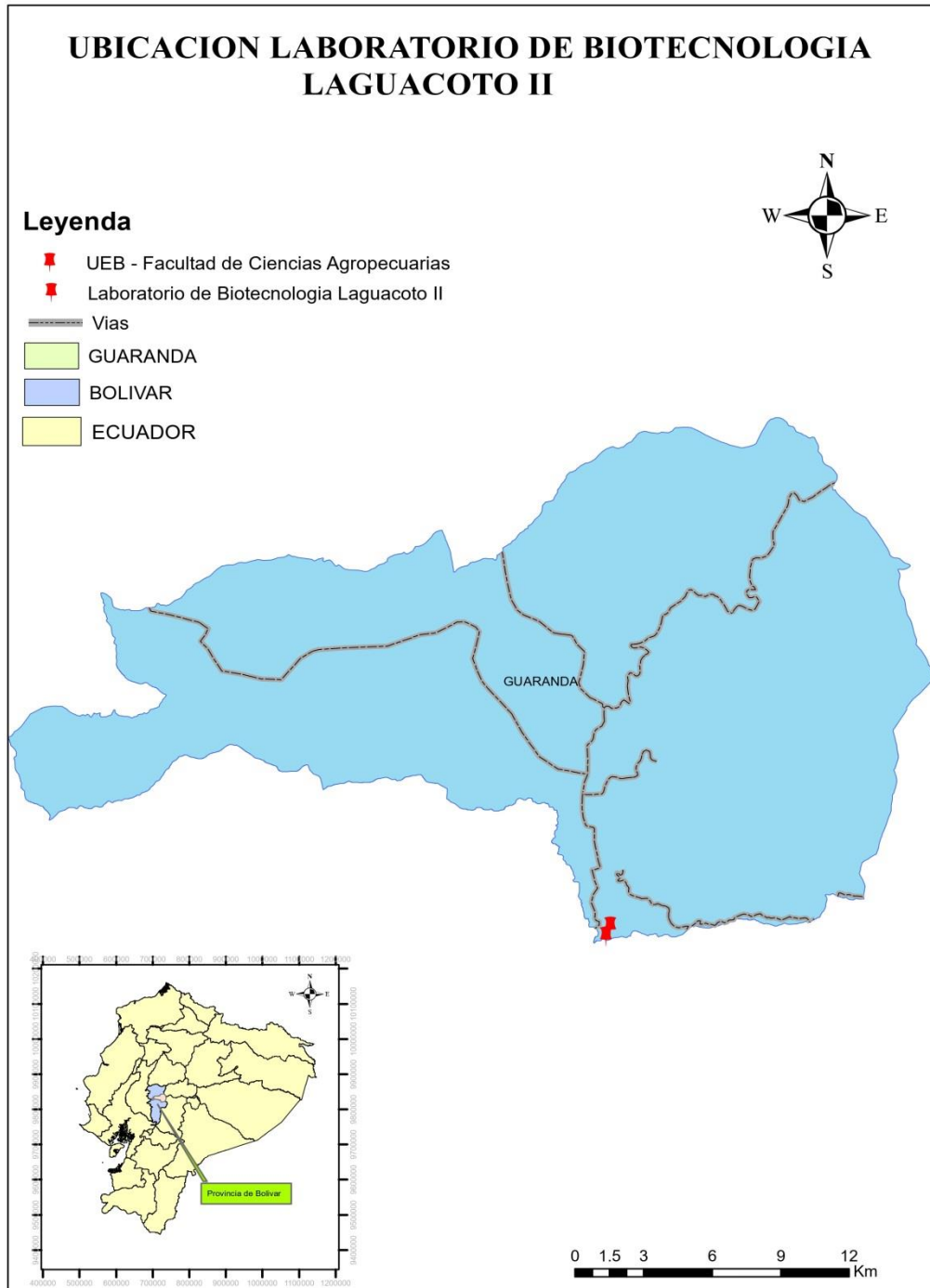
Solano, E., & García, M. (2020). 'Neotipificación y reconocimiento de *Polianthes geminiflora* (Lex.) Rose (Agavaceae). *Acta Botánica Mexicana* 104, 1-18.

Squeo, F. (6 de Agosto de 2021). *FaCENA*. Recuperado el 4 de Abril de 2022, de Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Argentina: [https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Auxinasgiberelina sycitocininas.pdf](https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Auxinasgiberelina%20sycitocininas.pdf)

ANEXOS

Anexo N°1. Ubicación de la investigación

Vista general de la ubicación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, cantón Guaranda provincia Bolívar.



Fuente: Ing. Quinabanda Michael

Anexo N°2. Base de datos

Tratamientos	Repeticiones	F A	F B	F C	NBE 45 Días	NBE 60 Días	NBE 75 Días	LB 45 Días	LB 60 Días	LB 75 Días	NHB 45 Días	NHB 60 Días	NHB 75 Días	DE R	NR 60 Días	NR 75 Días	NR 90 Días	LR 60 Días	LR 75 Días	LR 90 Días	NE C
T1	1	A 1	B 1	C 1	2	2	2	9	10	10	3	6	8	70	0	1	1	0	0,3	0,5	16,7
T2	1	A 1	B 1	C 2	3	3	3	22	28	30	6	6	6	15	6	10	10	5	7	9	16,7
T3	1	A 1	B 1	C 3	4	4	4	20	28	28	4	6	6	30	1	2	2	4	5	6	33,2
T4	1	A 1	B 1	C 4	3	3	3	25	38	38	6	8	8	15	10	13	13	7	9	13	0,0
T5	1	A 1	B 2	C 1	2	2	2	7	11	11	3	4	4	30	1	5	5	0,2	0,4	0,5	16,7
T6	1	A 1	B 2	C 2	4	4	4	22	34	34	8	8	8	30	1	8	8	3	4	6	0,0
T7	1	A 1	B 2	C 3	4	4	4	38	59	59	9	10	11	30	6	8	8	4	5	9	0,0
T8	1	A 1	B 2	C 4	4	4	4	44	60	60	9	11	11	15	9	14	16	9	13	17	0,0
T9	1	A 2	B 1	C 1	1	1	1	5	6	6	4	4	4	75	0	5	5	0	0,4	0,5	0,0
T10	1	A 2	B 1	C 2	3	3	3	18	22	22	4	6	6	30	1	6	6	2	5	6	16,7
T11	1	A 2	B 1	C 3	3	3	3	11	22	23	4	5	5	30	1	2	2	2	3	4	16,7
T12	1	A 2	B 1	C 4	3	3	3	28	34	34	7	10	10	30	1	4	4	2	5	7	0,0
T13	1	A 2	B 2	C 1	2	2	2	9	9	9	3	4	6	75	0	1	1	0	0,4	0,5	0,0
T14	1	A 2	B 2	C 2	3	3	3	18	25	25	4	4	4	30	1	2	2	2	3	4	33,3

T15	1	A 2	B 2	C 3	3	3	3	11	11	11	6	6	6	30	1	6	6	2	5	5	0, 0
T16	1	A 2	B 2	C 4	3	4	4	11	15	15	8	10	10	20	1	2	2	2	5	5	16 ,7
T1	2	A 1	B 1	C 1	2	2	2	9	11	11	3	7	9	70	0	1	1	0	0,3	0,5	16 ,7
T2	2	A 1	B 1	C 2	3	3	3	22	28	31	7	7	7	15	6	10	10	5	7	9	16 ,7
T3	2	A 1	B 1	C 3	3	3	3	20	28	28	5	6	6	30	1	2	2	4	5	6	33 ,4
T4	2	A 1	B 1	C 4	3	3	3	24	38	38	7	9	9	15	10	13	13	7	9	13	0, 0
T5	2	A 1	B 2	C 1	2	2	2	7	11	11	3	4	4	30	1	5	5	0,2	0,4	0,5	16 ,7
T6	2	A 1	B 2	C 2	3	3	3	23	35	35	9	9	9	30	1	8	8	3	4	6	0, 0
T7	2	A 1	B 2	C 3	4	4	4	38	59	59	9	11	11	30	6	8	8	4	5	9	0, 0
T8	2	A 1	B 2	C 4	4	5	5	44	60	60	9	11	11	15	10	15	16	9	13	17	0, 0
T9	2	A 2	B 1	C 1	1	1	1	5	7	7	4	4	4	75	0	5	5	0	0,4	0,5	0, 0
T10	2	A 2	B 1	C 2	3	4	4	18	22	22	5	6	6	30	1	6	6	2	5	6	16 ,7
T11	2	A 2	B 1	C 3	3	3	3	12	23	23	5	5	5	30	1	2	2	2	3	4	16 ,7
T12	2	A 2	B 1	C 4	4	4	4	27	34	34	7	11	11	30	1	4	4	2	5	7	0, 0
T13	2	A 2	B 2	C 1	2	2	2	9	9	9	3	5	6	74	0	1	1	0	0,4	0,5	0, 0
T14	2	A 2	B 2	C 2	3	3	3	18	25	25	4	5	5	30	1	2	2	2	3	4	33 ,3
T15	2	A 2	B 2	C 3	4	4	4	11	11	11	6	6	6	30	1	6	6	2	5	5	0, 0

T16	2	A 2	B 2	C 4	3	3	3	11	15	15	8	10	10	20	1	2	2	2	5	5	16 ,7
T1	3	A 1	B 1	C 1	2	2	2	9	10	10	4	7	9	70	0	1	1	0	0,3	0,5	16 ,7
T2	3	A 1	B 1	C 2	3	3	3	22	28	31	7	7	7	15	6	10	10	5	7	9	16 ,7
T3	3	A 1	B 1	C 3	4	4	4	21	29	29	5	6	6	30	1	2	2	4	5	6	33 ,3
T4	3	A 1	B 1	C 4	4	4	4	24	39	39	7	9	9	15	10	13	13	7	9	13	0, 0
T5	3	A 1	B 2	C 1	2	2	2	7	11	11	4	4	4	30	1	5	5	0,3	0,5	0,6	16 ,7
T6	3	A 1	B 2	C 2	3	3	3	22	35	35	9	9	9	30	1	8	8	3	4	6	0, 0
T7	3	A 1	B 2	C 3	3	3	3	38	60	60	10	11	12	30	6	8	8	4	5	9	0, 0
T8	3	A 1	B 2	C 4	4	4	5	44	60	60	10	12	12	15	10	15	16	9	13	17	0, 0
T9	3	A 2	B 1	C 1	1	1	1	6	7	7	4	4	5	75	0	5	5	0	0,4	0,5	0, 0
T10	3	A 2	B 1	C 2	3	4	4	18	21	21	5	6	6	30	1	6	6	2	5	6	16 ,7
T11	3	A 2	B 1	C 3	3	3	3	11	23	24	5	6	6	30	1	2	2	2	3	4	16 ,7
T12	3	A 2	B 1	C 4	3	3	3	27	34	34	8	11	11	30	1	4	4	2	5	7	0, 0
T13	3	A 2	B 2	C 1	2	2	2	10	10	10	4	5	6	75	0	1	1	0	0,4	0,5	0, 0
T14	3	A 2	B 2	C 2	3	3	3	17	24	24	4	5	5	30	1	2	2	2	3	4	33 ,3
T15	3	A 2	B 2	C 3	4	4	4	12	12	12	6	6	6	30	1	6	6	2	5	5	0, 0
T16	3	A 2	B 2	C 4	4	4	4	11	16	16	8	10	10	20	1	2	3	2	5	5	16 ,7

Anexo N°3. Presupuesto estimado

Concepto y/o Actividad	Cantidad	Unidad	V. Unitario	V. Parcial
Materiales de laboratorio				
Hojas de bisturí	1	Caja	\$ 35,00	\$ 35,00
Papel aluminio	1	Rollo	\$ 3,50	\$ 3,50
Papel toalla	1	Rollo	\$ 4,00	\$ 4,00
Plántulas de clavel	60	U	\$ 0,30	\$ 18,00
Tubos de ensayo	50	U	\$ 2,50	\$ 125,00
Desinfectantes				
Alcohol 95 grados	1	Litros	\$ 9,00	\$ 9,00
Alcohol antiséptico	2	Litro	\$ 7,00	\$ 14,00
Hipoclorito de Ca	2	Litro	\$ 3,00	\$ 6,00
Jabón líquido	1	Litro	\$ 6,00	\$ 6,00
Reactivos				
Agar	500	g	\$ 0,20	\$ 100,00
Macronutrientes	136	g	\$ 0,35	\$ 47,60
Micronutrientes	493	Mg	\$ 0,10	\$ 49,30
Quelatos de Hierro	2,2	g	\$ 8,18	\$ 18,00
Reguladores de crecimientos	90	Mg	\$ 0,35	\$ 31,50
Vitaminas	315	Mg	\$ 0,08	\$ 25,20
Materiales de oficina				
Anillado	12	U	\$ 3,00	\$ 36,00
CD-R	3	CD-R	\$ 1,00	\$ 3,00
Copias	500	Hojas	\$ 0,10	\$ 50,00
Empastado	3	Empastado	\$ 40,00	\$ 120,00
Hojas de papel bond	2	Resma	\$ 5,00	\$ 10,00
Impresiones	250	Hojas	\$ 0,15	\$ 37,50
Pen drive	1	Pen drive	\$ 5,00	\$ 5,00
Subtotal USD				\$ 753,60
Imprevisto 15% capital circulante				\$ 113,04
GRAN TOTAL USD				\$ 866,64

Anexo N°4. Cuadro comparativo 1

Table 1

The percentage of viable callus and the number of fragments per callus of *Gypsophila uralensis* callus culture, depending on the mineral composition of the nutrient medium and the content of growth regulators

№ passage	Growth regulators, mg / l	MS		WPM	
		% explants that formed callus	number of fragments per callus, pcs.	% explants that formed callus	number of fragments per callus, pcs.
1	BA1.0 + IAA 0.1	93.6 ± 5.0	7.1 ± 1.7	83.8 ± 4.4	5.1 ± 0.6
2	BA 0.2	83.8 ± 8.0	6.1 ± 2.4	85.6 ± 4.4	4.7 ± 0.6
	BA 1.0 + IAA 0.1	90.5 ± 3.0	8.1 ± 1.1	87.6 ± 5.3	6.4 ± 1.6
3	BA 0.2	83.4 ± 4.0	5.4 ± 1.1	85.4 ± 4.8	3.6 ± 0.7
	BA 1.0 + IAA 0.1	87.2 ± 5.8	5.8 ± 1.0	81.6 ± 4.2	3.8 ± 0.6
4	BA 0.2	87.4 ± 4.0	5.2 ± 0.7	85.6 ± 4.8	3.9 ± 0.7
	BA 1.0 + IAA 0.1	86.4 ± 5.0	5.6 ± 0.6	86.0 ± 4.4	4.1 ± 0.6

Table 2

The efficiency of *Gypsophila uralensis* regeneration by callusogenesis WPM medium

Growth Regulators, mg / l	The share of shoots with roots, %	Shoot length, sm	The number of pairs of leaves, pcs
IAA 0.1	52.9 ± 3.9 ^a	1.7 ± 0.2 ^c	3.9 ± 0.2 ^{bc}
IAA 1.0	50.8 ± 4.8 ^a	2.3 ± 0.2 ^b	4.7 ± 0.2 ^b
IAA 0.2 + IBA 0.5	50.8 ± 6.3 ^a	2.8 ± 0.1 ^a	5.7 ± 0.2 ^a
The control (without hormones)	9.6 ± 2.0 ^c	1.3 ± 0.1 ^d	3.3 ± 0.1 ^c

^{a-d} Significance indicators of differences in the Duncan test (P = 0.05), where different letters after the average value in the columns show that the differences are significant, the same letters – no differences.

Fuente: (Mikhovich & Teteryuk, 2020)

Anexo N°5. Cuadro comparativo 2

Table 1a. Effect of different concentrations of BAP on shoot formation.

S. No.	Media	Composition	No. of explants cultured	Days for shoot formation		Mean number of cultures showing shoot formation	
				Apical	Nodal	Apical	Nodal
1.	MS1	MS Basal	10	19.6 ± 0.669 ^a	24.6 ± 0.726 ^a	2.2 ± 0.334 ^d	2.0 ± 0.4 ^d
2.	MS2	BAP 1.0 mg/l	10	14.0 ± 0.489 ^b	16.4 ± 0.456 ^b	3.0 ± 0.4 ^d	2.0 ± 0.282 ^d
3.	MS3	BAP 2.0 mg/l	10	10.2 ± 0.334 ^c	16.0 ± 0.4 ^b	5.0 ± 0.489 ^c	3.0 ± 0.282 ^d
4.	MS4	BAP 3.0 mg/l	10	9.4 ± 0.357 ^c	9.8 ± 0.657 ^c	8.4 ± 0.456 ^b	6.4 ± 0.456 ^c
5.	MS5	BAP 4.0 mg/l	10	6.2 ± 0.521 ^d	7.0 ± 0.489 ^d	10.2 ± 0.438 ^a	10.6 ± 0.669 ^a
6.	MS6	BAP 5.0 mg/l	10	7.2 ± 0.438 ^d	9.4 ± 0.456 ^c	8.2 ± 0.521 ^b	8.0 ± 0.282 ^b

Means followed by different letters in the same column differ significantly at p=0.05 according to Duncan's new multiple range test.

Table 1b. Effect of different concentration of BAP and kinetin on shoot formation.

S.No.	Media	Composition	No. of explants cultured	Days for shoot formation		Cultures showing shoot formation	
				Apical	Nodal	Apical	Nodal
1.	MS1	BAP 1.0 mg/l+ Kin 0.5 mg/l	10	11.2 ± 0.521 ^d	20.0 ± 0.632 ^c	8.2 ± 0.334 ^a	7.4 ± 0.219 ^a
2.	MS2	BAP 2.0 mg/l+ Kin 1.0 mg/l	10	15.2 ± 0.334 ^c	26.2 ± 0.769 ^b	5.4 ± 0.357 ^b	5.4 ± 0.456 ^b
3.	MS3	BAP 3.0 mg/l+ Kin 1.5 mg/l	10	15.0 ± 0.632 ^c	26.0 ± 0.692 ^b	4.0 ± 0.4 ^c	4.4 ± 0.219 ^c
4.	MS4	BAP 4.0 mg/l+ Kin 2.0 mg/l	10	20.2 ± 0.334 ^b	30.0 ± 1.356 ^a	2.2 ± 0.178 ^d	2.0 ± 0.282 ^c
5.	MS5	BAP 5.0 mg/l+ Kin 2.5 mg/l	10	22.2 ± 0.438 ^a	30.2 ± 1.035 ^a	3.4 ± 0.456 ^c	3.4 ± 0.219 ^d

Means followed by different letters in the same column differ significantly at p=0.05 according to Duncan's new multiple range test.

AAMIR ALI ET AL.

Table 3a. Effect of different concentrations of NAA on *In vitro* rooting.

Media	Composition (mg/l)	No. of cultured inoculated	Mean number of cultures showing root induction	Days for root induction	Root induction response
MS1	NAA 0.5	10	4.0 ± 0.219 ^e	12.2 ± 0.715 ^a	+
MS2	NAA 1.0	10	9.6 ± 0.357 ^a	9.2 ± 0.334 ^b	++++
MS3	NAA 1.5	10	9.0 ± 0.282 ^{ab}	9.0 ± 0.282 ^b	+++
MS4	NAA 2.0	10	8.0 ± 0.4 ^b	9.8 ± 0.334 ^b	++
MS5	NAA 2.5	10	2.0 ± 0.282 ^d	12.6 ± 0.456 ^a	+

Means followed by different letters in the same column differ significantly at p=0.05 according to Duncan's new multiple range test.

+ = Poor, ++ = Fair, ± = Standard error of mean, +++ = Good, ++++ = Excellent

Table 3b. Effect of different concentrations of IBA on *In vitro* rooting.

Media	Composition (mg/l)	No. of cultured inoculated	Mean number of cultures showing root induction	Days for root induction	Root induction response
MS1	IBA 0.5	10	2.2 ± 0.334 ^b	14.2 ± 0.334 ^a	+
MS2	IBA 1.0	10	2.2 ± 0.178 ^b	12.0 ± 0.632 ^b	+
MS3	IBA 1.5	10	3.0 ± 0.282 ^b	12.2 ± 0.334 ^b	+
MS4	IBA 2.0	10	5.2 ± 0.334 ^a	10.4 ± 0.456 ^c	+++
MS5	IBA 2.5	10	6.0 ± 0.282 ^a	10.0 ± 0.282 ^c	+++

Means followed by different letters in the same column differ significantly at P = 0.05 according to Duncan's new multiple range test.

+ = Poor, ++ = Fair, ± = Standard error of mean, +++ = Good, ++++ = Excellent

Table 3c. Effect of different concentrations of NAA and IBA on *In vitro* rooting.

Media	Composition (mg/l)	No. of cultured inoculated	Mean number of cultures showing root induction	Days for root induction	Root induction response
MS1	NAA 0.5 + IBA 0.5	10	5.2 ± 0.178 ^c	12.8 ± 0.334 ^a	++
MS2	NAA 0.5 + IBA 1.0	10	6.0 ± 0.282 ^c	10.2 ± 0.334 ^b	+++
MS3	NAA 0.5 + IBA 1.5	10	8.0 ± 0.489 ^b	10.0 ± 0.489 ^b	+++
MS4	NAA 1.0 + IBA 2.0	10	10.6 ± 0.456 ^a	8.0 ± 0.296 ^c	++++

Means followed by different letters in the same column differ significantly at P = 0.05 according to Duncan's new multiple range test.

+ = Poor, ++ = Fair, ± = Standard error of mean, +++ = Good, ++++ = Excellent

Fuente: (Ali, Afrasiab, Naz, Rauf, & Iqbal, 2008)

Anexo N°6. Cultivo según Murashige y Skoog

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE

VITAMINAS (100 cc.)

MYO INOSITOL	1.0 gr.
ACIDO NICOTÍNICO	50 mg.
PIRIDOXINA	50 mg.
TIAMINA	4 mg.

STOCK N.-3 (200 cc.)

SUFATO FERROSO	756 mg.
Na EDTA	744 mg.

STOCK N.-1 (1000 cc.)

NITRATO DE POTASIO	19.0 gr.
NITRATO DE AMONIO	16.5 gr.
CLORURO DE CALCIO	4.5 gr.
SULFATO DE MAGNESIO	3.7 gr.
FOSFATO DE POTASIO	1.7 gr.

STOCK N.-2 (500 cc.)

SULFATO DE MANGANESO	84.5 mg.
SULFATO DE ZINC	43.0 mg.
ÁCIDO BÓRICO	31.0 mg.
YODURO DE POTASIO	4.15 mg.
MOLIBDATO DE SODIO	1.5 mg.

Anexo N°7. Clavel



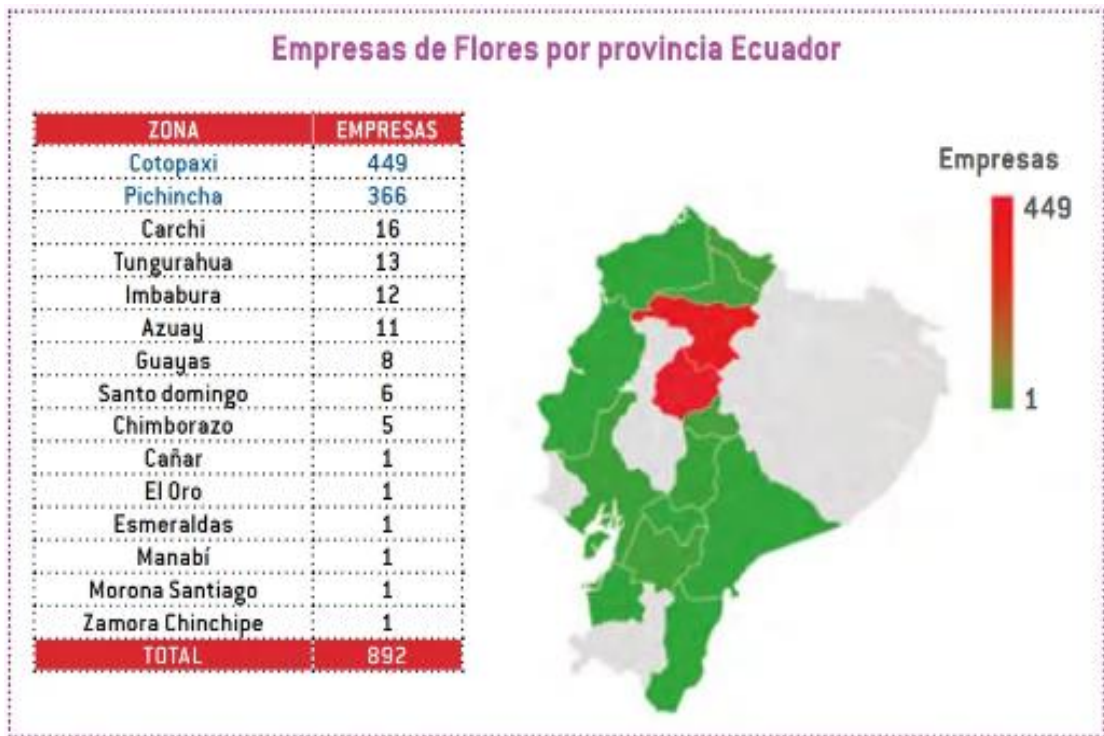
Tallos firmes y largos desde 30 hasta 80 cm de altura y colores definidos.

Botón de 1,5 cm de longitud.

Colores definidos de acuerdo a la variedad de la planta.

Durabilidad después de su corte de 10 a 15 días en el florero.

Anexo N°8. Empresas de flores por provincia



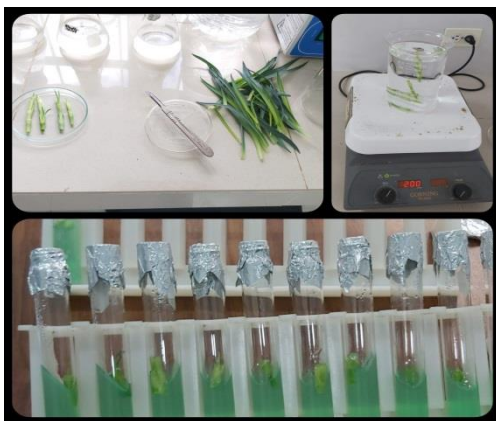
Anexo N°9. Fotografías de la instalación, seguimiento y evaluación del ensayo



Fotografía 1. Adquisición del material vegetal en el Invernadero origen en el cantón Pujilí provincia de Cotopaxi.



Fotografía 2. Material vegetal transplantado para aclimatación, desarrollo y posterior uso.



Fotografía 3. Prueba del método de desinfección del material vegetal.



Fotografía 4. Preparación de medios de cultivos.



Fotografía 5. Siembra del material desinfectado con la ayuda de la cámara de flujo.



Fotografía 6. Frascos diferenciados por color de la solución madre para identificación del tratamiento.



Fotografía 7. Toma de datos con la ayuda de un calibrador de vernier.



Fotografía 8. Visita de campo.

Anexo N°10. Glosario de términos

B/C: Costo-Beneficio; representa la relación global entre los costos y beneficios durante un período determinado.

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

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

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

Cogeneración: La cogeneración es el procedimiento mediante el cual se obtiene simultáneamente energía eléctrica y energía térmica útil. Si además se produce frío se llama trigeneración.

Dehiscente: Apertura espontánea de una estructura vegetal para dispersar su contenido, ya sea polen o semillas.

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

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

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

Exportaciones FOB: La exportación de los bienes a precios FOB (*Free on Board*) valor que corresponde al precio de mercado de los bienes en la frontera del país exportador.

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

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

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

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

Glabro: Un tallo que está desprovisto de pelos y glándulas.

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

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

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

Incoterms: *International commercial terms* (términos internacionales de comercio) son términos, de tres letras cada uno, que reflejan las normas de aceptación voluntaria por las partes en un contrato de compraventa internacional de mercancías acerca de las condiciones de entrega de las mercancías.

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

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

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

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

Precio FOB: Comprende el precio de salida de fábrica u origen, los márgenes comerciales, los costos de transporte hasta la frontera, los costos de carga en el navío o en cualquier otro medio de transporte internacional y los posibles gravámenes a la exportación.

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

TIR: Tasa Interna de Retorno o TIR es la tasa de interés o de rentabilidad que ofrece una inversión. Así, se puede decir que la Tasa Interna de Retorno es el porcentaje de beneficio o pérdida que conlleva cualquier inversión.

Total industrializados: Rubro que presenta el total de los principales productos elaborados que el país vende al exterior.

Total primarios: Rubro que presenta el total de los principales productos que se venden al exterior (para consumo o producción) en el estado en que se encuentran en la naturaleza o transformados en productos primarios no elaborados.

Totipotencia: Es la potencia celular máxima, que le confiere a la célula la capacidad de dirigir el desarrollo total de un organismo.

VAN: El valor actual neto (VAN), es un indicador financiero que sirve para determinar la viabilidad de un proyecto; corresponde al valor presente de los flujos de caja netos originados por una inversión.

Variegación: La denominación científica de “Variegata” es la apariencia de zonas diferentemente coloreadas en las hojas y a veces en el tallo de las plantas; las plantas que presentan una variegación son quimeras con diferentes composiciones genéticas en sus tejidos, lo que puede ser debido a un número de causas. Una cierta variegación es atractiva y ornamental y los jardineros tienden a preservar estos casos.

Vigor: Fuerza o actividad notable de las cosas animadas o inanimadas, viveza o eficacia de las acciones en la ejecución de las cosas, fuerza de obligar en las leyes

u ordenanzas, Duración de las costumbres o estilos, entonación o expresión enérgica en las representaciones teatrales y en las obras artísticas o literarias.