UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Agronomía

Tema:

EVALUACIÓN DE EXPLANTES DE CANNABIS (*Cannabis sativa*) NO PSICOACTIVO MEDIANTE PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO SEIS HORMONAS VEGETALES EN TRES DOSIS

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

Autoras:

Doris Maritza Doicela Raura

Yessica Elizabeth Vargas Nuñez

Tutora:

Ing. Sonia María del Carmen Salazar Ramos Mg.

Guaranda – Ecuador

2024

EVALUACIÓN DE EXPLANTES DE CANNABIS (*Cannabis sativa*) NO PSICOACTIVO MEDIANTE PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO SEIS HORMONAS VEGETALES EN TRES DOSIS

REVISADO Y APROBADO POR:

Ing. Sonia María del Carmen Salazar Ramos Mg.

TUTORA

Ing. Franz Patricio Verdezoto Mendoza MsC.

DOCENTE LECTOR

Ing. Víctor Alejandro Bósquez Barcenes PhD.

DOCENTE LECTOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Nosotras, Doris Maritza Doicela Raura, con CI 0503544736 y Yessica Elizabeth Vargas Nuñez, con CI 2250287154, declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

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

Doris Maritza Doicela Raura
Autora
CI: 0503544736

Yessica Elizabeth Vargas Nuñez
Autora
CI: 2250287154

Dr. Guido Fierro Barragán
NOTARIO PRIMERO DEL CANTÓN GUARANDA

Ing. Sonia María del Carmen Salazar Ramos Mg.
Tutora
CI: 0200933067

ESCRITURA PÚBLICA
DECLARACION JURADA
SEÑORITAS YESSICA ELIZABETH VARGAS NUÑEZ Y DORIS MARITZA DOICELA RAURA

En la ciudad de Guaranda, Capital de la Provincia de Bolívar, República del Ecuador, hoy día SÁBADO VEINTE Y NUEVE DE JUNIO DE DOS MIL VEINTE Y CUATRO , ante mí, Doctor GUIDO FABIAN FIERRO BARRAGAN, NOTARIO PÚBLICO PRIMERO DEL CANTÓN GUARANDA, comparecen las señoritas **YESSICA ELIZABETH VARGAS NUÑEZ,** portadora de la cédula de ciudadanía número dos dos cinco cero dos ocho siete uno cinco guion cuatro **y DORIS MARITZA DOICELA RAURA** de estado civil solteras, portador de la cédula de ciudadanía número cero cinco cero tres cinco cuatro cuatro siete tres guion seis capaces de contraer obligaciones, domiciliadas en esta ciudad y Cantón, número 0999424175, a quienes de conocerles doy fe en virtud de haberme exhibido sus cédulas de ciudadanía y certificados de votación ,cuyas copias adjunto a esta escritura. Advertidas por mí el Notario de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinadas en forma separada, de que comparecen al otorgamiento de la misma sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción, juramentado en debida forma, prevenidas de la gravedad del juramento, de las penas del perjurio y de la obligación que tienen de decir la verdad con claridad y exactitud, bajo juramento declaran lo siguiente: " Previo a la obtención del Título de Ingeniera Agrónoma que los criterios e ideas emitidas en el presente trabajo de investigación titulado **"EVALUACIÓN DE EXPLANTES DE CANNABIS (*Cannabis sativa*) NO PSICOACTIVO MEDIANTE PROPAGACIÓN IN VITRO UTILIZANDO SEIS HORMONAS VEGETALES EN TRES DOSIS,** son de nuestra exclusiva responsabilidad en calidad de autoras. Es todo cuanto puedo decir en honor a la verdad." (Hasta aquí la declaración juramentada rendida por las comparecientes, la misma que queda elevada a escritura pública con todo el valor legal). Para el otorgamiento de esta escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso; y leída que le fue a las comparecientes íntegramente por mí el Notario, se ratifican en todo su contenido y firman conmigo en unidad de acto. Incorporo esta escritura pública al protocolo de instrumentos públicos, a mi cargo. De todo lo cual doy fe.-

SRTA. YESSICA ELIZABETH VARGAS NUÑEZ

SRTA. DORIS MARITZA DOICELA RAURA

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

Dr. Guido Fierro Barragán
NOTARIO PRIMERO DEL CANTÓN GUARANDA

NOMBRE DEL TRABAJO

Tesis Cannabis Yessica&Doris.docx

AUTOR

Doris Maritza Doicela Raura Yessica Elizabeth Vargas Nuñez

RECUENTO DE PALABRAS

16757 Words

RECUENTO DE CARACTERES

85630 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

90 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

19.4MB

FECHA DE ENTREGA

Jun 28, 2024 6:27 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Jun 28, 2024 6:31 PM GMT-5

10% de similitud general

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

- 4% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 0% Base de datos de trabajos entregados
- 6% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

Ing. Sonia María del Carmen Salazar Ramos Mgs.
TUTORA
e-mail: ssalazar@ueb.edu.ec
CI: 0200933067

DEDICATORIA

A Dios, por guiarme, darme la sabiduría e inteligencia y cuidar, por permitir haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional por las bendiciones que me brinda cada día.

A mis padres Alejandro y Amelia cuyo amor incondicional y sacrificio han sido mi mayor inspiración y apoyo a lo largo de este camino académico. Por brindarme su amor, cariño por apoyarme incondicionalmente, por sus enseñanzas de gratitud y humildad y haberse ganado mi respeto y admiración.

A mis hermanas, Elsa, Yolanda, Jenny tan increíbles y únicas, son lo mejor que la vida me ha dado por su comprensión, ánimo y amor, las quiero mucho. A mi sobrina Emily que con su alegría y ternura ilumina mi vida. Su presencia me motiva a ser mejor cada día y a luchar por mis sueños. A mis hermanos por su apoyo incondicional me dieron las fuerzas para continuar en la lucha y nunca rendirme.

Doris Maritza

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios por guiar mis pasos, darme la fuerza y sabiduría para alcanzar este logro. A mi querida familia, cuyos sacrificios y amor incondicional me han brindado la fortaleza para superar cada obstáculo. A mis padres, por enseñarme el valor del esfuerzo y la perseverancia, y por ser mi mayor fuente de inspiración y apoyo en todo momento. A mis hermanos, por su constante ánimo y por ser mis compañeros invaluables en este camino. A mis docentes, cuyo conocimiento y dedicación han encendido en mí la llama de la curiosidad y el deseo de aprender. Y a todas las personas que, de alguna manera han contribuido a este logro, por su fe en mí y por sus palabras de aliento que han sido luz en los momentos más oscuros.

Yessica Elizabeth

AGRADECIMIENTO

Con inmensa gratitud, dedicamos estas palabras a todos los que han sido parte de esta travesía académica y personal. Agradecemos su colaboración y confianza, fundamentales para el desarrollo de este proyecto. Sin su constante apoyo, este logro no habría sido posible.

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Universidad Estatal de Bolívar, especialmente a la Carrera de Ingeniería Agronómica y a sus distinguidos docentes, por su valioso aporte intelectual a nuestra formación profesional.

De manera especial agradecemos a nuestra Tutora, la Ing. Sonia María del Carmen Salazar Ramos Mg., por su dedicación y apoyo incondicional a lo largo de este proceso. Su guía ha sido una fuente constante de motivación para nosotros.

También extendemos nuestro agradecimiento a los Miembros del Tribunal del proyecto de Investigación: Ing. Franz Patricio Verdezoto Mendoza MsC., Ing. Víctor Alejandro Bósquez Barcenes PhD., e Ing. David Rodrigo Silva García Mg., por sus valiosas contribuciones y respaldo durante la investigación.

Un agradecimiento especial al Ing. Víctor Hugo Cortez, cuya presencia en el laboratorio de Biotecnología y su amistad fueron un impulso invaluable para nosotras.

No podemos olvidar a nuestros compañeros y amigos, quienes han sido un apoyo incondicional en esta travesía. Gracias por estar ahí en cada momento.

Finalmente, queremos extender nuestro profundo agradecimiento a nuestros padres, cuyo apoyo ha sido fundamental en todo nuestro proceso de formación académica. A ellos, y a todos los que nos brindaron su apoyo, les estamos eternamente agradecidos.

Doris & Yessica

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO PAG.

CAPÍTULO I..... 1

1.1. INTRODUCCIÓN 1

1.2. PROBLEMA 3

1.3. OBJETIVOS 4

Objetivo General 4

Objetivos Específicos..... 4

1.4. HIPÓTESIS..... 5

CAPÍTULO II 6

2. MARCO TEÓRICO..... 6

2.1 Origen..... 6

2.2 Taxonomía 6

2.3 Descripción botánica..... 6

2.4 Requerimientos edafoclimáticos 8

2.5 Plagas y enfermedades del Cannabis 9

2.6 Variedades de Cannabis 11

2.7 Sistemas de propagación..... 11

2.8 Etapas de la propagación in vitro 13

2.9 Dosis de hormonas 15

2.10 Reguladores de crecimiento 15

2.11 Costo de producción 18

CAPÍTULO III 19

3. MARCO METODOLÓGICO 19

3.1. Ubicación y características de la investigación 19

3.2. Metodología 19

CAPÍTULO IV 25

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 25

4.1. Supuesto de normalidad y homocedasticidad de la variable longitud de brote por explante 25

4.2. Supuesto de normalidad y homocedasticidad de la variable longitud de raíz 28

4.3. Factor A: Tipos de hormonas vegetales 32

4.4. Factor B: Dosis de concentración 40

4.5. Interacción de factores AxB: Tipos de hormonas vegetales por dosis de concentración 45

4.6. Análisis de correlación y regresión lineal 51

4.6.1. Coeficiente de correlación (r) 51

4.6.2. Coeficiente de regresión lineal (b) 51

4.6.3. Coeficiente de determinación (R^2) 51

4.7. Comprobación de la hipótesis 52

CAPÍTULO V 53

5.1 CONCLUSIONES 53

5.2 RECOMENDACIONES 54

BIBLIOGRAFÍA 55

ANEXOS 63

ÍNDICE DE TABLAS

N°	Detalle	Pag.
1	Resultados de la prueba de normalidad mediante Kolmogorov-Smirnov en la variable respuesta	26
2	Resultados de la prueba homocedasticidad mediante Levene en la variable respuesta	28
3	Resultados de la prueba de normalidad mediante Kolmogorov-Smirnov en la variable respuesta	30
4	Resultados de la prueba homocedasticidad mediante Levene en la variable respuesta.	31
5	Resultados del análisis estadístico por el factor A: tipos de hormonas vegetales en relación con las variables	32
6	Resultados del análisis estadístico por el factor B: dosis de concentración en relación con las variables	40
7	Resultados del análisis estadístico de la interacción de factores tipos de hormonas vegetales por dosis de concentración en relación con las variables	45
8	Análisis de correlación, regresión lineal y determinación de las variables independientes que presentaron diferencias significativas con la variable dependiente longitud de brote (LB) a los 90 días	51

ÍNDICE DE FIGURAS

N°	Detalle	Pag.
1	Histograma de normalidad de la variable respuesta	25
2	Q-q Plot de normalidad de la variable respuesta	26
3	Supuesto de homocedasticidad de la variable respuesta	27
4	Histograma de normalidad de la variable respuesta	28
5	Q-q Plot de normalidad de la variable respuesta	29
6	Supuesto de homocedasticidad de la variable respuesta	30
7	Promedios del factor A para días a la brotación en el laboratorio	33
8	Promedios del factor A para número de brotes por explante a los 45 y 90 días	34
9	Promedios del factor A para número de hojas a los 45 y 90 días	35
10	Promedios del factor A para longitud de brote a los 45 y 90 días	36
11	Promedios del factor A para días a la emisión de raíces	37
12	Promedios del factor A para número de raíces	38
13	Promedios del factor A para longitud de raíz	39
14	Promedios del factor B para número de brotes por explante a los 45 y 90 días	41
15	Promedios del factor B para número de hojas por brote a los 45 y 90 días	42
16	Promedios del factor B para longitud de brote a los 45 y 90 días	43
17	Promedios del factor B para número de raíces	44

18 Promedios de la interacción de los factores AxB para número de brotes por explante a los 45 y 90 días 46

19 Promedios de la interacción de los factores AxB para número de hojas por brote a los 45 y 90 días 47

20 Promedios de la interacción de los factores AxB para longitud de brote a los 45 y 90 días 48

21 Promedios de la interacción de los factores AxB para número de raíces a los 90 días 49

22 Promedios de la interacción de los factores AxB para longitud de raíz a los 90 días 50

ÍNDICE DE ANEXOS

N°	Detalle
1	Mapa de ubicación de la investigación
2	Croquis del ensayo
3	Bases de datos
4	Fotografías
5	Glosario de términos técnicos

RESUMEN

Cannabis (*Cannabis sativa)* es una planta que se puede aprovechar casi en su totalidad ya que es utilizada como fuente de medicamentos. Recientemente ha surgido un gran interés en su uso terapéutico. El tema planteado para esta investigación fue evaluación de explantes de Cannabis (*Cannabis sativa*) *no* psicoactivo mediante propagación in vitro utilizando seis hormonas vegetales en tres dosis. Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Laguacoto II, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar. Los objetivos planteados dentro de esta investigación fueron: (I) Identificar la hormona vegetal más adecuada para la propagación de Cannabis. (II) Determinar las dosis de hormonas vegetales más eficientes para la propagación de Cannabis a partir de explantes. (III) Establecer el mejor tratamiento para la propagación in vitro de Cannabis y sus interacciones. (IV) Generar una base de datos preliminares con evidencia técnica del proceso de propagación de Cannabis. Se empleó seis hormonas vegetales en tres dosis de concentración bajo un diseño completamente al azar (DCA) en arreglo factorial AxB con 3 repeticiones para el análisis de varianza (ADEVA). Para comparar las medias del FA: Tipos de hormonas, FB: Dosis de concentración y sus interacciones se usó la prueba de Tukey al 5%. Basado en los resultados estadísticos obtenidos la respuesta agronómica varía significativamente dependiendo del tipo y dosis de hormona utilizada por ende se acepta la hipótesis alterna, la propagación in vitro de explantes de Cannabis no psicoactivo depende del tipo y dosis de hormona vegetal. En cuanto a la interacción de los factores AxB para el desarrollo de los explantes de Cannabis se demostró que la Kinetina con una dosis de 4mg/l, genera que los brotes y hojas se desarrollen mejor y el Ácido indol butírico con 4mg/l tiene una alta capacidad de enraizamiento.

Palabras claves: Auxinas, cannabis, citoquininas, explante, propagación in vitro.

SUMMARY

Cannabis (*Cannabis sativa*) is a plant that can be used almost entirely as a source of medicines. Recently, there has been a great interest in its therapeutic use. The subject of this research was the evaluation of non-psychoactive Cannabis (*Cannabis sativa*) explants by in vitro propagation using six plant hormones at three doses. This research was carried out at the Laguacoto II Biotechnology Laboratory, Guaranda Canton, Bolivar Province. The objectives of this research were: (I) To identify the most suitable plant hormone for the propagation of Cannabis; (II) To determine the most efficient doses of plant hormones for the propagation of Cannabis from explants; (III) To establish the best treatment for the in vitro propagation of Cannabis and its interactions; (IV) To generate a preliminary database with technical evidence of the Cannabis propagation process. Six plant hormones were used in three concentration doses under a completely randomized design (CRD) in AxB factorial arrangement with 3 replicates for analysis of variance (ANOVA). To compare the means of FA: Types of hormones, FB: Concentration dose and their interactions, Tukey's test at 5% was used. Based on the statistical results obtained, the agronomic response varies significantly depending on the type and dose of hormone used; therefore, the alternative hypothesis, in vitro propagation of non-psychoactive Cannabis explants depends on the type and dose of plant hormone, is accepted. Regarding the interaction of AxB factors for the development of Cannabis explants, it was demonstrated that Kinetin with a dose of 4mg/l, generates better bud and leaf development and indole butyric acid with 4mg/l has a high rooting capacity.

Key words: Auxins, cannabis, cytokinins, explant, in vitro propagation.

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

El Cannabis ha sido utilizado por la humanidad desde tiempos antiguos con múltiples propósitos, como la medicina. Es una planta que se puede aprovechar casi en su totalidad, pues proporciona fibras textiles, combustible y también es utilizada como fuente de medicamentos. Recientemente ha surgido un gran interés en su uso terapéutico (López et al., 2019).

A nivel mundial el primer país latinoamericano en exportar alimentos de Cannabis es Paraguay que exportó por primera vez en su historia, 20 toneladas a Holanda y a otro país de la Unión Europea el 23 de julio (Ferrere, 2021). Asimismo, Chile cosecha aproximadamente 4385 toneladas al año y ocupa el tercer lugar en el mundo en producción de semillas de Cannabis, que se usa principalmente para producir aceite (Gómez M. , 2020).

Ecuador posee condiciones geográficas ideales para el cultivo de Cannabis, ya que se encuentra ubicado en la línea ecuatorial, aproximadamente 12 horas de luz solar al día. Además, el país cuenta con una amplia variedad de tipos de suelo a los que la planta se puede adaptar con éxito. El Ministerio de Agricultura ha desempeñado un papel crucial al establecer un marco regulatorio que respalda y promueve la primera industria de Cannabis. Esta apertura a la producción legal ha dado lugar a la creación de una amplia gama de productos terminados que añaden valor a la industria. Se espera que estos productos tengan un impacto significativo en el mercado global, ya que Ecuador está posicionándose para convertirse en un importante exportador en este campo (Paredes, 2022).

Actualmente, en Tabacundo existe 1 hectárea de Cannabis en producción de semillas traídas de Oregón, Estados Unidos, siendo el primer cultivo legal de Cannabis en Ecuador. La empresa CannAndes tiene permiso para sembrar 9 hectáreas en Tabacundo, además de dos licencias adicionales para cultivar en la Costa y en Urcuquí donde ya hicieron pruebas (El Universo, 2021).

En la provincia Bolívar existe una notable carencia de información relacionada con la propagación in vitro de Cannabis ya que no se han realizado investigaciones previas sobre este cultivo.

La micropropagación es un conjunto de técnicas o métodos de cultivo in vitro, usadas para crecer células, tejidos u órganos vegetales bajo condiciones asépticas controladas y libres de microorganismos a partir de un fragmento o explante (yemas, semillas, raíz, hojas, etc.) se multiplican o propagan plantas nuevas en grandes cantidades en poco tiempo y libres de enfermedades (Macías, 2021).

Las citoquininas y auxinas juegan un rol importante como reguladoras de crecimiento en la propagación in vitro de Cannabis ya que ayudan al crecimiento de los explante, promoviendo la formación de nuevos brotes, además estimulan la formación y desarrollo de las raíces. El uso de auxinas no afecta la formación de brotes, pero si estimula su crecimiento (Almeida, 2022).

1.2. PROBLEMA

El cultivo de Cannabis se encuentra sujeto a numerosas restricciones debido a que no está legalmente autorizado para una producción convencional y solo se permite bajo estrictas regulaciones, especialmente cuando se destina a fines medicinales, lo que ha generado un desconocimiento en cuanto a su producción, debido a la falta de tecnología adaptada para producir de manera eficiente y segura.

La propagación in vitro presenta un desafío particular debido a la falta de investigaciones, el cultivo de Cannabis es una planta que está ganando gran importancia en el mercado medicinal. Se desconoce el tipo de hormona vegetal adecuada para la brotación de los explantes, resulta esencial determinar la concentración óptima que ofrezca los resultados más favorables en la propagación de esta planta. Esta técnica podría ser una solución valiosa para obtener plantas libres de hongos y bacterias, al mismo tiempo que permita una propagación eficiente de un mayor número de ejemplares en espacios reducidos, con aplicaciones potenciales tanto en el ámbito comercial como en el medicinal.

La presente investigación estuvo enfocada en aportar con nuevas tecnologías para la propagación in vitro de las plantas de Cannabis no psicoactivo, debido a que en la provincia de Bolívar se desconocen los múltiples beneficios que proporciona, además dar otra prospectiva de sembrar nuevos cultivos, ya que esta planta es exportada a otros países lo cual sería un buen rubro para los agricultores.

1.3. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar explantes de Cannabis no psicoactivo mediante propagación in vitro utilizando seis hormonas vegetales en tres dosis.

Objetivos Específicos

- Identificar la hormona vegetal más adecuada para la propagación de Cannabis.
- Determinar las dosis de hormonas vegetales más eficientes para la propagación de Cannabis a partir de explantes.
- Establecer el mejor tratamiento para la propagación in vitro de Cannabis, y sus interacciones.
- Generar una base de datos preliminares con evidencia técnica del proceso de propagación de Cannabis.

1.4. HIPÓTESIS

H_o: La efectividad de la propagación in vitro de explantes de Cannabis, no depende del tipo y dosis de hormona vegetal.

H_a: La efectividad de la propagación in vitro de explantes de Cannabis, depende del tipo y dosis de hormona vegetal.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Origen

Aunque el Cannabis (*Cannabis sativa*) se considera un narcótico, sus primeros usos fueron textiles y alimenticios. Es una planta milenaria que proviene de Asia, si bien los sitios exactos en los que surgió como especie, fue domesticada y en los que se empezó usar por sus propiedades psicoactivas, aún no se conocen del todo (Vázquez, 2021).

2.2 Taxonomía

La clasificación taxonómica de la especie *Cannabis sativa* corresponde:

Reino	Plantae
Subreino	Traqueobionta
Superdivisión	Espermatofita
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Hamamelididae
Orden	Urticales
Familia	Cannabaceae
Genero	Cannabis
Especie	sativa
Nombre científico	*Cannabis sativa* (Pilalumbo & Unaucho, 2022)

2.3 Descripción botánica

Cannabis sativa pertenece a la familia Cannabaceae. Es una planta originaria de Asia, es anual, dioica (flores macho y hembras se encuentran en distintas plantas) aunque pueden existir ejemplares hermafroditas. La altura de la planta puede variar de 0.2 a 6 metros, por lo general miden de 1 a 3 metros. Posee tallos erectos, estriados longitudinalmente, ramificados, con interior leñoso. Las hojas son palmeadas con 7

lóbulos, con borde aserrado, de color verde y con presencia de tricomas. Tiene inflorescencias en las axilas de las hojas superiores o en la parte superior del tallo, con brácteas herbáceas y glandulosas (Mondino et al., 2019).

Raíz

Es conocida como pivotante, fibrosa o fusiforme, llegando a alcanzar varios metros de profundidad, también la raíz es utilizada como uso medicinal, saborizantes y alimento para animales (Campos & Quispe, 2022).

Tallo

El tallo es recto, hueco, de forma cónica, circular, aunque en determinadas zonas presenta unas acanaladuras, el diámetro es mayor en la parte de la base, decrece en función de la altura, los entrenudos son largos y se acortan conforme se acercan al ápice. La corteza está compuesta por 65 – 70 % de celulosa, 10 - 15 % de hemicelulosa y 3 – 5 % de lignina. Los haces fibrosos del tallo se componen de fibras primarias y secundarias. El primero es una sección transversal e irregular y una pared espesa, en cambio, el segundo es menos irregular y más delgada (Pilalumbo & Unaucho, 2022).

Hoja

Las hojas son palmadas y estipuladas con peciolos de hasta siete centímetros de largo, compuestas con tres a nueve foliolos angostos de borde aserrado y de ápice agudo. El haz de la hoja está cubierto de tricomas glandulares, además posee un color más oscuro que el envés. Las inflorescencias son axilares, siendo las masculinas ramificadas y laxas con muchas flores, mientras que las femeninas son densas, pero con pocas flores de cinco a ocho (Aysa, 2023).

Flores

La inflorescencia femenina es un racimo que replica la estructura de los fitómeros de manera reducida, lo que conlleva a la diferenciación de estos órganos en órdenes ascendentes hacia los ápices, siendo de primer orden los órganos más basales o de mayor tamaño. Las flores femeninas son sésiles, se disponen solitarias cerca de

yemas axilares o agrupadas en inflorescencias racimosas. Las flores masculinas son pentámeras, carentes de corola, los sépalos del cáliz son amarillentos, oblongos y acuminados (Betancourt, 2021). Son pequeñas y agrupadas en inflorescencias del tipo espiga, teniendo el ovario envuelto, de polinización clasificada como anemofilia (Sánchez & Rincón, 2021).

Semilla

Se origina en el interior de un aquenio tiene 3 - 6 mm de largo 2.5 - 4 mm de ancho tiene forma ovalada de color pardo grisáceo o moteado, el pericarpio es duro y comprende de dos valvas soldadas. Pesa entre 3 y 60 mg, y oscilan entre 15 - 20 mg (Peñafiel & Changoluisa, 2021). Además, tienen un alto contenido de fibra, proteínas y grasas, que oscilan entre 27 - 36 %, 25 - 35 % y 21 - 28 % (Herrera J. , 2023).

2.4 Requerimientos edafoclimáticos

Precipitación y humedad relativa

Respecto a la humedad relativa óptima para el correcto desarrollo del Cannabis, los valores de esta se encuentran en el rango comprendido entre el 40 y 60 %. Valores de humedad por encima del 60 % promueven la aparición de hongos, por lo que deberán mantenerse humedades por debajo de este valor, sobre todo durante el proceso de floración, donde conviene mantener la humedad relativa cerca del 40 % (Blázquez, 2022).

Temperatura

En general, las plantas de Cannabis crecen mejor en temperaturas diurnas entre 20 y 30 ºC (70 y 85 ºF). Los productores generalmente están de acuerdo en que la temperatura ideal es de alrededor de 25 ºC (o alrededor de 75 ºF). Por la noche, prefieren temperaturas ligeramente más frescas, alrededor de 18 ºC (64 ºF). La temperatura óptima para el desarrollo de la planta se sitúa en 14.3 °C con un rango de 5.6 °C hasta 27 °C (Gutiérrez & Vallejo, 2023).

Clima

Si los cultivos están al aire libre, es necesario mantener un control de la temperatura que se registra, ya que lo recomendado es que la luz este por 12 horas aproximadamente, y las otras 12 horas las plantaciones de Cannabis deben mantenerse en oscuridad, por ello es mucho más fácil el control en espacios internos, ya que se controla la potencia de la luz para una óptima floración (Cevallos, 2022).

Luz

Este tipo de cultivo requiere mucha luz solar durante la primera y segunda etapa de crecimiento, pero menos tiempo de luz en la transición de la segunda a la tercera etapa. El tiempo de floración depende de la variedad e incide directamente en el rendimiento y la calidad de la cosecha. Por tanto, requiere 8 horas de luz o al menos 7 horas de luz ininterrumpida al día. La floración requiere días cortos, menos de 14 horas la floración es rápida (Curicho & Toaquiza, 2022).

Suelo

El suelo apto para este cultivo es de estructura francos ya sea limoso, arcilloso o arcillo limoso, y que sean profundas, además de poseer suelos bien drenados que sean ricos en nutrientes (Changoluisa & Peñafiel, 2021).

2.5 Plagas y enfermedades del Cannabis

Plagas

Araña roja *(Tetranychus urticae)*

Se propaga en el envés de las hojas al succionando fluidos vitales. Las arañas rojas aparecen como manchas diminutas en el envés de las hojas, sin embargo, los rastros que dejan al alimentarse, un punteado de color blanco amarillento en la parte superior de las hojas durante la alimentación. Su control es estar libre de malezas el cultivo, desinfectar las herramientas de trabajo. Se recomienda la aplicación de extractos de

pelitre (*Anacyclus pyrethrum*), aceite de Neem o extracto de canela a la parte vegetativa de la planta (Vargas et al., 2023).

Áfidos o pulgones *(Aphididae)*

Estos insectos succionan la savia vital del follaje, haciendo que las hojas se pongan de color amarillo y marchiten, normalmente los pulgones se encuentran debajo de las hojas (envés), acumulados alrededor de los nudos de las ramas y en los brotes nuevos. Esta plaga es vector de trasmisión de bacterias, hongo y virus.
Se puede controlar con la aplicación de 2 o 3 veces con intervalos de cinco a diez días en la aplicación de pelitre puede funcionar muy bien en el control de áfidos (INTAGRI, 2020).

Enfermedades

Moho gris *(Botrytis cinerea*)

El hongo comienza a infestar la parte superior del árbol y es difícil de identificar al principio. Es de color blanquecino y verde, y el área afectada tiende a secarse volviendo de marrón a gris y desvanecerse a una apariencia marchita y muerta**.** Uno de los factores más importantes es el control de la humedad, y si estás en un sistema de cultivo protegido, es fundamental mantener la humedad lo más baja posible, especialmente durante la floración (Gutierrez & Vallejo, 2023)**.**

Marchitamiento

Es una enfermedad causada por el hongo Fusarium, este comienza con la aparición de clorosis entre las nervaduras de las hojas, las puntas se rizan antes del marchitamiento y de secarse, una vez haya sido infectada por el hongo tiende a infectarse hasta la raíz acabando con ella completamente, por lo que se debe tener cuidado debido a que este hongo puede estar presente en cualquier suelo o tipo de sustrato. Como medida de control se eliminan los restos de cultivo u hojas viejas que se encuentren en el suelo y así se puede ayudar a controlar la reproducción de patógenos ya que las esporas del hongo pueden germinar en material vegetativo muerto (Curicho & Toaquiza, 2022).

2.6 Variedades de Cannabis

Cannabis sativa

Es una planta que pertenece a la familia Cannabaceae. Esta planta se clasifica en 1753, desciende de un ancestro común de *Cannabis sativa* originario de Asia central, antes de que se conociera nuevos derivados o especies en los pools génicos Indica y Sativa. Son las más conocidas a nivel mundial, ya que la mayoría de sus partes puede utilizar para uso industrial, crecen en lugares de clima tropical es una planta muy alta, de un tono más claro que las demás, su apariencia es similar a las plumas a diferencia de otras clases (Gómez et al., 2021).

Cannabis indica

Su origen se encuentra en Pakistán e India. Contiene una cantidad más reducida de THC que las variedades de Cannabis por lo que su efecto es más relajante. Sus efectos pueden producir relajación física, analgesia e introspección. También paranoia. Sus efectos narcóticos pueden inducir el sueño, lo que convierte al *Cannabis indica* en una "variedad 6 nocturna" para muchos consumidores de esta sustancia psicoactiva (Almeida, 2022).

Cannabis Ruderalis

Es una variedad de Cannabis originaria del sur de Siberia y el norte de Kazajstán. Estas plantas suelen ser las más pequeñas de todas las anteriores, ya que no llegan al metro de estatura y tienen un período de floración más corto que la índica. Ruderalis variedad 6 es una planta que es capaz de crecer en las peores condiciones y que se adapta a las diferentes climatologías (Suntaxi, 2021).

2.7 Sistemas de propagación

El Cannabis se propaga gracias a la dispersión de sus semillas. Es una planta dioica, ya que su polinización suele realizarse por el aire, lo que ocasiona que sus progenies tengan fenotipos segregantes. Estos factores en conjunto, determinan su amplia diversidad genética y la aparición de fenotipos variados.

Propagación convencional

Como resultado de la capacidad de Cannabis para realizar polinización cruzada. Las plantas sativas cultivadas a partir de semillas son altamente heterocigotas y la propagación vegetativa a partir de una planta madre elegida solo puede dar como resultado un número finito de esquejes a la vez, lo que crea desafíos cuando se requiere una producción a gran escala de Cannabis. Debido a su potencial para regenerar clones de élite y preservar recursos fitogenéticos de valor incalculable, el cultivo de tejidos vegetales se reconoce como una de las áreas clave de la biotecnología. Además, tiene beneficios para la expansión y producción masiva de Cannabis (Villegas, 2020).

Propagación por esquejes

La propagación por semilla requiere cierta infraestructura para germinar las semillas y levantar las plántulas que luego serán trasplantadas al campo, pero la propagación por esquejes requiere una inversión mayor. Esto se debe a que se requiere un ambiente para cultivar las plantas madre y mantenerlas en estado de inactividad durante períodos en los que normalmente no es posible (Amorin et al., 2021).

Propagación in vitro

Si bien en la naturaleza existen muchas variables que dificultan mantener la homogeneidad en la población, la técnica de cultivo de tejidos in vitro asegura la estabilidad de una misma línea germinal de interés para la producción de compuestos específicos. El establecimiento, mantenimiento y manipulación de cualquier parte de una planta (desde una sola célula hasta un organismo completo) en condiciones artificiales, axénicas y controladas es posible gracias a componentes químicos útiles (Pineda, 2021)**.**

Organogénesis directa de *Cannabis sativa*

La organogénesis directa es el proceso en el que los órganos se generan directamente en la superficie del explante cultivado, sin requerir a una etapa de formación de callo. La regeneración de la planta a través de la organogénesis directa comprende varias

etapas, que incluyen el inicio de yemas de brotes, la proliferación de los brotes, el alargamiento y enraizamiento del brote. La regeneración directa se basa en la utilización de tejidos meristemáticos, y se han desarrollado diversos protocolos para propagar Cannabis sativa utilizando la organogénesis directa a través de yemas axilares, extremos de brotes y cotiledones como explantes (Adams et al., 2021).

Micropropagación

En la micropropagación los explantes (fragmento de la planta) se cultivan en medios de cultivo bajo condiciones controladas de laboratorio, esta técnica permite mantener un gran número de plantas de interés en un espacio reducido y lo más importante es que mediante la micropropagación se mantiene el mismo genotipo en todos los clones de la planta de interés además que se produce plantas libres de patógenos, virus enfermedades e insectos debido a las condiciones estériles en las que se desarrolla el proceso (Pineda, 2021).

2.8 Etapas de la propagación in vitro

Fase 0: Preparación de la planta madre

Prever y evitar problemas durante el proceso es importante antes de comenzar la micropropagación, teniendo especial cuidado en la selección de la planta, la cual debe ser sana y contener las características que deseamos preservar. Después de la selección del mejor material para reproducir, se debe detectar y eliminar enfermedades preexistentes y proveer de tratamientos previos que permitan minimizar el peligro de sufrir contaminación y enfermedades durante las siguientes etapas de la propagación (Moreno , 2021).

Fase 1: Desinfección del material vegetal

Una vez seleccionada la planta madre se extraen fragmentos llamados explantes, estos pueden ser: yemas, fragmentos de hojas, partes de raíces, semillas, etc. Antes de la extracción del explante, se desinfectan fragmentos de la planta madre para eliminar contaminantes externos. Los contaminantes más comunes son los hongos y las bacterias que habitan naturalmente en el medio ambiente. Luego de la desinfección el

material vegetal, se deberá mantener en condiciones estériles; por ejemplo, el trabajo se realizará en una cámara de flujo laminar para extraer los explantes del material vegetal; además, se esterilizarán con agua esterilizada o NaClO diluido durante 5 a 15 minutos, luego enjuague con agua esterilizada de 3 a 4 veces. Estos explantes se colocarán en tubos de ensayo (esterilizados) que contienen medio de partida para permitir el control de la salud y la viabilidad (Alejos & Canchis, 2022).

Fase 2: Introducción del material in vitro

Luego de la desinfección superficial, las semillas o las yemas dependiendo del material seleccionado, se ponen en medio de cultivo estéril. En un período de una semana o quince días, comienza el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo de cultivo in vitro (Caluña & Rea, 2022).

Fase 3: Multiplicación de los brotes

Durante esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron la FASE 1 y 2 originen brotes (de procedencia axilar o adventicia) con varias hojas. En la base de cada hoja hay una yema que se desarrollará luego de ser puesta en contacto con el medio de cultivo. Periódicamente estos nuevos brotes se deben subcultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones se realizan en la cámara de flujo laminar o en un lugar aislado que nos permita mantener las condiciones de asepsia (Campos & Quispe, 2022).

El número de plantas que se obtiene dependerá de la especie vegetal y de las condiciones del medio de cultivo. Se obtiene por la vía de la micropropagación permite alcanzar incrementos exponenciales, considerando que todos los factores que afectan el crecimiento hayan sido optimizados (Campos & Quispe, 2022).

Fase 4: Elección de un medio de enraizamiento de los explantes

Para enraizar los explantes se utilizan plántulas individuales de unos 2 mm de tamaño. Los brotes obtenidos durante la etapa de multiplicación se transfirieron a un medio que no contenía reguladores de crecimiento o que contenía solo hormonas de tipo auxina. Algunas especies de plantas no necesitan pasar por esta etapa y desarrollan sus

raíces en el mismo cultivo que los nuevos brotes, por lo que la reproducción y enraizamiento se dan simultáneamente (Ramos & Rea, 2022).

Fase 5: Aclimatación de los explantes enraizados

Los explantes recién enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales, de manera que el éxito o el fracaso de todo el proceso depende de la aclimatación. En el momento en que se extraen los explantes enraizados de los frascos, están poco adaptados a crecer en un invernáculo, ya que estos explantes han enraizado y crecido en ambientes con una humedad relativa muy elevada y generalmente tienen estomas (estructuras responsables de regular la transpiración y pérdida de agua en la planta) que no son completamente funcionales frente a descensos de la humedad relativa. Por otra parte, crecer en ambientes tan húmedos también suele implicar la falta de una cutícula con cera bien desarrollada, que representa la barrera física para evitar la pérdida de agua a lo largo de toda la superficie de la planta (Caluña & Rea, 2022).

2.9 Dosis de hormonas

Los reguladores de crecimiento vegetal son eficaces a bajas concentraciones internas, siendo los que modulan procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas, debido a que son moléculas orgánicas difusibles. Es riesgoso generalizar acerca de los efectos de un tejido u órgano vegetal en particular porque cada uno de los reguladores no solo influyen en la respuesta dependen de la especie, órgano del vegetal, estado de desarrollo, concentraciones endógenas y exógenas, interacciones entre reguladores de crecimiento y diversos ambientes (Pilalumbo & Unaucho, 2022).

2.10 Reguladores de crecimiento

Citoquininas

Las citoquininas naturales se sintetizan en tejidos jóvenes y raíces, tienen la capacidad de estimular la síntesis de proteínas, participan en el control del ciclo celular estimulando y regulando la división celular y rompen la latencia de las yemas axilares, modificando la dominancia apical y la diferenciación de los brotes, en plantas

completas promueven la brotación, estimulan la expansión de las hojas y retardan la senescencia (Bustamante, 2019).

Su función es estimular la división celular y el crecimiento, inhiben el desarrollo de las raíces laterales, rompen la latencia de las yemas axilares, promueven la expansión celular en cotiledones y hojas, retrasa la senescencia o envejecimiento de los órganos vegetales, promueve la organogénesis en los callos celulares, promueve el desarrollo de los cloroplastos (Herrera, 2022).

Bencil adenina

En los medios de cultivo induce a la formación de nuevos brotes durante la multiplicación in vitro. Utilizado para la inducción de la división celular y la diferenciación de brotes en cultivos de tejidos vegetales (Cepeda, 2023).

Bencil amino purina

El BAP participa y promueve la división de las células vegetales; sin embargo, es importante mencionar que su efecto se encuentra sujeto al estado de diferenciación celular, induciendo el desarrollo de brotes y la formación de órganos (Zambrano, 2022).

Kinetina

Es una hormona reguladora de crecimiento utilizada en cultivos de tejido vegetal, son compuestos responsables de la expresión genética; como en el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales, son caracterizadas por influenciar en respuestas morfogénicas (Torres, 2022).

La división celular generando inducción y desarrollo de brotes axilares, la germinación de semillas y la diferenciación celular. La incorporación de esta hormona en el medio de cultivo cumple como principal función la activación de la división celular, para la obtención de brotes y diferenciación de estos órganos (López & Villanueva, 2021).

Auxinas

Las auxinas tienen varias funciones como la estimulación del alargamiento y la división celular, el crecimiento de hojas, tallos y frutos, la formación de raíces adventicias y la dominancia apical. Principalmente, promueven la dominancia apical, el desarrollo de raíces laterales y adventicias, además regulan el crecimiento de flores, yemas y frutos (Alcarazo, 2021).

Las auxinas inducen y promueven el crecimiento de raíces laterales y adventicias al estimular la división celular en el periciclo, originando el meristema apical de raíz. Por su papel en la inducción radicular, son el principal regulador en los medios de enraizamiento (Boschi, 2022).

Actúa directamente sobre la pared celular, ablandándola y reduciendo su rigidez, lo que permite la entrada de agua y provoca la elongación celular. Regula la caída de las hojas, facilita la formación del tejido conductor y según su concentración, puede estimular o inhibir la formación de yemas. También estimula el crecimiento de las raíces (Cárdenas, 2021).

Ácido indol acético

El AIA es una hormona natural de origen vegetal de la familia de las auxinas. Interviene en numerosos procesos fisiológicos de gran relevancia para las plantas, como la división, expansión y diferenciación de las células y tejidos de las plantas, estimula la elongación de las raíces y promueve la defensa contra patógenos. Numerosos estudios han demostrado que, a concentraciones elevadas, el AIA reduce el crecimiento longitudinal de raíces primarias, incrementando la formación de pelos radiculares y estimulando el desarrollo de raíces laterales (Sánchez, 2021)

Ácido indol butírico

Esta hormona se considera la auxina más comúnmente utilizada para la formación de raíces. Muy utilizada como regulador del crecimiento de raíces en plantas,

debido a que estimula la formación de raíces laterales con efecto positivo en el desarrollo de las plantas (Sopalo, 2024).

Ácido naptalén acético

El ANA tiene usos diferentes en las ciencias agrícolas, entre los cuales sobresalen su implementación como agente de enraizamiento de estacas, como inductor de raíces en explantes en condiciones de asepsia. Estas hormonas se transportan a lo largo del eje longitudinal de la planta, desde el ápice hacia la base en el tallo y en dirección opuesta desde la raíz (Zambrano C. , 2022).

2.11 Costo de producción

Los costos de producción (también llamados costos de operación) son los gastos necesarios para mantener un proyecto, línea de procesamiento o un equipo en funcionamiento. En una compañía estándar, la diferencia entre el ingreso (por ventas y otras entradas) y el costo de producción indica el beneficio bruto (FAO, 2020). El cultivo de Cannabis medicinal puede ser una actividad rentable, pero es importante comprender los costos involucrados y tener un plan de negocios sólido para tener éxito en este mercado competitivo (Lozano, 2023).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación y características de la investigación

- **Localización del experimento**

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Granja Laguacoto II, parroquia Gabriel Ignacio Veintimilla, cantón Guaranda, Provincia Bolívar.

3.2. Metodología

3.2.1 Material experimental

- Explantes de Cannabis
- Hormonas vegetales

3.2.2 Factores en estudio

FA: Tipos de hormonas vegetales:

- **A1:** Bencil adenina
- **A2:** Bencil amino purina
- **A3:** Kinetina
- **A4:** Ácido indol acético
- **A5:** Ácido indol butírico
- **A6:** Ácido naptalén acético

FB: Dosis de concentraciones:

- **B1:** 2 mg/l
- **B2:** 4 mg/l
- **B3:** 6 mg/l

3.2.3 Tratamientos

N° Tratamientos	Código	Descripción
T1	A1B1	Bencil adenina + 2 mg/l
T2	A1B2	Bencil adenina + 4 mg/l
T3	A1B3	Bencil adenina + 6 mg/l
T4	A2B1	Bencil amino purina + 2 mg/l
T5	A2B2	Bencil amino purina + 4 mg/l
T6	A2B3	Bencil amino purina + 6 mg/l
T7	A3B1	Kinetina + 2 mg/l
T8	A3B2	Kinetina + 4 mg/l
T9	A3B3	Kinetina + 6 mg/l
T10	A4B1	Ácido indol acético + 2 mg/l
T11	A4B2	Ácido indol acético + 4 mg/l
T12	A4B3	Ácido indol acético + 6 mg/l
T13	A5B1	Ácido indol butírico + 2 mg/l
T14	A5B2	Ácido indol butírico + 4 mg/l
T15	A5B3	Ácido indol butírico + 6 mg/l
T16	A6B1	Ácido naptalén acético + 2 mg/l
T17	A6B2	Ácido naptalén acético + 4 mg/l
T18	A6B3	Ácido naptalén acético + 6 mg/l

3.2.4 Tipo de diseño experimental o estadístico

Se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo factorial 6 x 3 con tres repeticiones.

3.2.5 Manejo del experimento en campo o laboratorio

Selección de las plantas

Para la extracción de explantes se seleccionó plantas de Cannabis no psicoactivo sanas y libres de enfermedades como material de partida, las cuales fueron sembradas

previamente en el laboratorio de Biotecnología usando semillas híbridas de dos tipos de Cannabis: 60% Indica y 40% Sativa.

Obtención de los brotes

Cuando los brotes estuvieron visibles en la planta, se procedió a cortar la parte apical de 1 a 1.5 centímetros de longitud.

Preparación del medio de cultivo

En el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente de la Universidad Estatal de Bolívar, se procedió a preparar el medio de cultivo según Murashige y Skoog, con el fin de estimular el desarrollo de los brotes de cada explante, para ello se añadieron macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, agar y reguladores de crecimiento, cada hormona vegetal antes mencionada en tres concentraciones: 2 mg/l, 4 mg/l y 6 mg/l, respectivamente, con un pH entre 5.6 a 5.7.

Para su preparación se realizó el siguiente procedimiento:

- Se colocó una tercera parte de agua destilada en un vaso de precipitación de 1000 ml, luego se colocó en el agitador magnético a 240 rpm.
- A continuación, se pesaron 30 g de azúcar y 9 g de agar en estado sólido.
- La sacarosa se añadió durante la preparación de la solución, luego se agregó 4.4 gr/L de la solución Ms (Murashige y Skoog), 10 ml de vitaminas y las hormonas vegetales en dosis de 2 mg/l, 4 mg/l y 6 mg/l, para identificarlas se usaron diferentes colores y etiquetas.
- Se midió el pH con ayuda del pHmetro, posteriormente se agregó el agar cuando el medio estaba caliente, después se colocó el agitar magnético a 550 °C y 240 rpm., para inducir al estado de ebullición.

Esterilización del medio de cultivo

Se procedió a dispersar el medio de cultivo en los frascos de vidrio, aproximadamente 50 cc en cada uno de ellos, los cuales pasaron por un proceso de esterilización en la autoclave a 121 ºC durante 20 minutos. Posteriormente, se retiraron los frascos de la

autoclave en una bandeja plástica donde se enfriaron durante 24 horas en el área de transferencia.

Introducción al medio de cultivo

En la introducción al medio de cultivo se colocó los brotes en un medio de cultivo para su desarrollo, se trasladó a un lugar estéril e iluminado con luz artificial en el "área de incubación" para estimular sus procesos metabólicos normales.

3.2.6 Métodos de evaluación (variables respuesta)

Días a la brotación en laboratorio (DBL)

Se registró en el área de incubación mediante observación directa, contando los días transcurridos desde la colocación de los explantes en el medio de cultivo. Se consideró el brote que presentó dos hojas desarrolladas.

Número de brotes por explante (NBE)

Se tomó en el área de incubación por observación directa a los 45 y 90 días del último subcultivo en sus respectivos medios de cultivo. Se observaron y contaron los brotes individuales desarrollados a partir de un único explante, los cuales presentaron al menos dos hojas desarrolladas, en el área de incubación.

Número de hojas por brote (NHB)

Dato que se registró por observación directa en el frasco de cristal a los 45 y 90 días del subcultivo en sus respectivos medios de cultivo, se consideró las hojas desarrolladas sin tomar en cuenta la primera y la última, la cuales estuvieron en progreso.

Longitud de los brotes (LB)

La longitud de los brotes se midió verticalmente desde la parte coronal superficial de la base del brote hasta su ápice con ayuda de una regla desde la parte exterior del

frasco de cristal, esta variable se registró a los 45 y 90 días del subcultivo a sus respectivos medios de cultivo.

Número de frascos contaminados (NFC)

El número de frascos contaminados se evaluó en porcentajes mediante observación directa de la presencia de agentes patógenos causados por hongos durante los 45 días desde la introducción del explante al medio de cultivo.

Días a la emisión de las raíces (DER)

Se registró de acuerdo a los días transcurridos desde que el explante emergió totalmente hasta que se observó la primera raicilla visible. Dato que se tomó en todos los tratamientos.

Número de raíces (NR)

Para esta variable se tomó el número de raíces individuales presentes en cada explante. Esto se llevó a cabo mediante el conteo directo de todas las raíces desde que emergieron por completo, y se observaron las primeras raíces en cada uno de los tratamientos a los 90 días.

Longitud de raíz (LR)

La longitud de la raíz fue medida en todos los tratamientos con una regla desde el cuello de la raíz hasta la parte terminal o cofia, datos que se registraron a los 90 días.

3.2.7 Análisis de datos

- Se utilizó el análisis de varianza (ADEVA).

Fuentes de variación (FV)	**GL**	**CME***
Tipos de hormonas vegetales (6 - 1)	5	$\int^2 e + 9\theta^2 FA$
Dosis de concentración (3 – 1)	2	$\int^2 e + 9\theta^2 FB$
FA x FB: (A – 1) (B – 1)	10	$\int^2 e + 9\theta^2 FAxFB$
Error experimental t (r - 1)	36	$\int^2 e$
Total (t x r) – 1	53	

- Prueba de Tukey al 5 % para comparar los promedios del factor A, factor B e interacciones AxB.
- Análisis de correlación y regresión lineal simple.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos fueron analizados mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov para comprobar los supuestos de normalidad y homocedasticidad de la varianza.

4.1. Supuesto de normalidad y homocedasticidad de la variable longitud de brote por explante

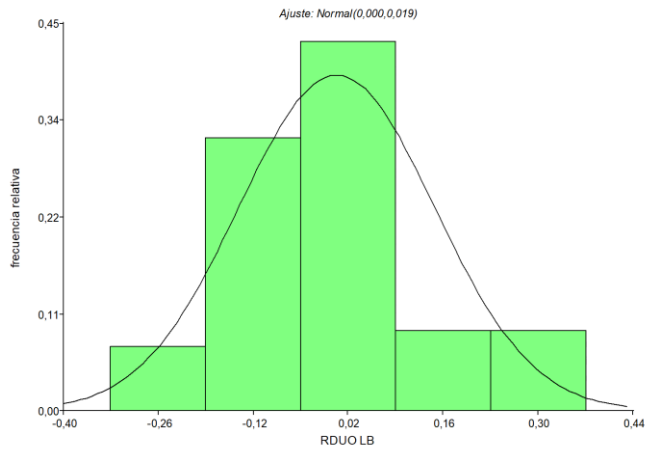
Para calcular la variable longitud de brote por explante se realizó el supuesto de normalidad y de homocedasticidad para determinar si se cumple con los mismos y aplicar ANOVA.

Supuesto de normalidad

Para verificar si los datos de la variable respuesta se ajustan a una distribución normal se realizan pruebas gráficas y formales de normalidad. En lo referente a la prueba gráfica se elaboró un histograma para determinar si se cumple el supuesto de normalidad.

Figura 1

Histograma de normalidad de la variable respuesta

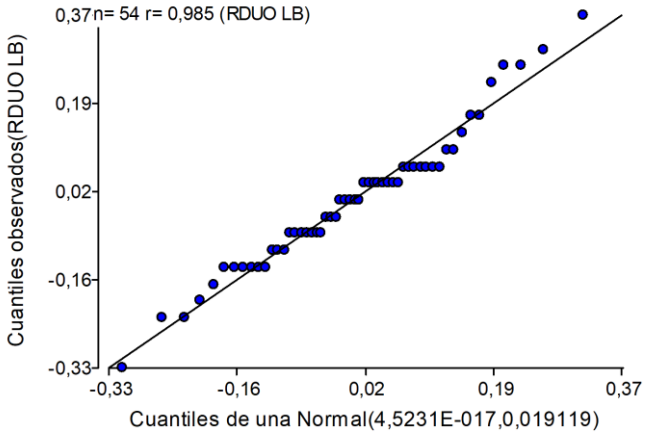


Los resultados gráficos obtenidos del histograma muestran indicios de que los resultados pertenecen a una variable normal, de la misma forma para corroborar se

aplica un gráfico Q-q Plot que permite evidenciar de forma gráfica la normalidad de una variable a continuación, se presentan los resultados obtenidos.

Figura 2

Q-q Plot de normalidad de la variable respuesta



Los resultados obtenidos de la variable de respuesta denotan mediante el Q-q Plot que se encuentra a una variable normal ya que el gráfico debe establecer que los resultados muestran datos cercanos de la recta, se observa que existe diez resultados que se alejan un poco de la recta, sin embargo, la mayoría de los datos se presentan como resultados normales. Finalmente, para corroborar la normalidad de una variable se aplica la prueba formal de normalidad para el caso de estudio se toma en cuenta el estadístico Kolmogorov-Smirnov debido a que se cuenta con una cantidad mayor a 50 muestras lo que determina que el estadístico mencionado es el que presenta las condiciones idóneas para el presente estudio.

Tabla 1

Resultados de la prueba de normalidad mediante Kolmogorov-Smirnov en la variable respuesta

Variable	N	Varianza	Estadístico D	P-valor
RDUO LB	54	1.02	0.3	0.3386

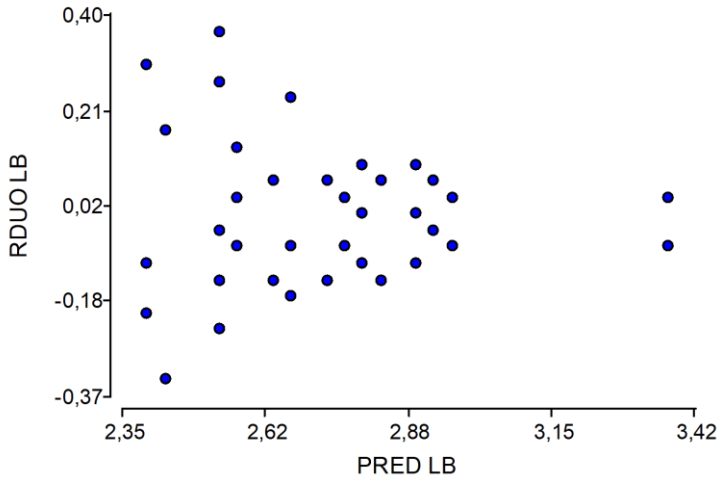
Los resultados obtenidos de la longitud de brote por explante a los 90 días son superiores a 0.05 lo que ratifica que es una variable normal y se cumple con el supuesto de normalidad, ya que para validar el mismo se espera que los resultados sean superiores a 0.05.

Supuesto de homocedasticidad

De manera seguida se da la realización del supuesto de homocedasticidad debido a que el mismo permite determinar si la varianza dentro de los grupos es aproximadamente igual en todos ellos. Esto es así ya que en la hipótesis nula se considera que todas las observaciones proceden de la misma población, por lo que tienen la misma media y también la misma varianza (Campos et al., 2020). Para determinar el supuesto de homocedasticidad se realiza pruebas gráficas y formales.

Figura 3

Supuesto de homocedasticidad de la variable respuesta



Los resultados gráficos demuestran que los datos se distribuyen de forma homogénea por lo que se brinda indicios del cumplimiento del supuesto de homocedasticidad, para corroborar los resultados gráficos se pretende validar la información gráfica se realiza la prueba formal de Levene, a continuación, se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 2

Resultados de la prueba homocedasticidad mediante Levene en la variable respuesta

F.V.	Sc	Gl	Cm	F	P-Valor
Tratamiento	0.0443	10	0.0044	1.0447	0.4279

Los resultados obtenidos al aplicar la prueba de Levene determinan un p-valor de 0.4279, resultado que es superior a 0.05, lo que demuestra que se cumple con el supuesto de homocedasticidad y se puede continuar con el proceso de análisis de ANOVA.

4.2. Supuesto de normalidad y homocedasticidad de la variable longitud de raíz

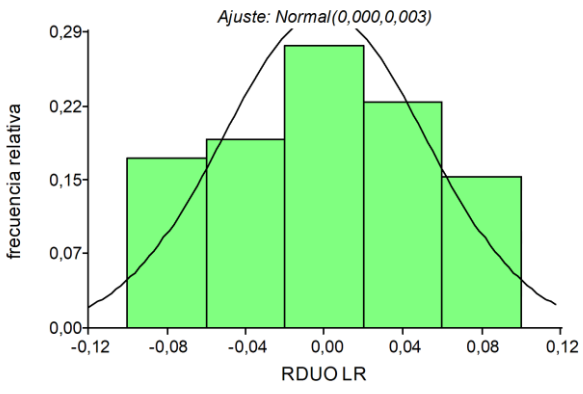
Para calcular la variable longitud de raíz se realizó el supuesto de normalidad y de homocedasticidad para determinar si se cumple con los mismos y aplicar ANOVA.

Supuesto de normalidad

Para verificar si los datos de la variable respuestas se ajustan a una distribución normal se realizan tanto, pruebas gráficas formales de normalidad. En lo referente a la prueba grafica se elaboró un histograma para determinar si se cumple el supuesto de normalidad.

Figura 4

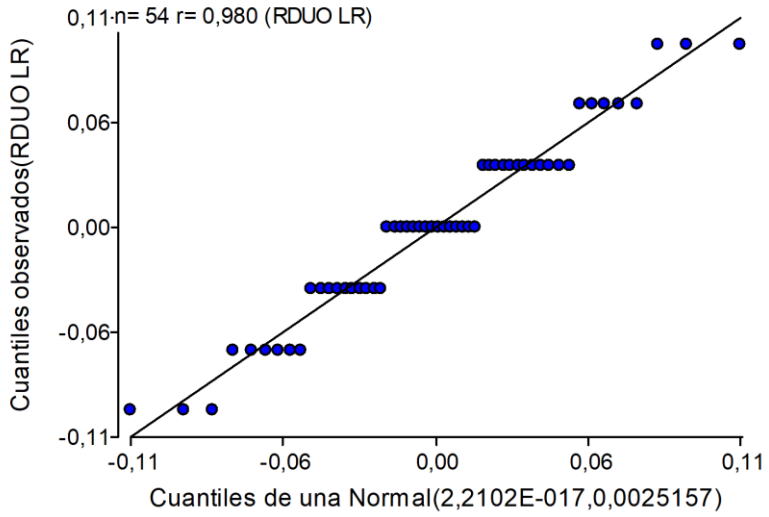
Histograma de normalidad de la variable respuesta



Los resultados gráficos obtenidos del histograma brindan evidencias de que los resultados pertenecen a una variable normal, de la misma forma para corroborar se aplica un gráfico Q-q Plot que permite evidenciar de forma gráfica la normalidad de una variable a continuación, se presentan los resultados obtenidos.

Figura 5

Q-q Plot de normalidad de la variable respuesta



Los resultados obtenidos de la variable de respuesta denotan mediante el Q-q Plot que se encuentra a una variable normal ya que el gráfico debe establecer que los resultados se encuentren lo más cercanos de la recta, se observa que existen seis resultados que se alejan un poco de la recta, sin embargo, la mayoría de los datos se presentan como resultados normales.

Finalmente, para corroborar la normalidad de una variable se aplica la prueba formal de normalidad para el caso de estudio se toma en cuenta el estadístico Kolmogorov-Smirnov debido a que se cuenta con una cantidad mayor a 50 muestras lo que determina que el estadístico mencionado es el que presenta las condiciones idóneas para el presente estudio.

Tabla 3

Resultados de la prueba de normalidad mediante Kolmogorov-Smirnov en la variable respuesta

Variable	N	Varianza	Estadístico D	P-valor
RDUO LR	54	1.02	0.15	0.1867

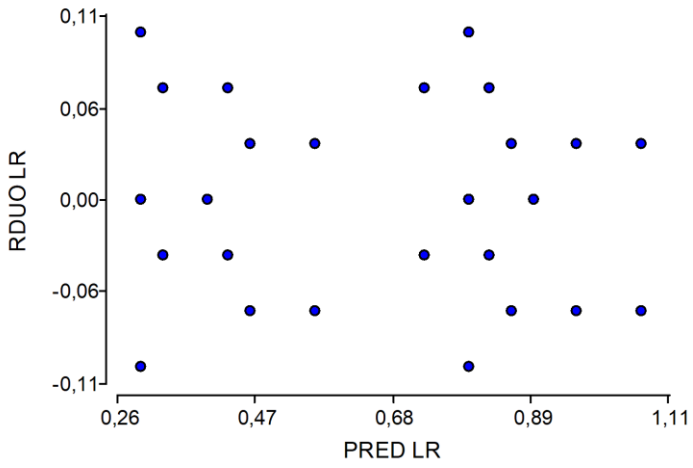
Los resultados obtenidos de la longitud de raíz por explante a los 90 días son superiores a 0.05 lo que ratifica que es una variable normal y se cumple con el supuesto de normalidad, ya que para validar el mismo se espera que los resultados sean superiores a 0.05.

Supuesto de homocedasticidad

De manera seguida se da la realización del supuesto de homocedasticidad debido a que el mismo permite determinar si la varianza dentro de los grupos es aproximadamente igual en todos ellos. Esto es así ya que en la hipótesis nula se considera que todas las observaciones proceden de la misma población, por lo que tienen la misma media y también la misma varianza (Campos et al., 2020). Para determinar el supuesto de homocedasticidad se realiza pruebas gráficas y formales que a continuación se describen:

Figura 6

Supuesto de homocedasticidad de la variable respuesta



Los resultados gráficos demuestran que los datos se distribuyen de forma heterogénea por lo que se brinda indicios del cumplimiento del supuesto de homocedasticidad, para corroborar los resultados gráficos se pretende validar la información gráfica se realiza la prueba formal de Levene, a continuación, se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 4

Resultados de la prueba homocedasticidad mediante Levene en la variable respuesta.

F.V.	Sc	Gl	Cm	F	P-Valor
Tratamiento	0.014	10	0.001	1.74	0.1075

Los resultados obtenidos al aplicar la prueba de Levene determinan un p-valor de 0.1075, resultado que es superior a 0.05, lo que demuestra que se cumple con el supuesto de homocedasticidad y se puede continuar con el proceso de análisis de ANOVA.

Para realizar los diferentes análisis estadísticos de varianzas de los tratamientos en estudio, se aplicó el modelo estadístico de Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo factorial y para comparar los promedios en las variables, se empleó la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5 %. Los resultados se presentan en cuadros resumidos y en sus gráficos correspondientes.

4.3. Factor A: Tipos de hormonas vegetales

Tabla 5

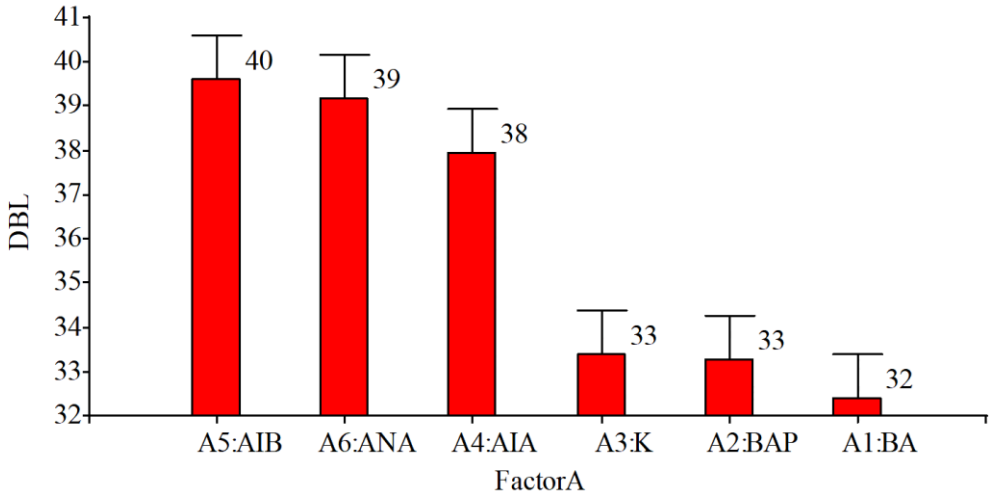
Resultados del análisis estadístico por el factor A: tipos de hormonas vegetales en relación con las variables

Promedios de los tipos de hormonas vegetales (Factor A)										
Variables	**DBL**	**NBE**		**NHB**		**LB**		**DER**	**NR**	**LR**
		45	90	45	90	45	90		90	90
P-valor	<0.0001	<0.0001		<0.0001		0.0123	<0.0001	0.0468	<0.0001	<0.0001
	**	**		**		*	**	*	**	**
A1: BA	32.44	3.33	5.33	5.67	7.63	1.77	2.83	84.11	2	0.37
Rango	B	A	A	A	A	AB	AB	A	C	B
A2: BAP	33.33	3.67	5.67	5.78	7.67	1.86	3.02	83.22	2.56	0.38
Rango	B	A	A	A	A	A	A	A	B	B
A3: K	33.44	3.67	5.67	6.11	8.11	1.69	2.74	84.44	1.44	0.44
Rango	B	A	A	A	A	AB	BC	A	D	B
A4: AIA	38.11	1.56	3.56	3.56	5.22	1.70	2.46	80.56	5.33	0.82
Rango	A	B	B	B	C	AB	D	A	A	A
A5: AIB	39.78	1.33	3.33	4	6	1.6	2.57	81.33	5.22	0.89
Rango	A	B	B	B	B	B	CD	A	A	A
A6: ANA	39.33	1.33	3.33	3.67	5.67	1.74	2.73	82	5.44	0.86
Rango	A	B	B	B	BC	AB	BC	A	A	A
CV (%)	8.47	9.50	5.26	8.97	7.01	8.04	6.15	3.57	7.42	9.70

Nota: **Diferencias altamente significativas *Diferencia significativa. CV: Coeficiente de variación. Las letras (A, B, C, D) representan los rangos de Tukey. BA: Bencil adenina; BAP: Bencil amino purina; K: Kinetina; AIA: Ácido indol acético; AIB: Ácido indol butírico; ANA: Ácido naptalén acético; DBL: Días a la brotación en el laboratorio; NBE: Número de brotes por explante a los 45 días y 90 días; NHB Número de hojas por brote a los 45 días y 90 días; LB: Longitud de brote a los 45 días y 90 días; DER: Días a la emisión de raíces; NR: Número de raíces a los 90 días; LR: Longitud de raíz a los 90 días. P-valor: Medida de confianza.

Figura 7

Promedios del factor A para días a la brotación en el laboratorio

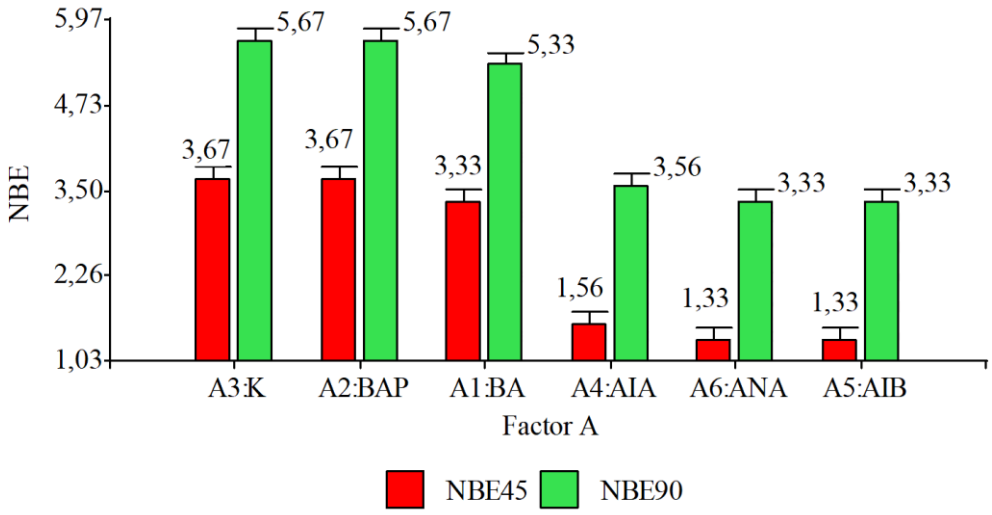


Los resultados obtenidos del Factor A para días a la brotación en el laboratorio (DBL) fueron altamente significativos (**) debido a que el p-valor fue <0.0001. La hormona que presentó mayor tiempo en brotar fue la A5: Ácido indol butírico, con un tiempo promedio de 40 días. Mientras que la hormona con el menor tiempo en cuanto a esta característica fue la A1: Bencil adenina con un promedio de 32 días.

Esto demuestra que el tiempo de brotación en el laboratorio está influenciado por los tipos de hormonas en las que se desarrolló el experimento, la Bencil adenina generó brotes en un menor tiempo, según Cepeda (2023) esta hormona presenta características como estimular la división celular en los tejidos vegetales e inducir la formación de múltiples brotes a partir de explantes haciendo que los brotes sean más vigorosos y robustos, aumentando la supervivencia.

Figura 8

Promedios del factor A para número de brotes por explante a los 45 y 90 días

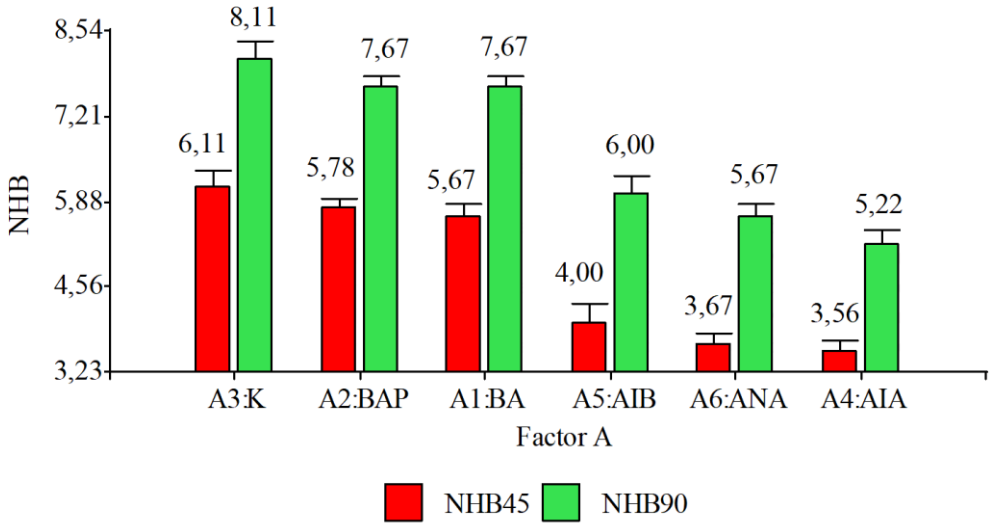


Para el número de brotes por explante (NBE) a los 45 y 90 días, se determinaron diferencias estadísticas altamente significativas (**) dado que el p-valor fue <0.0001. Las hormonas que generaron mayor número de brotes fueron la A2: Bencil amino purina y la A3: Kinetina, con un promedio de 4 brotes a los 45 días, mientras que a los 90 días se observaron 6 brotes por explante para estas mismas hormonas. A los 45 días el más bajo promedio estuvo en la hormona A6: Ácido naptalén acético con 1 brote. A los 90 días la A5: Ácido indol butírico con 3 brotes por explante son las que mostraron la menor capacidad para inducir la formación de brotes.

En relación a lo anterior, Zambrano (2022) y Torres (2022) manifiestan que las hormonas Bencil amino purina y Kinetina son citoquininas que estimulan la división celular y la formación de brotes laterales, además rompen la latencia de yemas axilares y promueven la organogénesis directa.

Figura 9

Promedios del factor A para número de hojas a los 45 y 90 días

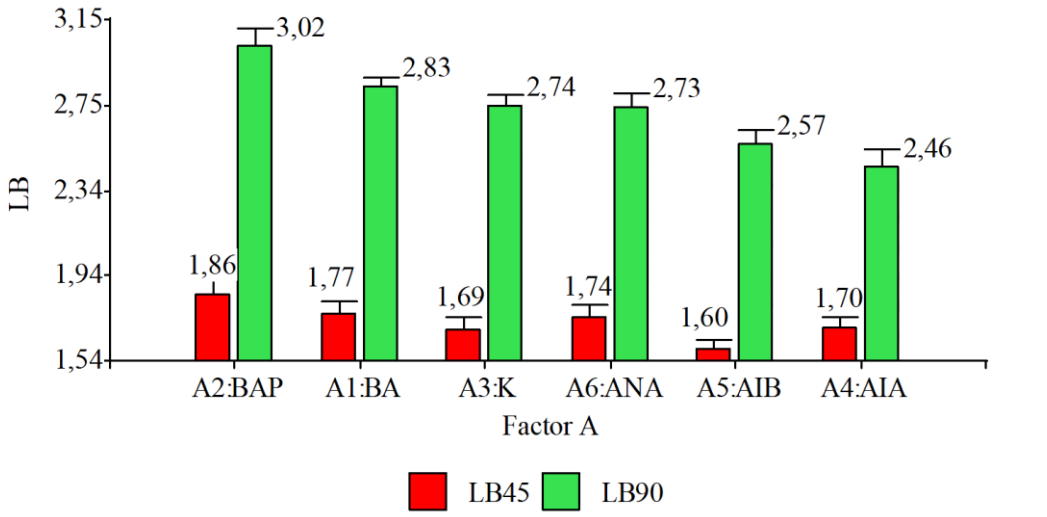


Los resultados fueron altamente significativos (**) para el número de hojas por brote (NHB) a los 45 y 90 días debido a que el p-valor fue <0.0001. La hormona que mostró el mayor número de hojas por brote fue la A3: Kinetina, con un promedio de 6 hojas a los 45 días y de 8 hojas a los 90 días. Por otro lado, se observó una menor formación de hojas a los 45 días en la A4: Ácido indol acético, con un aproximado de 4 hojas por explante y con un promedio de 5 hojas a los 90 días.

Las variaciones en los promedios podrían ser por las propiedades específicas de las hormonas, los autores como López y Villanueva (2021) señalan que la Kinetina al ser una citoquinina tiende a estimular el crecimiento, porque su principal función es promover la división celular, lo que podría explicar el mayor número de hojas por brote en comparación con el Ácido indol acético, Sánchez (2021) afirma que es una auxina que tiene efectos en el crecimiento vertical de los brotes.

Figura 10

Promedios del factor A para longitud de brote a los 45 y 90 días

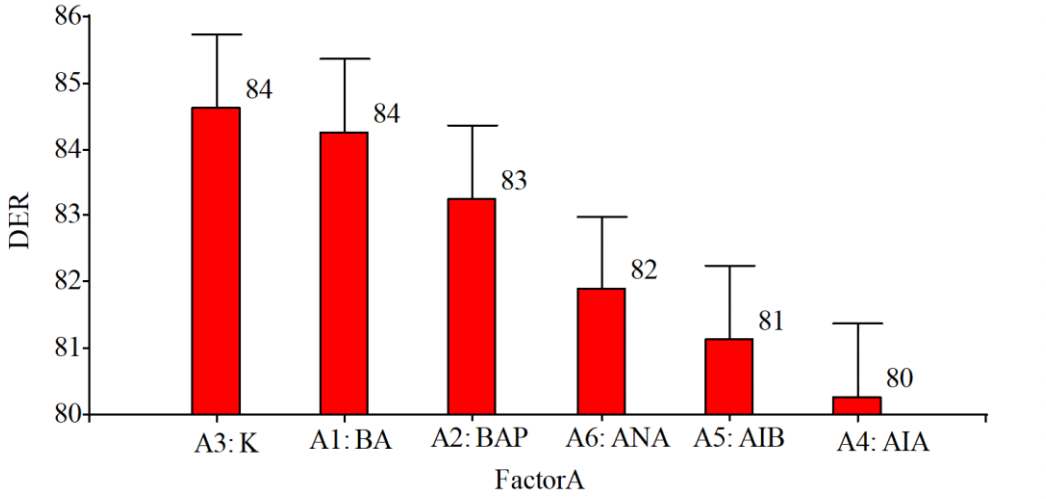


El p-valor es 0.0123 lo que indica diferencias estadísticas significativas (*) entre los seis tipos de hormonas vegetales para longitud de brote (LB) a los 45 días, mientras que a los 90 días de evaluación fueron altamente significativas (**) debido a que el p-valor es <0.0001. La hormona A2: Bencil amino purina obtuvo el mejor promedio con una longitud de 1.86 cm a los 45 días y de 3.02 cm a los 90 días, por el contrario, la A5: Ácido indol butírico con una longitud de 1.60 cm a los 45 días y la A4: Ácido indol acético con un promedio de 2.46 cm a los 90 días siendo las de menor longitud.

Es importante destacar que autores como Sopalo (2024) indican que el Ácido indol butírico (AIB) tiene la capacidad de estimular el enraizamiento y el crecimiento de nuevas raíces, lo que puede aumentar la longitud del brote. La Bencil amino purina (BAP), por lo contrario, puede estar más activa en la promoción del crecimiento vertical de los brotes, lo que resulta en una longitud de brote diferente en comparación con el AIB, según Zambrano (2022) muestra que la incorporación de Bencil amino purina en el medio de cultivo cumple como principal función, la activación de la división celular, para la obtención de brotes y diferenciación de estos órganos.

Figura 11

Promedios del factor A para días a la emisión de raíces

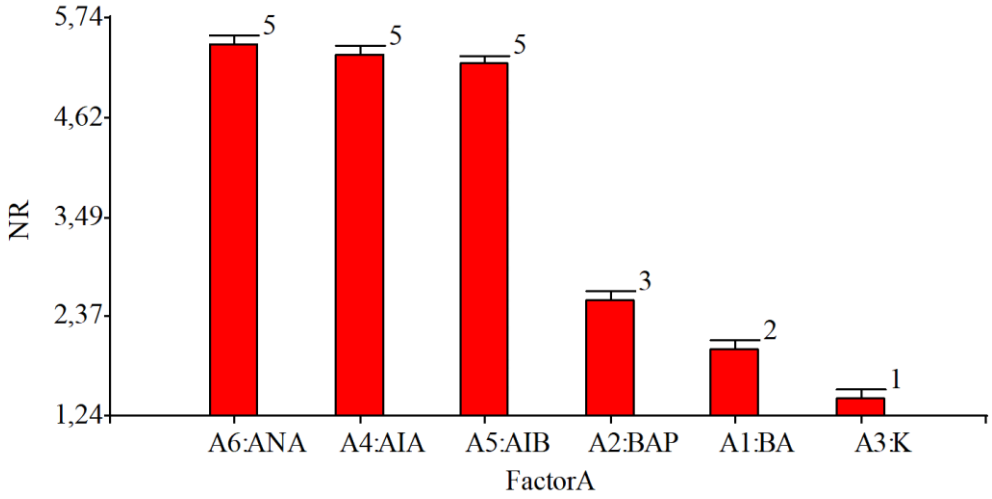


Los seis tipos de hormonas mostraron diferencias significativas (*) debido a que el p-valor presenta 0.0468 en días a la emisión de raíces (DER), aunque se obtuvo una mínima variabilidad en la hormona A3: Kinetina ya que mostró una aparición más tardía de raíces en un tiempo de 84 días, mientras que la A4: Ácido indol acético se observaron las raíces a los 80 días.

El tiempo que tardaron las raíces en emerger podría estar influenciado por el medio de cultivo como por las variaciones en la aplicación de hormonas. Por lo tanto, la mejor hormona y más eficaz para emitir raíces en un menor tiempo fue el Ácido indol acético, ya que promueve el crecimiento y desarrollo radicular, en cambio la Kinetina fue más tardía porque no estimula directamente el enraizamiento, sino más bien el crecimiento de brotes.

Figura 12

Promedios del factor A para número de raíces

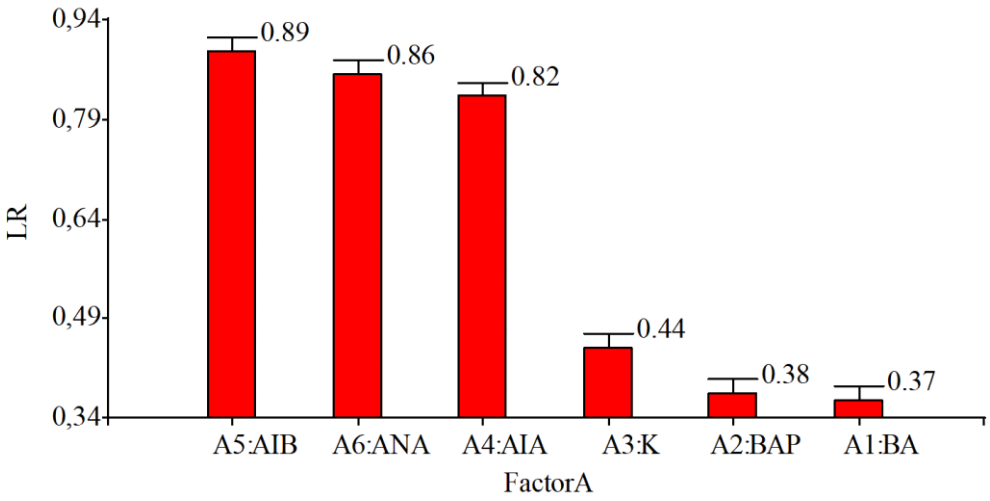


Se determinó un efecto de respuesta altamente significativo (**) debido a que el p-valor fue <0.0001 para el número raíces (NR) a los 90 días. Entre las hormonas utilizadas en el número de raíces (NR) se observó el promedio más alto en la hormona A6: Ácido naptalén acético con 5 raíces a los 90 días de evaluación. Mientras que el tratamiento con más bajo promedio en cuanto a esta variable fue A3: Kinetina que presentó 1 raíz.

Se observó que la hormona Ácido naptalén acético promueve la división y el alargamiento celular en las zonas meristemáticas de las raíces, induciendo la formación de nuevas raíces adventicias y mejorando el desarrollo del sistema radicular tal y como lo recalca Zambrano (2022) en su investigación.

Figura 13

Promedios del factor A para longitud de raíz



Los resultados de los promedios del factor A de la variable longitud de raíz presentó diferencias altamente significativas (**) debido a que el p-valor fue <0.0001. Se demostró que la hormona A5: Ácido indol butírico obtuvo el promedio más alto para la longitud de raíz a los 90 días, con una medida de 0.89 cm, mientras que en la hormona A1: Bencil adenina se observó el promedio más bajo con una longitud de raíz de 0.37 cm.

En relación con los resultados obtenidos se puede destacar lo mencionado por Sopalo (2024) quién menciona que el ácido indol butírico, es una auxina que influye en el desarrollo de las raíces, dado que esta hormona estimula la formación de raíces, a través de la división y el alargamiento celular en las zonas meristemáticas, mientras que Cepeda (2023) indica que la Bencil adenina promueve la formación de brotes y no la longitud de raíces, por lo que podemos observar su menor efecto.

4.4. Factor B: Dosis de concentración

Tabla 6

Resultados del análisis estadístico por el factor B: dosis de concentración en relación con las variables

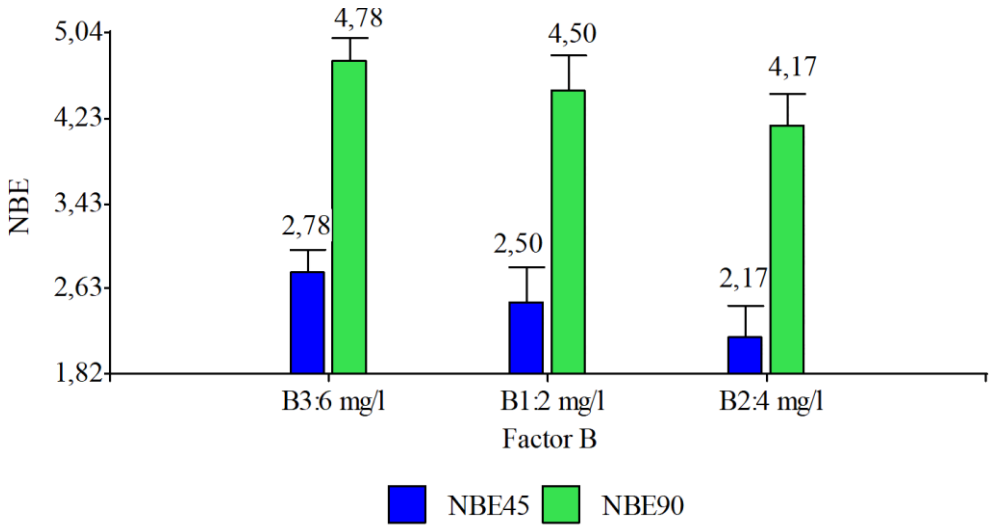
Promedios de las dosis de concentraciones (Factor B)									
Variables	**DBL**	**NBE**		**NHB**		**LB**		**DER**	**NR**	**LR**
		45	90	45	90	45	90		90	90
P-valor	0.4370	<0.0001		0.0002	0.0047	0.0142	0.0735	0.9207	0.0004	0.5281
	NS	**		**	**	*	NS	NS	**	NS
B1: 2mg/l	35.33	2.5	4.5	4.83	6.72	1.67	2.71	82.67	3.72	0.62
Rango	A	B	B	A	AB	B	A	A	A	A
B2: 4mg/l	36.28	2.17	4.17	5.11	7	1.81	2.80	82.78	3.83	0.64
Rango	A	C	C	A	A	A	A	A	A	A
B3: 6mg/l	36.61	2.78	4.78	4.44	6.44	1.71	2.67	82.39	3.44	0.62
Rango	A	A	A	B	B	AB	A	A	B	A

Nota: NS: Diferencias no significativas **Diferencias altamente significativas *Diferencias significativas. Las letras (A, B, C) representan los rangos de Tukey. DBL: Días a la brotación en el laboratorio; NBE: Número de brotes por explante a los 45 días y 90 días; NHB Número de hojas por brote a los 45 días y 90 días; LB: Longitud de brote a los 45 días y 90 días; DER: Días a la emisión de raíces; NR: Número de raíces a los 90 días; LR: Longitud de raíz a los 90 días. P-valor: Medida de confianza.

La respuesta de las diferentes dosis de concentración de las hormonas vegetales fue no significativo (NS), debido a que los valores de p-valor fueron mayores al 0.05 en los componentes días a la brotación en el laboratorio (DBL) presentó 0.4370, longitud de brote (LB) con 0.0735 a los 90 días, días a la emisión de las raíces (DER) con 0.9207 y longitud de raíz (LR) con 0.5281 a los 90 días, indicando que se comportan de forma similar.

Figura 14

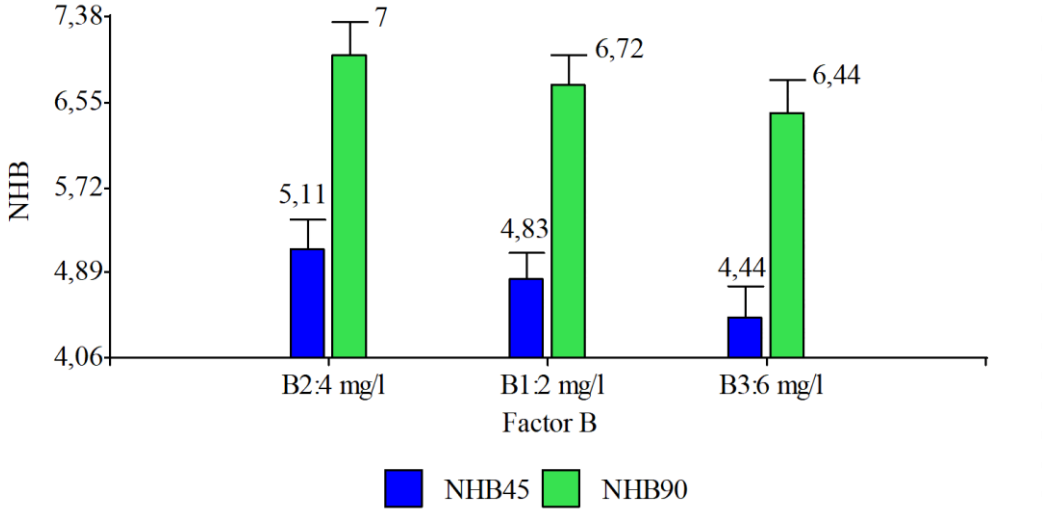
Promedios del factor B para número de brotes por explante a los 45 y 90 días



En el número de brotes por explante (NBE) evaluados a los 45 y 90 días, se determinaron diferencias estadísticas altamente significativas (**) debido a que el p-valor presentó menos del 0.0001. Se observó una mejor respuesta en la dosis B3: 6 mg/l con 3 brotes a los 45 días y con 5 brotes a los 90 días, mientras que la dosis con menor respuesta fue la B2: 4 mg/l con 2 brotes a los 45 días y 4 brotes a los 90 días. Los datos muestran que una dosis alta de 6mg/l influye en el desarrollo y formación de brotes en los explantes.

Figura 15

Promedios del factor B para número de hojas por brote a los 45 y 90 días

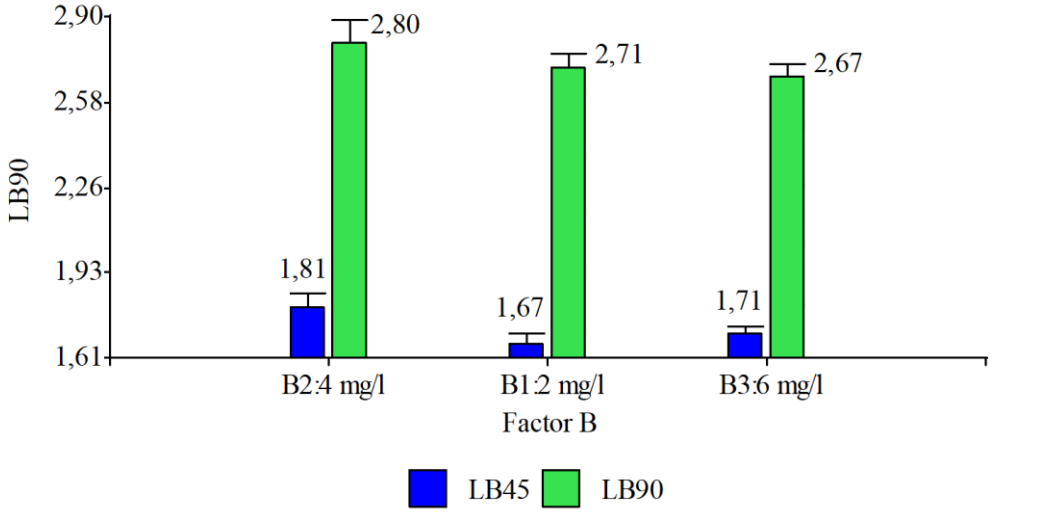


El factor B demuestra que para el número de hojas por brote (NHB) a los 45 días presentaron resultados estadísticos altamente significativos (**) debido a que el p-valor presentó 0.0002 y a los 90 días fueron altamente significativos (**) por el p-valor de 0.0047, en cuanto al promedio más alto se obtuvo en la dosis B2: 4 mg/l con 5 hojas y la dosis con bajo promedio fue B3: 6 mg/l con 4 hojas a los 45 días. A los 90 días, la dosis más efectiva continuó siendo B2: 4mg/l con un promedio de 7 hojas por brote y la menor dosis con el promedio mínimo fue nuevamente B3: 6 mg/l con 6 hojas.

Estos datos evidenciaron que la dosificación intermedia tuvo un mayor impacto en el desarrollo y la formación de hojas por brote durante la investigación como lo mencionan los autores Pilalumbo y Unaucho (2022) en su investigación.

Figura 16

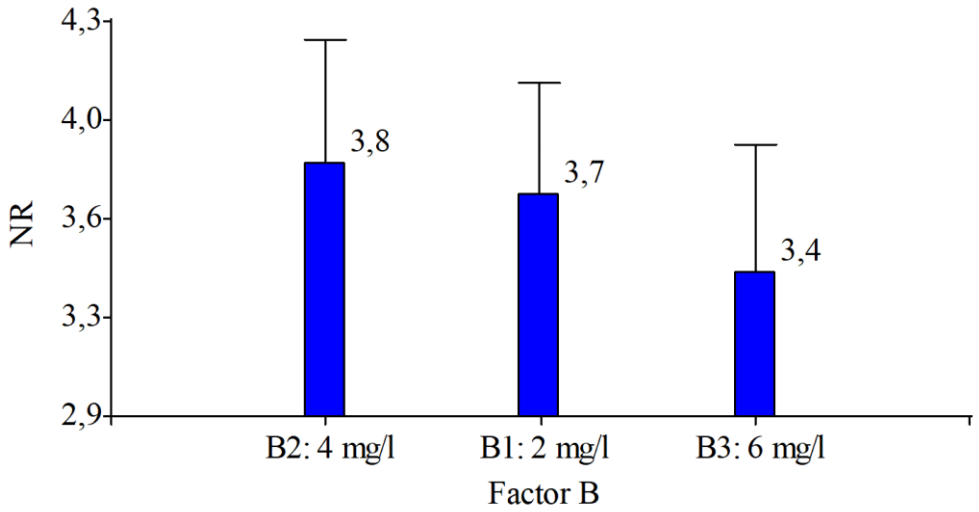
Promedios del factor B para longitud de brote a los 45 y 90 días



La respuesta de la dosis de concentración en relación a la longitud de brote (LB) fue significativo (*) con un p-valor de 0.0142 a los 45 días y a los 90 días fueron no significativo (NS) debido a que el p-valor presentó 0.0735. Los resultados demostraron que a los 45 días la mejor dosis fue B2: 4 mg/l con un valor de 1.81 cm, seguida de la dosis B3: 6 mg/l con una longitud de 1.71 cm y la más baja B1: 2 mg/l de 1.65 cm, en cuanto a los 90 días la más alta fue B2: 4mg/l con 2.80 cm, la dosis intermedia B1: 2 mg/l con un valor de 2.71 cm y con un promedio inferior la B3: 6mg/l con 2.67 cm de longitud de brote.

Figura 17

Promedios del factor B para número de raíces



En la evaluación del factor B, dosis de concentraciones en lo que se refiere a número de raíces (NR), se obtuvo resultados altamente significativos (**) debido a que el p-valor presenta 0.0004. La mejor dosis fue B2: 4 mg/l con 4 raíces, aunque la dosis B1: 4 mg/l tuvo un valor similar de 4 raíces aproximadamente, en cuanto al promedio más bajo se observó en la dosis B3: 6 mg/l con 3 raíces.

De acuerdo a los resultados obtenidos la variable número de raíces si dependió de las dosis de hormonas vegetales ya que permiten la formación y desarrollo de raíces en cada explante en una dosificación media.

4.5. Interacción de factores AxB: Tipos de hormonas vegetales por dosis de concentración

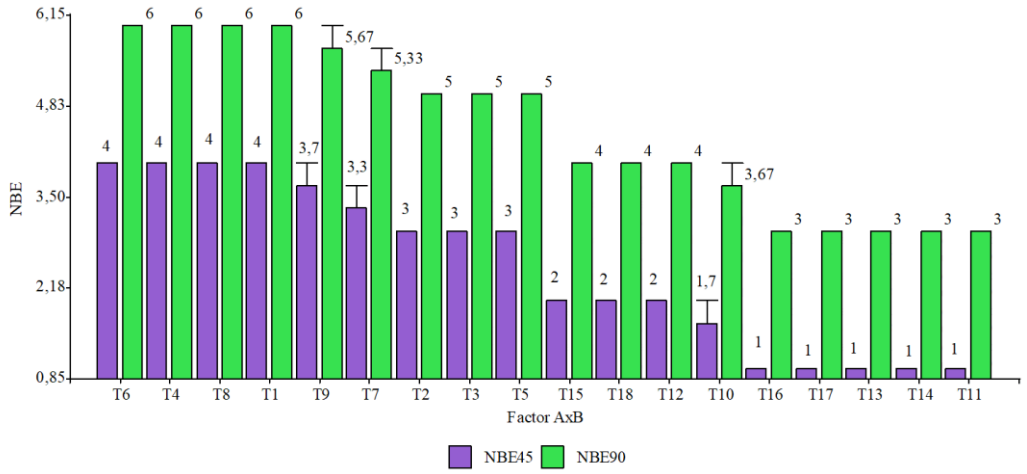
Tabla 7 *Resultados del análisis estadístico de la interacción de factores tipos de hormonas vegetales por dosis de concentración en relación con las variables*

	Tratamientos: Tipo de hormonas vegetales por dosis de concentración (AxB)									
	DBL	**NBE**		**NHB**		**LB**		**DER**	**NR**	**LR**
Trat.		**45**	**90**	**45**	**90**	**45**	**90**		**90**	**90**
P-valor	0.7204 (NS)	<0.0001(**)	<0.0001(**)	0.0006(**)	0.0005(**)	0.0095(**)	0.0040(**)	0.3181(NS)	<0.0001(**)	<0.0001(**)
T1	33.33 AB	4 A	6 A	6 AB	8 AB	1.80 AB	2.83 BCD	83.67 A	3 D	0.47 EF
T2	32 AB	3 B	5 B	5.67 AB	7.67 AB	1.90 AB	2.93 ABC	87.33 A	2 EF	0.33 EF
T3	32 AB	3 B	5 B	5.33 BC	7.33 B	1.60 B	2.73 BCD	81.33 A	1 G	0.3 F
T4	32 AB	4 A	6 A	6 AB	8 ABC	1.67 B	2.9 ABCD	83 A	3 D	0.3 F
T5	33 AB	3 B	5 B	5.67 AB	7.33 B	2.10 A	3.37 A	82.33 A	2 EF	0.4 EF
T6	35 AB	4 A	6 A	5.67 AB	7.67 AB	1.80 AB	2.8 BCD	84.33 A	2.67 D	0.43 EF
T7	30.33 B	3.33 AB	5.33 AB	5.33 BC	7.33 B	1.80 AB	2.77 BCD	84.33 A	1 G	0.47 EF
T8	35 AB	4 A	6 A	7 A	9 A	1.57 B	2.57 BCD	85.33 A	2 EF	0.57 DE
T9	35 AB	3.67 AB	5.67 AB	6 AB	8 AB	1.70 AB	2.9 ABCD	83.67 A	1.33 FG	0.3 F
T10	38.67 AB	1.67 CD	3.67 CD	3.67 DE	5 E	1.63 B	2.53 BCD	82.33 A	6 A	0.83 BC
T11	37 AB	1 D	3 D	3.67 DE	5.33 E	1.77 AB	2.43 CD	79.33 A	5 B	0.73 CD
T12	38.67 AB	2 C	4 C	3.33 E	5.33 E	1.70 AB	2.4 D	80 A	5 B	0.9 AB
T13	39.67 AB	1 D	3 D	4 CDE	6 CDE	1.53 B	2.53 BCD	80.33 A	4 C	0.8 BC
T14	39.67 AB	1 D	3 D	5 BCD	7 BCD	1.60 B	2.53 BCD	80 A	6 A	1.07 A
T15	40 A	2 C	4 C	3 E	5 E	1.67 B	2.63 BCD	83.67 A	5.67 AB	0.8 BC
T16	38 AB	1 D	3 D	4 CDE	6 CDE	1.57 B	2.67 BCD	82.33 A	5.33 AB	0.87 BC
T17	41 A	1 D	3 D	3.67 DE	5.67 CDE	1.9 AB	2.97 AB	82.33 A	6 A	0.73 CD
T18	39 AB	2 C	4 C	3.33 E	5.33 DE	1.77 AB	2.57 BCD	81.33 A	5 B	0.97 AB

Nota: NS: Diferencias no significativas **Diferencias altamente significativas *Diferencias significativas. Las letras (A, B, C, D, E, F, G) representan los rangos de Tukey. DBL: Días a la brotación en el laboratorio; NBE: Número de brotes por explante a los 45 días y 90 días; NHB Número de hojas por brote a los 45 días y 90 días; LB: Longitud de brote a los 45 días y 90 días; DER: Días a la emisión de raíces; NR: Número de raíces a los 90 días; LR: Longitud de raíz a los 90 días. P-valor: Medida de confianza.

Figura 18

Promedios de la interacción de los factores AxB para número de brotes por explante a los 45 y 90 días

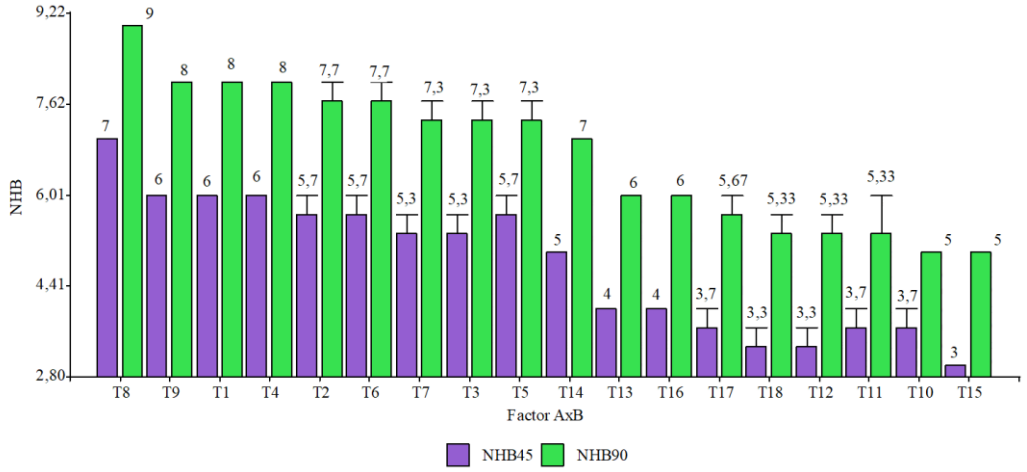


El número de brotes por explante (NBE), se determinaron diferencias estadísticas altamente significativas (**) debido a que el p-valor es <0.0001 evaluados a los 45 y 90 días. Los promedios más altos fueron el T1: Bencil adenina + 2 mg/l, T8: Kinetina + 4 mg/l, el T4: Bencil amino purina + 2 mg/l, el T6: Bencil amino purina + 6 mg/l con 4 brotes a los 45 días y 6 brotes a los 90 días. El promedio más bajo en las 2 evaluaciones estuvo en los tratamientos T11: Ácido indol acético + 4 mg/l, T14: Ácido indol butírico + 4 mg/l, T13: Ácido indol butírico + 2 mg/l, T17: Ácido naptalén acético + 4 mg/l y T16: Ácido naptalén acético + 2 mg/l con un solo brote a los 45 días, mientras que los 90 días se observó 3 brotes por explante.

La incorporación de las citoquininas en el medio de cultivo generó una mejor respuesta en la formación de brotes en los explantes. De acuerdo con Herrera. (2022), la función principal de las citoquininas es estimular la división celular y el crecimiento, romper la latencia de las yemas axilares, además de promover la expansión celular en las hojas y retrasar la senescencia o envejecimiento de los órganos vegetales.

Figura 19

Promedios de la interacción de los factores AxB para número de hojas por brote a los 45 y 90 días

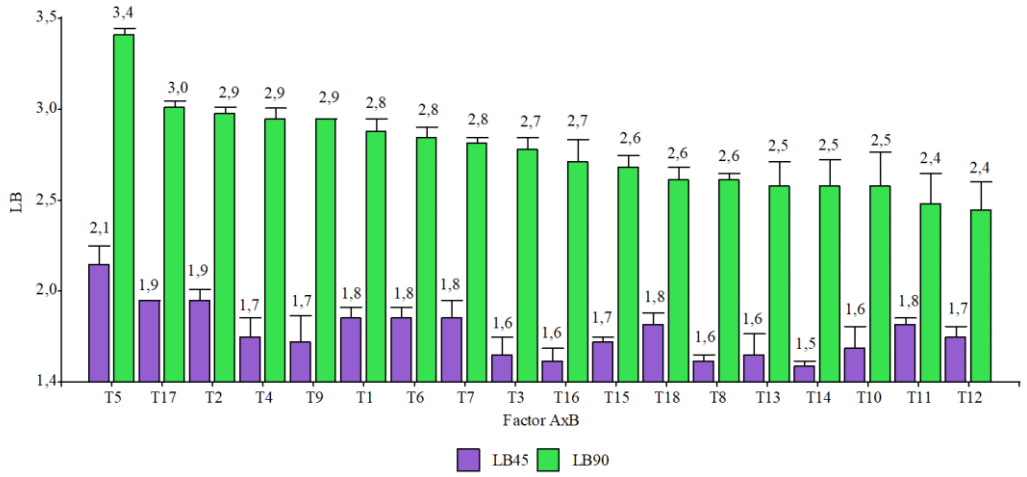


La respuesta de los factores AxB fueron altamente significativos (**) debido a que el p-valor presenta 0.0005. El tratamiento que obtuvo el promedio más alto fue T8: Kinetina + 4 mg/l con 7 hojas a los 45 días y 9 hojas por brote a los 90 días. Mientas que los promedios más bajos se observaron en los tratamientos T15: Ácido indol butírico + 6mg/l con 3 hojas a los 45 días y con un promedio de 5 hojas por brote a los 90 días.

Según los resultados obtenidos la hormona Kinetina en una dosis de concentración de 4 mg/l muestra un mayor número de hojas por brote, López y Villanueva (2021) menciona que esta hormona ayuda a la división celular generando inducción y desarrollo de brotes axilares y la diferenciación celular. La incorporación de esta hormona en el medio de cultivo cumple como principal función la activación de la división celular, para la obtención de brotes y diferenciación de estos órganos.

Figura 20

Promedios de la interacción de los factores AxB para longitud de brote a los 45 y 90 días

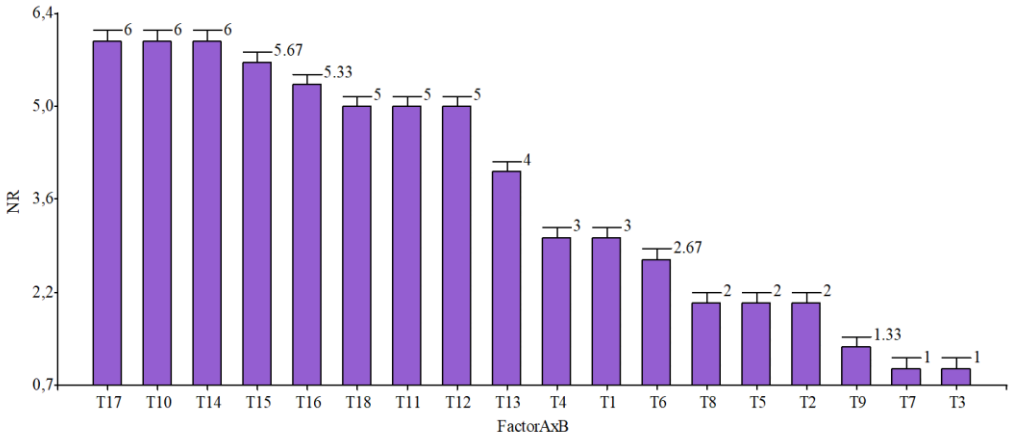


En cuanto a la longitud de brotes (LB) se evidenció una variación altamente significativa (**) debido a que el p-valor presentó 0.0095 a los 45 días, mientras que a los 90 días fueron altamente significativos (**) a causa del p-valor de 0.0040. Se observó que el promedio más alto fue el tratamiento T5: Bencil amino purina + 4 mg/l con una longitud de 2.10 cm a los 45 días de la evaluación, mientras que a los 90 días el mismo tratamiento obtuvo una longitud de 3.4 cm. En ambas evaluaciones los promedios más bajos fueron los tratamientos T14: Ácido indol butírico + 4 mg/l con una longitud 1.5 cm a los 45 días y T12: Acido indol acético + 6 mg/l con una longitud 2.4 cm a los 90 días.

Del análisis obtenido el mejor resultado presentó el tratamiento de la hormona Bencil amino purina con una dosis de 4 mg/l. Al respecto Zambrano (2022) menciona que la incorporación de esta hormona en el medio de cultivo promueve la división de las células vegetales; sin embargo, es importante mencionar que su efecto se encuentra sujeto al estado de diferenciación celular, induciendo el desarrollo de brotes y la formación de órganos.

Figura 21

Promedios de la interacción de los factores AxB para número de raíces a los 90 días

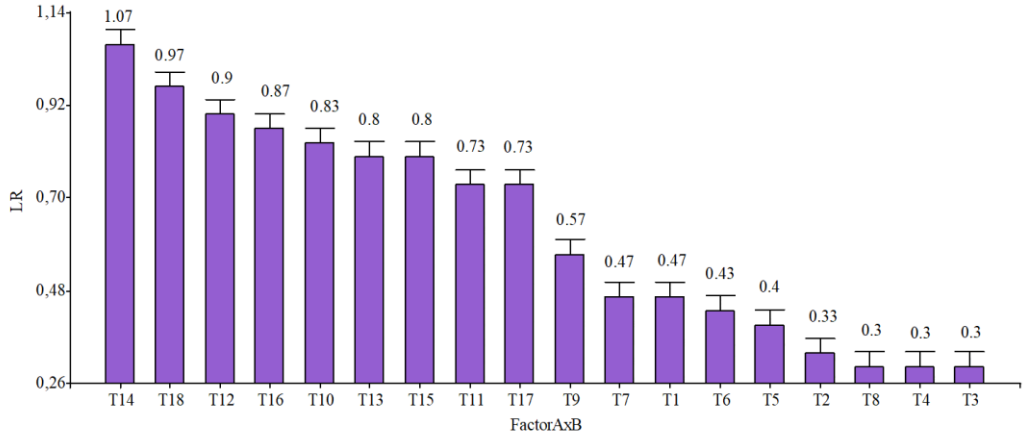


Se determinaron diferencias estadísticas altamente significativos (**) debido a que el p-valor es <0.0001 en la interacción de los factores AxB, además muestra que los tratamientos con mayor promedio en la variable número de raíces (NR) fueron T10: Ácido indol acético + 2 mg/l, el T14: Ácido indol butírico + 4 mg/l y el T17: Ácido naptalén acético + 4 mg/l con 6 raíces. Mientras que los tratamientos con más bajo promedio fueron T3: Bencil adenina + 6 mg/l y el T7: Kinetina + 2 mg/l que presentaron tan solo una raíz.

Los tratamientos que obtuvieron mejores resultados en el número de raíces fueron las hormonas pertenecientes a las auxinas. Cárdenas (2021) afirma que, estas hormonas participan en varios procesos fisiológicos lo que promueve la iniciación primaria y lateral de raíces en diferentes tipos de tejidos, lo que prioriza el crecimiento longitudinal provocando dominancia apical.

Figura 22

Promedios de la interacción de los factores AxB para longitud de raíz a los 90 días



En cuanto a la variable longitud de raíz (LR) la interacción de los factores AxB tuvo un efecto altamente significativo (**) a los 90 días debido a que el p-valor es <0.0001. El promedio más alto estuvo en el tratamiento T14: Ácido indol butírico + 4 mg/l con una longitud de 1.07 cm. Mientras, que los promedios más bajos en cuanto a la variable en estudio fueron el T3: Bencil adenina + 6 mg/l, el T4: Bencil amino purina + 2 mg/l y el T8: Kinetina + 4 mg/l con una longitud 0.3 cm.

Los mejores resultados para la variable analizada fue la hormona Ácido indol butírico + 4 mg/l. Sopalo (2024) manifiesta que esta hormona ayuda a estimular el crecimiento y desarrollo radicular en explantes de diversas especies de plantas, favoreciendo la emisión de raíces en la propagación vegetativa asexual, además promueve la iniciación primaria y lateral de raíces en diferentes tipos de tejidos, provocando la dominancia apical y priorizando el crecimiento longitudinal.

4.6. Análisis de correlación y regresión lineal

Tabla 8

Análisis de correlación, regresión lineal y determinación de las variables independientes que presentaron diferencias significativas con la variable dependiente longitud de brote (LB) a los 90 días

Variables independientes	Coeficiente de correlación (r)	Coeficiente de regresión (b)	Coeficiente de Determinación (R^2%)
NR (90 días)	- 0.4158 (*)	- 2.8152	17.29
LR (90 días)	- 0.5645 (*)	- 0.5346	31.86

Nota: (*) = significativo al 5%

4.6.1. Coeficiente de correlación (r)

En esta investigación el análisis de correlación (r) muestra que existe una correlación negativa entre la longitud de raíces (LR), el número de raíces (NR) y la variable dependiente longitud de brote (LB) a los 90 días. Esta correlación muestra que, a medida que disminuye el número y longitud de raíces, la longitud del brote tiende a disminuir.

4.6.2. Coeficiente de regresión lineal (b)

El coeficiente de regresión (b) para la variable dependiente longitud de brote (LB) muestra que, por cada cambio unitario del número de raíces y la longitud de la raíz, existe una reducción de 2.81 y 0.53 unidades respectivamente.

4.6.3. Coeficiente de determinación (R^2)

Se evidencia una reducción de la longitud del brote, a causa de una disminución en el número de raíces y la longitud de las mismas, en un rango de entre el 17% y 31% respectivamente.

4.7. Comprobación de la hipótesis

En la presente investigación de evaluación de seis tipos de hormonas vegetales y tres dosis de concentración, de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio con suficiente evidencia estadística debido a que los resultados obtenidos del análisis de varianza en la variable número de brotes, se obtiene un p-valor <0.0001, número de hojas con p-valor de 0.0005, longitud de brotes con p-valor de 0.0040, número de raíces y longitud de raíz con p-valor <0.0001, asimismo los resultados demuestran bajo la prueba de rangos múltiples (Tukey) que el tratamiento T8 (Kinetina + 4 mg/l) presenta los mejores resultados en las variables de respuesta número de brote (6 brotes), número de hojas (9 hojas) y longitud de brote (2.57 cm) y el tratamiento T14 (Ácido Indol Butírico + 4mg/l) presenta mejores resultados en las variables número de raíces (6 raíces) y longitud de raíz (1.07 cm).

Los resultados expuestos en el párrafo anterior brindan evidencia estadística suficiente para rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna, la cual indica que la eficiencia de la propagación in vitro de explantes de Cannabis, depende del tipo y dosis de hormona vegetal.

CAPÍTULO V

5.1 CONCLUSIONES

- Las hormonas más adecuadas para la propagación de Cannabis son la Kinetina (A3), ya que obtuvo 6 brotes con una longitud de 1.69 cm y 6 hojas, en cuanto a enraizamiento la más adecuada es el Ácido Indol Butírico (A5) que presentó 5 raíces de 0.89 cm, además de una longitud de brote de 2.57 cm.
- De acuerdo a los análisis realizados la dosis más eficiente para estimular el crecimiento de brotes y desarrollo de raíces es de 4 mg/l.
- Basándose en el Reglamento (CE) No. 1907/2006 (REACH) y en los datos experimentales obtenidos, el tratamiento T8 (Kinetina + 4 mg/l) mostró el mejor rendimiento debido a que presentó 6 brotes con una longitud de 0.9 cm y 7 hojas desarrolladas. En cambio, el tratamiento T14 (Ácido Indol Butírico + 4 mg/l) presentó 2 raíces con una longitud de 2.53 cm lo que demuestra un mejor desarrollo en la formación de raíces.
- Se generó una base de datos con evidencia técnica que incluye 18 tratamientos, combinando seis tipos de hormonas vegetales y tres dosis. Esta base de datos genera información, en base a protocolos estandarizados para la propagación de Cannabis, basándose en el Reglamento (CE) No. 1907/2006 (REACH).

5.2 RECOMENDACIONES

- Utilizar la hormona Kinetina en la propagación de explantes de Cannabis para aumentar el número de brotes y hojas, en cuanto a enraizamiento aplicar el Ácido indol butírico para obtener una mayor elongación y número de raíces, generando un mejor desarrollo.
- Emplear una dosis de concentración de 4 mg/l en las hormonas estudiadas, ya que la misma ha demostrado ser la más eficiente tanto en el crecimiento de brotes como de raíces.
- Se recomiendan el uso de los tratamientos T14 (Ácido Indol Butírico + 4 mg /l) y T8 (Kinetina + 4 mg/l) para una propagación in vitro óptima y mejores resultados en la estimulación de brotes y raíces.

BIBLIOGRAFÍA

Adams, T. K., Masondo, N. A., Malatsi, P., & Makunga, N. P. (2021). *Cannabis sativa: de los usos terapéuticos a la micropropagación y más allá.* Universidad Stellenbosch, Department of Botany and Zoology, Private Bag X1. South Africa: Stellenbosch.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8537884/

Alcarazo, D. (2021). *Influencia de dos productos hormonales con tres dosis auxínicas en el enraizamiento de cladodios de "Pitahaya" (Selenicereus megalanthus K. Schum. ex Vaupel) en Nueva Cajamarca.* Rioja, Perú: Universidad Católica Sedes Sapientiae.

https://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14095/1517/Alcarazo_Ditmar_tesis_2021.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Alejos, Y., & Canchis, L. (2022). *Efecto de naclo, cloranfenicol y benzomil 500 en la desinfección de yemas de bambú, guadua angustifolia kunth, para el establecimiento del cultivo in vitro.* Universidad Nacional del Santa. https://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14278/4090/52564.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Almeida, P. I. (2022). "Situación actual para la producción del cultivo Cáñamo (Cannabis sativa) en Ecuador". Babahoyo, Los Rios, Ecuador: Universidad Técnica de Babahoyo.

http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/13299/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000472.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Amorin, S. B., Álvarez, J. L., & Panissa, M. U. (5 de Octubre de 2021). Desarrollo y rendimiento de cannabis medicinal cw2a en siembras tardías de día corto. *Desarrollo y rendimiento de cannabis medicinal cw2a en siembras tardías de día corto*. Montevideo, Uruguay: Universidad de la República.

https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/36857/1/BarloccoSebasti%C3%A1n.pdf

Aysa, E. J. (27 de Enero de 2023). Caracterización de aislados de Neofusicoccum Parvum asociados all cancro de tallos y ramas en Cannabis sativa L. Uruguay. Montevideo, Salto, Uruguay: Universidad de la República. https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/37223/1/SasiaAysaElvisJoaqu%c3%adn.pdf

Betancourt, J. D. (21 de Noviembre de 2021). Caracterización morfológica, bioquímica y molecular de cuatro accesiones de Cannabis sativa L. Bogotá, Santafé de Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia. https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/82259/1023911851.2022.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Blázquez, L. G. (Julio de 2022). Estudio técnico sobre la mejora del contenido en cannabidiol en Cannbis sativaL. *Estudio técnico sobre la mejora del contenido en cannabidiol en Cannbis sativaL.* Madrid, España: Universidad Politécnica de Madrid.

https://oa.upm.es/72074/1/TFM_LUCAS_GARCIA_BLAZQUEZ.pdf

Boschi, F. (12 de Agosto de 2022). Evaluación de metatopolina en micropropagación de genotipos de eucalyptus globulus. Montevideo, Uruguay: Universidad de la República.

https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/33386/5/EsquivelBoschiFacundo.pdf

Bustamante, J. (2019). *Efecto de las citoquininas en la multiplicación in vitro de cuatro variedades de arándano (Vaccinium corymbosum), a partir de segmentos nodales, Chachapoyas,Amazonas.* Perú: Universidad Nacional Toribio Rodriguez de Mendoza de Amazonas.

Caluña, D., & Rea, J. (2022). *Propagación in vitro de tres variedades de Astromelias (Alstroemeria spp.) con tres dosis de citoquininas en el*

Laguacoto II, cantón Guaranda, provincia Bolívar. Guaranda: Universidad Estatal de Bolívar.

Campos , S., & Quispe, A. (18 de Marzo de 2022). Evaluación de dos metodologías de la extracción de la fibra del (Cannabs sativa). Latacunga, Cotopaxi, Ecuador: Universidad Técnica de Cotopaxi. http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8634/1/PC-002253.pdf

Campos-Jiménez, P., Quirós-Barrantes, S., & Venegas-González, M. (2020). Efecto del uso de mínimos cuadrados ponderados en la potencia de la prueba de hipótesis para diferencias de medias, cuando se incumple el supuesto de homocedasticidad. SERENGUETI Revista de Investigación, 2(1), 17-24.

Cárdenas, R. (2021). "Propagación in vitro de alternanthera ficoidea (coqueta), extracción y pulverización de colorantes naturales por spray drying". *"Propagación in vitro de alternanthera ficoidea (coqueta), extracción y pulverización de colorantes naturales por spray drying"*. Arequipa, Perú: Universidad Católica de Santa María.

https://repositorio.ucsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12920/11201/42.0253.IB.pdf?sequence=3&isAllowed=y

Cepeda, J. (Marzo de 2023). Optimización del protocolo de micropropagación in Vitro de arándano (Vaccinium corymbosum L.) var. Biloxi a partir de segmentos nodales. Ambato, Ecuador.

https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/37876/1/BQ%20345.pdf

Cevallos, B. R. (2022). Manejo del cultivo de cáñamo (Cannabis sativa) para fines medicinales. *Manejo del cultivo de cáñamo (Cannabis sativa) para fines medicinales.* Bahoyo, Los Rios, Ecuador: Universidad Técnica de Babahoyo. http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/13369/E-UTB-FACIAG-AGROP-000023.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Changoluisa, V. J., & Peñafiel, D. E. (11 de Agosto de 2021). "Análisis del potencial productivo del cannabis no psicoactivo (cannabis sativa) con fines investigativos para la industrialización en la provincia de Cotopaxi.". *"Análisis del potencial productivo del cannabis no psicoactivo (cannabis sativa) con fines investigativos para la industrialización en la provincia de Cotopaxi."*. Latacunga, Cotopaxi, Ecuador: Universidad Técnica de Cotopaxi.

http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8295/1/PC-002142.pdf

Curicho, C. K., & Toaquiza, E. (25 de Agosto de 2022). *Evaluación del efecto de dinferentes sustratos y dos tipos tipos de ambientes en el comportamiento agrónomico de Cannabis sativa, en el campus Salache, UTC, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi*. Latacunga, Cotopaxi, Ecuador: Universidad Técnica de Cotopaxi.

http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/9450/1/PC-002398.pdf

El Universo. (16 de Julio de 2021). En la 'capital mundial de las rosas' ya se cosecha el primer cultivo legal de cannabis en Ecuador. *El Universo*. https://ocaru.org.ec/2021/07/16/en-la-capital-mundial-de-las-rosas-ya-se-cosecha-el-primer-cultivo-legal-de-cannabis-en-ecuador/

FAO. (2020). *Costos de producción.* https://www.fao.org/3/v8490s/v8490s06.htm

Ferrere. (24 de Agosto de 2021). Paraguay se convierte en líder mundial en la industria del cáñamo industrial.

https://www.ferrere.com/es/novedades/paraguay-se-convierte-en-lider-mundial-en-la-industria-del-canamo-industrial/

Galarza , V. (16 de Julio de 2021). En Tabacundo ya se cosechan las primeras plantas de cannabis legalmente permitidas. *Radio Pichincha*.

Gómez, F., Jaimes, D., & Fajardo, J. (2021). Tratamiento Tributario del Cultivo y Uso del Cannabis en Productos Transformados en Colombia. Bogotá,

Santafé de Bogotá, Colombia: Universidad Jorge Tadeo Lozano. https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/24268/Tratamiento%20Tributario%20del%20Cultivo%20y%20Uso%20del%20Cannabis%20en%20Productos%20Transformados%20en%20Colombia.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Gómez, M. (29 de Junio de 2020). Los 5 países que cultivan más cáñamo. *HempMeds*. https://hempmedsmx.com/los-5-paises-que-cultivan-mas-cañamo-2/

Gutiérrez, N., & Vallejo, M. (15 de Febrero de 2023). "Evaluación de cinco láminas de riego en el cultivo de cannabis (cannabis sp.) bajo invernadero en el campus Salache – utc, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi, 2022-2023". *"Evaluación de cinco láminas de riego en el cultivo de cannabis (cannabis sp.) bajo invernadero en el campus Salache – utc, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi, 2022-2023"*. (U. T. Cotopaxi, Ed.) Latacunga, Cotopaxi, Ecuador.

http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/10680/1/PC-002788.pdf

Herrera, J. (2023). Utilización del residuo de la biomasa del Cannbis sativa L. en la elaboración de harina. Riobamba, Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo.
http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/19145/1/27T00670.pdf

Herrera, M. (14 de Junio de 2022). Efecto de dos sustratos y cuatro dosis de ácido indol butírico en la propagación vegetativa de Podocarpus oleifolius D. Don. Cajamarca, Perú.

https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/5218/EFECTO%20DE%20DOS%20SUSTRATOS%20Y%20CUATRO%20DOSIS%20DE%20%c3%81CIDO%20INDOL%20BUT%c3%8dRICO%20EN%20LA%20PROPAGACI%c3%93N%20VEGETATIVA%20DE%20Podocarpus%20oleifolius%20D.%20Don.pdf?sequence

INTAGRI. (27 de Abril de 2020). *Intagri.com.*

https://www.intagri.com/articulos/hortalizas/plagas-y-enfermedades-del-cannabis

López, B., & Villanueva, J. (2021). Inducción de brotes in vitro a partir de estolones de fresa Fragaria ananassa var.Camarosa utilizando diferentes combinaciones de Ácido naftalenacético y 6- Bencilaminopurina". Nuevo Chimbote, Perú.

https://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14278/3746/52271.pdf?sequence=1&isAllowed=y

López, G., Brindis, F., Niizawa, S., & Ventura, R. (2019). Cannabis sativa L., una planta singular. *Revisa Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*.

Lozano, J. (17 de Abril de 2023). Principales consideraciones en costos de producción en cannabis medicinal bajo cubierta. *Costos de producción cultivo de cannabis medicinal*. Colombia: AgroTeach. https://es.slideshare.net/slideshow/costos-de-produccin-cultivo-de-cannabis-medicinal-agroclickpptx/257442161

Macías, R. (12 de Noviembre de 2021). Multiplicación in vitro de híbridos f1 de café arábigo de alto valor genético en el cantón bolívar, Manabí. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1541/1/TTA25D.pdf

Mondino, A., Sosa, S., Zeinsteger, P., & Santos, C. G. (1 de Diciembre de 2019). Intoxicación por Cannabis en Pequeños Animales. Revisión. *SciELO*, 86-95.http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?pid=S1688-48092019000200086&script=sci_arttext

Moreno , I. (Enero de 2021). *Desarrollo de un sistema para la multiplicación de Agave shawii a partir de cultivo in vitro.* Universidad Autonoma de Aguascalientes.

http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/2047/449997.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Paredes, A. C. (2022). *Análisis de la potencialidad de exportación de productos medicinales e industriales en base a Cannabis.* Quito: Universidad Católica del Ecuador.

http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/20958/Disertaci%C3%B3n%20final%20Alexa%20Paredes.pdf?sequence=1

Peñafiel, E. D., & Changoluisa, J. V. (11 de Agosto de 2021). *Análisis del potencial productivo del cannabis no psicoactivo (Cannabis sativa) con fines investigativos para la industrialización en la provincia de Cotopaxi.* Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi.

http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8295/1/PC-002142.pdf

Pilalumbo, H., & Unaucho, M. (22 de Agosto de 2022). *Efecto de dos medios de cultivo y tres niveles de ácido giberélico de Cannabis (Cannabis sativa) obtenidas por germinación in vitro en el laboratorio de la facultad CAREN.* Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi.

file:///C:/users/hp/desktop/pc-002423%20tesis%20Cannabis.pdf

Pineda, J. (2021). *Cultivo e industrialización del cáñamo (Cannabis spp.).* Ibarra: Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente.

https://www.cebaecuador.org/wp-content/uploads/2022/03/Biorrefineri%CC%81a-04-2022.pdf

Ramos, D., & Rea, T. (2022). *Establecimiento de un protocolo de propagación in vitroa partir de explantes apicalesde tomate de árbol (Solanum betaceum), en el cantón Cevallos.* . Universidad Técnica de Cotopaxi.

http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8972/1/UTC-PIM-000519.pdf

Sánchez, E. (19 de Octubre de 2021). *InnoPlant*. Fitohormonas: el ácido indol-3-acético: https://innoplant.es/2021/10/19/fitohormonas-el-acido-indol-3-acetico/

Sánchez, E., & Rincón, H. (Noviembre de 2021). Evaluación del efecto de bioestimulantes (Quitosano y Gluconato de Cu) en el control de Botrytis cinerea en una variedad de Cannabis sativa L. quimiotipo - CBD, Marinilla, Antioquia, Colombia. Bogotá, Colombia: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales.

https://repository.udca.edu.co/server/api/core/bitstreams/9f8f8f73-443c-4340-8cf3-3c84e5ea38cc/content

Sopalo, J. (2024). Comportamiento de acodos aéreos de mortiño (Vaccinium floribundum) como una alternativa de propagación vegetativa. Quito: Universidad Politécnica Salesiana.

https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/27008/1/TTQ1436.pdf

Suntaxi, F. (29 de Junio de 2021). Obtención de aceite de cannabidiol a partir de flor de cannabis no psicoactivo para uso medicinal. Quito, Pichincha, Ecuador: Universidad Central del Ecuador.

http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/24761/1/fiq-sa-suntaxi%20stalin.pdf

Torres, E. (30 de Mayo de 2022). Producción de brotes meristemáticos en bajas concentraciones de citocininas para la propagación in vitro de tomate (Solanum lycopersicum). universidad estatal peninsula de santa elena. https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/7538/1/upse-tia-2022-0002.pdf

Vargas, D. D., Santana, Y. N., & Ramírez, J. D. (2023). Sistema de telemetría y control para un cultivo de Cannabis medicinal. *Sistema de telemetría y control para un cultivo de Cannabis medicinal*. Bogotá, Cundimarca, Colombia: Universidad Piloto de Colombia.

http://repository.unipiloto.edu.co/bitstream/handle/20.500.12277/12617/Sistema%20de%20telemetr%c3%ada%20y%20control%20para%20un%20cultivo%20de%20cannabis%20medicinal.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Vázquez, F. (2021). *Una breve historia del Cannabis en tres partes.* Yucatán: Centro de Investigación Científica de Yucatán.

https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2021/2021-09-30-Vazquez-Flota-Una-breve-historia-del-cannabis.pdf

Vega, M. (12 de Noviembre de 2020). *"Propagación in vitro de Agrillo (Rhus allophylloides) por medio de biorreactores".*

https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/tecnm/6045/1/2020%20mayra%20vega%20cervantes%20tesis.pdf

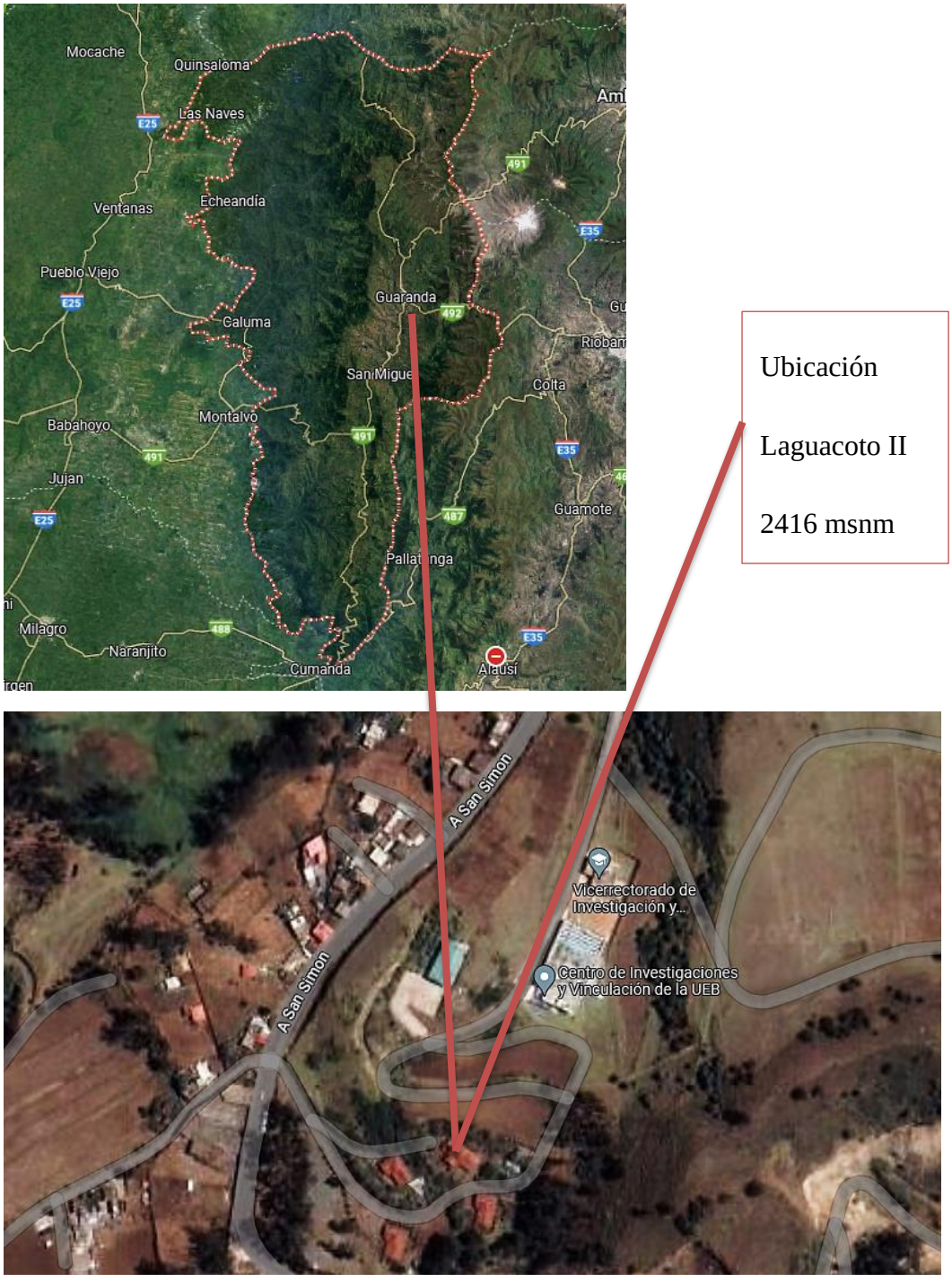
Villegas, G. P. (Noviembre de 2020). Obtención de células de Cannabis sativa L. invitro, por citocinina no convencional, metatopolina. *Obtención de células de Cannabis sativa L. in vitro, por citocinina no convencional, metatopolina*. Chihuahua, Chih, México: Universidad Autónoma de Chihuahua.

Zambrano, C. (2022). Beneficios de la aplicación de ácido naftalenacético (ANA) en el cultivo de palma africana aceiterera híbrida OxG en Ecuadro. Babahoyo, Los Ríos, Ecuador: Universidad Técnica de Babahoyo. http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/11366/e-utb-faciag-ing%20agron-000383.pdf?sequence=1&isallowed=y

Zambrano, N. (15 de Marzo de 2022). "Propagación vegetativa del plátano maqueño (Musa paradisiaca L.) aplicando bencil amino purina (BAP) y Ácido indolacético (AIA)". Mocache, Los Ríos, Ecuador. https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/af878a8c-1d98-4d31-8275-1752046bbf15/content

ANEXOS

Anexo 1. Mapa de ubicación de la investigación



Anexo 2. Croquis del ensayo



Anexo 3. Bases de datos

Códigos para las variables agronómicas utilizadas en la base de datos

Variables	**Descripción**
REP:	**Repeticiones**: 3
TRAT:	Tratamientos
FA:	**Factor A:** Seis hormonas vegetales.
FB:	**Factor B:** Tres dosis de concentración.
DBL:	Días a la brotación en el laboratorio
NBE:	Número de brotes por explante a los 45 y 90 días
NHB:	Número de hojas por brote a los 45 y 90 días
LB:	Longitud de brote a los 45 y 90 días
NFC:	Número de frascos contaminados
DER:	Días a la emisión de raíces
NR:	Número de raíces a los 90 días
LR:	Longitud de raíz a los 90 días

TRAT	REP	FA	FB	DBL	NBE		NHB		LB		NFC	DER	NR	LR
					45	90	45	90	45	90			90	90
1	1	1	1	33	4	6	6	8	1.7	2.7	0	85	3	0.5
2	1	1	2	29	3	5	6	8	1.8	2.9	0	87	2	0.4
3	1	1	3	32	3	5	5	7	1.5	2.8	0	80	1	0.3
4	1	2	1	29	4	6	6	8	1.7	2.9	0	83	3	0.3
5	1	2	2	31	3	5	6	7	2	3.4	0	86	2	0.4
6	1	2	3	35	4	6	6	8	1.8	2.8	0	84	2	0.4
7	1	3	1	31	3	5	5	7	1.9	2.7	0	85	1	0.5
8	1	3	2	32	4	6	7	9	1.6	2.6	0	88	2	0.6
9	1	3	3	33	4	6	6	8	1.8	3	0	84	1	0.3
10	1	4	1	39	2	4	4	5	1.8	2.4	0	79	6	0.8
11	1	4	2	35	1	3	3	4	1.8	2.6	0	82	5	0.7
12	1	4	3	36	2	4	4	6	1.7	2.3	0	78	5	0.9
13	1	5	1	38	1	3	4	6	1.6	2.5	0	79	4	0.8
14	1	5	2	36	1	3	5	7	1.8	2.8	0	81	6	1
15	1	5	3	40	2	4	3	5	1.6	2.7	0	83	6	0.7
16	1	6	1	36	1	3	4	6	1.7	2.9	0	80	5	0.8
17	1	6	2	40	1	3	3	5	1.9	3	0	78	6	0.7
18	1	6	3	36	2	4	4	6	1.9	2.5	0	81	5	0.9

1	2	1	1	29	4	6	6	8	1.9	2.9	0	84	3	0.4
2	2	1	2	32	3	5	5	7	2	3	0	87	2	0.3
3	2	1	3	35	3	5	6	8	1.8	2.8	0	84	1	0.2
4	2	2	1	37	4	6	6	8	1.9	2.9	0	82	3	0.3
5	2	2	2	33	3	5	5	7	2.3	3.3	0	80	2	0.4
6	2	2	3	40	4	6	6	8	1.9	2.9	0	81	3	0.4
7	2	3	1	30	4	6	5	7	1.6	2.8	0	83	1	0.4
8	2	3	2	35	4	6	7	9	1.5	2.5	0	86	2	0.5
9	2	3	3	37	3	5	6	8	1.8	2.8	0	87	1	0.2
10	2	4	1	37	1	3	3	5	1.7	2.3	0	80	6	0.8
11	2	4	2	39	1	3	4	6	1.8	2.1	0	75	5	0.7
12	2	4	3	41	2	4	3	5	1.8	2.2	0	78	5	0.9
13	2	5	1	39	1	3	4	6	1.5	2.3	0	79	4	0.8
14	2	5	2	43	1	3	5	7	1.6	2.4	0	79	6	1.1
15	2	5	3	36	2	4	3	5	1.7	2.5	0	80	5	0.8
16	2	6	1	39	1	3	4	6	1.5	2.6	0	82	6	0.9
17	2	6	2	38	1	3	4	6	1.9	2.9	0	82	6	0.7
18	2	6	3	40	2	4	3	5	1.7	2.5	0	80	5	1
1	3	1	1	38	4	6	6	8	1.8	2.9	0	82	3	0.5
2	3	1	2	35	3	5	6	8	1.9	2.9	0	88	2	0.3

3	3	1	3	29	3	5	5	7	1.5	2.6	0	80	1	0.4
4	3	2	1	30	4	6	6	8	1.4	2.9	0	84	3	0.3
5	3	2	2	35	3	5	6	8	2	3.4	0	81	2	0.4
6	3	2	3	30	4	6	5	7	1.7	2.7	0	88	3	0.5
7	3	3	1	30	3	5	6	8	1.9	2.8	0	85	1	0.5
8	3	3	2	38	4	6	7	9	1.6	2.6	0	82	2	0.6
9	3	3	3	35	4	6	6	8	1.5	2.9	0	80	2	0.4
10	3	4	1	40	2	4	4	5	1.4	2.9	0	88	6	0.9
11	3	4	2	37	1	3	4	6	1.7	2.6	0	81	5	0.8
12	3	4	3	39	2	4	3	5	1.6	2.7	0	84	5	0.9
13	3	5	1	42	1	3	4	6	1.5	2.8	0	83	4	0.8
14	3	5	2	40	1	3	5	7	1.4	2.4	0	80	6	1.1
15	3	5	3	44	2	4	3	5	1.7	2.7	0	88	6	0.9
16	3	6	1	39	1	3	4	6	1.5	2.5	0	85	5	0.9
17	3	6	2	45	1	3	4	6	1.9	3	0	87	6	0.8
18	3	6	3	41	2	4	3	5	1.7	2.7	0	83	5	1

Anexo 4. Fotografías



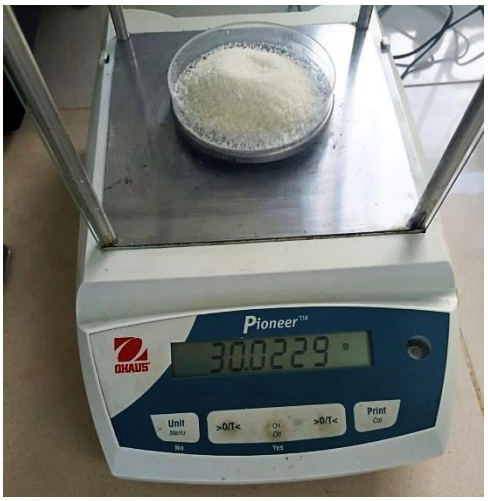


Selección de las plantas de Cannabis no psicoactivo para el experimento



Materiales para la preparación del medio de cultivo









Preparación del medio de cultivo según Murashige y Skoog





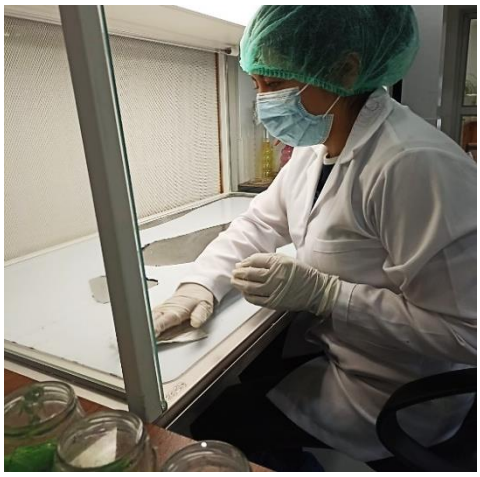
Medición del PH



Dispersión del medio de cultivo



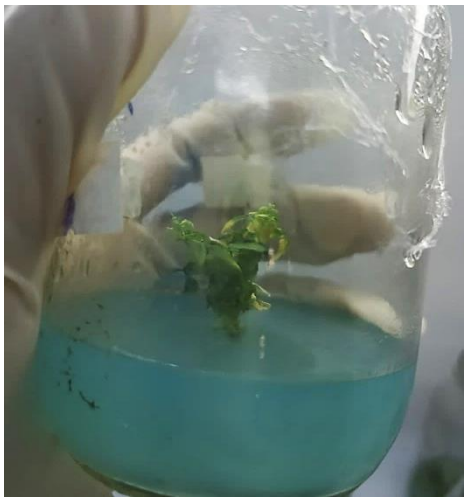
Esterilización del medio de cultivo



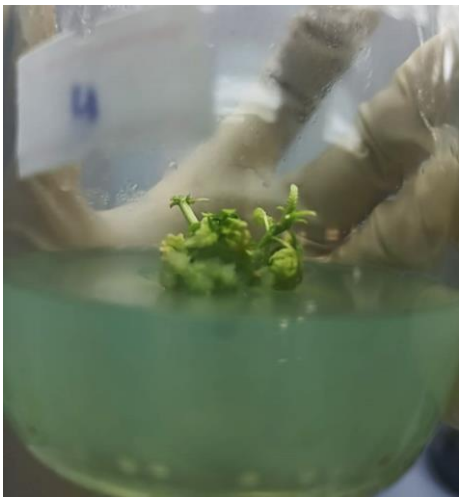
Limpieza de la cámara de flujo laminar



Extracción de explantes de Cannabis



Toma de variable número de brotes



Toma de variable número de hojas





Toma de variable longitud de brote a los 45 días



Tratamientos en el área de incubación



Identificación de tratamientos



Visita de campo

Anexo 5. Glosario de términos técnicos

Agar: Un gel hecho de extractos de algas marinas utilizado en microbiología para el cultivo de microorganismos.

Agrobiotecnología: El uso de técnicas biotecnológicas en la agricultura para mejorar las plantas y cultivos.

Autoclave: Un dispositivo utilizado para esterilizar equipos y medios de cultivo mediante la aplicación de calor y presión.

Auxina: Una clase de hormonas vegetales que regulan el crecimiento y el desarrollo de las plantas, utilizadas en la micropropagación para promover el enraizamiento de los brotes.

Bencil adenina: Se utiliza para promover la brotación lateral en numerosas especies ya que induce la división celular.

Bencil amino purina: Es una citoquinina sintética de primera generación que provoca respuestas de crecimiento y desarrollo de las plantas.

Citoquinina: Una clase de hormonas vegetales que promueven el crecimiento y la proliferación celular, a menudo utilizadas en la micropropagación para estimular la formación de brotes.

Enraizamiento: El proceso mediante el cual los brotes formados a partir de explantes de Cannabis desarrollan un sistema de raíces, lo que les permite convertirse en plantas independientes que pueden ser trasplantadas al suelo o a otro medio de cultivo apropiado.

Explante: Es un fragmento de tejido vegetal, como una hoja o un tallo, que se utiliza en la propagación de plantas por técnicas de cultivo de tejidos.

Hormona vegetal: Sustancia química que regula el crecimiento y desarrollo de las plantas, utilizada en la producción in vitro para estimular la formación de brotes y raíces.

Hormonas de crecimiento: Sustancias químicas que regulan el crecimiento y el desarrollo de las plantas, como las citoquininas y las auxinas.

Inóculo: Es introducir algo que crecerá y se reproducirá, y comúnmente se utiliza esta con respecto a la introducción de suero sanguíneo, una vacuna o una sustancia dentro del cuerpo de un humano o de un animal, especialmente para producir inmunidad a una enfermedad específica.

Medio de cultivo: Una mezcla de nutrientes y sustancias químicas necesarias para el crecimiento y desarrollo de explantes de Cannabis en condiciones de cultivo de tejidos.

Micropropagación: El proceso de cultivo de plantas a partir de pequeñas piezas de tejido vegetal en condiciones asépticas y controladas, que a menudo incluye el uso de hormonas de crecimiento como citoquininas y auxinas.

Proliferación: Proceso por el cual una célula crece y se divide para originar dos células hijas. La proliferación celular transporta a un aumento exponencial del número de células y, por lo tanto, es una unidad rápido de crecimiento tisular.

Recalcitrancia: La resistencia de ciertas especies de plantas a ser transformadas genéticamente o cultivadas en condiciones controladas debido a características inherentes.

Regeneración de brotes: El proceso de desarrollo de nuevos brotes a partir de explantes de Cannabis en condiciones de cultivo de tejidos.

Sacarosa: Es el azúcar de consumo habitual, se obtiene de la caña de azúcar y remolacha azucarera. Está formado por la unión de glucosa y fructosa.

Tejido vegetal: Células y estructuras que componen las plantas, como raíces, tallos y hojas, que se estudian y manipulan en biotecnología vegetal.