

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

**“Comportamiento y Aplicación de Fithormonas en el
Desarrollo de Vitroplantas de Mora Tropicalizada
“*RUBUS BRASUS*”**

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención de Título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

Presentada por:

Washington Alberto Vargas Cerdán

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año 2010

DEDICATORIA

A MIS PADRES

A MIS HERMANOS

AGRADECIMIENTO

A la Ing. Laura Parismoreno por su valiosa orientación que me ayudó a concluir con éxito este trabajo de Tesis.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



Ing. Francisco Andrade S.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE



Ing. Laura Parismoreno R.
DIRECTORA DE TESIS




Ing. Haydeé Torres C.
VOCAL

DECLARACION EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este Informe de Trabajo Profesional, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual del mismo a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)



Washington Vargas Cerdán

RESUMEN

La presente investigación experimental titulada “COMPORTAMIENTO Y APLICACIÓN DE FITOHORMONAS EN EL DESARROLLO DE VITROPLANTAS DE MORA TROPICALIZADA (*Rubus Brasus*), se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la FIMCP-ESPOL ubicado en el Campus “La Prosperina” del cantón Guayaquil provincia del Guayas.

Los objetivos planteados fueron:

1. Definir un protocolo para propagar masivamente plantas de mora tropicalizada mediante el cultivo *in vitro*.
2. Obtener brotes en la fase de multiplicación de este cultivo.
3. Utilizar reguladores de crecimiento en la mora tropicalizada.

En la fase de multiplicación se dispuso el Diseño Experimental Completamente al Azar (**DCA**) con 4 tratamientos y 20 repeticiones, cada repetición constaba de un explante.

El material vegetal que se utilizó para realizar esta investigación fueron segmentos nodales (yemas axilares) de 3 a 4 cm de longitud proveniente de plantas de mora gigante tropicalizada, de 8 meses de edad, obtenidas en la Hacienda El Paraíso ubicada en el Km. 52 vía a la costa.

INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	I
INDICE GENERAL.....	II
ABREVIATURAS.....	IV
INDICE DE FIGURAS.....	V
INTRODUCCION.....	1
CAPITULO 1	
1. CULTIVO DE LA MORA.....	3
1.1 Origen e Historia.....	3
1.2 Descripción Botánica.....	4
1.3 Forma de Reproducción Importancia económica.....	5
CAPITULO 2	
2. FITOHORMONAS.....	7
2.1 Origen e Historia.....	7
2.2 Características bioquímicas.....	8
2.3 Aplicación de las fitohormonas en el desarrollo del cultivo.....	9
CAPITULO 3	
3. CULTIVO IN VITRO.....	14

3.1 Generalidades.....	14
3.2 Aplicaciones prácticas del cultivo <i>In Vitro</i>	15

CAPITULO 4

4. MATERIALES Y METODOS.....	17
4.1 Ubicación.....	17
4.2 Delineamiento del experimento.....	17
4.3 Materiales usados.....	21
4.4 Resultados y Discusión.....	23

CAPITULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	33
--	----

APENDICES

BIBLIOGRAFIA

ABREVIATURAS

Cm	centímetros
Km	Kilómetros
G3	Giberelinas
BAP	6-benzilaminopurina
Mg/lit	Miligramos por litros
Ms	<i>Murashige & Skoog</i>
AIA	Acido Indol-acético (auxina)
Mm	milímetros
Kg	kilogramos
G/lit	Gramos por litros
°C	Grados centígrados
MI/lit	Miligramos por litros
T	Tratamientos
%	Porcentajes

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1.1	Vista interior de Laboratorio de Biotecnología FIMCP- ESPOL.....24
Figura 1.2	Explantes a los 60 días.....25
Figura 1.3	Vitroplantas a los 90 días.....27
Figura 1.4	Vitroplantas a los 60 días.....29
Figura 1.5	Vitroplantas a los 90 días.....31

INTRODUCCIÓN

La zarzamora es un frutal que ha cobrado importancia en lugares tropicales y subtropicales ya que es un cultivo con amplias perspectivas de exportación por la oportunidad que se logra en el mercado nacional e internacional con la producción invierno-verano; sin embargo, puesto que es un cultivo reciente en la zona tropical, la tecnología de siembra y manejo de las plantaciones requieren de constantes ajustes y validaciones en el proceso de multiplicación de plántulas. En el proceso *in vitro*, el uso de fitohormonas para la promover la brotación es relevante en el manejo de los

medios de cultivos; así se informa que el uso de citocininas estimulan la división y diferenciación celular, elongación celular, desarrollo de yemas laterales, contrarrestan dominancia apical, regulan apertura estomática, rompe el letargo (dormición), retarda el envejecimiento, (puede anular el efecto de hormonas senescentes), mantiene el suministro de metabolitos a la hoja, mantiene síntesis de proteínas (resistencia al estrés), actúa en la floración y diferenciación floral como en el cuajado y amarre de frutos.

Dado que este fruto es muy apetecido por su atractiva apariencia, exquisito sabor y aroma, en la actualidad abre grandes perspectivas de comercialización para satisfacer cada día más un amplio y crecimiento mercado de consumo, tanto interno como externo. Tiene un gran futuro como producto de exportación en forma congelada o fresca, generando así una fuente de ingreso económico al país.

Como consecuencia de que el género *Rubus* se lo encontraba solo en lugares fríos, se ha visto la necesidad de tropicalizarlo, mediante trabajos de adaptación, para de esta manera tener una mayor producción a nivel nacional. Debido a la poca disponibilidad de semilla de mora gigante tropicalizada, se inició una multiplicación *in vitro* del cultivo.

La técnica de cultivo *in vitro*, consiste en lograr el desarrollo de nuevas plantas en un medio artificial aséptico, a partir de partes pequeñas llamadas

explantes, colocándolas en un medio nutritivo para su posterior desarrollo que estaba constituido de nutrientes y un gel que sirvió como sustrato.

Por lo expuesto anteriormente el presente trabajo de investigación, tuvo los siguientes objetivos:

1. Definir un protocolo para propagar masivamente plantas de mora tropicalizada mediante el cultivo *in vitro*.
2. Obtener brotes en la fase de multiplicación de este cultivo
3. Utilizar reguladores de crecimiento en la mora tropicalizada.

CAPITULO 1

1. CULTIVO DE LA MORA

1.1. Origen e historia

Es una fruta silvestre, nativa del continente americano. Según varios autores de la zona andina, existen varias especies de *Rubus* cultivadas como son: *R. floridundus*, *R. figantus*, *R. adenotrichas*, *R. notingensis*, *R. poephyromallus*, *R. urtichefolius* (Zarzamora) y la de mayor importancia en el país es la *R. glaucus* con sus principales variedades que son la brasus y la de castilla. Se las cultiva en forma comercial en muchos países como son: EEUU, Colombia, Ecuador, Panamá, México, Guatemala, Perú y Chile, en nuestro país se lo cultiva en varias provincias como son: Carchi, Tungurahua, Chimborazo, Pichincha, Bolívar, y Guayas.

1.2 Descripción Botánica

Existen muchas especies y algunas de las cuales aun no se han caracterizado, la planta de mora es un arbusto perenne de porte erecto y semi-erecto con un sistema radicular profundo.

Las inflorescencia se presentan en racimos terminales, aunque en ocasiones se presentan en las axilas de las hojas, la fruta es esférica o elipsoidal del tamaño variable de 1,5 a 2,5 cm en su diámetro mas

ancho de color verde cuando se esta formando, pasando a un color rojo hasta morado oscuro cuando se madura.

La planta comienza a fructificar de 6 a 8 meses después del trasplante, siempre y cuando tenga un buen manejo y cuidado en la plantación, presenta un periodo de duración de diez años o más de producción.

Pertenece a:

Reino : Vegetal

Clase : Dicotiledónea

Subclase: Arquiclamídea

Orden : Rosales

Familia : Rosáceas

Género : *Rubus*

Especie : *brasus*

1.3. Forma de reproducción y su importancia económica.

Para establecer cultivos comerciales se recomienda la propagación asexual. La propagación sexual su germinación y desarrollo es lento y los frutos con poca semilla viable.

Sistema de propagación asexual:

- Acodo de punta
- Acodo aérea
- Acodo rastrero y de punta
- Trozos de tallos subterráneo
- Cultivos de tejidos (cultivo in vitro)

Importancia económica

Una hectárea con 3 mil plantas de mora produce, por semana, entre 70 y 100 canastas de entre 8 y 10 kilos. Los precios de cesta varían entre 6 y 18 dólares, dependiendo de la época. Se la comercializa fresca y en pulpa. Estos son productos promisorios debido al rápido crecimiento en la demanda de jugos naturales y pulpa de fruta para hacer jugos especialmente en los mercados internos, pero también un potencial en exportación, lo cual lo hace producto rentable. A pesar de esto ha recibido poco apoyo del sector público, con relación a otros productos agrícolas tradicionales y no tradicionales pero muy significativos en la economía nacional del país.

CAPITULO 2

2. LAS FITOHORMONAS

2.1. Origen e Historia

Las fitohormonas u hormonas vegetales regulan de manera predominante los fenómenos fisiológicos de las plantas, estas se producen en pequeñas cantidades en los tejidos vegetales, a diferencia de las animales, sintetizadas en glándulas. Pueden actuar en el propio tejido donde se generan o bien alargan distancias, mediante transporte a travez de los vasos xilemáticos y floemáticos. Estas controlan un gran número de sucesos, como son el crecimiento de las plantas, la caída de las hojas, la floración, la formación de frutos y la germinación.

2.2. Características bioquímicas

Estas consisten en que son sintetizadas por las plantas, se encuentran en muy bajas concentraciones en el interior de los tejidos, y pueden actuar en el lugar que fueron sintetizados o en otro lugar, lo

cual concluimos que estos reguladores son transportado en el interior de la planta.

Los efectos fisiológicos no dependen de una sola fitohormona, sino más bien de la interacción de muchas de estas sobre el tejido en el cual coinciden. Los hombres de ciencia han logrado producir sintéticamente hormonas o reguladores químicos, con la que han logrado aumentar o disminuir el crecimiento de las plantas.

Las fitohormonas pueden promover o inhibir determinados procesos dentro de los que promueven encontramos 6 grupos principales de compuesto que ocurren en forma natural que son: auxinas, giberelinas, citoquininas, y etileno, jasmonatos y brasinesteroides.

2.3. Aplicación de las fitohormonas en el desarrollo del cultivo

Auxinas

Significa en griego “crecer” estimulan la elongación de las células, se encuentran en todas las plantas, las mas altas concentraciones se encuentran en la región meristemáticos.

Acción fisiológica:

- Actúa en la mitosis
- Alargamiento celular
- Formación de raíces adventicias
- Dominancia apical
- Herbicida
- Partenocarpia
- Gravitropismo
- Diferenciación de xilema
- Regeneración de tejidos vascular en tejido dañado
- Floración
- Retarda caída de flores, hojas y frutos jóvenes

En la agricultura se aplica:

- Herbicidas
- Enraizamientos de estacas leñosas
- Evitar la caída de frutos
- Raleo de frutos
- Inhibición de brotes lateral en forestales
- Cultivo *in vitro* de tejidos

Giberalinas

Fue descubierta en Japón como derivada del extracto del hongo giberella fujikuroi que producía en crecimiento inusual de las planta de arroz derivado de allí su nombre. Se produce en todos los tejidos de diferentes órganos.

Su traslado se realiza a través del floema y xilema, no es polar como en el caso de las auxinas.

Efectos fisiológicos:

- Controlan el crecimiento y elongación de los tallos
- Elongación del escapo floral, que en las plantas en rosetas es inducido por el foto periodo del día largo.
- Inducción de floración de plantas de días largo cultivadas en épocas no apropiadas.
- Crecimiento y desarrollo de frutos.
- Estimulan la germinación de diferentes especies.
- Inducen formación de flores masculinas en plantas de especies
- Reemplaza la necesidad de horas fríos (invernalización) para inducir la floración en algunas especies (horticultura en general).

Aplicación en la agricultura

- En alcaucil para producir agrandamiento y alargamiento del escapo floral.

- En perejil para aumentar el crecimiento (épocas de frío).
- En cítricos retarda la senescencia de los frutos.
- En la vid para alargar los pedúnculos florales para evitar Enfermedades fungicas y obtener bayas de mayor tamaño de semilla.
- En manzano aumenta tamaño y calidad de fruta.
- En conífera aumento de semilla induciendo la floración precoz.
- Caña de azúcar aumenta la sacarosa.
- Romper latencia en tubérculos de papa y dormancia en semillas.
- En materia aumenta la hidrólisis de almidón del endosperma de cebada.

Citocininas

Son hormonas vegetales natural que derivan de adeninas sustituidas que promueven la división celular en tejidos no meristemáticos. Son producidas en los órganos de crecimiento y en el meristema de la raíz. Se traslada muy poco o nada en la planta, sin embargo se las identifica en el xilema (cuando sintetizan en la

raíz) y floema cuando los compuesto se encuentran en la hoja son relativamente inmóviles.

Efectos Filosóficos

- División celular y formación de órganos
- Retardo de la senescencia
- Desarrollo de yemas laterales
- Inducen la partenocarpia
- Floración de plantas de días cortos
- Reemplazo de luz roja en germinación de semillas fotoblastica

Aplicación en la Agricultura

- Retardo de la senescencia de flores y hortalizas de hojas manteniendo por más tiempo el color verde.
- En manzanos, rosas o claveles promueve la ramificación lateral
- En combinación de giberalina controla forma y tamaño de algunos frutos.
- Induce partenocarpia en algunos frutos.
- Reemplaza la necesidad de luz rojo en semilla de lechuga.
- Interrumpe la dormancia en vid
- Disminuye contenido de alcaloides en plantas del género
- Promueve la formación de vástago en el cultivo in vitro.

CAPITULO 3

3. CULTIVO *IN VITRO*

3.1. Generalidades.

Es un método de propagación de plantas de aplicación profesional, se lo realiza en laboratorio en condiciones estériles e instalaciones especiales.

Esto consiste en tomar un trocito de hoja, tallo o embrión de (0.2 a 1mm) o cualquier otra parte de una planta y ponerla a cultivar en un tubo de ensayo sobre un medio acuoso nutritivo.

Lo importante es que se haga en condiciones controladas y estéril: utensilios, cámara de manipulación, etc. todo esto desinfectado en autoclave.

Proceso de alto costo debido a que no se puede mecanizar, estos son rentables en laboratorios grandes y con mucho mercado.

Las plantas desarrolladas *in vitro* necesita una primera aclimatación en el laboratorio; en el invernadero y después una segunda aclimatación en el campo.

3.2. Aplicaciones prácticas del cultivo *in vitro*

- Propagación vegetativa, esto es lo mas practico, dos técnicas.
Micro propagación de estaquillas.
Organogénesis de callos.
- Producción de plantas libres de virus mediante dos técnicas:
Cultivo de meristema.
Micro injerto in vitro.
- Permite hacer germinar semillas que son muy difícil de hacer en condiciones normales.
- Eliminar la inhibición de germinación de las semillas. El cultivo in vitro es lo más eficaz porque tienen determinados inhibidores y algunos huesos de frutales no son capaces de germinar ya que no tienen desarrollo el embrión.
- Prevención del aborto

CAPITULO 4

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Ubicación

El presente trabajo investigativo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción en la provincia del Guayas, cantón Guayaquil, Prosperina Kilómetro.30.5

4.2. Delineamiento del experimento

Para evaluar el tipo y la concentración de fitohormonas durante la fase de laboratorio se estudiaron los siguientes tratamientos:

T1: MS

T2: MS + 50 mg/l de adeninas

T3: MS + 50 mg/l de adeninas + 0.1 mg/l de AIA

T4: MS + 0.5 mg/l de BAP + 0.1 mg/l de AIA + 0.25 mg/l de G3

Las coordenadas del sitio donde se llevó a cabo el ensayo se indican a continuación:

- Por el Norte: 79° 58' de Longitud Oeste a 12° 12' de latitud sur, y 79° 55' de longitud oeste a 2° 12' de latitud sur.
- Por el Sur: 79° 58' de longitud Oeste a 2° 7,5' de latitud sur, y 79° 33' de longitud oeste a 2° 15,5' de latitud sur.

La ciudad la encontramos a 4 msnm, con una temperatura entre los 23 °C y 27 °C, posee un clima tropical húmedo.

El trabajo comprendió investigaciones que estaban orientadas a la obtención de brotes y longitud en el laboratorio.

Se utilizó el Diseño Completamente al Azar (**DCA**) con 4 tratamientos y 20 repeticiones, cada repetición constaba de un explante.

El material vegetal que se utilizó para realizar esta investigación fueron segmentos nodales (yemas axilares) de 3 a 4 cm de longitud proveniente de plantas de mora gigante tropicalizada, de 8 meses de edad, obtenidas en la Hacienda El Paraíso ubicada en el Km. 52 vía a la costa.

Dichos segmentos fueron seleccionados basándose en las características fenotípicas como color, vigor y tamaño de frutas, además de presentar crecimiento activo. Los explante que se utilizaron fueron de ramas juveniles a las cual se les dio un manejo

cultural y fitosanitario, riegos y aspersiones periódicas con insecticidas y fungicidas.

Una vez que las yemas neo formadas se elógaron, fue necesario preparar medios de cultivos para inducir el desarrollo caulinar y radicular, estas vitroplantas se inocularon en un número de 8 a 10 por cada recipiente.

Los medios de cultivos basales que se utilizaron en la totalidad de los experimentos fueron los propuestos por *Murashige & Skoog, 1962* con las sales al 100 % y suplementados con vitaminas de *MS* y fito-reguladores (Auxinas, Citoquininas y giberelinas) en diferentes concentraciones, con el pH ajustado a 5.7 (ligeramente ácido).

El medio de cultivo fue esterilizado en autoclave a 1.2 kg por cm² de presión durante 5 minutos. La constitución física del medio de cultivo fue sólida para la fase de multiplicación (Phytigel 1.8 g/l).

El instrumental y la cristalería que se empleó en la manipulación del material vegetal fueron lavados y esterilizados en la autoclave a una temperatura y presión de 181 °C por una hora. Cabe señalar que la dispensada del medio de cultivo se la realizó en condiciones

asépticas, con un volumen promedio de 5 ml por cada frasco refractario.

Una vez cortados los explante a un tamaño de 0.5 cm, se procedió a sumergirlos y agitarlos durante 15 minutos en una solución de agua destilada y fungicidas, bactericidas (Phytón) a una concentración de 1 ml/ l de agua.

Posteriormente se utilizó agua destilada estéril para el enjuague, inmediatamente se colocó los explante en Hipoclorito de Sodio al 0.5 % más una gota de *Tween* 20 por 10 minutos, enjuagando nuevamente tres veces con agua destilada estéril con un intervalo de 5 minutos cada una. Este paso se realizó en el interior de la cámara de aislamiento.

Después que los explante fueron desinfectados, se los colocó en papel *kruff* para cortarles los extremos y evitar la quema del tejido por acción directa de los desinfectantes.

Posteriormente, fueron sembrados en los frascos refractarios que contenían los medios de cultivos sólidos con los diferentes tratamientos, para inducir la proliferación de brote.

El crecimiento de los brotes tuvo lugar en una cámara de crecimiento artificial provista de lámparas fluorescentes de 40

vativos, con un foto período de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, a una temperatura de 25 y 27 °C. Los explante permanecieron en esta fase por un período 90 días.

4.3. Materiales Usados

Materiales de Laboratorio.

- Cámara de aluminio y vidrio
- Refrigeradora
- Autoclave
- Agitador manual
- Destilador de agua
- Frascos de vidrio
- Tubos de ensayo
- Pinzas, Bisturí
- Mechero de alcohol
- Potenciómetro
- Papel Kraff
- Balanza analítica
- Vidriería Pírex de variada volumetría
- Cocina
- Estantería de madera y vidrio

- Lámparas uv
- Acondicionador de Aire

Datos evaluados:

Número de Brotes por Explante

Esta variable se registró a los 30, 60 y 90 días después de cada repique tomándose el número de brotes por explante posteriormente se obtuvo el promedio.

Longitud de Brote.

Este dato se lo registró a los 30, 60 y 90 días después de cada repique y se tomó con una regla graduada en cm, desde la base del cuello de la planta hasta el último entrenudo luego se obtuvo el promedio.

Material Experimental.

Segmentos nodales de mora gigante tropicalizada.

Reactivos:

Medio de cultivo *Murashige y Skoog 1962*

Alcohol absoluto

Agua destilada ozonizada

Fungicida Phytón (Sulfato de Cobre Pentahidratado)

Regulador del crecimiento (ADENINA, BAP, AIA, GL3,)

Vitaminas de *Murashige y Skoog* 1962

Hipoclorito de Sodio (NaClO)

Tween 20 (Polioxietilensorbitanmonolaureato)

Phytigel

Sacarosa

Carbón activado

4.4 Resultados y Discusión

En esta sección se muestran los resultados y discusión de los análisis de varianza de las ochenta muestra de explante evaluadas y analizadas en laboratorio, datos que fueron estadísticamente estudiados y dando veracidad a la investigación de los cuatros tratamientos.

Número de brotes

Número de brotes a los 30 días

En la Tabla 1 el Promedio de número de brotes, registrado a los 30 días

de la

de



siembra *in vitro*

Mora

tropicalizada (*Rubus brasus*), podemos observar que los tratamientos **T1**, **T2**, **T3**, y **T4** son estadísticamente diferentes entre sí al nivel del 1% de probabilidades de acuerdo a la prueba de Tukey.

FIGURA 1.1 VISTA INTERIOR DEL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA FIMCP-ESPOL

El coeficiente de variación calculado fue del 11,55 %.

El tratamiento que registró el mayor valor promedio de número de brotes fue el **T3** (MS + 50 mg/l de adeninas + 0.10 mg/l de AIA) con 2,50 brotes, mientras que el de menor valor fue el **T1** (MS) con 0,35 brotes.

TABLA 1

PROMEDIO DE NÚMERO DE BROTES

(Registrado a los 30 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*))

TRATAMIENTOS	VALOR PROMEDIO	INTERPRETACIÓN
T1	0,35	d
T2	1,80	c
T3	2,50	a
T4	2,10	b

Número de brotes a los 60 días



FIGURA 1.2 EXPLANTES A LOS 60 DÍAS

En la Tabla 2 el Promedio de número de brotes, registrado a los 60 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*), podemos observar que los tratamientos T1, T2, T3, y T4 son estadísticamente diferentes entre sí al nivel del 1% de probabilidades de acuerdo a la prueba de Tukey.

El coeficiente de variación calculado fue del 12,99 %.

El tratamiento que registró el mayor valor promedio de número de brotes fue el T3 (MS + 50 mg/l de adeninas + 0.10 mg/l de AIA) con 5,10 brotes, mientras que el de menor valor fue el T1 (MS) con 0,90 brotes.

TABLA 2
PROMEDIO DE NÚMERO DE BROTES

(Registrado a los 60 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*))

TRATAMIENTOS	VALOR PROMEDIO	INTERPRETACIÓN
T1	0,90	d
T2	3,10	c
T3	5,10	a
T4	4,35	b

Número de brotes a los 90 días



FIGURA 1.3 VITROPLANTAS A LOS 90 DIAS

En la Tabla 3, el promedio de número de brotes, registrado a los 90 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*), podemos observar que los tratamientos **T1**, **T2**, **T3**, y **T4** son estadísticamente diferentes entre sí al nivel del 1% de probabilidades de acuerdo a la prueba de Tukey. El coeficiente de variación calculado fue del 16,29 %.

El tratamiento que registró el mayor valor promedio de número de brotes fue el **T3** (MS + 50 mg/l de adeninas + 0.10 mg/l de AIA) con 13,55 brotes, mientras que el de menor valor fue el **T1** (MS) con 3,80 brotes.

TABLA 3

PROMEDIO DE NÚMERO DE BROTES

(Registrado a los 90 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*))

TRATAMIENTOS	VALOR PROMEDIO	INTERPRETACIÓN
T1	3,80	d
T2	9,20	c
T3	13,55	a
T4	11,95	b

Longitud de brotes

Longitud de brotes a los 30 días

En la Tabla 4 el Promedio de longitud de brotes en cm, registrado a los 30 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*), podemos observar que los tratamientos T1, T2, T3, y T4 son estadísticamente diferentes entre sí al nivel del 1% de probabilidades de acuerdo a la prueba de Tukey. El coeficiente de variación calculado fue del 7,75 %.

El tratamiento que registró el mayor valor promedio de longitud de brotes fue el T4 (MS + 0,5 mg/l de BAP + 0.10 mg/l de AIA + 0.25 mg/l de G3) con 1,71 cm, mientras que el de menor valor fue el T1 (MS) con 0,29 cm.

TABLA 4

PROMEDIO DE LONGITUD DE BROTES EN CM

(Registrado a los 30 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*))

TRATAMIENTOS	VALOR PROMEDIO	INTERPRETACIÓN
T1	0,29	d
T2	0,97	C
T3	1,35	b
T4	1,71	a

Longitud de brotes a los 60 días



FIGURA 1.4 VITROPLANTAS A LOS 60 DIAS

En la Tabla 5. Promedio de longitud de brotes en cm, registrado a los 60 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*), podemos observar que los tratamientos T1, T2, T3, y T4 son

estadísticamente diferentes entre sí al nivel del 1% de probabilidades de acuerdo a la prueba de Tukey. El coeficiente de variación calculado fue del 9,33 %.

El tratamiento que registró el mayor valor promedio de longitud de brotes fue el **T4** (MS + 0,5 mg/l de BAP + 0.10 mg/l de AIA + 0.25 mg/l de G3) con 2,07 cm, mientras que el de menor valor fue el **T1** (MS) con 0,68 cm.

TABLA 5

PROMEDIO DE LONGITUD DE BROTES EN CM
(Registrado a los 60 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*))

TRATAMIENTOS	VALOR PROMEDIO	INTERPRETACIÓN
T1	0,68	d
T2	1,48	C
T3	1,65	b
T4	2,07	a

Longitud de brotes a los 90 días



FIGURA 1.5 VITROPLANTAS A LOS 90 DÍAS

En la Tabla 6. Promedio de longitud de brotes en cm, registrado a los 90 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*), podemos observar que los tratamientos **T1**, **T2**, **T3**, y **T4** son estadísticamente diferentes entre sí al nivel del 1% de probabilidades de acuerdo a la prueba de Tukey. El coeficiente de variación calculado fue del 14,04 %.

El tratamiento que registró el mayor valor promedio de longitud de brotes fue el **T4** (MS + 0,5 mg/l de BAP + 0.10 mg/l de AIA + 0.25 mg/l de G3) con 5,71 cm, mientras que el de menor valor fue el **T1** (MS) con 1,72 cm.

TABLA 6

PROMEDIO DE LONGITUD DE BROTES EN CM

(Registrado a los 90 días de la siembra *in vitro* de Mora tropicalizada
(*Rubus brasus*))

TRATAMIENTOS	VALOR PROMEDIO	INTERPRETACIÓN
T1	1,72	d
T2	2,64	c
T3	3,53	b
T4	5,71	a

CAPITULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones:

Al término de la presente investigación se obtienen las siguientes conclusiones:

- El tratamiento que registró el mayor valor promedio de número de brotes a los 30, 60 y 90 días fue el **T3** (MS + 50 mg/l de adeninas + 0.10 mg/l de AIA).
- El tratamiento que registró el menor valor promedio de número de brotes a los 30, 60 y 90 días fue el **T1** (MS).
 - El tratamiento que registró el mayor valor promedio de longitud de brotes a los 30, 60 y 90 días fue el **T4** (MS + 0.50 mg/l de BAP + 0.10 mg/l de AIA + 0.25 mg/l de G3).

- El tratamiento que registró el menor valor promedio de longitud de brotes a los 30, 60 y 90 días fue el **T1** (MS).

Recomendaciones:

En base al análisis de los resultados y a las conclusiones se pueden hacer las siguientes recomendaciones:

- Para la inducción de brotes de Mora tropicalizada (*Rubus brasus*), en la provincia del Guayas se recomienda los tratamientos **T3** (MS + 50 mg/l de adeninas + 0.10 mg/l de AIA) y el tratamiento **T4** (MS + 0.50 mg/l de BAP + 0.10 mg/l de AIA + 0.25 mg/l de G3), por ser los de mejores resultados en la presente investigación.
- Realizar ensayos similares utilizando otras fitohormonas y otras dosis para comparar resultados.

BIBLIOGRAFIA

- Tabla de composición de alimentos, ICBF, sexta edición, 1992. INCAP y FAO.
- [www. Mag. go. cr/biblioteca virtual ciencia manual .mora](http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual/ciencia_manual/mora)
- Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, autor proexant@porta.net.
- [www. Dicyt. Com/noticias/nuevas-tecnología para el cultivo](http://www.dicyt.com/noticias/nuevas-tecnologia-para-el-cultivo)
- Srivastava, L.M. 2002. Crecimiento y desarrollo de las plantas: hormona y ambiente. Amsterdam: Academic press. Pág 140
- Rost, Thomas L. and t. Elliot weier. 1979. Botánica: breve introducción a la biología vegetal. New York: Wiley. Pages 155-170.
- Azcon-bieto. J and talón, M 2000. Fundamentos de Biología Vegetal. Mc gran Hill. Interamericana, Madrid.
- Barcello coll, j ; 6. Nicolás Rodrigo; B. Sabater García y R Sánchez Tames 1992 fisiología vegetal. Editorial pirámide. Madrid.
- Bidwell, R. G. S. 1993, fisiología vegetal. Primera edición en español, Agt editor S.A.
- Almeida, R y Romano, A 2001. Multiplicación in vitro. Madeira, Portugal. P. 128.
- Barrera, J. Ramírez, R y Martínez, j. 2000. Usos de diversas fuentes de explantes en propagación in vitro. Acapulco, México. P. 409.

- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 2001. Propagación mediante cultivo de meristema. Cali, Colombia. P.93.
- Dublin, P. 2002. Técnica de producción vegetativa in vitro y mejoramiento genético. Cirad, Francia. P. 202.
- Santana, N. 2002. Aplicación del cultivo in vitro en el mejoramiento genético de los cultivos tropicales. Habana, Cuba. P. 84.
- Zambrano A. 2004. Cultivo de Mora en el Ecuador. El agro. Guayaquil, Ecuador. Edición 98. P. 50.

APENDICE No. 1



Fig. 1 Micro estaca en medio de inicio



Fig. 2 Explante con yemas inducidas



Fig. 3 Vitroplantas en un medio de cultivo de desarrollo caulinar y radicular

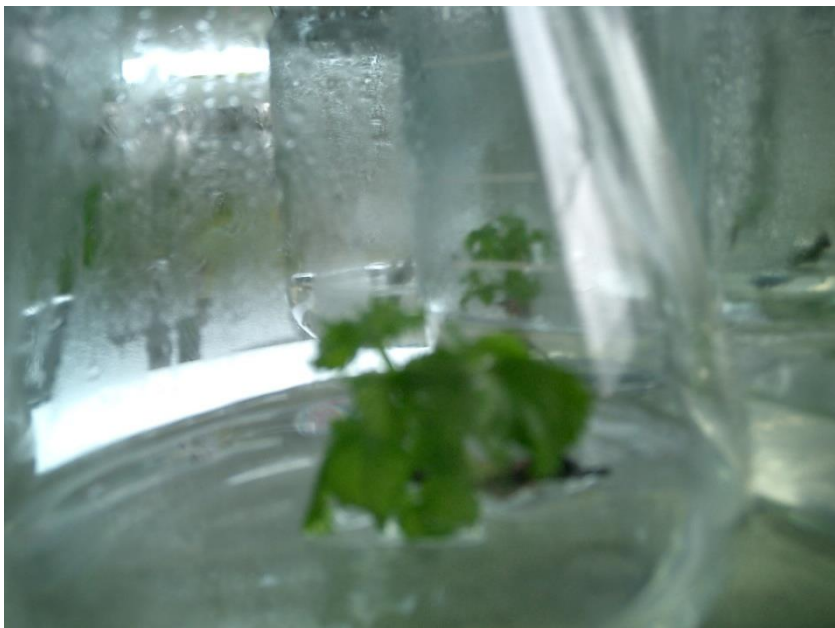


Fig. 4 Vitroplanta mostrando proliferación de brotes



Fig. 5 y 6 Vitroplanta en un medio de cultivo **T4** (MS + 0.50 mg/l de BAP + 0.10 mg/l de AIA + 0.25 mg/l de G3)



Fig. 7 Vista interior del Laboratorio de Biotecnología FIMCP-ESPOL y personal de apoyo de la investigación

APENDICE No. 2

Cuadro 1. Promedio de número de brotes registrado a los 30 días después de la siembra *in vitro* de Mora Tropicalizada (*Rubus brasus*). Primer repique. **Guayaquil 2010.**

Tratamientos	Repeticiones																				Σ	Σ ²	x̄
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
T1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	7	49	0,35
T2	2	1	3	1	3	2	1	2	3	2	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	36	1296	1,80
T3	3	2	3	2	2	3	2	2	2	2	2	2	3	2	3	3	3	3	3	3	50	2500	2,50
T4	2	2	2	2	2	1	3	3	3	1	2	2	3	3	2	2	2	1	2	2	42	1764	2,10
Σ	7	6	8	5	8	6	6	7	8	5	7	6	7	7	8	7	8	6	7	6	135		
																					x̄G	1,69	

Cuadro 1a. Datos transformados a $\sqrt{x+1}$ del promedio de número de brotes registrado a los 30 días después de la siembra *in vitro* de Mora Tropicalizada (*Rubus brasus*). Primer repique. **Guayaquil 2010.**

Tratamientos	Observaciones																				Σ	Σ ²	x̄
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
T1	1,00	1,41	1,00	1,00	1,41	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,41	1,00	1,00	1,41	1,41	1,00	1,41	1,00	1,41	1,00	23	524	1,14
T2	1,73	1,41	2,00	1,41	2,00	1,73	1,41	1,73	2,00	1,73	1,73	1,73	1,41	1,41	1,73	1,73	1,73	1,73	1,41	1,41	33	1104	1,66
T3	2,00	1,73	2,00	1,73	1,73	2,00	1,73	1,73	1,73	1,73	1,73	1,73	2,00	1,73	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	37	1393	1,87
T4	1,73	1,73	1,73	1,73	1,73	1,41	2,00	2,00	2,00	1,41	1,73	1,73	2,00	2,00	1,73	1,73	1,41	1,73	1,73	1,73	35	1227	1,75
Σ	6,46	6,29	6,73	5,88	6,88	6,15	6,15	6,46	6,73	5,88	6,61	6,20	6,41	6,56	6,88	6,46	6,88	6,15	6,56	6,15	128		
																					x̄G	1,61	

ANDEVA

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	f.c.	f.t.	
					5%	1%
Tratamientos	3	6,086	2,0288	58,94**	2,74	4,08
Error Experimental	76	2,616	0,0344			
Total	79	8,702				

CV = 11.55%

Cuadro 2. Promedio de número de brotes registrado a los 60 días después de la siembra *in vitro* de Mora Tropicalizada (*Rubus brasus*). Primer repique. **Guayaquil 2010.**

Tratamientos	Repeticiones																				Σ	Σ ²	\bar{x}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
T1	1	2	0	0	2	0	0	1	0	0	2	0	1	2	2	0	2	0	2	1	18	324	0,90
T2	3	3	5	1	5	4	1	2	4	2	4	4	3	3	2	2	5	5	2	2	62	3844	3,10
T3	6	5	5	4	4	6	4	4	4	5	5	6	6	5	6	5	6	6	5	5	102	10404	5,10
T4	4	3	4	4	5	4	5	6	5	5	4	4	4	5	3	5	4	4	5	4	87	7569	4,35
Σ	14	13	14	9	16	14	10	13	13	12	15	14	14	15	13	12	17	15	14	12	269		
	\bar{x}_G																					3,36	

Cuadro 2a. Datos transformados a $\sqrt{x+1}$ del promedio de número de brotes registrado a los 60 días después de la siembra *in vitro* de Mora Tropicalizada (*Rubus brasus*). Primer repique. **Guayaquil 2010.**

Tratamientos	Observaciones																				Σ	Σ ²	\bar{x}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
T1	1,41	1,73	1,00	1,00	1,73	1,00	1,00	1,41	1,00	1,00	1,73	1,00	1,41	1,73	1,73	1,00	1,73	1,00	1,73	1,41	27	717	1,34
T2	2,00	2,00	2,45	1,41	2,45	2,24	1,41	1,73	2,24	1,73	2,24	2,24	2,00	2,00	1,73	1,73	2,45	2,45	1,73	1,73	40	1597	2,00
T3	2,65	2,45	2,45	2,24	2,24	2,65	2,24	2,24	2,24	2,45	2,45	2,65	2,65	2,45	2,65	2,45	2,65	2,65	2,45	2,45	49	2430	2,46
T4	2,24	2,00	2,24	2,24	2,45	2,24	2,45	2,65	2,45	2,45	2,24	2,24	2,24	2,45	2,00	2,45	2,24	2,24	2,45	2,24	46	2130	2,31
Σ	8,30	8,18	8,14	6,89	8,87	8,12	7,10	8,03	7,92	7,63	8,65	8,12	8,30	8,63	8,11	7,63	9,06	8,33	8,36	7,83	162		
	\bar{x}_G																					2,03	

ANDEVA

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	f.c.	f.t.	
					5%	1%
Tratamientos	3	14,891	4,9636	71,52**	2,74	4,08
Error Experimental	76	5,275	0,0694			
Total	79	20,166				

CV = 12.99%

Cuadro 3. Promedio de número de brotes registrado a los 90 días después de la siembra *in vitro* de Mora Tropicalizada (*Rubus brasus*). Primer repique. **Guayaquil 2010.**

Tratamientos	Repeticiones																				Σ	Σ ²	\bar{x}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
T1	5	8	0	0	7	0	0	5	0	0	8	0	8	7	7	0	8	0	8	5	76	5776	3,80
T2	9	10	12	6	11	8	7	9	11	9	10	10	9	9	9	8	10	11	8	8	184	33856	9,20
T3	15	14	14	12	14	15	14	15	12	11	10	15	14	13	14	13	15	14	13	14	271	73441	13,55
T4	9	9	11	12	15	12	13	15	12	13	10	9	12	14	9	14	12	12	15	11	239	57121	11,95
Σ	38	41	37	30	47	35	34	44	35	33	38	34	43	43	39	35	45	37	44	38	770		
																							\bar{x}_G 9,63

Cuadro 3a. Datos transformados a $\sqrt{x+1}$ del promedio de número de brotes registrado a los 90 días después de la siembra *in vitro* de Mora Tropicalizada (*Rubus brasus*). Primer repique. **Guayaquil 2010.**

Tratamientos	Observaciones																				Σ	Σ ²	\bar{x}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
T1	2,45	3,00	1,00	1,00	2,83	1,00	1,00	2,45	1,00	1,00	3,00	1,00	3,00	2,83	2,83	1,00	3,00	1,00	3,00	2,45	40	1587	1,99
T2	3,16	3,32	3,61	2,65	3,46	3,00	2,83	3,16	3,46	3,16	3,32	3,32	3,16	3,16	3,16	3,00	3,32	3,46	3,00	3,00	64	4059	3,19
T3	4,00	3,87	3,87	3,61	3,87	4,00	3,87	4,00	3,61	3,46	3,32	4,00	3,87	3,74	3,87	3,74	4,00	3,87	3,74	3,87	76	5807	3,81
T4	3,16	3,16	3,46	3,61	4,00	3,61	3,74	4,00	3,61	3,74	3,32	3,16	3,61	3,87	3,16	3,87	3,61	3,61	4,00	3,46	72	5149	3,59
Σ	12,77	13,35	11,94	10,86	14,17	11,61	11,44	13,61	11,68	11,37	12,95	11,48	13,64	13,61	13,03	11,61	13,92	11,94	13,74	12,79	252		
																							\bar{x}_G 3,14

ANDEVA

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	f.c.	f.t.	
					5%	1%
Tratamientos	3	39,403	13,1343	50,10**	2,74	4,08
Error Experimental	76	19,924	0,2622			
Total	79	59,327				

CV = 16.29%

Cuadro 4. Promedio de longitud de brotes en cm registrado a los 30 días después de la siembra *in vitro* de Mora Tropicalizada (*Rubus brasus*). Primer repique. **Guayaquil**

