

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO
Y TRES NIVELES DE ÁCIDO GIBERÉLICO EN LA FASE DE
MULTIPLICACIÓN *In vitro* DE LA FLOR DEL ESPÍRITU SANTO**

Peristeria elata

**ANGELINE A. DEAGO D.
8-936-604**

DAVID, CHIRIQUÍ

REPÚBLICA DE PANAMÁ

2023

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO Y
TRES NIVELES DE ÁCIDO GIBERÉLICO EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN
In vitro DE LA FLOR DEL ESPÍRITU
*SANTO Peristeria elata***

**TRABAJO DE GRADUACIÓN SOMETIDO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
INGENIERÍA AGRONÓMICA EN CULTIVOS TROPICALES**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**PERMISO PARA SU PUBLICACIÓN, REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL
DEBE SER OBTENIDA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

APROBADO POR:

M.Sc. SIMÓN VÁSQUEZ

DIRECTOR

P.hD JUAN M. OSORIO

ASESOR

M.Sc JOSÉ C. URETA

ASESOR

DAVID, CHIRIQUÍ

REPUBLICA DE PANAMÁ

2023

AGRADECIMIENTO

Quiero iniciar agradeciendo principalmente a Dios, quien ha estado junto a mí en todo momento, dándome la voluntad necesaria para perseverar durante todo mi proceso de aprendizaje y por quien felizmente hoy puedo solemnizar este momento. A mis padres, por ser mi apoyo e impulsarme en todo momento a seguir mis sueños, además de ser mi principal estímulo para superarme tanto personal como profesionalmente. Gracias a mis hermanos, quienes a lo largo de mi vida han sido fieles celebradores de cada uno de mis logros.

Gracias a mi director, el M.Sc. Simón Vásquez, por confiar en mis capacidades como estudiante y permitirme desarrollar mi trabajo de grado bajo su dirección. A la Lic. Rosemarie Serrano, quien me brindó su apoyo y cariño a lo largo de este proceso. A cada uno de mis compañeros y amigos que estuvieron presentes durante gran parte de la realización de esta tesis y que con profesionalismo y respeto aportaron sus conocimientos y sugerencias a la misma.

¡Muchas Gracias a todos!

Angeline Deago

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación primeramente a Dios, quien me ha permitido llegar hasta aquí y culminar con éxito mis estudios. A mi abuela Evangelina, quien fue mi apoyo incondicional en todo momento y con su inmenso cariño me impulsó a creer en mí y nunca rendirme sin importar los infortunios.

A mis padres, por fomentar en mí el deseo de superación desde pequeña y enseñarme que soy capaz de cumplir todo lo que con determinación me proponga.

A mi tía María Teresa, por su ayuda incondicional durante todos mis años de estudios.

Y, por último, a mi hermana Grethel, por ser mi fuente de inspiración para superarme día tras día. Espero servirle de motivación para que siempre luche por un futuro triunfante.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO Y TRES NIVELES DE ÁCIDO GIBERÉLICO EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN *In vitro* DE LA FLOR DEL ESPÍRITU SANTO *Peristeria elata*

Deago De Gracia, A.A. 2023. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO Y TRES NIVELES DE ÁCIDO GIBERÉLICO EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN *In vitro* DE LA FLOR DEL ESPÍRITU SANTO *Peristeria elata*. Tesis. Universidad de Panamá. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ingeniería Agronómica en Cultivos Tropicales.

RESUMEN

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Panamá, durante los meses de junio a septiembre de 2022. El objetivo fue el de evaluar el efecto de cuatro medios de cultivo y tres niveles de ácido giberélico en la fase de multiplicación *In vitro* de la Flor del Espíritu Santo *Peristeria elata*. La investigación tuvo su enfoque solo durante la etapa de multiplicación, en la cual se evaluaron las variables; número de yemas, número de brotes y longitud de brotes. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial donde el factor A estuvo representado por los medios de cultivo y el factor B por las concentraciones de ácido giberélico. Para determinar la significancia de los tratamientos evaluados se utilizó la prueba de Kruskal- Wallis. Los medios empleados fueron Murashige & Skoog 50%, Knudson C, Fitomare y Algamare suplementados con ácido Giberélico (0.1 mg/L, 0.35 mg/L, 1 mg/L).

Se encontraron diferencias significativas en el efecto simple medio de cultivo y en la interacción de los factores medios de cultivo y concentraciones para la variable longitud de brotes durante los 30, 60 y 85 días. Para la variable número de yemas, los mejores resultados se obtuvieron con el medio Algamare sin AG3 culminados los 85 días después de la primera multiplicación, las mejores respuestas para la variable número de brotes se lograron con los medios Murashige & Skoog 50% y Fitomare a los 60 días después de la primera multiplicación y para la variable longitud de brotes se consiguieron las mejores respuestas con los tratamientos Murashige & Skoog 50% + 0.1 mg/L AG3 y Fitomare sin AG3 a los 60 y 85 días.

Palabras clave: *Peristeria elata*, *In vitro*, Acido giberélico, Murashige & Skoog, Knudson, Fitomare, Algamare.

**EVALUATION OF THE EFFECT OF FOUR CULTURE MEDIUMS
AND THREE LEVELS OF GIBBERELIC ACID ON THE *In vitro*
MULTIPLICATION STAGE OF LA FLOR DEL ESPIRITU SANTO
*Peristeria elata***

Deago De Gracia, A.A. 2023. EVALUATION OF THE EFFECT OF FOUR CULTURE MEDIUMS AND THREE LEVELS OF GIBBERELIC ACID ON THE *In vitro* MULTIPLICATION STAGE OF LA FLOR DEL ESPIRITU SANTO *Peristeria elata*. Tesis. Universidad de Panamá. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ingeniería Agronómica en Cultivos Tropicales

ABSTRACT

This investigation was carried out in the Plant Biotechnology Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the University of Panama, during the months of June to September 2022. The objective was to evaluate the effect of four culture media and three levels of gibberellic acid in the *in vitro* multiplication phase of the Holy Spirit flower *Peristeria elata*. The research was focused only during the multiplication stage, in which the variables number of buds, number of shoots and shoot length were evaluated. A completely randomized design with a bifactorial arrangement was used where factor A was represented by the culture media and factor B by the concentrations of gibberellic acid. The Kruskal-Wallis test was used to determine the significance of the treatments evaluated. The mediums used were Murashige & Skoog 50%, Knudson C, Fitomare and Algamare supplemented with gibberellic acid (0.1 mg/L, 0.35 mg/L, 1 mg/L).

Significant differences were found in the simple effect of culture medium and in the interaction of the factors culture medium and concentrations for the variable shoot length during 30, 60 and 85 days. For the variable number of buds, the best results were obtained with the Algamare medium without AG3 at 85 days after the first multiplication, the best responses for the variable number of shoots were achieved with the Murashige & Skoog 50% and Fitomare media at 60 days after the first multiplication and for the variable shoot length the best responses were achieved with the Murashige & Skoog 50% + 0.1 mg/L AG3 and Fitomare treatments without AG3 at 60 and 85 days.

Keywords: *Peristeria elata*, *In vitro*, Gibberellic acid, Murashige & Skoog, Knudson, Fitomare, Algamare.

ÍNDICE DE CONTENIDO

APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTO	III
DEDICATORIA	IV
RESUMEN	V
ABSTRACT	VII
ÍNDICE DE CONTENIDO	IX
ÍNDICE DE CUADROS.....	XIII
ÍNDICE DE FIGURAS	XVII
ÍNDICE DE ANEXOS	XX
INTRODUCCIÓN.....	1
1. ASPECTOS GENERALES	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.2. ANTECEDENTES.....	4
1.3. JUSTIFICACIÓN	5
1.4. OBJETIVOS	6
Objetivo general	6
Objetivos específicos.....	6
1.5. HIPÓTESIS	7
1.6. ALCANCES Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO	8
Alcances.....	8
Limitaciones	8
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	9
2.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DE LA PERISTERIA ELATA	9
2.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	10
2.3. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS.....	10
2.4. ECOLOGÍA DE LA PERISTERIA ELATA	12

2.5.	CONCEPTO DE CULTIVO DE TEJIDOS <i>IN VITRO</i>	15
2.6.	REGULADORES DE CRECIMIENTO VEGETAL	16
	Giberelinas	16
2.7.	EL EXPLANTE	17
2.8.	MEDIO DE CULTIVO	17
2.9.	BIOESTIMULANTES	17
	Bioestimulante Fitomare ®	18
	Bioestimulante Algamare ®	18
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1.	MATERIALES	19
3.2.	METODOLOGÍA	20
	Área de estudio	20
	Descripción del estudio	20
	Descripción de los tratamientos.....	20
3.3.	PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.....	24
3.4.	ESTERILIZACIÓN DE LOS MATERIALES Y EQUIPO	27
3.5.	ETAPA DE MULTIPLICACIÓN	27
3.6.	VARIABLES EVALUADAS	30
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1.	RESULTADO DE LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.	38
4.1.1.	Variable número de yemas.	38
4.1.2.	Variable número de brotes.....	39
4.1.3.	Variable longitud de brotes	40
4.1.3.1.	Medios de cultivo	41
4.1.3.2.	Interacción Medios de Cultivo vs Concentraciones.	43
4.1.3.2.1.	Interacción del medio Murashige & Skoog al 50% vs Concentraciones	43
4.1.3.2.2.	Interacción del medio Knudson C vs Concentraciones	45
4.1.3.2.3.	Interacción del medio Fitomare ® vs Concentraciones	47
4.1.3.2.4.	Interacción del medio Algamare ® vs Concentraciones	49

4.2. RESULTADO DE LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.	51
4.2.1. Variable número de yemas.	51
4.2.2. Variable número de brotes.	52
4.2.2.1. Interacción entre Medios de cultivo vs Concentraciones.	53
4.2.2.1.1. Interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs Concentraciones.	53
4.2.2.1.2. Interacción del medio Knudson C vs Concentraciones.	55
4.2.2.1.3. Interacción del medio Fitomare ® vs Concentraciones	57
4.2.2.1.4. Interacción del medio Algamare ® vs Concentraciones.	59
4.2.3. Variable Longitud de Brotes.....	61
4.2.3.1 Medios de Cultivos.....	62
4.2.3.2. Interacción entre Medios de Cultivos vs Concentraciones.....	64
4.2.3.2.1. Interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs Concentraciones.	64
4.2.3.2.2. Interacción del Medio Knudson C vs Concentraciones	66
4.2.3.2.3. Interacción del Medio Fitomare ® vs Concentraciones.	68
4.2.3.2.4. Interacción del Medio Algamare ® vs Concentraciones.	70
4.3. RESULTADO DE LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.....	72
4.3.1. Variable Numero de Yemas.....	72
4.3.1.1 Medios de Cultivos.....	73
4.3.1.2. Interacción Medios de Cultivos vs Concentraciones.....	75
4.3.1.2.1. Interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs Concentraciones.	75
4.3.1.2.2. Interacción del medio Knudson C vs Concentraciones	77
4.3.1.2.3. Interacción del medio Fitomare ® vs Concentraciones.	79
4.3.1.2.4. Interacción del medio Algamare ® vs Concentraciones.	81
4.3.2. Variable Número de Brotes.....	83
4.3.3. Variable Longitud de Brotes.....	84
4.3.3.1 Medios de Cultivos.....	85
4.3.3.2. Interacción entre Medios de Cultivos vs Concentraciones.....	87

4.3.3.2.1. Interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs	
Concentraciones.	87
5. CONCLUSIONES.....	98
6. RECOMENDACIONES	99
7. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA	100
8. ANEXOS	106

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro I. Materiales necesarios para el establecimiento <i>In vitro</i> de la <i>Peristeria elata</i>	19
Cuadro II. Factores y sus niveles evaluados en el ensayo de multiplicación <i>In vitro</i> de la <i>Peristeria Elata</i>	21
Cuadro III. Tratamientos evaluados para multiplicación <i>In vitro</i> de la <i>Peristeria elata</i>	23
Cuadro IV: composición de los medios de cultivos empleados para la multiplicación <i>In vitro</i> de la <i>Peristeria elata</i>	28
Cuadro V. Resultados de la prueba de Kruskall- Wallis para la variable número de yemas en la primera etapa de multiplicación.	38
Cuadro VI. Resultados de la prueba de Kruskall- Wallis para la variable número de brotes en la primera etapa de multiplicación.	39
Cuadro VII. Resultados de la prueba de Kruskall- Wallis para la variable longitud de brotes en la primera etapa de multiplicación.	40
Cuadro VIII. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la variable longitud de brotes en la primera etapa de multiplicación del factor medios de cultivo.	41
Cuadro IX. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs concentraciones para longitud de brotes en la primera etapa de multiplicación.	43
Cuadro X. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Knudson C vs concentraciones para longitud de brotes en la primera etapa de multiplicación.	45
Cuadro XI. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Fitomare ® vs concentraciones para longitud de brotes en la primera etapa de multiplicación.	47

Cuadro XII. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Algamare ® vs concentraciones para longitud de brotes en la primera etapa de multiplicación.	49
Cuadro XIII. Resultados de la prueba de Kruskall- Wallis para la variable número de yemas en la segunda etapa de multiplicación.....	51
Cuadro XIV. Resultados de la prueba de Kruskall- Wallis para la variable número de brotes en la segunda etapa de multiplicación.	52
Cuadro XV. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs concentraciones para número de brotes en la segunda etapa de multiplicación.....	53
Cuadro XVI. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Knudson c vs concentraciones para número de brotes en la segunda etapa de multiplicación.	55
Cuadro XVII. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Fitomare ® vs concentraciones para número de brotes en la segunda etapa de multiplicación.	57
Cuadro XVIII. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Algamare ® vs concentraciones para número de brotes en la segunda etapa de multiplicación.	59
Cuadro XIX. Resultados de la prueba de Kruskall- Wallis para la variable longitud de brotes en la segunda etapa de multiplicación.....	61
Cuadro XX. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la variable longitud de brotes en la segunda etapa de multiplicación del factor medios de cultivo.	62
Cuadro XXI. Comparaciones múltiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs concentraciones para longitud de brotes en la segunda etapa de multiplicación.....	64

Cuadro XXII. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Knudson c vs concentraciones para logitud de brotes en la segunda etapa de multiplicación.	66
Cuadro XXIII. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Fitomare ® vs concentraciones para logitud de brotes en la segunda etapa de multiplicación.	68
Cuadro XXIV. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Algamare ® vs concentraciones para logitud de brotes en la segunda etapa de multiplicación.	70
Cuadro XXV. Resultados de la prueba de Kruskall- Wallis para la variable numero de yemas en la tercera etapa de multiplicación.	72
Cuadro XXVI. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la variable numero de yemas en la tercera etapa de multiplicación del factor medios de cultivos.	73
Cuadro XXVII. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs concentraciones para numero de yemas en la tercera etapa de multiplicación.	75
Cuadro XXVIII. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Knudson c vs concentraciones para numero de yemas en la tercera etapa de multiplicación.	77
Cuadro XXIX. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Fitomare ® vs concentraciones para numero de yemas en la tercera etapa de multiplicación.	79
Cuadro XXX. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Algamare ® vs concentraciones para numero de yemas en la tercera etapa de multiplicación.	81
Cuadro XXXI. Resultados de la prueba de Kruskall- Wallis para la variable numero de brotes en la tercera etapa de multiplicación.	83

Cuadro XXXII. Resultados de la prueba de Kruskall- Wallis para la variable longitud de brotes en la tercera etapa de multiplicación.	84
Cuadro XXXIII. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la variable longitud de brotes en la tercera etapa de multiplicación del factor medios de cultivos.	85
Cuadro XXXIV. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Murashige & Kkoog 50% vs concentraciones para longitud de brotes en la tercera etapa de multiplicación.....	87
Cuadro XXXV. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Knudson c vs concentraciones para logitud de brotes en la tercera etapa de multiplicación.	89
Cuadro XXXVI. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Fitomare ® vs concentraciones para logitud de brotes en la tercera etapa de multiplicación.	91
Cuadro XXXVII. Comparaciones multiples por rangos (dunnett) para la interacción del medio Algamare ® vs concentraciones para logitud de brotes en la tercera etapa de multiplicación.	93
Cuadro XXXVIII. Cuadro comparativo entre el efecto de los medios de cultivo vs las etapas de multiplicación	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vitroplantas madre de <i>Peristeria elata</i> utilizadas en la multiplicación <i>In vitro</i>	22
Figura 2. Reactivos y soluciones madre.	26
Figura 3. Preparación de medios de cultivo.	26
Figura 4. Disección de vitroplantas para su multiplicación.	29
Figura 5. Lectura de los tratamientos a los 30 días después de la multiplicación.	31
Figura 6. Lectura medio Murashige & Skoog 50% a los 60 días después de la primera multiplicación.	32
Figura 7. Lectura medio Knudson C a los 60 días después de la primera multiplicación.	33
Figura 8. Lectura medio Fitomare a los 60 días después de la primera multiplicación.	33
Figura 9. Lectura medio Algamare a los 60 días después de la primera multiplicación.	34
Figura 10. Lectura medio Murashige & Skoog 50% a los 85 días después de la primera multiplicación.	35
Figura 11. Lectura medio Knudson C a los 85 días después de la primera multiplicación.	36
Figura 12. Lectura medio Fitomare a los 85 días después de la primera multiplicación.	36
Figura 13. Lectura medio Algamare a los 85 días después de la primera multiplicación.	37
Figura 14. Longitud de brotes promedio para el factor medios de cultivo en la primera etapa de multiplicación.	42

Figura 15. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs concentraciones en la primera etapa de multiplicación.	44
Figura 16. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Knudson C vs concentraciones en la primera etapa de multiplicación.	46
Figura 17. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Fitomare vs concentraciones en la primera etapa de multiplicación.	48
Figura 18. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Algamare vs concentraciones en la primera etapa de multiplicación.	50
Figura 19. Numero de brote promedio para la interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs concentraciones en la segunda etapa de multiplicación.	54
Figura 20. Número de brotes promedio para la interacción del medio Knudson C vs concentraciones en la segunda etapa de multiplicación.	56
Figura 21. Número de brotes promedio para la interacción del medio Fitomare ® vs concentraciones en la segunda etapa de multiplicación.	58
Figura 22. Numero de brotes promedio para la interacción del medio Algamare ® vs concentraciones en la segunda etapa de multiplicación.	60
Figura 23. Promedio de la variable longitud de brotes del factor medios de cultivo en la segunda etapa de multiplicación.	63
Figura 24. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Murashige and Skoog 50% vs concentraciones en la segunda etapa de multiplicación.	65
Figura 25. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Knudson c vs concentraciones en la segunda etapa de multiplicación.	67
Figura 26. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Fitomare ® vs concentraciones en la segunda etapa de multiplicación.	69
Figura 27. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Algamare ® vs concentraciones en la segunda etapa de multiplicación.	71

Figura 28. Promedios de la variable numero de yemas de medios de cultivos en la tercera etapa de multiplicación.	74
Figura 29. Numero de yemas promedio para la interacción del medio Murashige and Skoog 50% vs concentraciones en la tercera etapa de multiplicación.	76
Figura 30. Numero de yemas promedio para la interacción del medio Knudson C vs concentraciones en la tercera etapa de multiplicación.	78
Figura 31. Numero de yemas promedio para la interacción del medio Fitomare ® vs concentraciones en la tercera etapa de multiplicación.	80
Figura 32. Numero de yemas promedio para la interacción del medio Algamare ® vs concentraciones en la tercera etapa de multiplicación.	82
Figura 33. Longitud de brotes promedio para la variable concentraciones en la tercera etapa de multiplicación.	86
Figura 34. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Murashige and Skoog 50% vs concentraciones en la tercera etapa de multiplicación.	88
Figura 35. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Knudson c vs concentraciones en la tercera etapa de multiplicación.	90
Figura 36. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Fitomare ® vs concentraciones en la tercera etapa de multiplicación.	92
Figura 37. Longitud de brotes promedio para la interacción del medio Algamare ® vs concentraciones en la tercera etapa de multiplicación.....	94

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Componentes necesarios para preparación de soluciones madre del medio Murashige & Skoog empleados en la multiplicación de la Flor del Espíritu Santo <i>Peristeria elata</i>	106
Anexo 2. Componentes necesarios para preparación de la solución madre del medio Knudson C empleado en la multiplicación de la Flor del Espíritu Santo <i>Peristeria elata</i>	107
Anexo 3. Componentes nutricionales del producto comercial Fitomare ®.	108
Anexo 4. Componentes nutricionales del producto comercial Algamare ®.	109
Anexo 5. Preparación de los medios de cultivos.....	110

INTRODUCCIÓN

1. ASPECTOS GENERALES

Las orquídeas (Orchidaceae) son consideradas, desde el punto de vista filogenético, como la familia de las angiospermas más rica y diversa en especies. Se estima que existen unas 30,000 especies de orquídeas. A esto, y dado que se pueden cruzar muy bien entre sí, hay que añadir unos 150,000 híbridos creados. (Röllke, 2005).

Las orquídeas tienen la capacidad de producir millones de semillas; a pesar de ello, poseen bajos porcentajes de germinación en condiciones naturales debido a que el endospermo que rodea al embrión es muy reducido o en algunos casos inexistente; es por esto que las orquídeas han desarrollado relaciones simbióticas con hongos que digieren la materia orgánica y transfieren los carbohidratos al embrión. (Alvarado, 2000).

La ***Peristeria elata***, conocida comúnmente como La Flor del Espíritu Santo, fue designada como distintivo nacional de Panamá el 21 de octubre de 1980, bajo la Ley # 46 que asigna al estado la responsabilidad de conservar dicha especie. Sin embargo, actualmente se encuentra siendo amenazada por su sobreexplotación con fines comerciales y alteración de su hábitat natural. Lo que ha llevado a que forme parte del grupo de especies con sumo peligro de extinguirse, según el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres CITES. (Mendieta, 2021).

La técnica de cultivo de tejidos *In vitro* en orquídeas ha resultado una opción exitosa debido a que se obtienen altos niveles de multiplicación en periodos de tiempo más cortos, asegurando a su vez la sanidad del material. (Rojas, 2014).

La propagación *In vitro* permite dar posibles soluciones y ayudar a impedir la pérdida masiva de las especies que se encuentran en peligro de extinción, como es el caso de la Flor del Espíritu Santo ***Peristeria elata***.

En virtud de lo anterior, el propósito de esta investigación consiste en analizar y evaluar cuatro medios de cultivo, empleados en la fase de multiplicación *In vitro* de la ***Peristeria elata***, con el fin de determinar cuál medio resulta más efectivo en el proceso de regeneración de las plantas.

1.1. Planteamiento del problema

El escenario actual revela que las orquídeas se han convertido en una de las familias de plantas más amenazadas en todo el mundo.

Las poblaciones de ***Peristeria elata*** en el país presentan cada vez menos individuos. Esto tomando en cuenta las áreas protegidas existentes en el país.

Varios factores son responsables de su situación actual, como la baja tasa de germinación de sus semillas, el cambio climático, la fragmentación del hábitat, la explotación excesiva de los suelos y la recolección indiscriminada de esta especie debido a su valor simbólico y vistosidad. (Pérez, 2022).

1.2. Antecedentes

Las primeras plantas de ***Peristeria elata*** fueron enviadas a Inglaterra en 1826 y florecieron en 1831. La orquídea del Espíritu Santo o Paloma ***Peristeria elata*** es el miembro más conocido de este pequeño género. William J. Hooker, al describir el género en 1831 en la *Revista Botánica*, debido a la semejanza de su ginostemio (columna) a una paloma (en griego, Peristeria) con las alas extendidas. (Linden, 1894).

Esta orquídea fue declarada Flor Nacional por los habitantes del istmo de Panamá el 28 de octubre de 1980, con el objetivo de preservar su hábitat natural. Actualmente se encuentra de manera silvestre en áreas del país como Las Minas de Herrera, Sur de Soná, Santa Fe y El Valle de Antón.

Sin embargo, se encuentra siendo amenazada por su sobreexplotación con fines comerciales y por la alteración y destrucción de su hábitat natural. (Young, 2022).

1.3. Justificación

Las orquídeas son extremadamente sensibles a los cambios ambientales, tema de creciente interés en la actualidad. Son un grupo de plantas de considerable importancia económica, en especial en horticultura y floristería, pero también en la industria farmacéutica y de las esencias.

La flor nacional de Panamá actualmente está en peligro de extinguirse, a tal punto que se han desarrollado programas de recuperación para lograr su conservación, como es el caso del asocio entre la Universidad Tecnológica de Panamá y la Misión Técnica de Taiwán, que en 2007 inician un proyecto con la finalidad de rescatar la Flor Nacional; mientras tanto las autoridades del país procuran que solo se use para exhibiciones y no para su venta.

La manera más factible para la propagación masiva de esta especie es mediante el uso de técnicas de Biotecnología vegetal, motivo por el cual se consideró realizar este trabajo, que busca comparar diferentes medios de cultivo en la etapa de multiplicación *In vitro* con el fin de adquirir un medio que sea eficaz y a su vez económico.

La justificación de esta investigación se sustenta en mostrar cómo es posible emplear otras alternativas en la fase de multiplicación *In vitro* de la Flor del Espíritu Santo ***Peristeria elata***, que favorezcan un mejor desarrollo de las plántulas por unidad de tiempo durante la etapa de multiplicación.

1.4. Objetivos

Objetivo general

- Evaluar el efecto de cuatro medios de cultivo y tres niveles de ácido giberélico en la fase de multiplicación *In vitro* de La Flor del Espíritu Santo ***Peristeria elata***.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto simple de cuatro medios de cultivo y tres distintas concentraciones de ácido giberélico sobre la tasa de producción de la ***Peristeria elata*** en la etapa de multiplicación.
- Estimar el efecto de la interacción de cuatro medios de cultivo con tres concentraciones de ácido giberélico, sobre la ***Peristeria elata*** durante su etapa de multiplicación.

1.5. Hipótesis

Ho: No existe diferencias significativas en las etapas de multiplicación *In vitro* de la ***Peristeria elata*** por el efecto de cuatro medios de cultivo y tres niveles de ácido giberélico.

Ha: Existen diferencias significativas en las etapas de multiplicación *In vitro* de la ***Peristeria elata*** por el efecto de cuatro medios de cultivo y tres niveles de ácido giberélico.

1.6. Alcances y Limitaciones del estudio

Alcances

- Determinar el medio de cultivo con la mayor tasa de multiplicación por unidad de tiempo de la ***Peristeria elata*** durante la fase de multiplicación *In vitro*.
- Se podrá generar información confiable sobre el comportamiento que tiene la Flor del Espíritu Santo en la fase de multiplicación *In vitro*, que podrá ser difundida por todos los interesados en la materia.

Limitaciones

- Es necesario contar con un laboratorio debidamente equipado para llevar a cabo las labores correspondientes a la técnica de propagación *In vitro*.
- Dentro del laboratorio, es importante que, durante el desarrollo de la investigación se mantengan las medidas de asepsia en cada una de las etapas; tanto en la preparación de los medios de cultivos, como en la manipulación de los tejidos vegetales. De esta manera se evita el riesgo de presentar contaminaciones en el ensayo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Origen y distribución de la ***Peristeria elata***

La ***Peristeria elata*** fue descrita por primera vez por William J. Hooker, en 1831; el significado de su nombre, Peristeria, viene del griego *Peristeriōn* (palomita) y hace referencia a la forma de sus flores; parecidas a una paloma extendiendo sus alas.

Peristeria es un género perteneciente a la familia de las Orchidaceae conformado por aproximadamente 12 especies entre epífitas y terrestres, Se encuentran desde Costa Rica, Panamá, la selva amazónica, en Ecuador, Perú, Colombia, Guayana y hasta el norte de Brasil. (Saleem *et al.*,2015)

Elata significa imponente; conocida popularmente como Flor del Espíritu Santo en Panamá, país donde es considerada la flor nacional desde 1980.

Es una planta terrestre que crece agregada, hasta 1,5 metros de altura; de hojas simples, plicadas, flores agrupadas en una inflorescencia simple, hasta de un metro de largo, blancas, con uno de los pétalos modificado más grande y con puntos morados.

2.2. Clasificación Taxonómica

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Asparagales
Familia:	Orchidaceae
Subfamilia:	Epidendroideae
Tribu:	Cymbidieae
Subtribu:	Coeliopsidinae
Género:	Peristeria
Especie:	Peristeria elata

Fuente: National Center for Biotechnology Information (2020)

2.3. Características Botánicas

Hojas

Se agrupan de 2 a 5 hojas, que están rodeadas con varias brácteas, las superiores de las cuales son foliáceas. Las hojas son plegadas, de textura fina, elípticas-lanceoladas y estrechadas en el pecíolo. Alcanzan hasta un metro de largo y 15 centímetros de ancho.

Flor

Presenta una inflorescencia rígidamente erecta, con una longitud entre 1 y 1.8 metros y con 10 a 20 flores campanuladas, subglobosas, cerosas, color blanco marfil, con manchas o pintas de color púrpura y la antera y pistilo de color amarillo. Las flores aparecen en un nuevo crecimiento y se abren cuando el pseudobulbo ha madurado, pero previo a esto las hojas caen (Olmos, 2009).

Pseudobulbos

Los pseudobulbos (literalmente “falso bulbo”) son estructuras típicas de muchas especies de orquídeas y funcionan como órgano de reserva. Se trata de estructuras especializadas de almacenamiento, consistentes en una porción engrosada del tallo, formada por uno o varios nudos. (Orquideamundo, 2010). La ***Peristeria elata*** presenta pseudobulbos ovoides o cónicos envueltos en la base por vainas imbricadas con hasta 12 cm de altura, alargados y no grasos de donde emergen sus hojas.

Fruto

Los frutos o cápsulas poseen semillas minúsculas y muchas, llamadas semillas polvo, contienen poca o ninguna reserva para llevar a cabo la germinación, es decir, no presentan endospermo.

Raíces

La función típica de las raíces es absorber agua, sales minerales y dar anclaje a la planta. En las orquídeas terrestres esas funciones se cumplen a plenitud, pero a la vez, se complementan con otras necesarias para la sobrevivencia de especies adaptadas de vivir en sitios con condiciones inhóspitas. (Rivera, 2009).

Las raíces de la ***Peristeria elata*** generalmente son gruesas y blancas, debido al desarrollo de un tejido esponjoso y blanquecino llamado velamen que cumple la función de captar agua y nutrientes.

2.4. Ecología de la *Peristeria elata*

Hábitat

En el caso de la ***Peristeria elata***, crecen en campos, selvas y en laderas en el caso de las montañas. Estas plantas son grandes indicadores de la estabilidad de los ecosistemas, debido a que sobreviven en medios muy conservados.

Hábito de crecimiento

El hábito de las orquídeas es muy variado y de acuerdo con esto; se pueden clasificar en diversos grupos: epifitas, terrestres y rupícolas; la ***Peristeria elata*** la podemos encontrar en los 3 tipos de hábito de crecimiento.

Luz

Esta orquídea se puede colocar debajo de los árboles, donde reciba una luz filtrada y no oscuridad total. La intensidad lumínica de 1800 y 3000 bujías-pié, permite lograr una buena floración. Estas medidas son tomadas tanto en condiciones de invernadero como naturales.

Temperatura

La ***Peristeria elata*** se desarrolla en temperaturas cálidas y no se adapta a climas muy fríos. Por lo general se debe mantener una temperatura por las noches superior a los 16°C; y durante el día, temperaturas que vayan de 24°C a 30°C como máximo.

Humedad

La Flor del Espíritu Santo es nativa de las regiones tropicales, por lo cual se adapta bien a condiciones cálidas y húmedas. Una humedad de 60% y 70% resulta muy favorable para esta planta. Es importante tener en cuenta que la brisa sea constante. Esto es un factor imprescindible para su buen desarrollo y crecimiento.

Altitud

En su hábitat natural la encontramos en bosques húmedos de montaña, a altitudes que rondan los mil metros, creciendo sobre los troncos de los árboles o bien en tierra. El rango altitudinal del género de la ***Peristeria elata*** se extiende desde el nivel del mar hasta unos 1500m.

Riego

La *Peristeria elata* es una planta que tolera la sequía debido a que sus pseudobulbos tienen la capacidad de conservar agua y nutrientes.

El riego dependerá del sitio donde se encuentre y del sustrato que sea utilizado. Lo importante es mantener la humedad de la zona donde se encuentre la orquídea.

En la época de sequía es importante al menos un riego diario, mientras que, en la época lluviosa; se puede mantener con el riego que proporciona la lluvia.

Polinización

El proceso de polinización, o sea el proceso de transferir polen, de la antera de una flor al estigma de otra, resulta bastante elaborado en algunos casos donde las abejas euglossini son las encargadas de la polinización. (Murgas *et al.*, 2018)

Micorrizas

Son hongos que tienen relación simbiótica con las plantas. Mientras el hongo proporciona nutrientes minerales y agua, las plantas les proporcionan vitaminas y azúcares. La asociación es mutualista, dado que ambos organismos se atribuyen beneficios entre sí.

Las orquinoides o micorrizas de ovillo, son indispensables para el desarrollo de las orquídeas epifitas y terrestres durante su vida juvenil; una vez la planta crece y fotosintetiza generalmente se independiza del hongo.

2.5. Concepto de cultivo de tejidos *In vitro*

El cultivo de tejidos *In vitro* es una técnica que permite cultivar células, tejidos y órganos vegetales en medios sintéticos bajo condiciones asépticas y controladas de luz, temperatura y humedad.

El cultivo de tejidos vegetales se inicia a partir de explantes aislados de cualquier tejido vegetal, aunque tradicionalmente se emplean embriones, raíces y brotes (Ochoa-Villarreal *et al.*, 2015).

La técnica depende del concepto de totipotencialidad de las células vegetales, la cual se refiere a la habilidad de una sola célula de expresar el genoma completo por medio de la división celular.

Estas células tienen la capacidad para alterar su metabolismo, crecimiento y desarrollo para poder regenerar una planta completa a partir de cualquier segmento de la misma.

2.6. Reguladores de crecimiento vegetal

Los reguladores del crecimiento (fitohormonas) desempeñan un papel esencial en la determinación de las rutas de desarrollo, actuando como mensajeros químicos en la regulación celular en los procesos de desarrollo y crecimiento de las células vegetales durante el cultivo *in vitro*.

Ejecutan su acción como pleiotropía, es decir que una misma hormona participa en diferentes procesos y dependiendo de la concentración puede generar una respuesta estimuladora o inhibitoria (Cruz, Melgarejo, & Romero 2010). Generalmente los reguladores más ampliamente empleados son auxinas, citocininas y giberelinas. El tipo y concentración de fitohormonas a utilizar depende de la especie con la que se esté trabajando, el tejido u órgano por cultivar y los objetivos del experimento.

Giberelinas

Las Giberelinas (GA3) son compuestos naturales que actúan como reguladores endógenos esenciales del crecimiento y el desarrollo en los vegetales superiores.

Según George *et al* (2008, pág.227), las giberelinas son conocidas por su capacidad de estimular la elongación de tallos, la movilización de las reservas del endospermo durante el crecimiento, así como la expansión de la hoja. A nivel *in vitro* se utilizan generalmente para inducir el alargamiento de entrenudos y el crecimiento de los meristemos o brotes.

2.7. El explante

Se considera explante a cualquier tejido vivo separado de su órgano propio y transferido a un medio artificial de crecimiento. Los explantes son de diversa naturaleza, pueden ser porciones de tejido, células sueltas, protoplastos, esporas, granos de polen o semillas.

2.8. Medio de cultivo

Los medios de cultivo vegetales contienen todos los nutrientes requeridos para el crecimiento normal y el desarrollo de las plantas. Estos están compuestos principalmente de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, otros compuestos orgánicos, reguladores del crecimiento, fuente de carbono y algunos agentes gelificantes, en el caso de los medios de cultivo semisólidos.

Existen varias formulaciones, que utilizan ingredientes básicos y otras que son específicas para determinadas orquídeas; pero es recomendable definir un medio de cultivo estándar de acuerdo con la especie estudiada.

2.9. Bioestimulantes

Los bioestimulantes son cualquier sustancia o microorganismo que, al ser aplicado a las plantas, tiene la capacidad de mejorar la eficacia de estas en la absorción y asimilación de nutrientes, tolerancia a estrés biótico o abiótico y a su vez contribuye al aumento de la productividad y mejora su calidad. (Garcia, 2001)

Bioestimulante Fitomare ®

Es un producto elaborado a base de extracto de algas marinas (*Ascophyllum nodosum*) enriquecido con aminoácidos libres, macro y microelementos cuyo efecto bioestimulante favorece la brotación, floración y cuajado de los frutos. En su composición contiene ácido alginico, que corresponde a un contenido de 15% de algas marinas. (ATLÁNTICA, 2013).

Bioestimulante Algamare ®

Es un nutriente 100% orgánico elaborado a base de extractos de algas marinas, es el único que contiene tres especies distintas de algas marinas: *Sargassum* rica en ácido alginico, *Laminaria* rica en micronutrientes y *Ascophyllum nodosum* rica en hormonas naturales y materia orgánica. Proporciona una reserva natural de nutrientes, aminoácidos y carbohidratos, que incrementan el rendimiento, calidad y vigor de los cultivos. (TACSA).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

**CUADRO I. MATERIALES NECESARIOS PARA EL ESTABLECIMIENTO
In vitro DE LA *Peristeria elata*.**

MATERIALES	EQUIPOS
Plántulas de <i>Peristeria elata</i>	Autoclave
Medio Knudson C modificado	Medidor de pH
Medio Murashige & Skoog	Balanza analítica
Bioestimulante Fitomare [®]	Plato agitador
Bioestimulante Algamare [®]	Microondas
Ácido giberélico	Refrigerador
Vaso químico	Bomba peristáltica
Probeta	Cámara de flujo laminar
Erlenmeyer	
Frascos de vidrio	
Cinta adhesiva	
Espátulas	
Pinzas	
Hojas de bisturí	
Portabisturí	
Espátulas	
Imanes	
Bandejas	
Mechero Bunsen	
Desinfectante	
Gotero	
Fósforos	
Lápiz	

Fuente: Deago (2022)

3.2. Metodología

Área de estudio

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Fitotecnia de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, sede de Chiriquí. En un periodo comprendido entre el 1 de junio al 30 de septiembre de 2022.

Descripción del estudio

Esta investigación busca desarrollar una metodología para la fase de multiplicación *In vitro* de la ***Peristeria elata***, con el uso de cuatro diferentes medios y tres concentraciones de ácido giberélico, con la finalidad de determinar cuál medio resulta más efectivo.

Descripción de los tratamientos

Las plantas madres de la ***Peristeria elata*** que han sido multiplicadas fueron previamente establecidas en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Los medios empleados son Murashige & Skoog (1962) al 50% de su concentración de sales; Knudson modificado (Pierik, 1990); y dos bioestimulantes elaborados a base de extracto de algas marinas (Fitomare® y Algamare®). A su vez, estos medios fueron suplementados con tres diferentes dosis de ácido giberélico; 0.1, 0.35 y 1 mg/l.

CUADRO II. FACTORES Y SUS NIVELES EVALUADOS EN EL ENSAYO DE MULTIPLICACIÓN *In vitro* DE LA *Peristeria elata*.

FACTORES	NIVELES
A. 4 medios de Cultivos	M1 Murashige and Skoog 50%
	M2 Knudson C
	M3 Fitomare
	M4 Algamare
B. 3 concentraciones de Ácido Giberélico	0.1 mg/L AG3
	0.35 mg/L AG3
	1 mg/L AG3.

Fuente: Deago (2022)



FIGURA 1. VITROPLANTAS MADRE DE *Peristeria elata* UTILIZADAS EN LA MULTIPLICACIÓN *In vitro*.

3.2.1. Diseño Experimental

En el ensayo se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial constituidos de la siguiente manera: El factor A (Medios de cultivo) y el factor B (Concentraciones de ácido giberélico) lo que finalmente arrojó 16 tratamientos factoriales (Cuadro III). El ensayo se estableció con un total de 6 repeticiones para iniciar con un total de 96 unidades experimentales.

**CUADRO III. TRATAMIENTOS EVALUADOS PARA MULTIPLICACIÓN *In vitro*
DE *Peristeria elata*.**

TRATAMIENTOS	COMPOSICION
T1	MS 50% Sin AG3
T2	MS 50% + 0.1 mg/L AG3
T3	MS 50% + 0.35 mg/L AG3
T4	MS 50% + 1 mg/L AG3
T5	Knudson C Sin AG3
T6	Knudson C + 0.1 mg/L AG3
T7	Knudson C + 0.35 mg/L AG3
T8	Knudson C + 1 mg/L AG3
T9	Fitomare Sin AG3
T10	Fitomare + 0.1 mg/L AG3
T11	Fitomare + 0.35 mg/L AG3
T12	Fitomare + 1 mg/L AG3
T13	Algamare Sin AG3
T14	Algamare + 0.1 mg/L AG3
T15	Algamare + 0.35 mg/L AG3
T16	Algamare + 1 mg/L AG3

MS= Murashige & Skoog, mg/L=ppm.

El modelo aditivo lineal para este diseño es:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha_i\beta_j) + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

μ = es el efecto medio global.

α_i = es el efecto incremental sobre la media causado por el nivel i del factor **A**.

β_j =el efecto incremental sobre la media causado por el nivel j del factor **B**.

$(\alpha\beta)_{ij}$ =el efecto incremental sobre la media causado por la interacción del nivel i del factor **A** y el nivel j del factor **B**.

ε_{ijk} =el término de error.

3.3. Preparación de los medios de cultivo

3.3.1. Preparación de Soluciones Madre

Se prepararon soluciones madre para los siguientes medios de cultivos:

1. Murashige & Skoog 50%: se realizó una dilución de sales al 50%
(ver anexo 1)
2. Knudson C: (ver anexo 2)

3.3.2. Preparación de Medios de Cultivos

Se prepararon los medios de cultivos a partir de diluciones de las soluciones madre.

1. M1 (Murashige & Skoog 50%): Se preparó a partir de la dilución de la solución madre a 50% de su concentración de sales.
2. M2 (Knudson C): Se preparó a partir de la dilución de la solución madre que conforma el medio modificado Knudson C. (ver anexo 2).
3. M3 (Fitomare®): Se preparó directamente de la dilución del producto comercial Fitomare ® elaborado a base de extractos de algas marinas (*Acophyllum nodosum*). (ver anexo 3).
4. M4 (Algamare®): Se preparó directamente de la dilución del producto comercial Fitomare ® elaborado a base de extractos de algas marinas (*Sargassum*, *Laminaria* y *Ascophyllum nodosum*). (ver anexo 4).



FIGURA 2. REACTIVOS Y SOLUCIONES MADRE.



FIGURA 3. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.

3.4. Esterilización de los materiales y equipo

El método de esterilización de los utensilios empleados durante esta investigación daba inicio con el lavado de las pinzas metálicas, mangos de bisturíes, papel manila y envases de vidrio, con agua y detergente en polvo para luego ser enjuagados con agua destilada. Posteriormente se introdujeron en la autoclave para ser esterilizados durante 15 minutos a 121 °C y una presión de 15 libras por pulgada cuadrada.

Minutos antes de entrar a la cámara de flujo laminar, se procede a limpiar con alcohol al 70% y se enciende el flujo de aire circundante. Se esperan aproximadamente 20 minutos para que el aire se haya purificado en su totalidad y luego se procede a entrar para realizar las labores respectivas. Cada vez que se ingrese algún instrumento a la cámara este debe ser rociado antes con alcohol al 70%.

3.5. Etapa de multiplicación

En esta etapa se utilizaron vitroplantas previamente establecidas en el laboratorio, las cuales tenían aproximadamente 18 meses de edad.

En esta etapa se evaluó el efecto de tres diferentes concentraciones de Ácido Giberélico. Posteriormente se hicieron dos subcultivos a los 30 y 60 días después de la primera multiplicación.

**CUADRO IV: COMPOSICIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS EMPLEADOS
PARA LA MULTIPLICACIÓN *In vitro* DE LA *Peristeria elata*.**

Componentes	Medios de cultivo			
	M1 Murashige & Skoog 50%	M2 Knudson modificado	M3 Bioestimulante Fitomare®	M4 Bioestimulante Algamare®
Ácido giberélico AG ₃ (mg/l)	- 0.1 0.35 1	- 0.1 0.35 1	- 0.1 0.35 1	- 0.1 0.35 1
Sacarosa (g/l)	30	30	30	30
Phytigel (g/l)	1.5	1.5	1.5	1.5
pH	5.8	5.8	5.8	5.8

Fuente: Deago (2022)



FIGURA 4. DISECCION DE VITROPLANTAS PARA SU MULTIPLICACIÓN.

3.6. Variables evaluadas

- En la etapa de multiplicación se separaron las plántulas de forma individual y se realizó un corte transversal de las mismas a un tamaño de 2 cm, con el fin de homogeneizar su tamaño y finalmente se colocaron en los medios de cultivo previamente descritos.

Las variables que se midieron fueron:

- Número de yemas: Se contabilizaron en todos los tratamientos la cantidad de yemas existentes a los 30, 60 y 85 días después de la primera multiplicación.
- Número de brotes: Se contabilizaron para todos los tratamientos la cantidad de brotes existentes a los 30, 60 y 85 días después de la primera multiplicación.
- Longitud de los brotes: Se midió con una regla milimétrica el tamaño de los brotes existentes a los 30, 60 y 85 días después de la primera multiplicación.

Los datos obtenidos en cada una de las variables se analizaron con el programa de análisis estadístico SPSSStatistics; en el caso de variables no paramétricas se empleó la prueba Kruskal-Wallis (ANOVA por Rangos).

3.6.1. Primera etapa de multiplicación.

Se evaluó el número de yemas, brotes y longitud de brotes a los 30 días después de la multiplicación y se realizó la primera subsiembra.

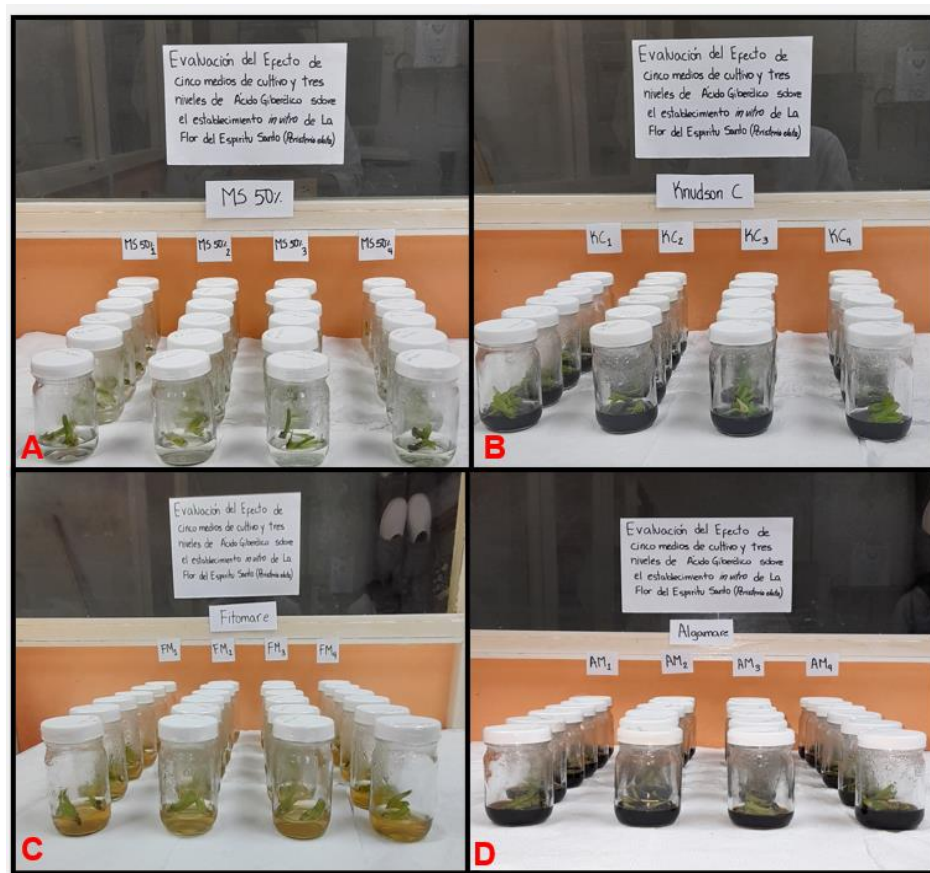


FIGURA 5. LECTURA DE LOS TRATAMIENTOS A LOS 30 DÍAS DESPUÉS DE LA MULTIPLICACIÓN.

A. Murashige & Skoog 50%, B) Knudson C, C) Fitomare, D) Algamare.

3.6.2. Segunda etapa de multiplicación.

Se evaluó el número de yemas, brotes y longitud de brotes a los 60 días después de la multiplicación y se realizó la segunda subsiembra.



FIGURA 6. LECTURA MEDIO MURASHIGE & SKOOG 50% A LOS 60 DIAS DESPUÉS DE LA PRIMERA MULTIPLICACIÓN.

A. MS 50%, B) MS 50% + 0.1 mg/L AG3, C) MS 50% + 0.35 mg/L AG3, D) MS 50% + 1 mg/L AG3.



FIGURA 7. LECTURA MEDIO KNUDSON C A LOS 60 DIAS DESPUÉS DE LA PRIMERA MULTIPLICACIÓN.

A. Knudson C, B) Knudson C + 0.1 mg/L AG3, C) Knudson C + 0.35 mg/L AG3, D) Knudson C + 1 mg/L AG3.

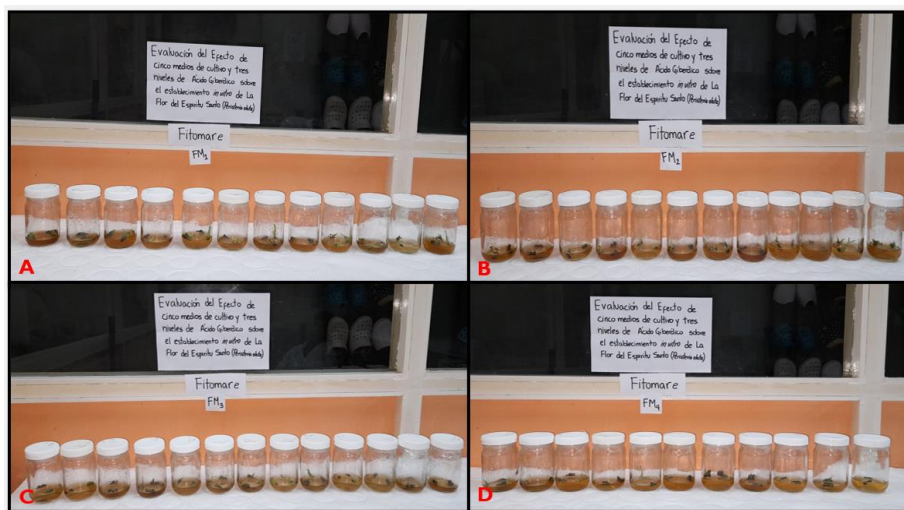


FIGURA 8. LECTURA MEDIO FITOMARE A LOS 60 DIAS DESPUÉS DE LA PRIMERA MULTIPLICACIÓN.

a) Fitomare, b) Fitomare + 0.1 mg/L AG3, c) Fitomare + 0.35 mg/L AG3, d) Fitomare + 1 mg/L AG3.

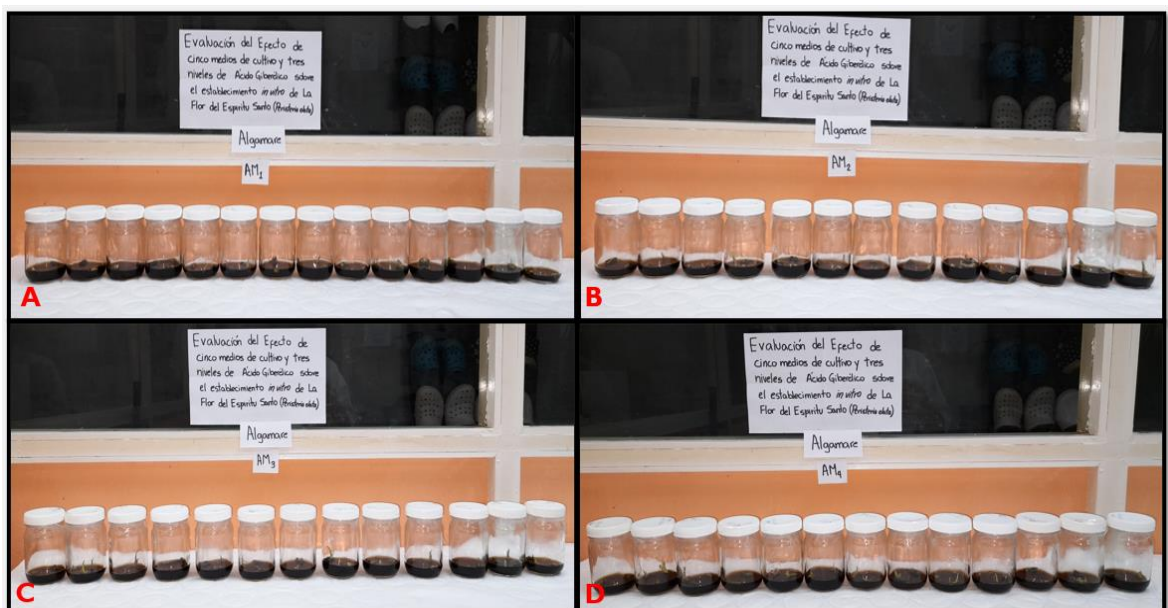


FIGURA 9. LECTURA MEDIO ALGAMARE A LOS 60 DÍAS DESPUÉS DE LA PRIMERA MULTIPLICACIÓN.

A. Algamare, B) Algamare + 0.1 mg/L AG3, C) Algamare + 0.35 mg/L AG3, D) Algamare + 1 mg/L AG3.

3.6.3. Tercera etapa de multiplicación.

Se evaluó el número de yemas, brotes y longitud de brotes a los 85 días después de la multiplicación.

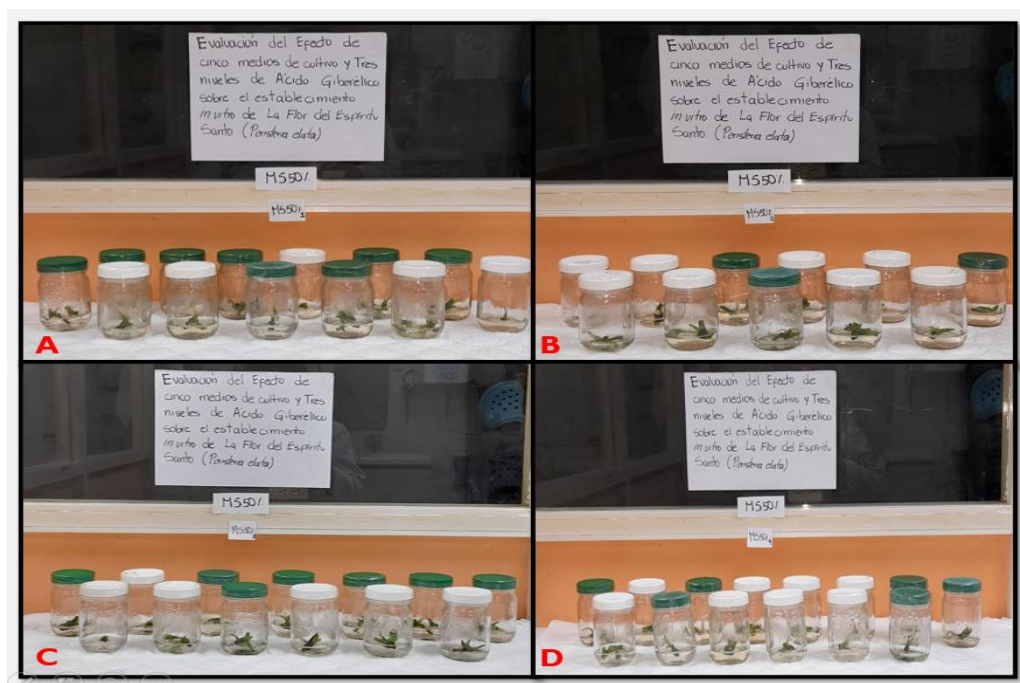


FIGURA 10. LECTURA MEDIO MURASHIGE & SKOOG 50% A LOS 85 DIAS DESPUÉS DE LA PRIMERA MULTIPLICACIÓN.

A. MS 50%, B) MS 50% + 0.1 mg/L AG3, C) MS 50% + 0.35 mg/L AG3, D) MS 50% + 1 mg/L AG3.

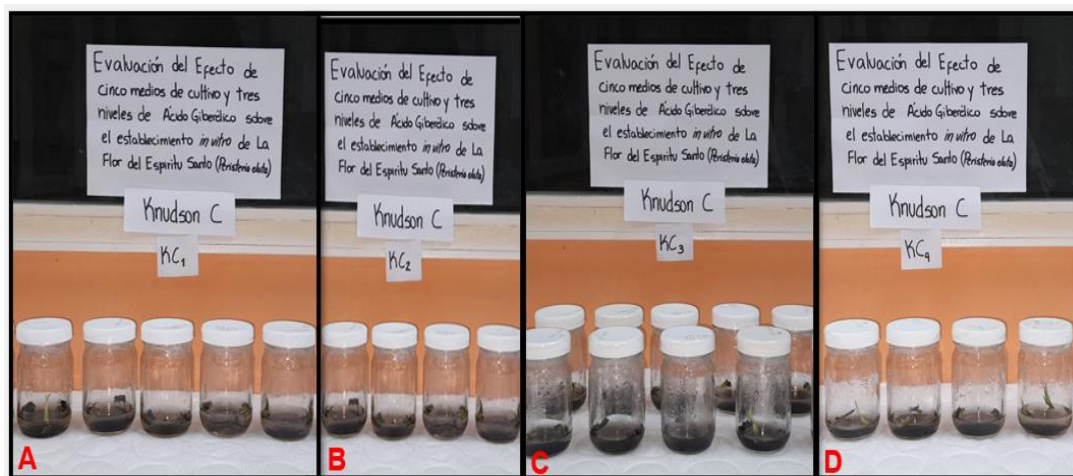


FIGURA 11. LECTURA MEDIO KNUDSON C A LOS 85 DIAS DESPUÉS DE LA PRIMERA MULTIPLICACIÓN.

A. Knudson C, B) Knudson C + 0.1 mg/L AG3, C) Knudson C + 0.35 mg/L AG3, D) Knudson C + 1 mg/L AG3.

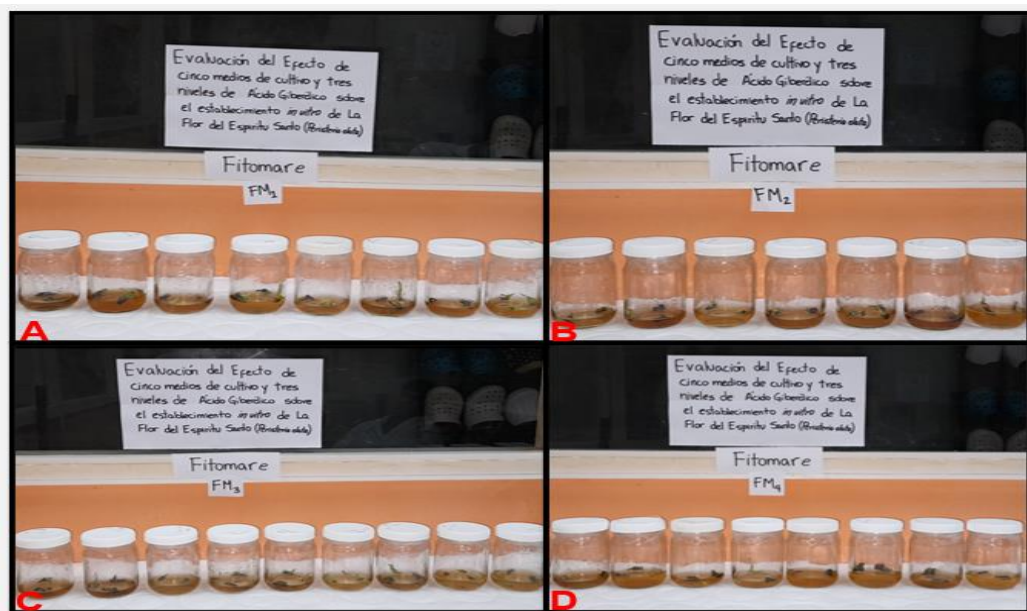


FIGURA 12. LECTURA MEDIO FITOMARE A LOS 85 DIAS DESPUÉS DE LA PRIMERA MULTIPLICACIÓN.

A. Fitomare, B) Fitomare + 0.1 mg/L AG3, C) Fitomare + 0.35 mg/L AG3, D) Fitomare + 1 mg/L AG3.

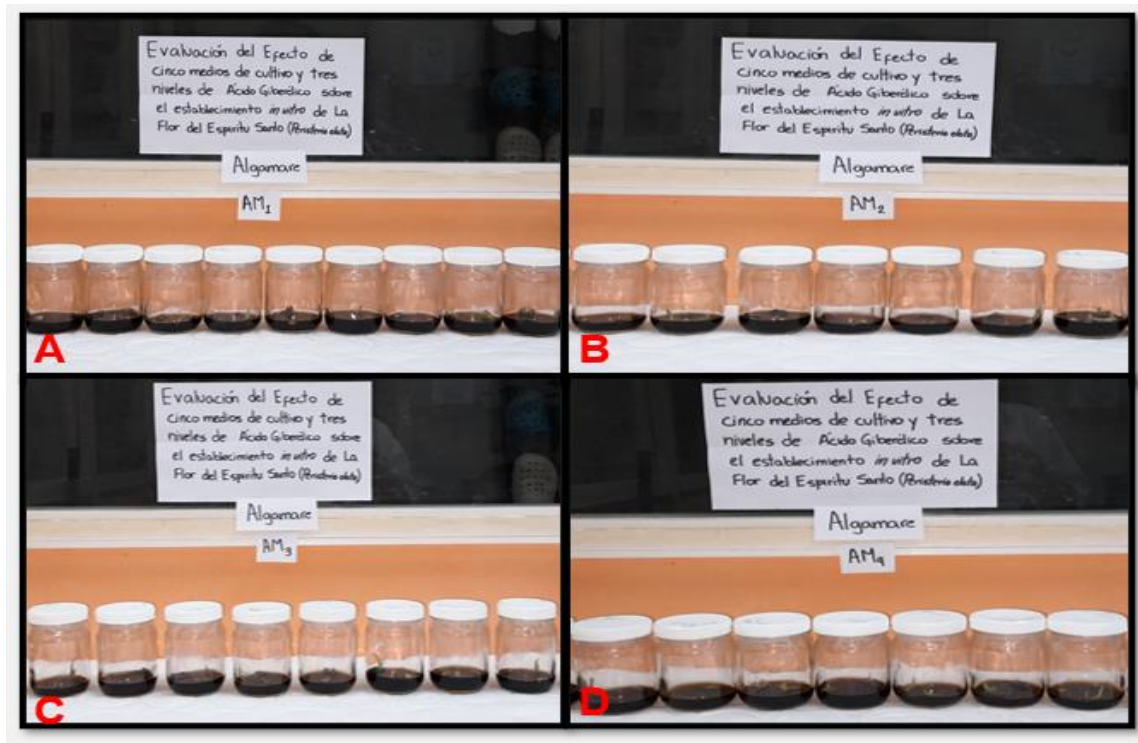


FIGURA 13. LECTURA MEDIO ALGAMARE A LOS 85 DIAS DESPUÉS DE LA PRIMERA MULTIPLICACIÓN.

A. Algamare, B) Algamare + 0.1 mg/L AG3, C) Algamare + 0.35 mg/L AG3, D) Algamare + 1 mg/L AG3.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultado de la primera etapa de multiplicación.

4.1.1. Variable número de yemas.

Los resultados de la prueba Kruskal- Wallis realizada a la variable Número de Yemas reflejó que no existen diferencias significativas en los tratamientos de los efectos simples (medios de cultivo y concentraciones) y la interacción de los factores (medio de cultivo vs concentraciones).

CUADRO V. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE KRUSKALL- WALLIS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE YEMAS EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

FV	GL	Valor X^2 c	Pr > F	
MC	3	761	.859	NS
CON	3	2.225	.527	NS
MC*CON	15	12.334	.654	NS
TOTAL	96			

**Existen diferencias significativas*

***Existen diferencias altamente significativas*

NS= No hay diferencia significativa

MC= Medios de Cultivo; CON= Concentraciones

4.1.2. Variable número de brotes.

Los resultados de la prueba Kruskal- Wallis realizada a la variable Número de Brotes evidenció que no existen diferencias significativas en los tratamientos de los efectos simples (medios de cultivo y concentraciones) y la interacción de los factores (medio de cultivo vs concentraciones).

CUADRO VI. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE KRUSKALL- WALLIS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE BROTES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

FV	GL	Valor X^2 c	Pr > F	
MC	3	6.983	.072	NS
CON	3	1.607	.658	NS
MC*CON	15	17.155	.310	NS
TOTAL	96			

**Existen diferencias significativas*

***Existen diferencias altamente significativas*

NS= No hay diferencia significativa

MC= Medios de Cultivo; CON= Concentraciones

4.1.3. Variable longitud de brotes

Los resultados de la prueba Kruskal- Wallis realizada a la variable Longitud de Brotes demostró que existen diferencias significativas en el efecto simple del factor Medios de cultivo y en la interacción de los factores (medio de cultivo vs concentraciones).

CUADRO VII. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE KRUSKALL- WALLIS PARA LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

FV	GL	Valor $X^2 c$	Pr > F	
MC	3	22.112	<.001	**
CON	4	5.175	.270	NS
MC*CON	16	29.265	.022	*
TOTAL	140			

**Existen diferencias significativas*

***Existen diferencias altamente significativas*

NS= No hay diferencia significativa

MC= Medios de Cultivo; CON= Concentraciones

4.1.3.1. Medios de cultivo

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) mostró la conformación de dos grupos (CUADRO VIII). El grupo A estuvo representado por tres medios de cultivo (MS 50%, Fitomare, Knudson C) registrando longitudes promedio de los brotes en un rango entre los 3.2 y 2.7 centímetros, el segundo grupo (B) presentó el promedio de longitud más bajo con 2.06 centímetros (Algamare).

CUADRO VIII. COMPARACIONES MÚLTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN DEL FACTOR MEDIOS DE CULTIVO.

MC	N	Promedio	Longitud media (cm)	Agrupamiento Dunnett
MS 50%	43	79.7	3.22	A
Fitomare	23	79.4	3.12	A
Knudson C	33	62.2	2.73	A
Algamare	32	41.8	2.06	B

MC= Medios de Cultivo; MS= Murashige & Skoog.

Como se observa en la figura 14, las longitudes mayores se presentaron en el grupo A, conformado por los medios MS 50%, Fitomare, Knudson C. con valores promedio que van en un rango de 79.7 a 41.8, equivalente a longitudes entre 3.22 y 2.73 centímetros.

El grupo B representado por el medio Algamare, presentó promedios de 41.8, equivalentes a 2.06 centímetros.

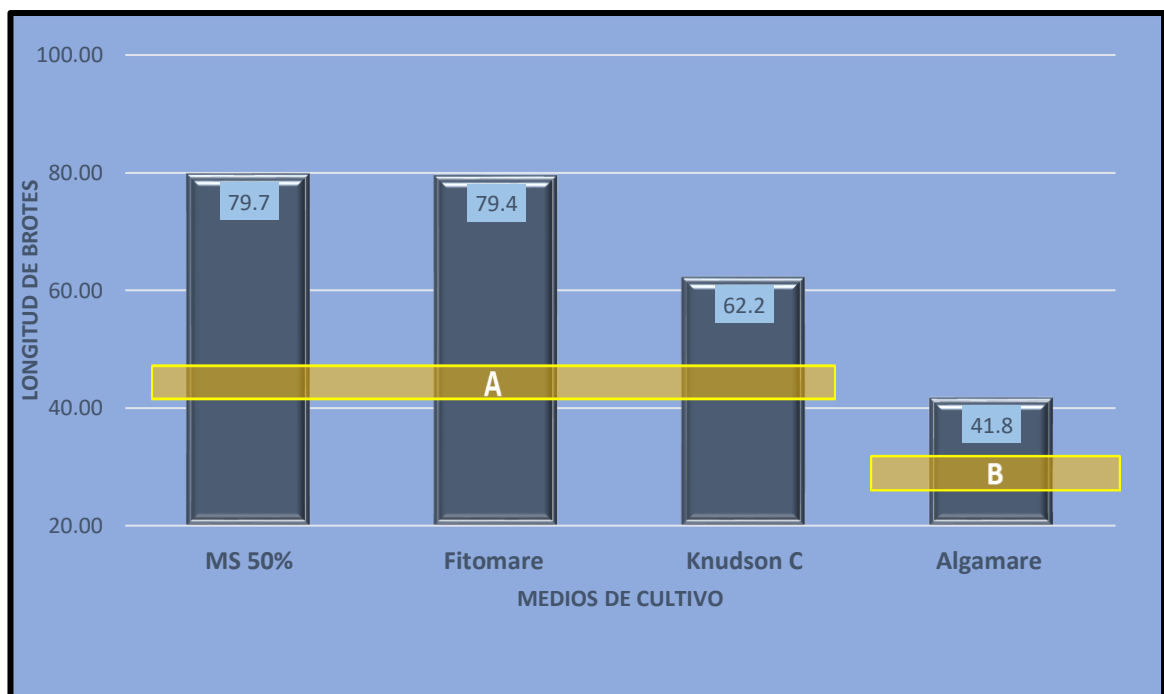


FIGURA 14. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA EL FACTOR MEDIOS DE CULTIVO EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.1.3.2. Interacción Medios de Cultivo vs Concentraciones.

4.1.3.2.1. Interacción del medio Murashige & Skoog al 50% vs Concentraciones

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) indicó la conformación de dos grupos (Cuadro IX). El grupo A mostró tres de los tratamientos evaluados (T3, T1, T4) registrando longitudes promedio de los brotes en un rango entre los 3.2 y 3.1 centímetros. El grupo B presentó longitudes promedio en un rango entre los 3.2 y 3.0 centímetros, representado por tres de los tratamientos evaluados (T1, T4, T2).

CUADRO IX. COMPARACIONES MÚLTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO MURASHIGE & SKOOG 50% VS CONCENTRACIONES PARA LONGITUD DE BROTES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	Promedio	Longitud	Agrupamiento	
			media (cm)	Dunnett	
T3 (MS 50% + 0.35 mg/L AG ₃)	9	23.6	3.2	A	
T1 (MS 50%)	12	22.1	3.1	A	B
T4 (MS 50% + 1 mg/L AG ₃)	12	21.3	3.1	A	B
T2 (MS 50% + 0.1 mg/L AG ₃)	10	21.1	3.0	B	

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

Como se observa en la Figura 15, las longitudes mayores se presentaron en el grupo A, conformado por el tratamiento T3 (MS 50% + 0.35 mg/L AG3) con valores promedio de 23.6, equivalentes a 3.2 centímetros de longitud.

Las longitudes menores se presentaron en el tratamiento T2 con concentraciones de 0.1 mg/L de AG₃ reflejando un promedio de 21.1, correspondiente a tres centímetros.

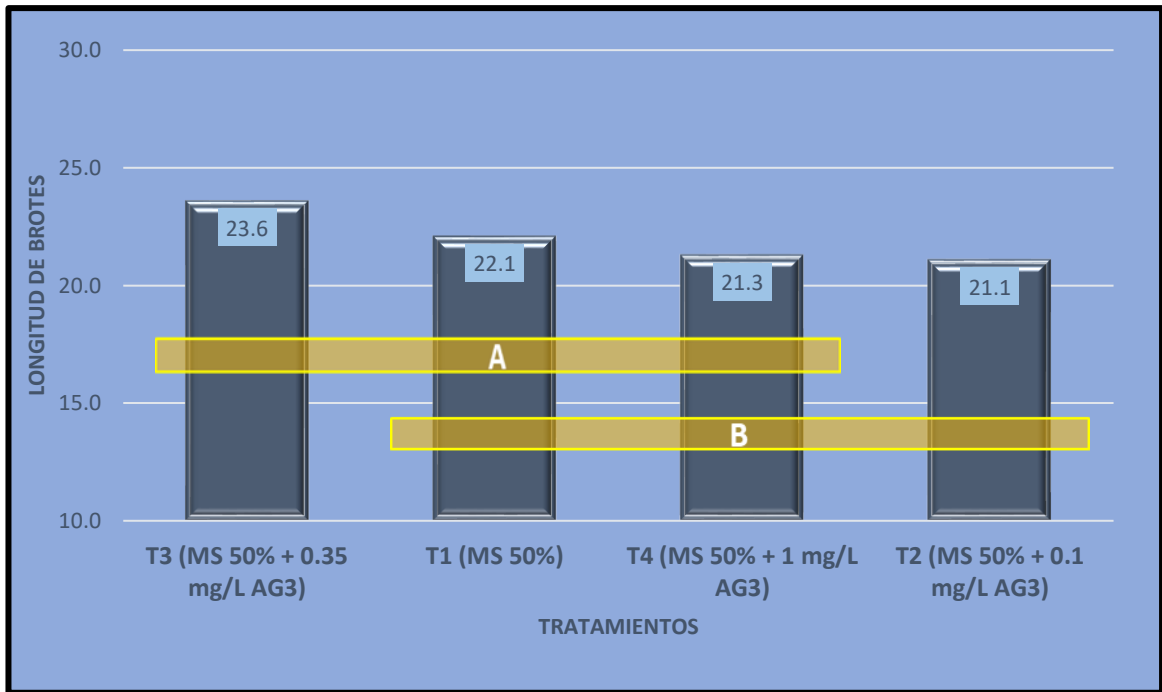


FIGURA 15. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO MURASHIGE & SKOOG 50% VS CONCENTRACIONES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.1.3.2.2. Interacción del medio Knudson C vs Concentraciones

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) indicó la conformación de dos grupos (Cuadro X). El grupo A presentó tres de los tratamientos evaluados (T5, T6, T7) registrando longitudes promedio de los brotes en un rango entre los 2.9 y 2.7 centímetros, el grupo B reunió longitudes promedio en un rango entre los 2.8 y 2.4 centímetros representado por tres de los tratamientos evaluados (T6, T7, T8).

CUADRO X. COMPARACIONES MÚLTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO KNUDSON C VS CONCENTRACIONES PARA LONGITUD DE BROTES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	Promedio	Longitud	Agrupamiento	
			media (cm)	Dunnett	
T5 (Knudson C)	9	18.7	2.9	A	
T6 (KnudsonC + 0.1 mg/L AG ₃)	8	18.1	2.8	A	B
T7 (KnudsonC + 0.35 mg/L AG ₃)	9	15.8	2.7	A	B
T8 (KnudsonC + 1 mg/L AG ₃)	7	15.0	2.4		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG₃.

En la Figura 16, se aprecia que el medio T5 (Knudson C) perteneciente al grupo A, con un promedio de 13.7, presentando las longitudes más altas con valores de 2.9 centímetros.

El valor promedio de longitud más bajo se obtuvo en el grupo B con el tratamiento T8 (Knudson C + 1 mg/L de AG3).

Las longitudes promedio de los brotes fueron decreciendo en función del aumento de Ácido Giberélico en la composición del medio de cultivo.

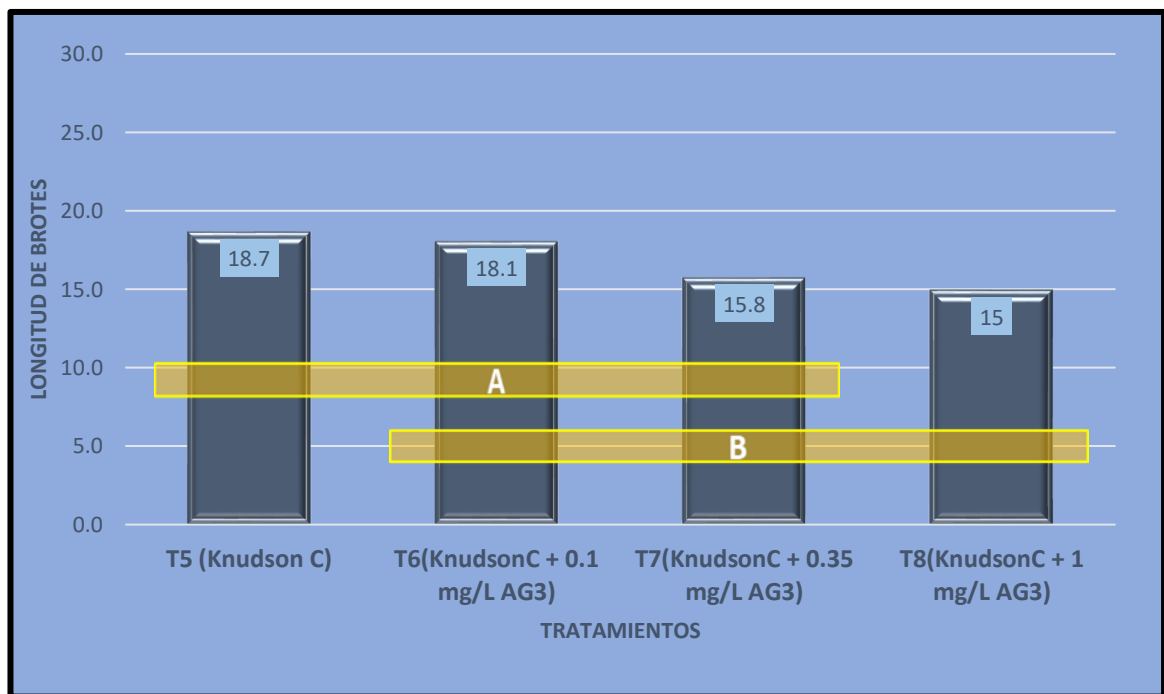


FIGURA 16. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO KNUDSON C VS CONCENTRACIONES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.1.3.2.3. Interacción del medio Fitomare® vs Concentraciones

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) reflejó la conformación de dos grupos (Cuadro XI). El grupo A reflejó tres de los tratamientos evaluados (T9, T11, T10) registrando longitudes promedio de los brotes en un rango entre los 3.7 y 3.1 centímetros, el grupo B agrupó longitudes promedio en un rango entre los 3.1 y 3.0 centímetros representado por tres de los tratamientos evaluados (T11, T10, T12).

CUADRO XI. COMPARACIONES MÚLTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO FITOMARE® VS CONCENTRACIONES PARA LONGITUD DE BROTES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	Promedio	Longitud	Agrupamiento	
			media (cm)	Dunnett	
T9 (Fitomare)	5	13.7	3.7	A	
T11 (Fitomare + 0.35 mg/L AG ₃)	7	12.1	3.1	A	B
T10 (Fitomare + 0.1 mg/L AG ₃)	7	11.2	3.1	A	B
T12 (Fitomare + 1 mg/L AG ₃)	4	11.0	3.0	B	

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG₃

Como se observa en la figura 17. El tratamiento T9 (Fitomare), perteneciente al grupo A, presenta las mayores longitudes de brotes con un promedio de 13.7, correspondiente a 3.7 centímetros.

Por otra parte, Las menores longitudes reflejaron promedios de 11.0, equivalentes a tres centímetros con el tratamiento T12 (Fitomare + 1 mg/L de AG3) perteneciente al grupo B.

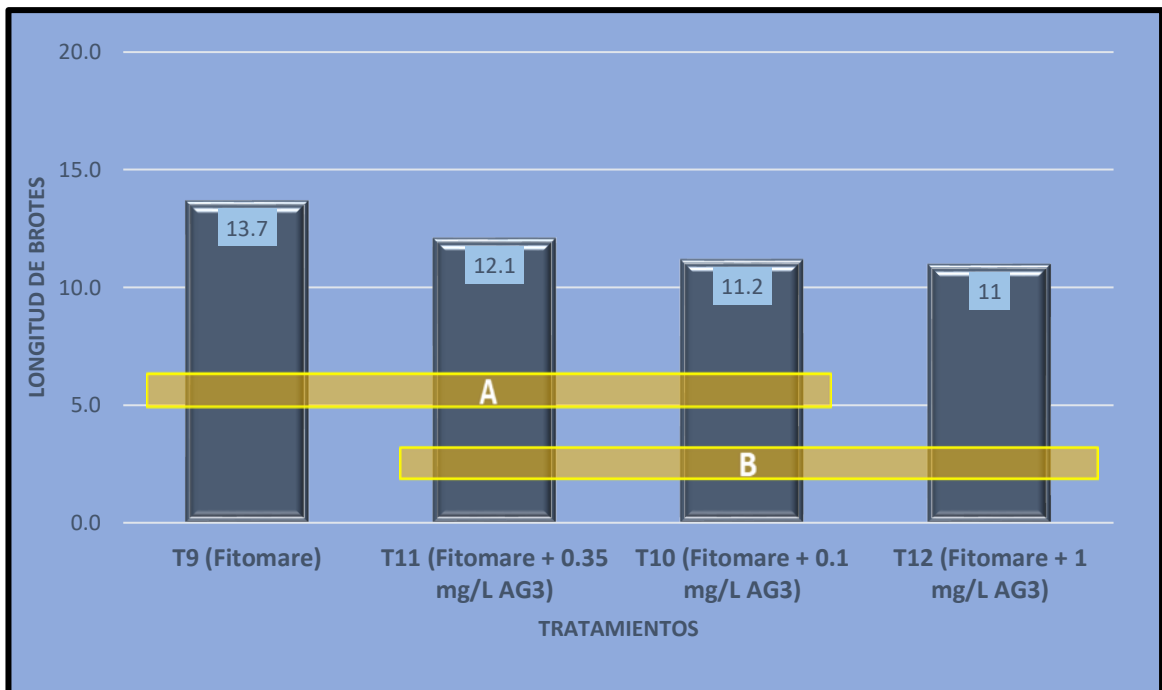


FIGURA 17. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO FITOMARE VS CONCENTRACIONES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.1.3.2.4. Interacción del medio Algamare® vs Concentraciones

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) mostró la conformación de dos grupos (Cuadro XII). El grupo A presentó tres de los tratamientos evaluados (T16, T13, T14) registrando longitudes promedio de los brotes en un rango entre los 2.6 y 1.9 centímetros, el grupo B mostró longitudes promedio en un rango entre los 2.1 y 1.8 centímetros; representado por tres de los tratamientos evaluados (T13, T14, T15).

CUADRO XII. COMPARACIONES MÚLTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO ALGAMARE® VS CONCENTRACIONES PARA LONGITUD DE BROTES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	Promedio	Longitud media (cm)	Agrupamiento Dunnett	
T16(Algamare+ 1mg/L AG ₃)	7	22.2	2.6	A	
T13(Algamare)	4	17.7	2.1	A	B
T14(Algamare+ 0.1mg/L AG ₃)	11	14.7	1.9	A	B
T15(Algamare+0.35mg/L AG ₃)	10	13.9	1.8		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

En la Figura 18, el tratamiento T16 (Algamare + 1 mg/L AG3) perteneciente al grupo A, presenta un promedio de longitud de 22.2, correspondiente a 2.6 centímetros.

Las longitudes menores se encontraron en el grupo B representado por el tratamiento T15 con la composición de Algamare + 0.1 mg/L de AG3, dando un promedio de 13.8 equivalente a 1.83 centímetros de longitud. (Figura 18)

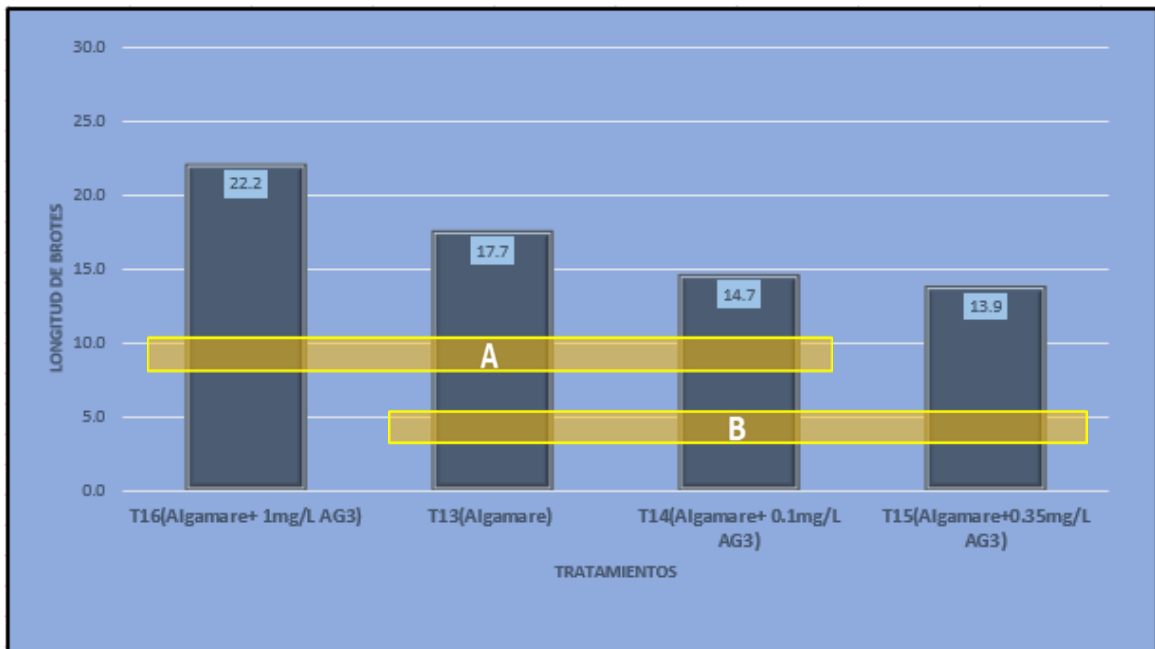


FIGURA 18. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO ALGAMARE VS CONCENTRACIONES EN LA PRIMERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.2. Resultado de la segunda etapa de multiplicación.

4.2.1. Variable número de yemas.

Los resultados de la prueba Kruskal- wallis realizada a la variable Número de Yemas reflejó que no existen diferencias significativas en los tratamientos de los efectos simples (Medios de Cultivo y Concentraciones) y la interacción de los factores (Medio de Cultivo vs Concentraciones).

CUADRO XIII. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE KRUSKALL- WALLIS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE YEMAS EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

FV	GL	Valor $X^2 c$	Pr > F	
MC	3	2.675	.445	NS
CON	3	1.690	.639	NS
MC*CON	15	12.481	.642	NS
TOTAL	156			

**Existen diferencias significativas*

***Existen diferencias altamente significativas*

NS= No hay diferencia significativa

MC= Medios de Cultivo; CON= Concentraciones

4.2.2. Variable número de brotes.

Los resultados de la prueba Kruskall- Wallis realizada a la variable Número de Brotes reflejó que existe diferencia significativa en la interacción de los factores (Medio de Cultivo vs Concentraciones).

CUADRO XIV. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE KRUSKALL- WALLIS PARA LA VARIABLE NÚMERO DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

FV	GL	Valor X^2 c	Pr > F	
MC	3	3.649	.302	NS
CON	3	3.256	.354	NS
MC*CON	15	25.197	.047	*
TOTAL	156			

**Existen diferencias significativas*

***Existen diferencias altamente significativas*

NS= No hay diferencia significativa

MC= Medios de Cultivo; CON= Concentraciones

4.2.2.1. Interacción entre Medios de cultivo vs Concentraciones.

4.2.2.1.1. Interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs Concentraciones.

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) indicó la conformación de tres grupos (Cuadro XV). El grupo A presentó tres de los tratamientos evaluados (T1, T2, T3) registrando valores máximos de dos brotes. Por otra parte, el grupo B (T2, T3, T4) registró valores de un brote.

CUADRO XV. COMPARACIONES MÚLTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO MURASHIGE & SKOOG 50% VS CONCENTRACIONES PARA NÚMERO DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	Promedio	Media	Agrupamiento	
				Dunnett	
T1 (MS 50%)	15	33.9	2	A	
T2 (MS 50% + 0.1 mg/L AG ₃)	12	29.2	2	A	B
T3 (MS 50% + 0.35 mg/L AG ₃)	10	24.3	1	A	B
T4 (MS 50% + 1 mg/L AG ₃)	15	18.4	1	B	

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG₃

En la figura 19, se observa que el tratamiento T1 (MS 50%) perteneciente al grupo A, presentó promedios de 33.9, correspondiente a un aproximado de dos brotes.

La menor cantidad de brotes se obtuvieron en el grupo B. Estos tenían un promedio de 18.1, relativo a un brote y estuvo representado por el tratamiento T4 (MS 50%+ 1 mg/L).

El número de brotes fueron decreciendo en función del aumento de ácido giberélico en la composición del medio de cultivo.

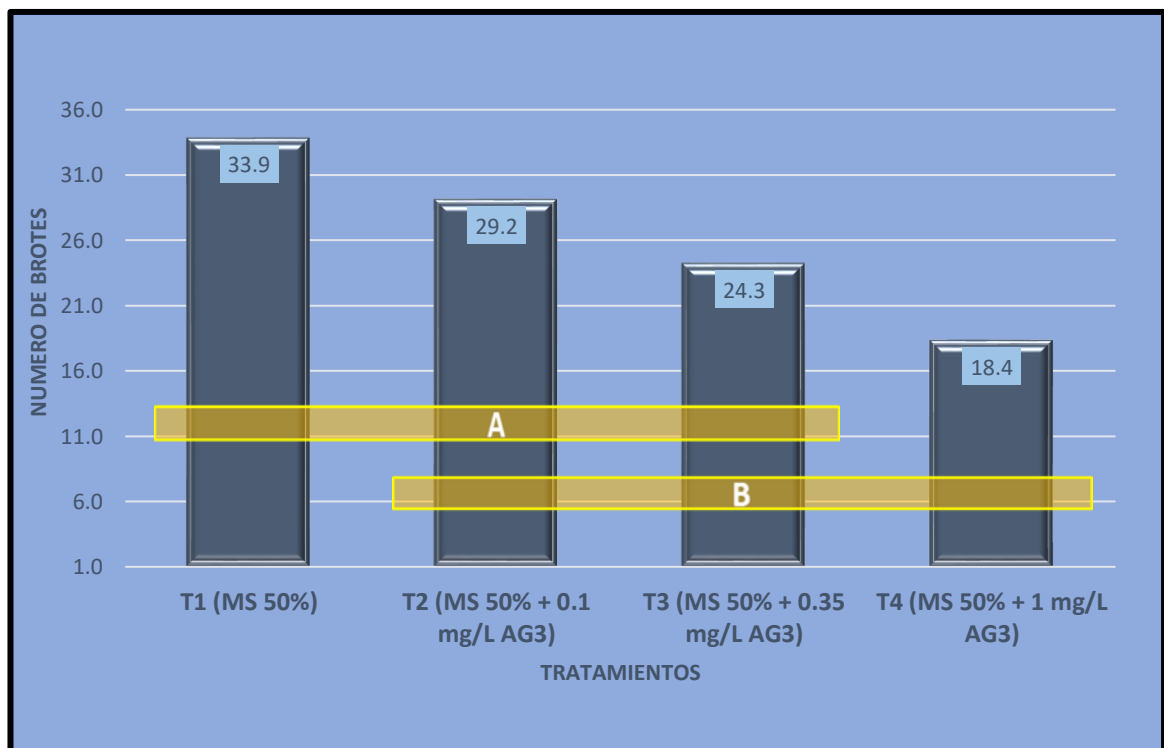


FIGURA 19. NUMERO DE BROTE PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO MURASHIGE & SKOOG 50% VS CONCENTRACIONES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.2.2.1.2. Interacción del medio Knudson C vs Concentraciones.

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) señaló la conformación de dos grupos (Cuadro XVI). El grupo A presentó tres de los tratamientos evaluados (T8, T5, T7) reconociendo un máximo de dos brotes y el grupo B representado por tres interacciones (T5, T7, T6), registró valores de un brote.

CUADRO XVI. COMPARACIONES MÚLTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO KNUDSON C VS CONCENTRACIONES PARA NÚMERO DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	Promedio	Media	Agrupamiento	
				Dunnett	
T8 (Knudson C + 1 mg/L AG ₃)	5	18.4	2	A	
T5 (Knudson C)	8	12.8	1	A	B
T7 (Knudson C+ 0.35 mg/L AG ₃)	6	12.3	1	A	B
T6 (Knudson C + 0.1 mg/L AG ₃)	7	11.7	1		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3.

Como aparece en la figura 20, el medio T8 (Knudson C + 1mg/L AG3) perteneciente al grupo A, presentó la mayor cantidad de numero de brotes reflejando un promedio de 18.4 equivalente a un máximo de dos brotes.

Los valores menores se encontraron en el grupo B, con el tratamiento T6 (Knudson C + 0.1 mg/L de AG3) presentando promedios mínimos de 11.7, equivalentes a un brote.

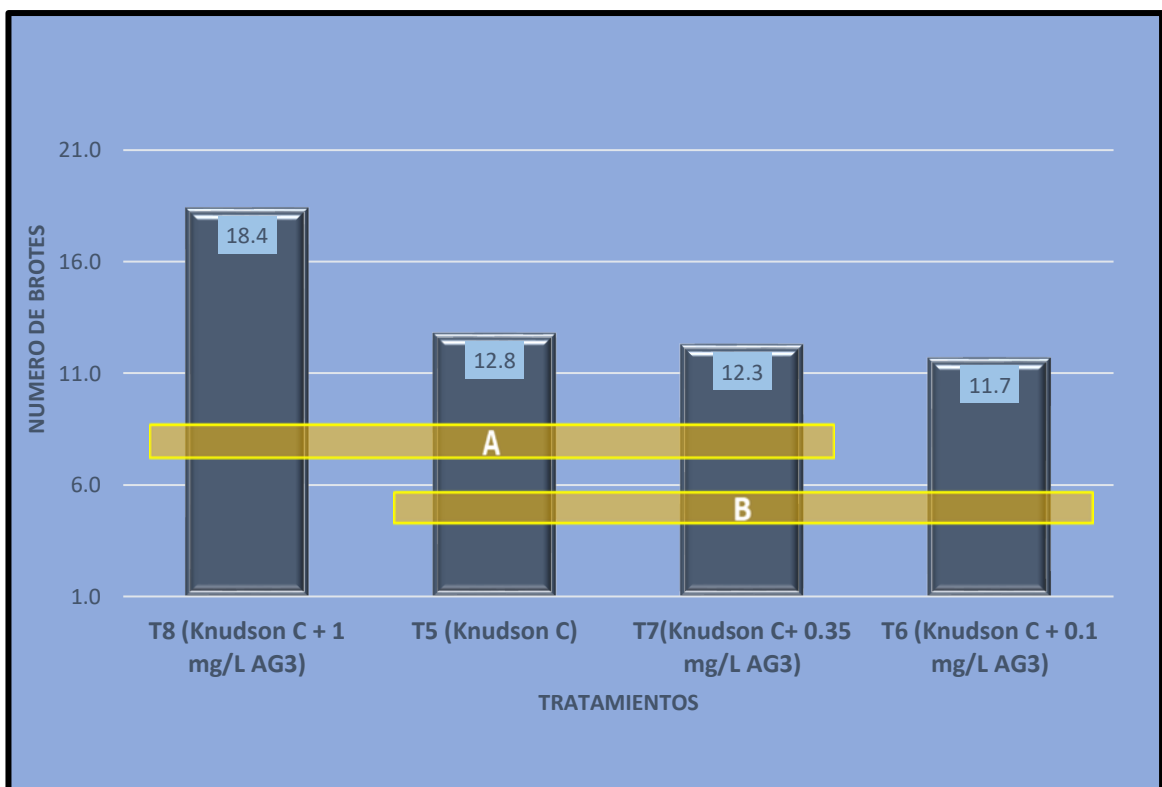


FIGURA 20. NÚMERO DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO KNUDSON C VS CONCENTRACIONES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.2.2.1.3. Interacción del medio Fitomare® vs Concentraciones

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) presentó la conformación de dos grupos (Cuadro XVII). El grupo A indicó tres tratamientos evaluados (T11, T9, T12) reconociendo valores promedios de dos y un brote. Mientras que, el grupo B representado por tres interacciones (T9, T12, T10) registró número de brotes que van de dos a menos de dos.

CUADRO XVII. COMPARACIONES MÚLTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO FITOMARE® VS CONCENTRACIONES PARA NÚMERO DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	MEDIA	Agrupamiento	
				Dunnett	
T11(Fitomare+ 0.35mg/LAG ₃)	8	23.0	2	A	
T9 (Fitomare)	10	21.4	2	A	B
T12(Fitomare + 1 mg/L AG ₃)	8	16.4	1	A	B
T10(Fitomare+ 0.1 mg/LAG ₃)	11	15.6	1		B
MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3					

Como se puede apreciar en la figura 21, los tratamientos pertenecientes al grupo A T11(Fitomare + 0.35 mg/L AG3), T9 (Fitomare), T12 (Fitomare + 1 mg/L AG3), presentaron las mayores cantidades de brotes que iban entre dos y uno. Con promedios de 23.0 a 16.4.

Los valores menores se encontraron en el grupo B, siendo el tratamiento T9 (Fitomare + 0.1 mg/L AG3) el de menores valores en el número de brotes con promedios de 15.6 igual a un brote.

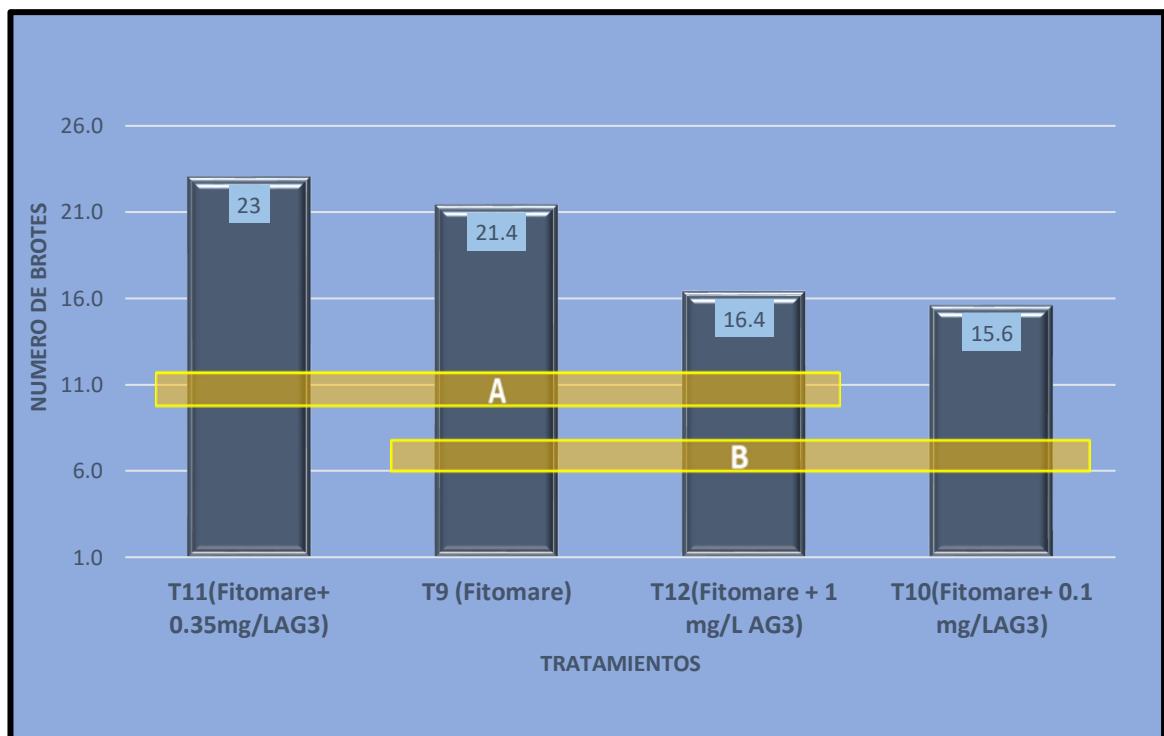


FIGURA 21. NÚMERO DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO FITOMARE ® VS CONCENTRACIONES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.2.2.1.4. Interacción del medio Algamare® vs Concentraciones.

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) reflejó la conformación de dos grupos (Cuadro XVIII). El grupo A aglutinó tres de los tratamientos evaluados (T16, T14, T15, T13) reconociendo un máximo de dos brotes y el grupo B representado por tres interacciones (T14, T15, T13), registró valores de un solo brote.

CUADRO XVIII. COMPARACIONES MÚLTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO ALGAMARE® VS CONCENTRACIONES PARA NÚMERO DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	Promedio	Media	Agrupamiento	
				Dunnett	
T16 (Algamare + 1 mg/L AG ₃)	10	23.5	2	A	
T14 (Algamare + 0.1 mg/L AG ₃)	9	22.1	1	A	B
T15 (Algamare +0.35 mg/LAG ₃)	12	20.9	1	A	B
T13 (Algamare)	10	17.5	1		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

Como aparece en la figura 22, el tratamiento T16 (Algamare + 1 mg/L AG3) perteneciente al grupo A, presenta la mayor cantidad de numero de brotes con un promedio de 23.5 equivalente a un máximo de dos brotes.

Los valores menores se encontraron en el grupo B, siendo el tratamiento T13 (Algamare) el de menor número de brotes con un promedio de 17.5 igual a un brote. (Figura 22)

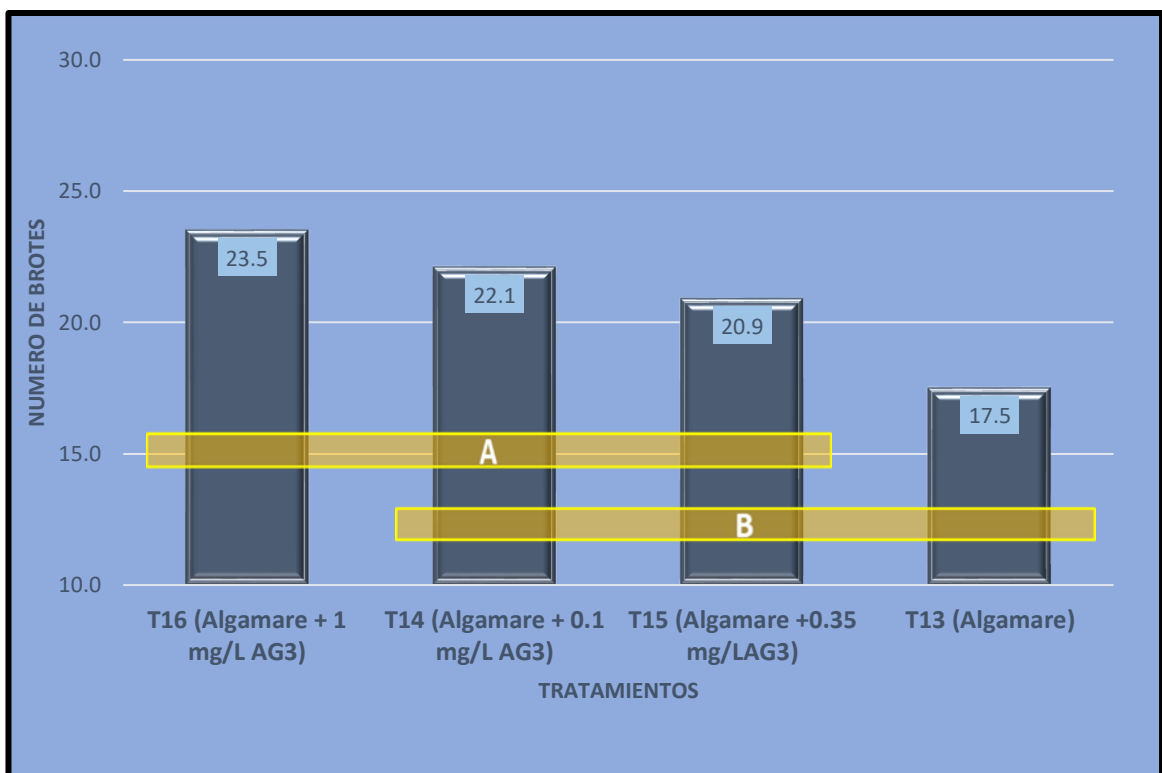


FIGURA 22. NUMERO DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO ALGAMARE ® VS CONCENTRACIONES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.2.3. Variable Longitud de Brotes.

Los resultados de la prueba Kruskal- Wallis realizada a la variable Longitud de Brotes reflejó que existen diferencias significativas en los tratamientos de los efectos simples (Medios de Cultivo y Concentraciones) y la interacción de los factores (Medio de Cultivo vs Concentraciones).

CUADRO XIX. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE KRUSKALL- WALLIS PARA LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

FV	GL	Valor X^2 c	Pr > F	
MC	3	70.132	<.001	**
CON	3	3.932	.269	NS
MC*CON	15	79.330	<.001	**
TOTAL	229			

****Existen diferencias significativas***

*****Existen diferencias altamente significativas***

NS= No hay diferencia significativa

MC= Medios de Cultivo; CON= Concentraciones

4.2.3.1 Medios de Cultivos

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) mostró la conformación de tres grupos (A, B, C). El grupo A estuvo representado por el medio de cultivo MS 50% registrando longitudes de 3.2 centímetros, el segundo grupo (B) estuvo constituido por el medio Knudson C con valores de 2 centímetros, y el tercer grupo lo conformó los medios Fitomare y Algamare, con longitudes de brote en un rango de 1.5 y 1.4 centímetros.

CUADRO XX. COMPARACIONES MÚLTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN DEL FACTOR MEDIOS DE CULTIVO.

MC	N	Promedio	Media	Agrupamiento Dunnett
MS 50%	78	161.1	3.2	A
Knudson C	37	123.1	2	B
Fitomare	61	83.1	1.5	C
Algamare	53	78.1	1.4	C

MC= Medio de Cultivo

Como se observa en la figura 23, el mayor valor de longitud de brotes se presentó en el grupo A, conformado por el medio MS 50% reflejando promedios de 161.1 similar a una longitud media de 3.2 centímetros.

Los valores de longitud de brotes más bajos se observan en el grupo C, representados por los medios Fitomare y Algamare que van en un rango de 1.5 y 1.4 centímetros, con promedios de entre 83.1 a 78.1.

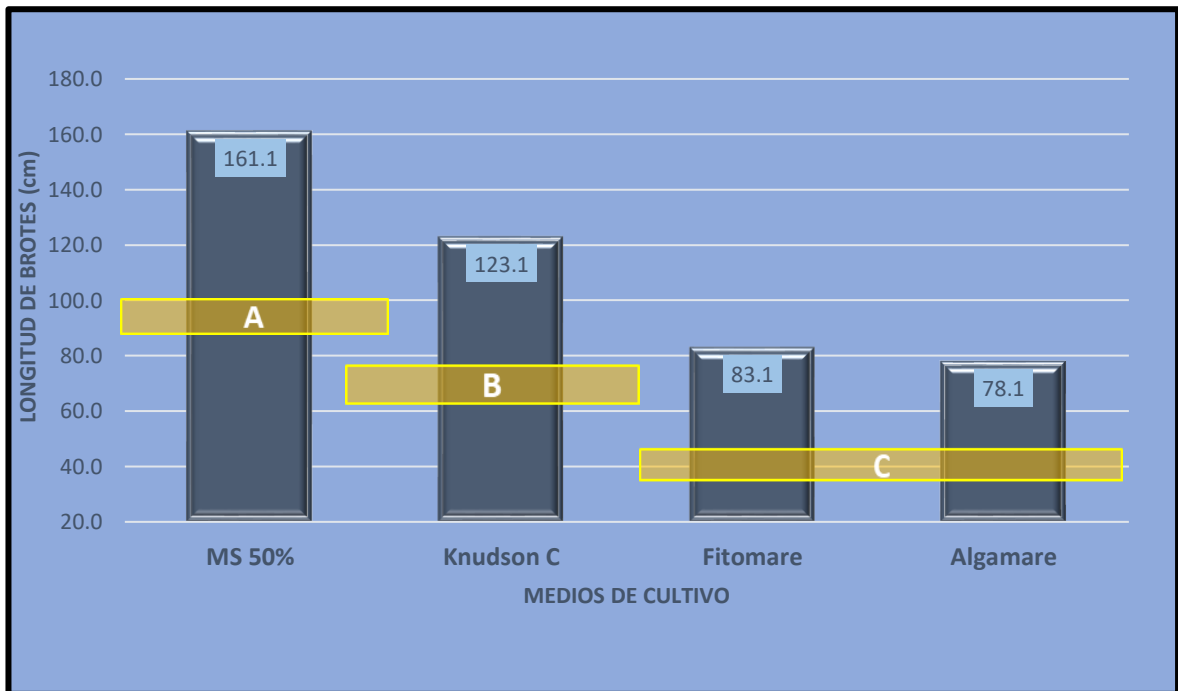


FIGURA 23. PROMEDIO DE LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES DEL FACTOR MEDIOS DE CULTIVO EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.2.3.2. Interacción entre Medios de Cultivos vs Concentraciones.

4.2.3.2.1. Interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs Concentraciones.

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) designó la conformación de dos grupos (CUADRO XXI). El grupo A estuvo interpretado por tres de los tratamientos evaluados (T2, T4, T3) reconociendo una longitud de brotes en un rango entre 3.5 y 3.2 centímetros. Por otro lado, el grupo B representado por cuatro de las interacciones evaluadas (T4, T3, T1), registró valores de longitudes de brotes de 3.2 centímetros.

CUADRO XXI. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO MURASHIGE & SKOOG 50% VS CONCENTRACIONES PARA LONGITUD DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	Promedio	Longitud media (cm)	Agrupamiento Dunnett	
T2 (MS 50% + 0.1 mg/L AG ₃)	20	42.4	3.5	A	
T4 (MS 50% + 1 mg/L AG ₃)	15	38.8	3.2	A	B
T3 (MS 50% +0.35 mg/LAG ₃)	14	38.5	3.2	A	B
T1 (MS 50%)	29	38.2	3.2		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

En la figura 24, el tratamiento T2 (MS 50% + 0.1 mg/L AG3) perteneciente al grupo A, presenta las mayores longitudes promedios de 42.2 equivalentes a 3.5 centímetros.

Las longitudes menores se encontraron en el grupo B representado por el tratamiento T1 (MS 50%) con un promedio de longitud de 38.2 equivalentes a 3.2 centímetros. (ver figura 24)

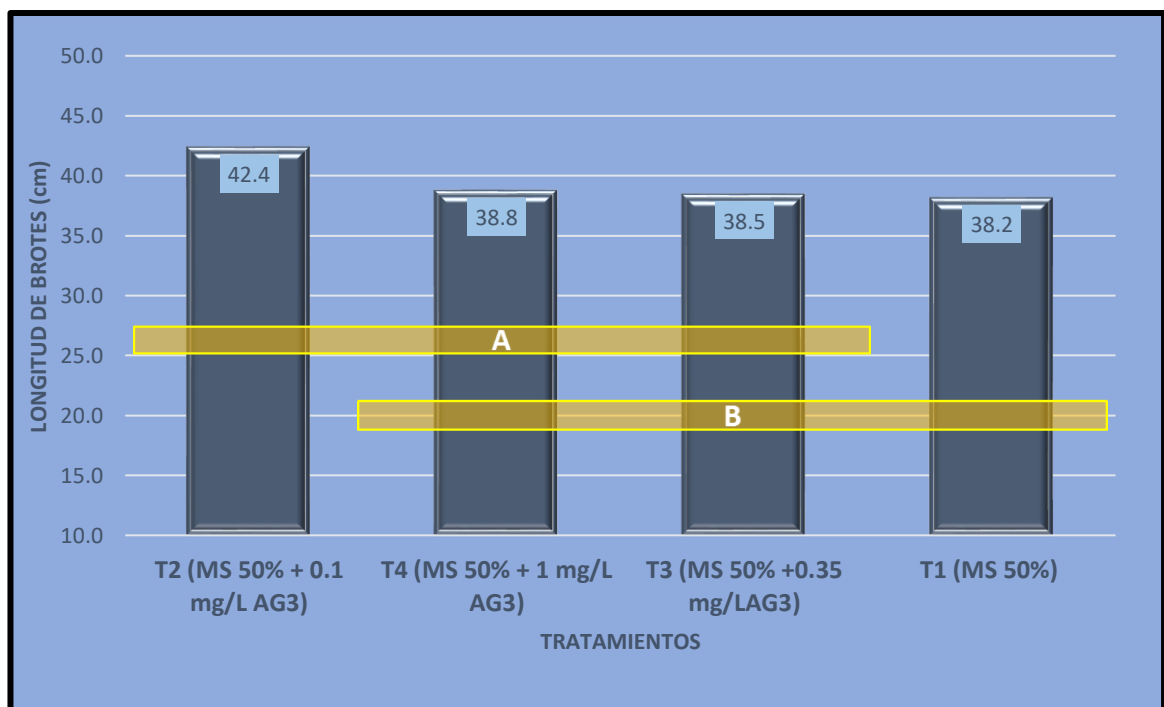


FIGURA 24. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO MURASHIGE AND SKOOG 50% VS CONCENTRACIONES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.2.3.2.2. Interacción del Medio Knudson C vs Concentraciones

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) señaló la conformación de dos grupos (CUADRO XXII). El grupo A presentó tres de los tratamientos evaluados (T8, T6, T7) reconociendo un promedio de longitud de brotes en un rango de 2.2 a 2 centímetros, Mientras que, el segundo grupo (B) representado por dos de las interacciones evaluadas (T7, T5), registró valores de longitud en un rango entre 2. y 1.6 centímetros.

CUADRO XXII. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO KNUDSON C VS CONCENTRACIONES PARA LOGITUD DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	LONGITUD	Agrupamiento	
			MEDIA	Dunnett	
T8 Knudson C+ 1 mg/L AG ₃	9	24.1	2.2	A	
T6 Knudson C+ 0.1 mg/LAG ₃	9	22.2	2.2	A	
T7 Knudson C+0.35 mg/LAG ₃	8	19.9	2	A	B
T5 Knudson C	11	11.4	1.6		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

En la Figura 25, los tratamientos T8 y T6 pertenecientes al grupo A, presentan las mayores longitudes de brotes con promedios de 24.1 correspondiente a 2.2 centímetros.

Las longitudes menores se encontraron en el grupo B representado por el tratamiento T5 (Knudson C) con un promedio de longitud de 11.4 equivalente a 1.6 centímetros. (Figura 25)

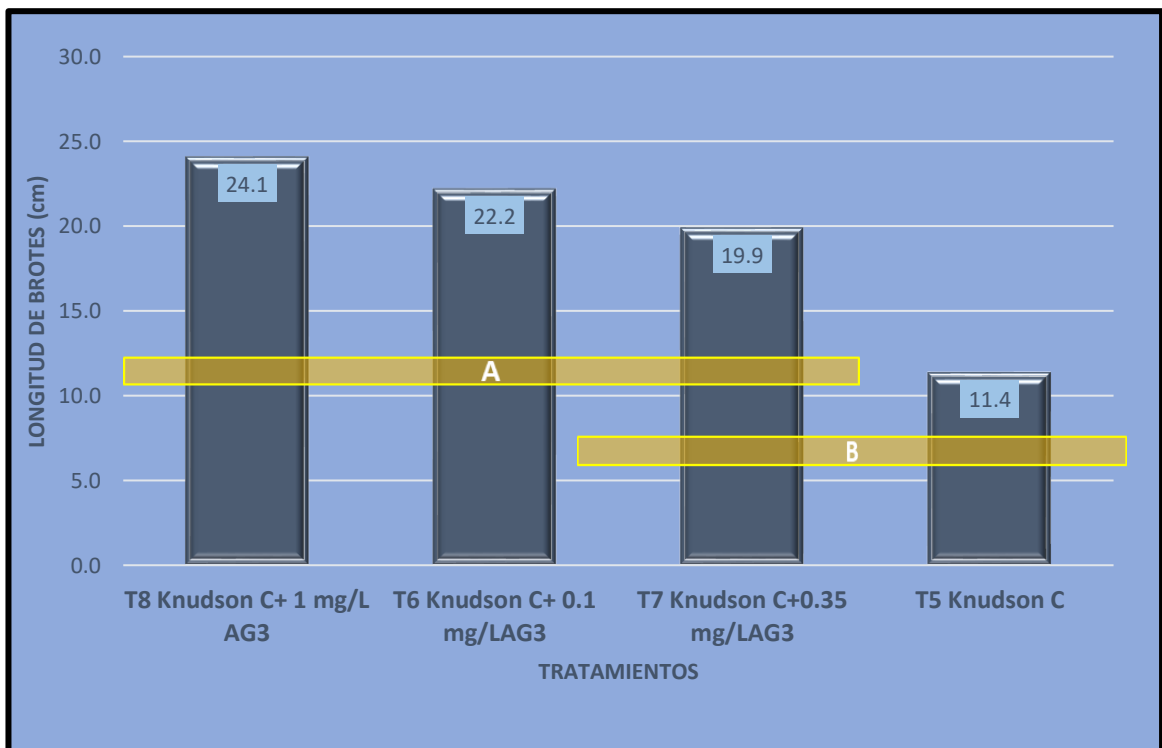


FIGURA 25. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO KNUDSON C VS CONCENTRACIONES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.2.3.2.3. Interacción del Medio Fitomare® vs Concentraciones.

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) indicó la conformación de dos grupos (CUADRO XXIII). El grupo A señala tres de los tratamientos evaluados (T10, T11, T9) con una longitud de brotes en un rango de 1.6 y 1.5 centímetros y el grupo B representado por tres interacciones (T11, T9, T12), registró longitudes de entre 1.5 y 1.4 centímetros.

CUADRO XXIII. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO FITOMARE® VS CONCENTRACIONES PARA LOGITUD DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	LONGITUD MEDIA	Agrupamiento Dunnett	
T10 (Fitomare + 0.1mg/LAG ₃)	15	35.2	1.6	A	
T11 (Fitomare +0.35mg/LAG ₃)	16	31.2	1.5	A	B
T9 (Fitomare)	19	28.9	1.5	A	B
T12 (Fitomare + 1mg/L AG ₃)	11	28.3	1.4		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

En la Figura 26, el tratamiento T10 (Fitomare + 0.1 mg/L AG₃) perteneciente al grupo A, presenta las mayores longitudes de brotes con 1.6 centímetros.

Las longitudes menores se encontraron en el grupo B representado por el tratamiento T12 (Fitomare + 1 mg/L AG₃) con un promedio de longitud de 28.3.

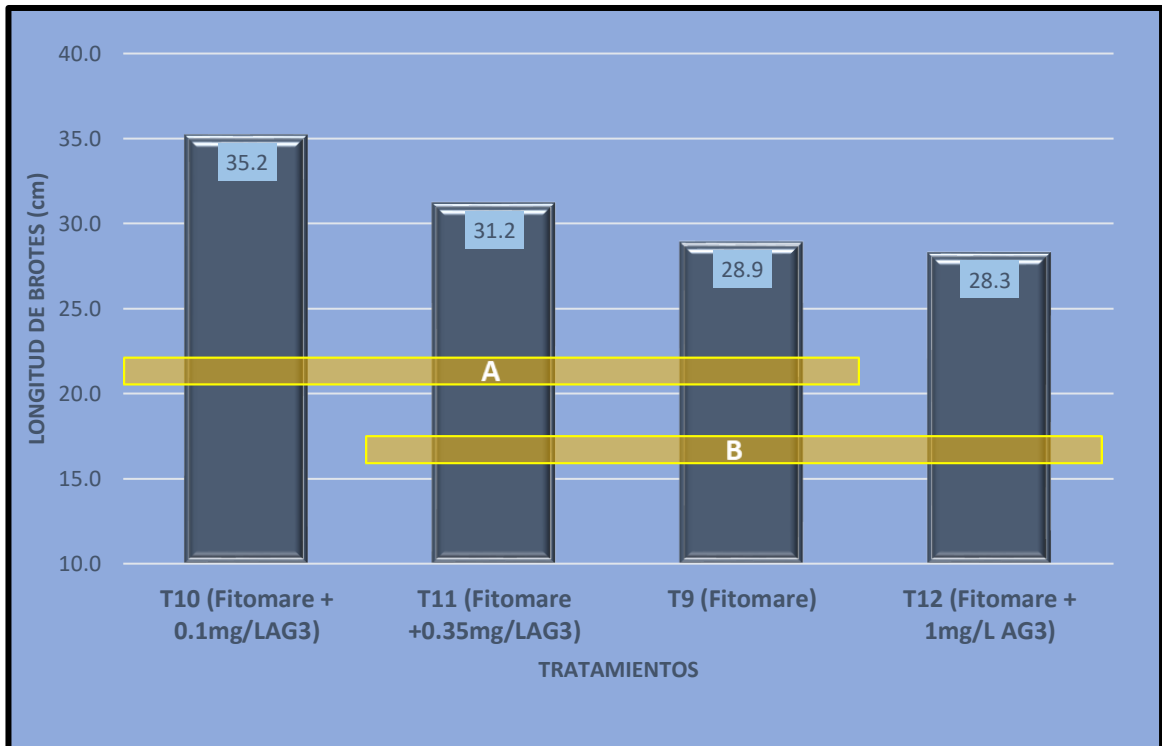


FIGURA 26. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO FITOMARE ® VS CONCENTRACIONES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.2.3.2.4. Interacción del Medio Algamare® vs Concentraciones.

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) estructuró la conformación de dos grupos (CUADRO XXIV). El grupo A estuvo interpretado por tres de los tratamientos (T14, T15, T16) evaluados reconociendo una longitud de brotes media de 1.5 centímetros, por otro lado, el grupo B representado por tres de las interacciones evaluadas (T15, T16, T13), registró valores de longitudes de brotes en un rango entre 1.4 y 1.3 centímetros.

CUADRO XXIV. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO ALGAMARE® VS CONCENTRACIONES PARA LOGITUD DE BROTES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	LONGITUD	Agrupamiento	
			MEDIA	Dunnett	
T14 (Algamare + 0.1 mg/L AG ₃)	12	31.2	1.5	A	
T15 (Algamare + 0.35 mg/L AG ₃)	16	27.4	1.4	A	B
T16 (Algamare + 1 mg/L AG ₃)	14	27.0	1.4	A	B
T13 (Algamare)	11	21.6	1.3		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

En la figura 27, el tratamiento T14 perteneciente al grupo A, muestra las mayores longitudes de brotes con promedios de 31.2 correspondiente a 1.5 centímetros.

Las longitudes menores se encontraron en el grupo B representado por el tratamiento T13 (Algamare), con un promedio de longitud de 21.3 equivalente a 1.3 centímetros. (ver figura 27)

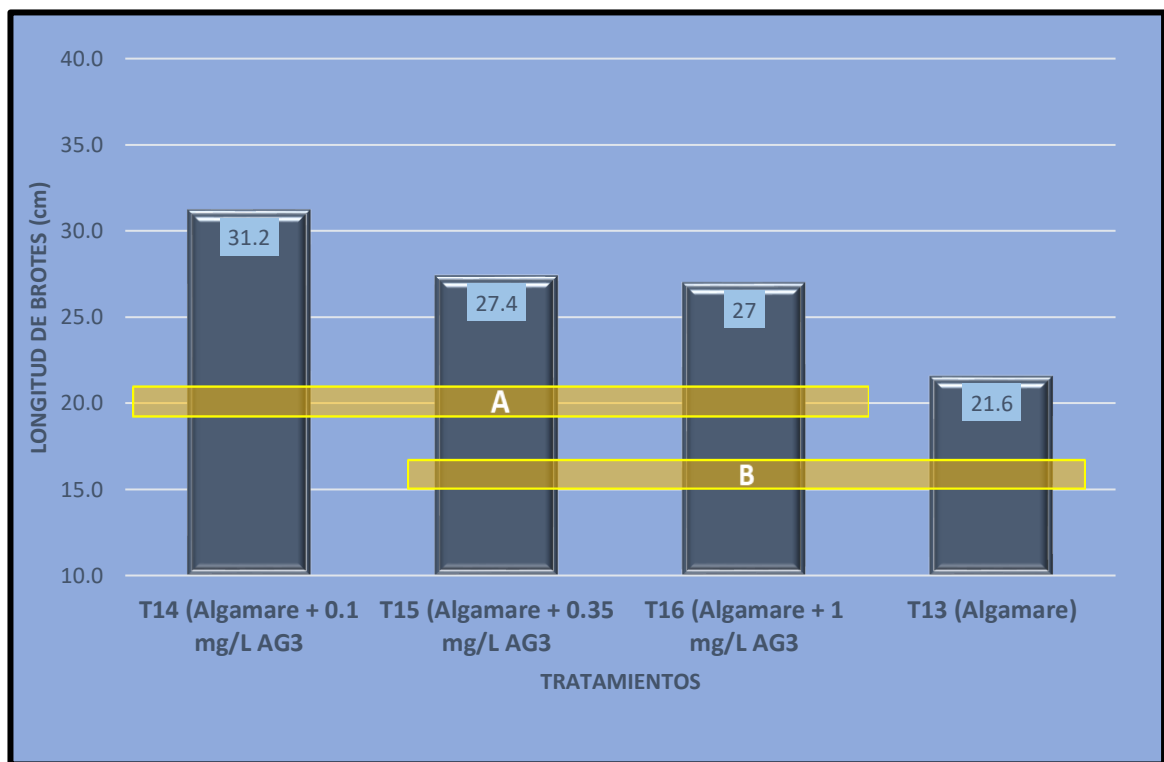


FIGURA 27. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO ALGAMARE ® VS CONCENTRACIONES EN LA SEGUNDA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.3. Resultado de la Tercera Etapa de Multiplicación.

4.3.1. Variable Numero de Yemas.

Los resultados de la prueba Kruskal- wallis realizada a la variable Número de Yemas reflejó que existen diferencias significativas en los tratamientos de los efectos simples (Medios de Cultivos y Concentraciones) y la interacción de los factores (Medio de Cultivo vs Concentraciones).

CUADRO XXV. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE KRUSKALL- WALLIS PARA LA VARIABLE NUMERO DE YEMAS EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

FV	GL	Valor X^2 c	Pr > F	
MC	3	10.565	.014	*
CON	3	2.776	.427	NS
MC*CON	15	39.490	.004	*
TOTAL	139			

**Existen diferencias significativas*

***Existen diferencias altamente significativas*

NS= No hay diferencia significativa

MC= Medios de Cultivo; CON= Concentraciones

4.3.1.1 Medios de Cultivo

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnnett) mostró la conformación de dos grupos (A y B). El grupo A estuvo representado por tres de los medios de cultivos (Algamare, Fitomare y Knudson C) registrando un promedio de entre dos y una yema y el segundo grupo (B) estuvo constituido por tres medios de cultivos (Fitomare Knudson C, MS 50%) donde se obtuvieron valores iguales a una yema.

CUADRO XXVI. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA VARIABLE NUMERO DE YEMAS EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN DEL FACTOR MEDIOS DE CULTIVOS.

MC	N	PROMEDIO	MEDIA	Agrupamiento Dunnnett	
Algamare	32	87.6	2	A	
Fitomare	40	68.3	1	A	B
Knudson C	15	65.4	1	A	B
MS 50%	52	61.7	1		B

MC= Medios de Cultivos; MS= Murashige & Skoog.

Como se observa en la Figura 28, el mayor número de yemas se presentó en el grupo A, conformado por el medio de cultivo Algamare con un promedio de 87.6 equivalente a dos yemas.

El menor valor se observa en el grupo B, representados por el medio MS 50% el cual mostró promedios de 61.7 semejante a una yema. (ver figura 28)

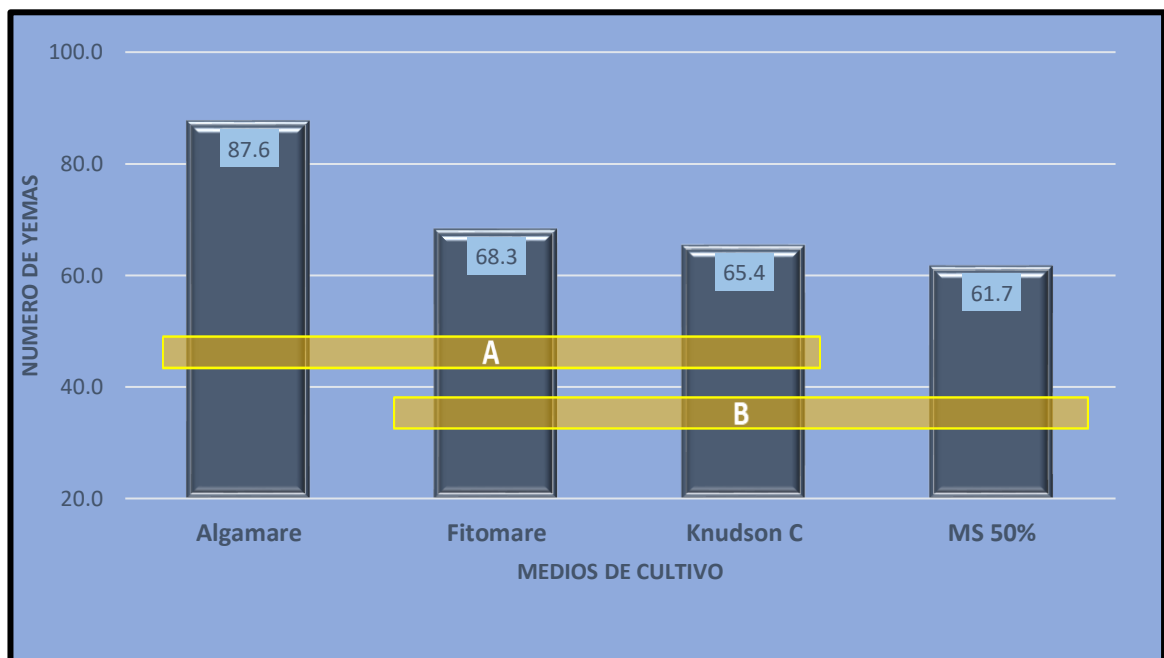


FIGURA 28. PROMEDIOS DE LA VARIABLE NUMERO DE YEMAS DE MEDIOS DE CULTIVOS EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.3.1.2. Interacción Medios de Cultivos vs Concentraciones

4.3.1.2.1. Interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs Concentraciones.

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) reflejó la conformación de dos grupos (Cuadro XXVII). El grupo A presentó tres de los tratamientos evaluados (T1, T4, T3) registrando valores máximos de una yema y el grupo B representado por tres interacciones (T4, T3, T2), registró valores de una y menos de una yema.

CUADRO XXVII. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO MURASHIGE & SKOOG 50% VS CONCENTRACIONES PARA NUMERO DE YEMAS EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	MEDIA	Agrupamiento	
				Dunnett	
T1 MS 50%	15	28.0	1	A	
T4 MS 50% + 1 mg/L AG ₃	13	27.9	1	A	B
T3 MS 50% + 0.35 mg/L AG ₃	13	25.5	0.5	A	B
T2 MS 50% + 0.1mg/L AG ₃	11	23.9	0.3		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG₃

En la figura 29, los tratamientos T1 (MS 50%), T4 (MS 50% + 1 mg/L AG3) perteneciente al grupo A, presenta el mayor valor de numero de yemas (1) presentando un promedio de 28.0.

El medio T2 (MS 50% + 0.1 mg/L AG3) fue el tratamiento que presentó menos individuos, reflejando un promedio de numero de brotes de 23.9 (ver figura 29)

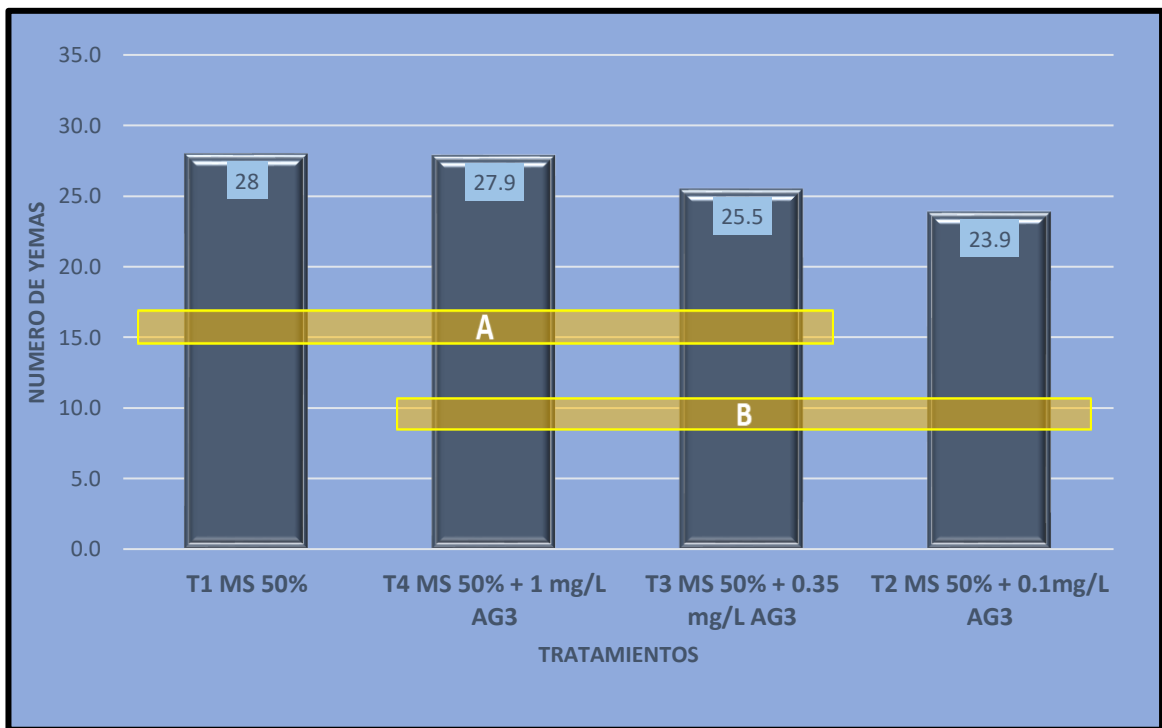


FIGURA 29. NUMERO DE YEMAS PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO MURASHIGE AND SKOOG 50% VS CONCENTRACIONES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.3.1.2.2. Interacción del medio Knudson C vs Concentraciones

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) reflejó la conformación de dos grupos (CUADRO XXVIII). El grupo A presentó tres de los tratamientos evaluados (T8, T6, T7) registrando valores en un rango entre 2 y 1 yemas. Por otra parte, el grupo B representado por dos tratamientos (T7, T5) registró valores de una y menos de una yema.

CUADRO XXVIII. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO KNUDSON C VS CONCENTRACIONES PARA NUMERO DE YEMAS EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	MEDIA	Agrupamiento Dunnett	
T8 Knudson C + 1 mg/L AG ₃	2	13.0	2	A	
T6 Knudson C + 0.1 mg/L AG ₃	3	11.5	1	A	
T7 Knudson C + 0.35 mg/L AG ₃	3	8.1	1	A	B
T5 Knudson C	7	5.0	0		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

En la Figura 30, se aprecia que el tratamiento T8 (Knudson C + 1 mg/L AG3) perteneciente al grupo A, fue el mayor, presentando valores promedios de 13.0 equivalentes a dos yemas.

El valor de longitud más bajo se obtuvo en el grupo B con el medio T5 (Knudson C) el cual reflejó promedios de 5.0 y no presentó ninguna yema.

El número de yemas promedio fue decreciendo en función a la disminución de Ácido Giberélico en la composición del medio de cultivo. (ver figura 30)

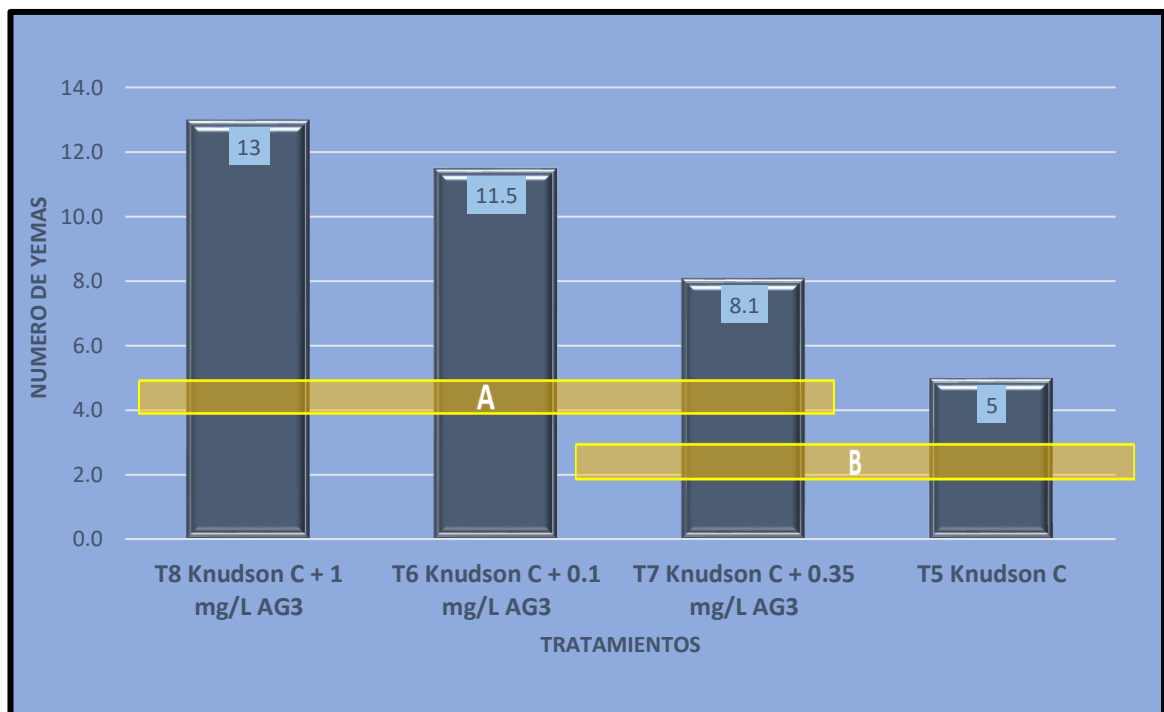


FIGURA 30. NUMERO DE YEMAS PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO KNUDSON C VS CONCENTRACIONES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.3.1.2.3. Interacción del medio Fitomare® vs Concentraciones.

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) reflejó la conformación de dos grupos (CUADRO XXIX). El grupo A presentó uno de los tratamientos evaluados T9 (Fitomare) reconociendo un máximo de una yema. Mientras que, el grupo B representado por tres interacciones evaluadas (T10, T12, T11), registró valores que van de una a menos de una yema.

CUADRO XXIX. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO FITOMARE® VS CONCENTRACIONES PARA NUMERO DE YEMAS EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	MEDIA	Agrupamiento
				Dunnett
T9 (Fitomare)	11	21.1	1	A
T10 (Fitomare + 0.1 mg/LAG ₃)	9	17.8	1	B
T12 (Fitomare + 1 mg/L AG ₃)	8	17.1	0.4	B
T11 (Fitomare +0.35mg/LAG ₃)	12	16.7	0.3	B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

Como se observa en la Figura 31. El tratamiento T9 (Fitomare) y T10 (Fitomare + 0.1 mg/L AG3), presentan el mayor valor de numero de yemas (1) reflejando un promedio de 21.1.

Por otra parte, el tratamiento T11 no presentó ninguna yema, siendo este el promedio más bajo con 16.7. (ver figura 31)

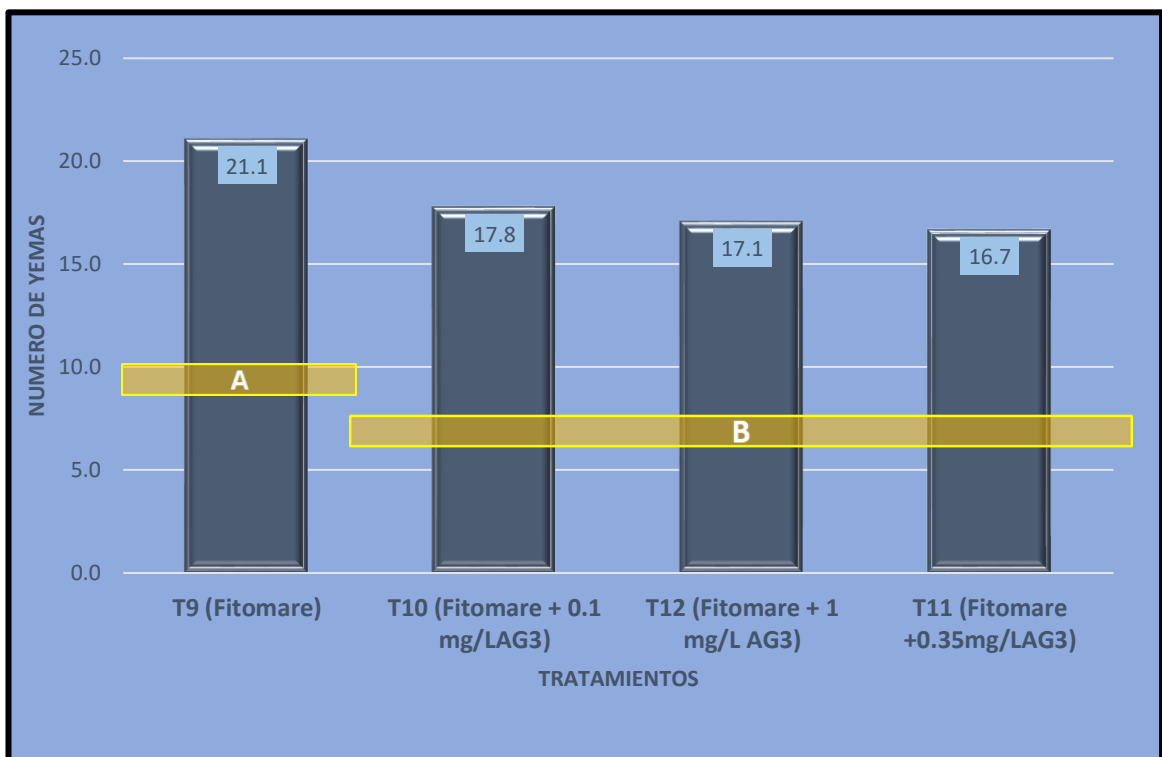


FIGURA 31. NUMERO DE YEMAS PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO FITOMARE ® VS CONCENTRACIONES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.3.1.2.4. Interacción del medio Algamare® vs Concentraciones.

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) reflejó la conformación de dos grupos (CUADRO XXX). El grupo A agrupó tres de los tratamientos (T13, T11, T16); siendo el T13 el cual registró un numero promedio de dos yemas. El grupo B registró valores de una y menos de una yema siendo el T14 el que presentó los menores valores.

CUADRO XXX. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO ALGAMARE® VS CONCENTRACIONES PARA NUMERO DE YEMAS EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	Promedio	Media	Agrupamiento Dunnett	
T13 (Algamare)	8	20.3	2	A	
T11 (Algamare + 0.35 mg/L AG ₃)	9	16.8	1	A	B
T16 (Algamare + 1 mg/L AG ₃)	8	15.0	1	A	B
T14 (Algamare + 0.1 mg/L AG ₃)	7	13.3	0.4		B
<i>MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3</i>					

El grupo A presentó un promedio de 20.3, contabilizando un máximo de una yema y estuvo representada por el tratamiento T13 (Algamare). (ver figura 32)

Como se puede observar en la figura 32, el menor número de yemas se observó en el medio T14 perteneciente al grupo B, reflejando un promedio de 13.3.

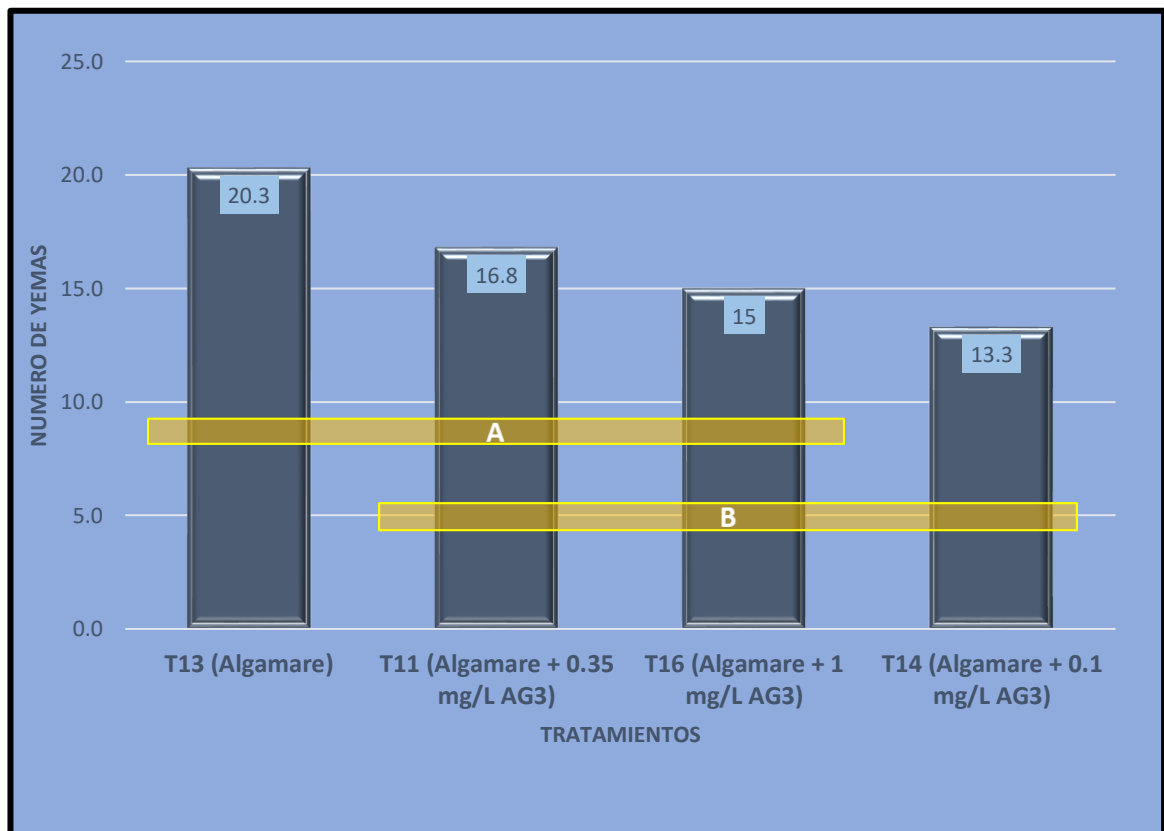


FIGURA 32. NUMERO DE YEMAS PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO ALGAMARE® VS CONCENTRACIONES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.3.2. Variable Número de Brotes.

Los resultados de la prueba Kruskal- Wallis realizada a la variable Número de Brotes reflejó que no existen diferencias significativas en los tratamientos de los efectos simples (Medios de Cultivos y Concentraciones) ni en la interacción de los factores (Medios de cultivo vs Concentraciones).

CUADRO XXXI. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE KRUSKALL- WALLIS PARA LA VARIABLE NUMERO DE BROTES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

FV	GL	Valor X^2 c	Pr > F	
MC	3	7.316	.062	NS
CON	3	2.462	.482	NS
MC*CON	15	16.289	.363	NS
TOTAL	139			

**Existen diferencias significativas*

***Existen diferencias altamente significativas*

NS= No hay diferencia significativa

MC= Medios de Cultivo; CON= Concentraciones

4.3.3. Variable Longitud de Brotes.

Los resultados de la prueba Kruskal- Wallis realizada a la variable Longitud de Brotes reflejó que existen diferencias altamente significativas en los tratamientos de los efectos simples (Medios de Cultivos y Concentraciones) y la interacción de los factores (Medio de Cultivo vs Concentraciones).

CUADRO XXXII. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE KRUSKALL- WALLIS PARA LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

FV	GL	Valor X^2 c	Pr > F	
MC	3	113.614	<.001	**
CON	3	.185	.980	NS
MC*CON	15	124.722	<.001	**
TOTAL	216			

****Existen diferencias significativas***

*****Existen diferencias altamente significativas***

NS= No hay diferencia significativa

MC= Medios de Cultivo; CON= Concentraciones

4.3.3.1 Medios de Cultivos

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) mostró la conformación de tres grupos A, B y C (CUADRO XXXIII). El grupo A estuvo representado por el medio de cultivo MS 50% registrando un promedio de tres brotes; el segundo grupo (B) estuvo constituido por uno de los medios de cultivos M3 (Fitomare) donde se obtuvieron valores promedio de dos brotes y por último el grupo C estuvo conformado por los dos medios M2 (Knudson C) y M4 (Algamare) registrando promedios de un brote máximo.

CUADRO XXXIII. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN DEL FACTOR MEDIOS DE CULTIVOS.

MC	N	PROMEDIO	MEDIA	Agrupamiento Dunnett
MS 50%	87	158.5	3	A
Fitomare	64	97.1	2	B
Knudson C	18	59.3	1	C
Algamare	47	50.1	1	C

MC= Medios de Cultivos; MS= Murashige & Skoog.

Como se observa en la Figura 33, el mayor valor de longitud de brotes se presentó en el grupo A, conformado por el medio MS 50% con una longitud de tres centímetros y un promedio de 158.5.

Los valores de longitud de brotes más bajos se observan en el grupo C, representados por los medios Knudson C y Algamare que presentan longitudes máximas de un centímetro y reflejó promedios de entre 59.3 a 50.1.

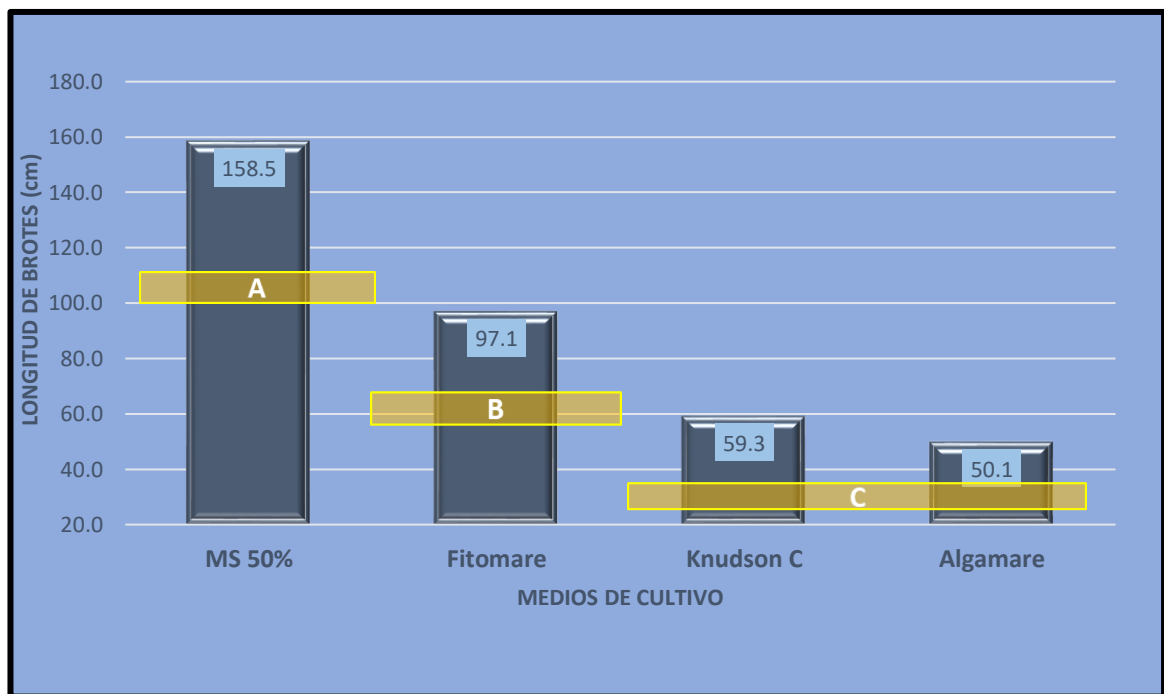


FIGURA 33. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA VARIABLE CONCENTRACIONES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.3.3.2. Interacción entre Medios de Cultivos vs Concentraciones.

4.3.3.2.1. Interacción del medio Murashige & Skoog 50% vs Concentraciones.

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) mostró la conformación de dos grupos (CUADRO XXXIV). El grupo A presentó tres de los tratamientos evaluados (T1, T3, T2) registrando longitudes promedio en un rango entre 3.3 y 2.5 centímetros. El grupo B representado por tres de los tratamientos evaluados (T3, T2, T4) mostró longitudes en un rango de 2.9 a 2.4 centímetros. Esto refleja que no hay diferencia significativa entre los tratamientos T1, T3, T2.

CUADRO XXXIV. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO MURASHIGE & SKOOG 50% VS CONCENTRACIONES PARA LONGITUD DE BROTES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	LONGITUD	Agrupamiento	
			MEDIA	Dunnett	
T1 (MS 50%)	26	54.4	3.3	A	
T3 (MS 50%+ 0.35mg/LAG ₃)	18	46.1	2.9	A	B
T2 (MS 50% + 0.1 mg/LAG ₃)	22	37.9	2.5	A	B
T4 (MS 50% + 1 mg/L AG ₃)	21	35.5	2.4		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

En la Figura 34, el tratamiento T1 (MS 50%) refleja los promedios más altos con 54,4. Perteneciente al grupo A; presentando las mayores longitudes de brotes con 3.3 centímetros.

Las longitudes menores se encontraron en el grupo B, donde el tratamiento T4 (MS 50% + 1mg/L) fue el más bajo presentando un promedio de longitud de 35.5 equivalentes a 2.4 centímetros. (ver figura 34)

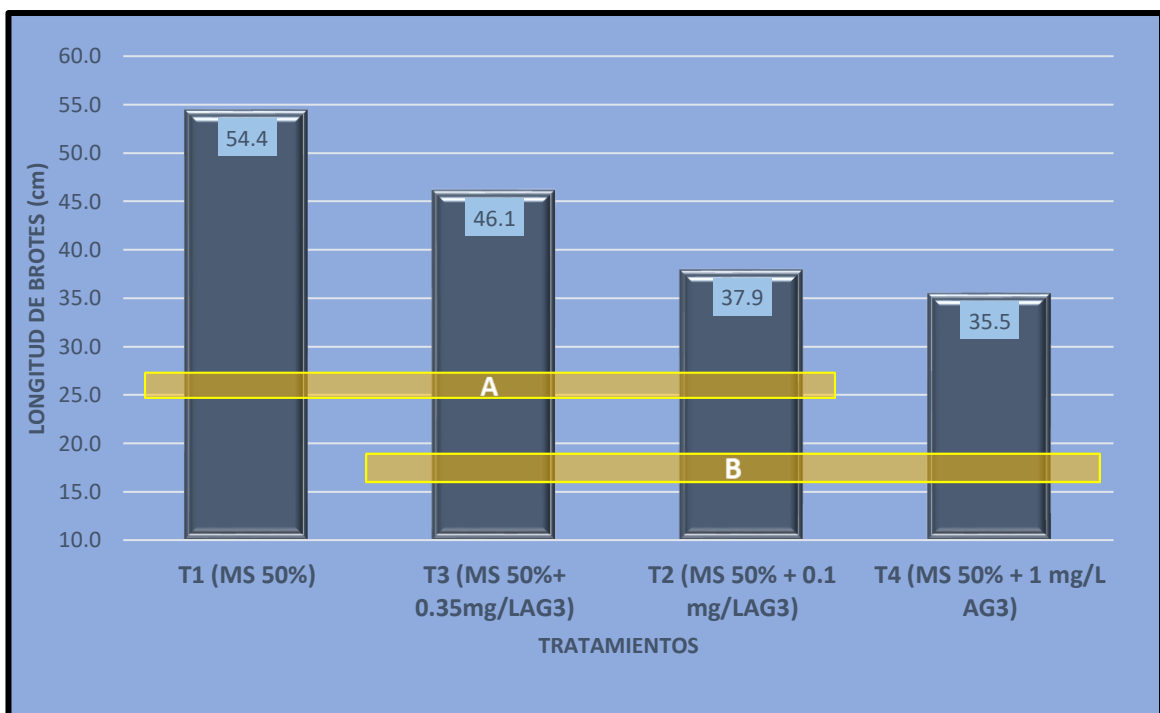


FIGURA 34. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO MURASHIGE AND SKOOG 50% VS CONCENTRACIONES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.3.3.2.2. Interacción del Medio Knudson C vs Concentraciones

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) plasmó la conformación de dos grupos (CUADRO XXXV). El grupo A presentó tres de los tratamientos evaluados (T6, T8, T5) registrando longitudes de brotes en un rango de 1.6 a 1 centímetro. El grupo B representado por tres interacciones (T8, T5, T7) registró valores de longitudes en un rango entre 1.3 y 0.9 centímetros.

CUADRO XXXV. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO KNUDSON C VS CONCENTRACIONES PARA LOGITUD DE BROTES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	LONGITUD	Agrupamiento	
			MEDIA (cm)	Dunnett	
T6 (Knudson C+ 0.1mg/LAG ₃)	2	14.0	1.6	A	
T8 (Knudson C+ 1 mg/L AG ₃)	3	12.0	1.3	A	B
T5 (Knudson C)	3	8.4	1	A	B
T7 (Knudson C+0.35mg/LAG ₃)	10	7.0	0.9		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

En la figura 35, se aprecia que el tratamiento T6 perteneciente al grupo A, presentó las longitudes más altas con valores promedios de 54.4 equivalente a 1.6 centímetros.

El valor de longitud más bajo se obtuvo en el grupo B (T8, T5, T7) el cual mostró longitudes con valores promedios de 1,3 a 0.9 equivalentes a 1.3- 0.9 centímetros. (ver figura 48)

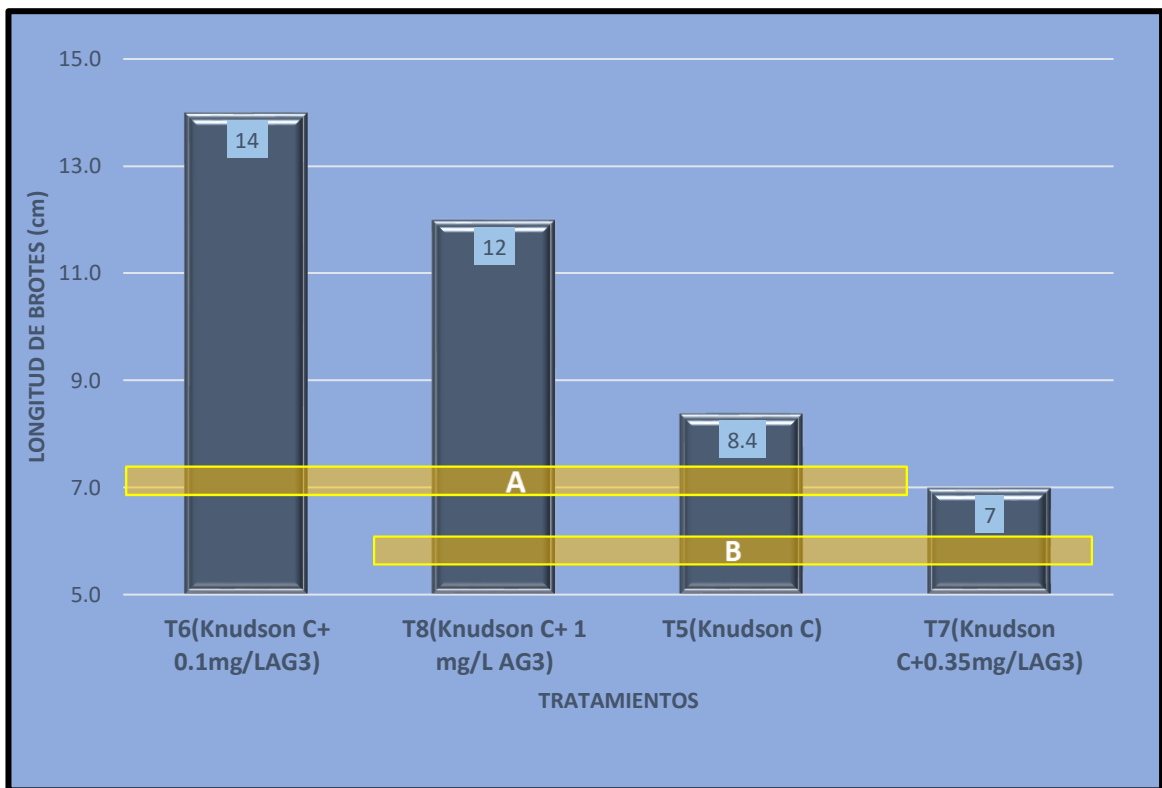


FIGURA 35. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO KNUDSON C VS CONCENTRACIONES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.3.3.2.3. Interacción del Medio Fitomare® vs Concentraciones

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) reflejó la conformación de dos grupos (CUADRO XXXVI). El grupo A ligó tres de los tratamientos evaluados (T12, T10, T11) reconociendo longitudes promedio de 1.7 centímetros. Mientras que, el grupo B, representado por tres interacciones (T10, T11, T9) reveló valores de longitud de brotes en un rango entre 1.6 y 1.5 centímetros.

CUADRO XXXVI. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO FITOMARE® VS CONCENTRACIONES PARA LOGITUD DE BROTES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	LONGITUD	Agrupamiento	
			MEDIA	Dunnett	
T12 (Fitomare+ 1 mg/L AG ₃)	12	37.0	1.7	A	
T10 (Fitomare+ 0.1mg/L AG ₃)	17	33.6	1.6	A	B
T11 (Fitomare+ 0.35mg/LAG ₃)	19	30.8	1.5	A	B
T9 Fitomare	16	28.8	1.5		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

Las mayores longitudes se vieron representadas por el tratamiento T12 perteneciente al grupo A, presentando longitudes de brotes con un promedio de 37.0 equivalentes a 1.7 centímetros. (ver figura 36).

Por otra parte, La menor longitud se obtuvo en el grupo B con el tratamiento T9 (Fitomare), presentando una longitud promedio de 28.8 correspondiente a 1.5 centímetros.

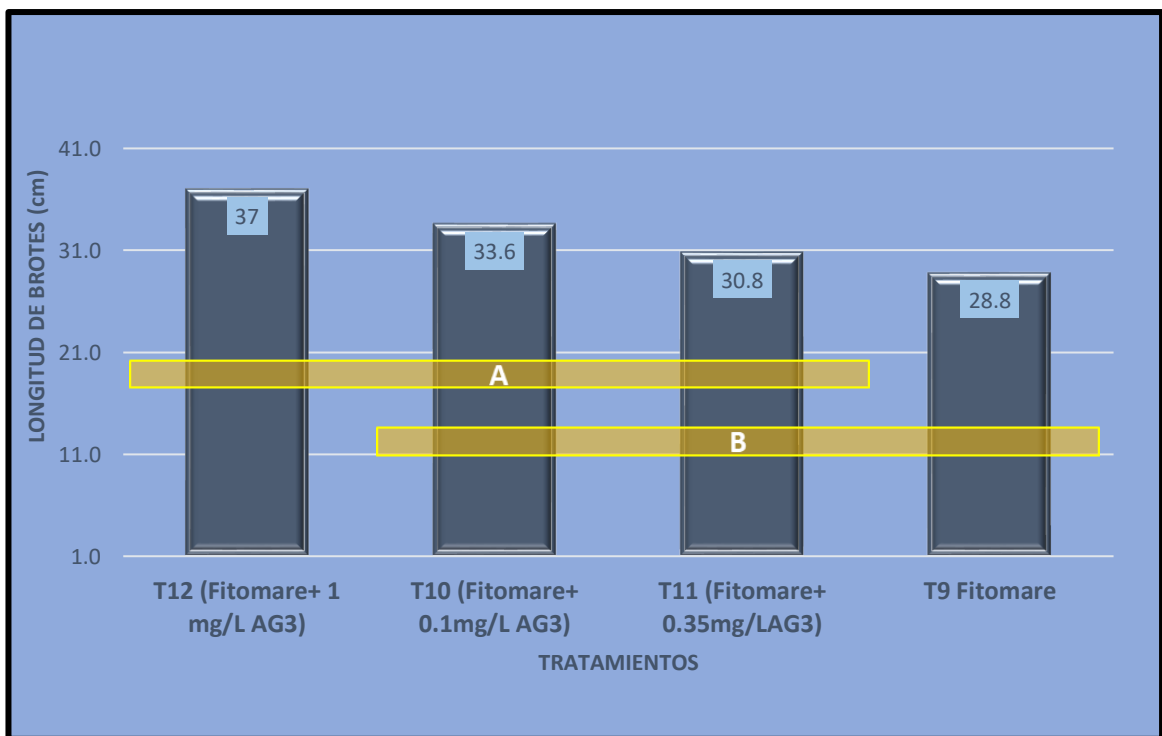


FIGURA 36. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO FITOMARE ® VS CONCENTRACIONES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

4.3.3.2.4. Interacción del Medio Algamare® vs Concentraciones

La prueba de Comparaciones Múltiples por Rangos (Dunnett) reflejó la conformación de dos grupos (Cuadro XXXVII). El grupo A presentó tres de los tratamientos evaluados (T15, T14, T16) reconociendo longitudes en un rango entre 1 y 0.9 centímetros, mientras que, el grupo B representado por dos de los tratamientos evaluados (T16, T13), registró valores entre 0.9 Y 0.8 centímetros.

CUADRO XXXVII. COMPARACIONES MULTIPLES POR RANGOS (DUNNETT) PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO ALGAMARE® VS CONCENTRACIONES PARA LOGITUD DE BROTES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

MC*CON	N	PROMEDIO	LONGITUD	Agrupamiento	
				MEDIA (cm)	Dunnett
T15(Algamare+ 0.35mg/LAG ₃)	15	28.4	1	A	
T14(Algamare + 0.1 mg/L AG ₃)	11	28.3	1	A	
T16(Algamare + 1 mg/L AG ₃)	10	22.8	0.9	A	B
T13 (Algamare)	11	14.7	0.8		B

MC*CON= Medios de Cultivo vs Concentraciones de AG3

En la Figura 37, el tratamiento T15 perteneciente al grupo A, presenta las mayores longitudes de brotes con un promedio de 28.4 correspondiente a un centímetro.

Las longitudes menores se obtuvieron en el grupo B. siendo el tratamiento T13 con la composición de Algamare Sin AG3 la más baja presentando un promedio de 14.7 equivalente a 0.8 centímetros.

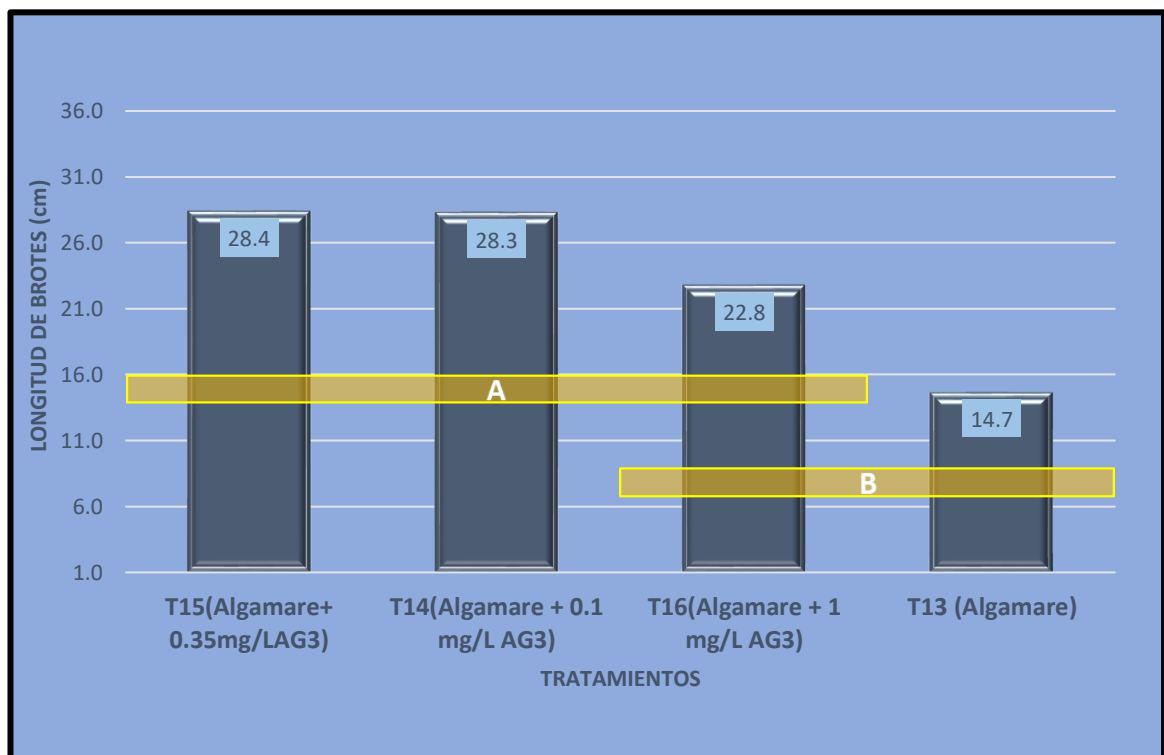


FIGURA 37. LONGITUD DE BROTES PROMEDIO PARA LA INTERACCIÓN DEL MEDIO ALGAMARE ® VS CONCENTRACIONES EN LA TERCERA ETAPA DE MULTIPLICACIÓN.

Como se ha podido observar a lo largo de este capítulo en la información proporcionada por las figuras y cuadros. Para la variable número de yemas se lograron obtener las mejores respuestas con el tratamiento T13 (Algamar sin AG3) culminados los 85 días después de la primera multiplicación; Sin embargo, con este medio no se obtuvo un desarrollo aceptable de plántulas diferenciadas y esto pudo deberse a una poca disponibilidad de nutrientes por parte del medio de cultivo.

Para la variable “Numero de Brotes” se lograron los mejores resultados a los 60 días después de la primera multiplicación principalmente con el tratamiento T1 (Murashige & Skoog 50% sin AG3), seguido de los tratamientos; T2 (MS 50% + 0.1 mg/L AG3) y T11 (Fitomare + 0.35 mg/L AG3) en los cuales se obtuvieron un promedio de dos brotes.

Pinedo *et al.*, (2022); señala que, en especies como *Epidendrum schomburgkii* se obtienen mayor número de brotes vivos con la disminución de sales al 50% en el medio basal Murashige & Skoog. De igual manera; se considera aceptable para esta especie, el uso de dicho medio con disminución de sus sales hasta un 25%. para una regeneración de brotes razonable.

Por último, para la variable longitud de brotes se obtuvieron las mejores respuestas con los tratamientos T2 (Murashige and Skoog 50% + 0.1 mg/L AG3) y T9 (Fitomare sin AG3) a los 60 Y 85 días después de la primera multiplicación.

Flores *et al.*, (2017) plantea que el uso del medio Murashige & Skoog a menores concentraciones y sin emplear AG3 trabajan con la misma o mayor eficacia que el MS 100% en especies como *Laelia anceps* Lindl. Y *Epidendrum* sp. expresando longitud de brotes de hasta 1.7 centímetros a los 45 días después de la siembra, por lo que no solo permite una buena diferenciación de explantes, sino que también ayuda a reducir los costos de producción de plantas propagadas mediante esta técnica.

Se pudo afirmar que para la fase de multiplicación *In vitro* de la especie ***Peristeria elata*** el medio Knudson C presenta muy bajas respuestas en la regeneración de los explantes; evidenciados con una baja tasa de formación de yemas y brotes durante los 30, 60 y 85 días después de la multiplicación.

Esto pudo deberse a la baja concentración de sales disponibles en este medio de cultivo que no resulta conveniente para la especie ***Peristeria elata***. Soares *et al.*, (2009); afirma que especies como *Cattleya loddigesii* Lindl. y *Hadrolaelia lobata* Lindl. Chiron & V.P. Castro x *Hadrolaelia purpurata* Aco., responden a un mayor crecimiento *In vitro* con el medio Knudson a 200% de concentración de sales.

Cabe recalcar que no todas las especies responden de la misma manera a dichos medios de cultivo establecidos, sin embargo, sirven como referencia para ser empleados tomando como guía factores que las hacen similares entre especies como hábito de crecimiento (epífita, terrestre, rupícola), hábitad, altitud, etc.

CUADRO XXXVIII. CUADRO COMPARATIVO ENTRE EL EFECTO DE LOS MEDIOS DE CULTIVO VS LAS ETAPAS DE MULTIPLICACIÓN

Tiempo/ Variable		Tratamientos															
		Murashige & Skoog 50%				Knudson C				Fitomare				Algamare			
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16
30 DDM	Número de Yemas	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Número de Brotos	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Longitud de Brotos	*	NS	*	*	*	NS	NS	NS	*	*	*	NS	NS	NS	NS	NS
60 DDM	Número de Yemas	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Número de Brotos	*	*	NS	*	NS	NS	NS	*	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	*
	Longitud de Brotos	*	**	*	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
85 DDM	Número de Yemas	NS	NS	NS	MS	NS	NS	NS	*	*	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS
	Número de Brotos	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Longitud de Brotos	**	*	*	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
1. Eficiente																	
2. Regular		1	1	1	2	3	3	3	2	1	3	2	3	2	3	3	3
3. Deficiente																	

5. CONCLUSIONES

1. Se logró evaluar el efecto de cuatro medios de cultivo y tres niveles de ácido giberélico sobre el establecimiento in vitro de la Flor del Espíritu Santo ***Peristeria elata***.
2. Para el efecto simple “medios de cultivo”, en la variable número de yemas se obtuvieron diferencias significativas con los medios Algamare, Fitomare y Knudson C culminados los 85 días después de la primera multiplicación. Por otra parte, para la variable longitud de brotes se logró diferencia altamente significativa durante los 30, 60 y 85 días con los medios de cultivo MS 50% y Fitomare.
3. Se determinó que para el efecto simple “concentraciones de ácido giberélico” no se obtuvieron valores significativos para ninguna de las variables (número de yemas, numero de brotes, longitud de brotes) durante los 30, 60 y 85 días.
4. Para la interacción de los efectos simples (medios de cultivo y concentraciones de ácido giberélico), en la variable número de yemas se observaron diferencias significativas con el tratamiento T13 (Algamare sin AG3). Por último, para la variable longitud de brotes, se lograron valores altamente significativos a los 60 y 86 días con los tratamientos T2 (MS 50% + 0.1 mg/L AG3), T3 (MS 50% + 0.35 mg/L AG3) y T1 (MS 50% sin AG3).

6. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda la utilización general de los medios M1 (Murashige & Skoog 50%) y M3 (Fitomare) para obtener una buena regeneración de los explantes de ***Peristeria elata***.
2. Hacer uso del Ácido Giberélico en concentraciones de 0.35 en el medio Fitomare para obtener un mayor número y longitud de brotes.
3. Se aconseja disminuir la cantidad de subcultivos a un máximo de dos, para permitirle a los explantes regenerarse por más tiempo (50 días) y obtener un mayor vigor por planta.
4. No se recomienda el uso del medio Knudson C en la etapa de multiplicación in vitro de la especie ***Peristeria elata***.
5. Se sugiere estudiar el uso de ambos Bioestimulantes (Fitomare y Algamar) en otros cultivos de interés comercial.

7. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Alvarado, C. (2000). Micropropagación de *Cattleya skinneri* y *Cattleya skinneri* x *Cattleya maxima* por cultivo de ápices, Recuperado el 28 de junio de 2022, de <https://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/1318>
- Ashila, F. Szlachetko, L. Kolanowska, M. (2015). *Peristeria oscarii-rodrigo* sp. nov. primer registro del género *Peristeria* (Orchidaceae) de Guatemala, Recuperado el 10 de mayo de 2022, de <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1111/njb.00789>
- ATLANTICA, (2013). Fitomare, Bioestimulantes y aminoácidos. Recuperado el 10 de mayo de 2022, de <https://www.atlanticaagricola.com/productos/fitomare/>
- Centro Nacional de Información Biotecnológica NCBI. (2020). Taxonomía de *Peristeria elata*, Recuperado el 7 de junio de 2022, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=125157>
- Cerezo, J. (2017). Fisiología Vegetal. Tema X Giberelinas, Recuperado el 14 de mayo de 2022, de <https://georgiusm.files.wordpress.com/2017/11/tema-10-giberelinas.pdf>

- Chacón, M. Contreras, O. y Cáceres, H. (2018). Contribución a la conservación de Orchidaceae de Santander mediante cultivo in vitro de semillas, Recuperado el 5 de mayo de 2022, de <https://repositorio.udes.edu.co/bitstream/001/4691/1/Contribuci%C3%B3n%20a%20la%20conservacion%20de%20Orquideas%20de%20Santander.pdf>
- Cruz, M.L, & Romero, (2010). Fitohormonas, L, melgarejo, &. Romero, libro de experimentos en fisiología y bioquímica vegetal (pags.39-40) Colombia
- Flores, L. et al., (2017). Medio de cultivo y sustitutos del agar en el crecimiento in vitro de orquídeas. Inifap, Recuperado el 22 de junio de 2023, de <https://www.redalyc.org/journal/2631/263153306007/html/>
- Garcia, D. (2001). Intagri, Recuperado el 22 de mayo de 2022, de <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/bioestimulantes-agricolas-definicion-y-principales-categorias>
- Linden, L. (1894). La Guía práctica del cultivo. Diario de Orquídeas, Recuperado el 5 de mayo de 2022, de <https://books.google.com.pa/books?id=glsljAQAIAAJ&pg=PA385&lpg=PA385&dq=Hooker,+W.+1831.+Peristeria+elata&source=bl&ots=iv3IMYIDSd>

&sig=ACfU3U13iZSkOBmfE0ClBrVxXy26Atkng&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwiyyPD9vdP3AhUPg2oFHf24CtMQ6AF6BAg3EAM#v=onepage&q&f=true

- Mendieta, J. (2021). La Flor Nacional de Panamá *Peristeria elata*, Recuperado el 14 de mayo de 2022, de <https://storymaps.arcgis.com/stories/9366e15cec014e1f980a2303bc738ef7>
- Murashige, T. y Skoog, F. (1962). Un medio revisado para crecimiento rápido y bioensayos con cultivos de tejidos de tabaco. *Fisiología vegetal*, Recuperado el 28 de junio de 2022, de <https://scihub.se/https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Murgas, A. Abrego, J. Lopez, O. (2018). Abejas de las orquídeas (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) del Parque Nacional Darién, Panamá.
- M. Saleem, Usha Mukundan and C. Sathish Kumar *et al.*, (2015). Polinización artificial de la orquídea paloma (*Peristeria elata* Hook.) en India para su multiplicación. *Current Science*, Recuperado el 2 de julio de 2023, de <https://www.jstor.org/stable/24905990>

- Olmos, G. (2019). Peristeria elata. Recuperado el 11 de febrero de 2023, de <https://archivo.infojardin.com/tema/peristeria-elata-datos-de-cultivo-y-sustrato.175248/>
- ORQUIMUNDO. (2010). Anatomía y Morfología Vegetativa y Floral de las Orquídeas I parte. Recuperado el 11 de febrero de 2023, de <http://Orquis.co.cc/anatomia-ymorfologia-vegetativa-y-floral-de-las-orquideas-i-parte>.
- Ochoa-Villarreal, M., Howat, S., Jang, M.O., Kim, I.S., Jin, Y.W., Lee, E.K. *et al.* (2015). Cultivo de Tejidos Vegetales y su aplicación en Productos Naturales, Recuperado el 14 de mayo de 2022, de <https://www.omniascience.com/books/index.php/monographs/catalog/download/97/410/824-1?inline=1#:~:text=El%20cultivo%20de%20tejidos%20vegetales,de%20su%20ciclo%20de%20vida>
- Pérez, Y. (2022). Importancia eco sistémica de las orquídeas en Panamá. La Estrella Panamá, Recuperado el 14 de mayo de 2022, de <https://www.laestrella.com.pa/cafe-estrella/planeta/220105/buscan-visibilizar-importancia-ecosistemica-orquideas>

- Pierik, R. L. (1990). Cultivo in vitro de las plantas superiores, Dordrecht, Holanda: Ediciones Mundi-Prensa.
- Pinedo, M. *et al.*, (2022). Efecto de las sales de los medios de cultivo Murashige & Skoog y Knudson sobre el establecimiento in vitro de *Epidendrum schomburgkii* Lindl. Scielo, Recuperado el 14 de junio de 2023, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-87062022000300005
- RIVERA H. (2009) Orquídeas: generalidades y cultivo. El Herbario del Missouri Botanical Garden (Oxapampa)
- Röhlke, F. (2005). Jardín Practico, Orquídeas, Recuperado el 12 de mayo de 2022, de https://books.google.com.pa/books?id=zN3dGa2bDs8C&pg=PA9&dq=la+familia+de+las+orquideas&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwimi_ytgcb3AhUFIkQIHQFvA5YQ6AF6BAglEAI#v=onepage&q&f=true
- Rojas, D. (2014). Propagación in vitro de la orquídea "*Phalaenopsis violacea*" a través de la vara floral, Recuperado el 10 de mayo de 2022, de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7088/1/Tesis%20Propagaci%C3%B3n%20in%20vitro%20de%20la%20orquidea%20Phalaenopsis%20violacea%20a%20trav%C3%A9s%20de%20la%20vara%20floral.pdf>

- Soares, J. (2009). Concentraciones de sales del medio Knudson C y ácido giberélico sobre el crecimiento in vitro de plántulas de Orquídea. Ciencia Rural, Recuperado el 22 de junio de 2023, de <https://www.scielo.br/j/cr/a/YC8bHXhxdHKtwMpm8Ycz6k/?lang=pt>
- Young, V. (2022). La Flor del Espiritu Santo. El Faro, Recuperado el 14 de mayo de 2023, de <https://elfarodelcanal.com/la-flor-del-espiritu-santo/>

8. ANEXOS

MEDIO BASAL MURASHIGE & SKOOG	
COMPUESTOS	mg/L=ppm
Macroelementos	
NH₄NO₃	1650
KNO₃	1900
CaCl₂ .2H₂O	440
MgSO₂ .7H₂O	370
KH₄PO₃	170
Microelementos	
H₃BO₃	6.2
MnSO₄ .H₂O	22.3
ZnSO₂ .7H₂O	8.6
KI	0.83
Na₂MoO₄ .2H₂O	0.25
CuSO₂ .5H₂O	0.025
CoCl₂ .6H₂O	0.025
Hierro	
Na₂EDTA	37.3
FeSO₄ .7H₂O	27.8

mg/L= miligramos por litro; ppm= partes por millón

ANEXO 1. COMPONENTES NECESARIOS PARA PREPARACIÓN DE SOLUCIONES MADRE DEL MEDIO MURASHIGE & SKOOG EMPLEADOS EN LA MULTIPLICACIÓN DE LA FLOR DEL ESPÍRITU SANTO (*Peristeria elata*).

Knudson C Modificado	
Componentes	Cantidad (mg/L)
I. Macronutrientes	
NH ₄ 2SO ₄	500
Ca (NO ₃) ₂ *4H ₂ O	694,4
Mg SO ₄ 7H ₂ O	122,25
KH ₂ PO ₄	250
II. Micronutrientes	
H ₃ BO ₃	0,056
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,0624
Mn SO ₄ H ₂ O	5,682
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,331
III. Quelatos de Hierro	
FeSO ₄ .7H ₂ O	25
IV. Otros	
Carbón activado	2000

ANEXO 2. COMPONENTES NECESARIOS PARA PREPARACIÓN DE LA SOLUCION MADRE DEL MEDIO KNUDSON C EMPLEADO EN LA MULTIPLICACIÓN DE LA FLOR DEL ESPÍRITU SANTO (*Peristeria elata*).

Composición porcentual de Fitomare ®	
Aminoácidos libres	2 % p/p
Nitrógeno (N) Total	5,5 % p/p
Fósforo (P ₂ O ₅) soluble en agua	3 % p/p
Potasio (K ₂ O) soluble en agua	3,5 % p/p
Boro (B) soluble en agua	0,35 % p/p
Molibdeno (Mo) soluble en agua	0,2 % p/p
Extracto de algas (Ascophyllum nodosum)	15 % p/p

ANEXO 3. COMPONENTES NUTRICIONALES DEL PRODUCTO COMERCIAL FITOMARE ®.

Composición Porcentual de Algamare		
Materia orgánica algacea (Ascophyllum nodosum, Sargassum, Laminaria, Macrocystis pyrifera, Egregia menziesii)		82.54%
Ácido algínico		5.00%
Nitrógeno		3.00%
Potasio		5.30%
Fósforo		0.10%
Calcio		0.40%
Azufre		3.50%
Magnesio		0.15%
Cobre		2.0 ppm
Hierro		25.0 ppm
Boro		30.0 ppm
Betainas		3.0 ppm
Promotores de crecimiento naturales		400.0 ppm

**ANEXO 4. COMPONENTES NUTRICIONALES DEL PRODUCTO COMERCIAL
ALGAMARE ®.**

La preparación de cada medio de cultivo se realizó de la siguiente manera:

- Se colocó un vaso químico en el agitador magnético con aproximadamente 500 ml de agua destilada.
- Seguidamente se procedió a medir la cantidad necesaria de cada una de las soluciones madres previamente preparadas y se agregaron al vaso químico.
- Luego se aforó la cantidad de la preparación a 1000 ml.
- Posteriormente se ajustó el pH de la solución a ± 5.8 .
- Seguido se agregó el Phytigel y se pasó el medio al microondas por 2 minutos para disolver el agente gelificante.
- Luego se vertieron 20 ml de cada medio preparado a los frascos previamente esterilizados.
- Por último, se esterilizan los frascos con los medios de cultivo en la autoclave a 121°C / 15 lbs. de presión / PSI^2 de presión durante 15 minutos para posteriormente ser almacenados en la sala de crecimiento.

ANEXO 5. PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO