



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

TEMA

**Estudio preliminar para la reproducción asexual *in vitro* de vainilla
(*Vanilla tahitensis*) en diferentes medios de cultivos asépticos**

AUTOR

Luis Hernán Loaiza Álvarez

**Trabajo de Titulación previo a la obtención del grado de
INGENIERO AGROPECUARIO**

TUTOR

Ing. Paris Moreno Rivas, Laura Lucía, M.Sc.

Guayaquil, 19 marzo del 2019



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente Trabajo de Titulación fue realizado en su totalidad por **Loaiza Álvarez Luis Hernán**, como requerimiento para la obtención del Título de **Ingeniero Agropecuario**.

TUTOR

Ing. Paris Moreno Rivas, Laura Lucía, M.Sc.

DIRECTOR DE LA CARRERA

Dr. Franco Rodríguez, John Eloy, Ph.D.

Guayaquil, a los 19 días del mes de marzo del año 2019



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, **LOAIZA ÁLVAREZ LUIS HERNÁN**

DECLARO QUE:

El Trabajo de Titulación, **Estudio preliminar para la reproducción asexual *in vitro* de vainilla (*Vanilla tahitensis*) en diferentes medios de cultivos asépticos**, previo a la obtención del Título de **Ingeniero Agropecuario**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Guayaquil, a los 19 días del mes de marzo del año 2019

AUTOR

Loaiza Álvarez, Luis Hernán



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

Yo LOAIZA ÁLVAREZ LUIS HERNÁN

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución del Trabajo de Titulación, **Estudio preliminar para la reproducción asexual *in vitro* de vainilla (*Vanilla tahitensis*) en diferentes medios de cultivos asépticos**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, a los 19 días del mes de marzo del año 2019

AUTOR

Loaiza Álvarez, Luis Hernán



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN URKUND

La Dirección de las Carreras Agropecuarias revisó el Trabajo de Titulación **Estudio preliminar para la reproducción asexual *in vitro* de vainilla (*Vanilla tahitensis*) en diferentes medios de cultivos asépticos**, presentado por el estudiante **Loaiza Álvarez, Luis Hernán**, de la carrera de Ingeniería Agropecuaria, donde obtuvo del programa URKUND, el valor de 0 % de coincidencias, considerando ser aprobada por esta dirección.

URKUND	
Documento	Loaiza Álvarez, L. UTE B 2018.docx (D48147604)
Presentado	2019-02-20 23:00 (+01:00)
Presentado por	kuffo_69@hotmail.com
Recibido	alfonso.kuffo.ucsg@analysis.urkund.com
Mensaje	LOAIZA URKUND FINAL Mostrar el mensaje completo
0% de estas 57 páginas, se componen de texto presente en 0 fuentes.	

Fuente: URKUND-Usuario Kuffó García, 2019

Certifican,

Ing. John Franco Rodríguez, Ph.D.
Director Carreras Agropecuarias
UCSG-FETD

Ing. Alfonso Kuffó García, M.Sc.
Revisor – URKUND

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, por bendecir y guiar mi camino a lo largo de esta gran etapa y por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y debilidad.

Gracias a mis padres Luis Loaiza y María Álvarez, por ser los principales promotores de que cumpla mis metas, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

Agradezco a mis docentes de la Facultad de Educación Técnica para el desarrollo de la Universidad Católica Santiago de Guayaquil, por haber impartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestra profesión, en especial a mi tutora, M.Sc. Laura Paris Moreno, por haber aparecido en esta última etapa de mi carrera para apoyarme y guiarme en el desarrollo de mi trabajo de titulación el cual sin su ayuda no hubiese sido posible realizar, a la M.Sc. Noelia Caicedo, por su inmensa paciencia con todos sus estudiantes y conmigo.

DEDICATORIA

El presente Trabajo de Titulación lo dedico principalmente a Dios, por ser la guía de todos y cada uno de los pasos que di en el desarrollo de mi Trabajo.

A mis padres Luis Loaiza Álvarez y María Alvares Gálvez, por todo el sacrificio y esfuerzo que han hecho para que pueda cumplir mi objetivo gracias a ellos he podido llegar hasta aquí, para mí es un orgullo y privilegio ser su hijo y espero que para ustedes sea un orgullo mi logro.

A mis hermanos David y Álvaro, que siempre están ahí para apoyarme y darme una mano cuando lo necesitaba, en especial a mi hermana Luisana, que es la que más me presionó a que continúe con mi Trabajo de Titulación.

A mi tía Moy, Rosamaría Loaiza Álvarez, por ser una fuente de apoyo indispensable para lograr mi objetivo final.

Y a todas las personas que me han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que nos abrieron las puertas e impartieron sus conocimientos.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Ing. Paris Moreno Rivas, Laura Lucía, M.Sc.
TUTORA

Ing. John Eloy Franco Rodríguez, Ph.D.
DIRECTOR DE CARRERA

Ing. Noelia Carolina Caicedo Coello, M.Sc.
CORDINADORA DEL UTE



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CALIFICACIÓN

Ing. Paris Moreno Rivas, Laura Lucía, M.Sc.
TUTORA

ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN	16
1.1	Objetivos	17
1.1.1	Objetivo general.	17
1.1.2	Objetivos específicos.	17
1.2	Hipótesis.	17
2	MARCO TEÓRICO	18
2.1	Cultivo de Vainilla	18
2.1.1	Generalidades.	18
2.1.2	Origen vainilla.	19
2.1.3	Taxonomía.	19
2.1.4	Requerimientos agroecológicos.	20
2.1.5	Nutrientes necesarios para el desarrollo de la planta.	20
2.1.6	Plagas y enfermedades.	21
2.2	Cultivos <i>in vitro</i>	24
2.2.1	Definición.	24
2.2.2	Objetivos del cultivo <i>in vitro</i> .	24
2.2.3	Ventajas y desventajas.	24
2.3	Definiciones generales	25
2.3.1	Explante.	25
2.3.2	Auxinas.	25
2.3.3	Fenoles.	26
2.3.4	Protocormo.	27
2.3.5	Totipotencia.	27
2.3.6	Asepsia.	27
2.3.7	Aminoácidos.	28
2.3.8	Murashige & Skoog 1962 (MS).	28
3	MARCO METODOLÓGICO	30
3.1	Localización del ensayo	30
3.2	Caracterización del cultivo	30
3.3.1	Material biológico.	30
3.3.2	Material técnico.	30

	Pàg.
3.3.3 Material tecnològic.....	31
3.4 Variables a estudiar	31
3.5 Disseny Experimental:.....	31
3.7 Metodologia	33
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de las principales funciones de los nutrientes de las plantas....	21
Tabla 2. Control químico, físico y biológico de <i>Fusarium oxysporum vanillae</i>	23
Tabla 3. Ventajas y desventajas de la reproducción asexual <i>in vitro</i>	24
Tabla 4. Componentes Murashige & Skoog 1962.....	29
Tabla 5. Modelo de Tabla de las repeticiones realizadas en la concentración de MS al 100 % con tres dosis de glutamina.....	32
Tabla 6. Modelo de Tabla de las repeticiones realizadas en la concentración de MS al 50 % con tres dosis de glutamina.....	33
Tabla 7. Promedio de explantes contaminados a los 45 y 90 días determinadas en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes medios de cultivos asépticos....	38
Tabla 8. Promedio de número de entrenudos a los 45 y 90 días determinados en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes medios de cultivos asépticos.....	45
Tabla 9. Promedio de color de explante a los 45 y 90 días determinados en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes medios de cultivos asépticos.....	52

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Porcentaje de plantas contaminadas evaluadas a los 45 y 90 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes concentraciones de MS.....	35
Gráfico 2. Porcentaje de plantas contaminadas evaluadas a los 45 y 90 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferente dosis de glutaminas.....	36
Gráfico 3. Porcentaje de plantas contaminadas evaluados a los 45 y 90 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes medios de cultivos asépticos...	37
Gráfico 4. Número de entrenudos evaluados a los 45 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes concentraciones de MS.....	39
Gráfico 5. Número de entrenudos evaluados a los 45 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes dosis de glutamina.....	40
Gráfico 6. Número de entrenudos evaluados a los 45 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes medios de cultivos asépticos.....	41
Gráfico 7. Número de entrenudos evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes concentraciones de MS.....	42
Gráfico 8. Número de entrenudos evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes dosis de glutamina.....	43
Gráfico 9. Número de entrenudos evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes medios de cultivos asépticos.....	44
Gráfico 10. Color de explantes mediante la escala de Munsell a los 45 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes concentraciones de MS.....	46
Gráfico 11. Color de explante mediante la escala de Munsell evaluados a los 45 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes dosis de glutamina...	47
Gráfico 12. Color de explante mediante la escala de Munsell evaluados a los 45 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes medios de cultivos asépticos.....	48
Gráfico 13. Color de explante mediante la escala de munsell evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes concentraciones de MS.....	49
Gráfico 14. Color de explante mediante la escala de Munsell evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes dosis de glutamina...	50
Gráfico 15. Color de explante mediante la escala de Munsell evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla <i>in vitro</i> en diferentes medios de cultivos asépticos.....	51

RESUMEN

Se contrasta la eficiencia estadística entre dos medios de cultivos con tres diferentes dosis, Murashige y Skoog al 50 y 100 % con las dosis las cuales son 100, 200 y 400 mg de glutamina, para determinar cuál es la mejor concentración y dosis que se puede aplicar en el desarrollo de plantas de vainilla *in vitro* para la formación de entrenudos. Se realizaron conteos semana a semana y observación del desarrollo de los nuevos brotes donde las variables fueron: el color de explantes, número de entrenudos y explantes contaminados para lo que se tomaron datos a los 45 y 90 días. A partir de las variables medidas en laboratorio se analizó que la mejor concentración y dosis en interacción fue el Murashige y Skoog al 100 % con glutamina en dosis de 400 y 200 mg donde se alcanzó el mejor desarrollo del cultivo de *vainilla in vitro*. De acuerdo con la hipótesis la aplicación de diferentes medios de cultivo y diferentes dosis de glutamina para vainilla sí influyó en el desarrollo de las plantas de vainilla.

Palabras clave: Murashige y Skoog, medio de cultivo, glutamina, *in vitro*, explante, entrenudos.

ABSTRACT

Statistical efficiency is contrasted between two culture media with three different doses, Murashige and Skoog at 50 and 100 % with the doses of 100, 200 and 400 mg of glutamine, to determine the best concentration and dosage that can be applied in the development of plants *in vitro* vanilla. Week to week counts were carried out and observation of the development of the new outbreaks where the variables were: the color of explants, number of internodes and contaminated explants for which data were taken at 45 and 90 days. From the measured variables in the laboratory it was analyzed that the best concentration and dose in interaction was Murashige and Skoog to 100 % with glutamine in doses of 400 and 200 mg where the best development of the vanilla culture *in vitro* was reached. According to the hypothesis the application of different culture media and different doses of glutamine for vanilla if it influenced the development of vanilla plants.

Keywords: Murashige and skoog, culture medium, glutamine, in vitro, explant, internodes

1 INTRODUCCIÓN

La vainilla es una especie de gran importancia en las culturas de Mesoamérica y en la actualidad ha recobrado interés de los mercados internacionales por su uso en la industria alimentaria.

El cultivo de vainilla (*Vanilla tahitensis*) es una de las especies más solicitadas a nivel mundial ubicada en el segundo lugar, siendo superada en precio comercial por el azafrán. Los precios de la misma varían según la cantidad que se exporte siendo Alemania uno de los principales importadores de vainilla.

Aun siendo un producto de alta demanda en el mundo, requerido por la industria alimenticia, con altos precios de venta y compra, el Ecuador está limitado a importarla y no a producirla siendo Santo Domingo de los Tsáchilas el único lugar donde se produce vainilla para exportarla.

Comercialmente la vainilla se multiplica por medios vegetativos por medio de cortes de tallo; sin embargo, es una reproducción lenta y esta técnica interrumpe el crecimiento de la planta madre y reduce el rendimiento. Además, la colecta y siembra necesita de mucha mano de obra. Hoy en día, existen otros medios para la propagación de vainilla; entre las más usuales se encuentran la multiplicación *in vitro*.

Por lo tanto, en la presente investigación se intentó buscar una alternativa de cultivo para nuevos agricultores que estén dispuestos a innovar en la producción agrícola en el Ecuador impulsado con la producción *in vitro* de vainilla en diferentes medios de cultivos para la obtención de plántulas de vainilla listas para la siembra.

La aplicación de este método tuvo como ventaja un impulso a la producción de vainilla en el Ecuador a nivel masivo dentro de laboratorios con

ambiente controlado y manteniendo la calidad genética en cada explante, además sirvió de incentivo para que productores con problemas de plagas y enfermedades debido a las malas prácticas y al monocultivo tengan una alternativa innovadora y tentativa para la siembra.

Por lo expuesto se plantearon los siguientes objetivos:

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general.

Evaluar la influencia de dos medios de cultivos en el desarrollo de plántulas *in vitro* de *Vanilla tahitensis*.

1.1.2 Objetivos específicos.

- Establecer la mejor concentración de los nutrientes para los medios de cultivos en el desarrollo del ensayo y después de éste para realizar las respectivas comparaciones.
- Determinar la mejor dosis de glutamina para la formación de entrenudos.

1.2 Hipótesis

Ho: La aplicación de diferentes medios de cultivo y diferentes dosis de glutamina para vainilla influirá en el desarrollo de las plantas de vainilla.

Ha: La aplicación de diferentes medios de cultivos y diferentes dosis de glutamina para vainilla no influirá en el desarrollo de plantas de vainilla.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Cultivo de Vainilla

2.1.1 Generalidades.

Vanilla tahitensis es parte de la familia de las orquídeas y tiene flores amarillas verdosas, antiguamente se la conocía como náhuatl ixtlilxochitl o tliilxóchitl (flor negra), posteriormente se le otorgó el nombre de “vainilla” ya que los españoles observaron que sus frutos tenían un tamaño entre 15 y 30 cm de largo parecido a las vainas de las espadas (CONAIBO, 2006, p. 2).

La vainilla se cultiva y se desarrolla en climas cálidos húmedos y tiene una importancia fundamental en la industria alimenticia más específico en repostería incluso en la industria de los perfumes, en términos de valor bruto de producción, la vainilla es superada solo por el azafrán (CONAIBO, 2006, p. 3). Es uno de los cultivos en el mundo con mayor intensidad de uso de mano de obra, resultando en un proceso laborioso y con característica costosa (Khojratty, Kodja y Verpoorte, 2018, p.435).

Se requiere de 500 kg aproximadamente de vainas de vainilla para obtener un kg de vainillina, esto es equivalente a la polinización de aproximadamente 40 0000 flores de orquídeas vainilla (Gallage & Lindberg, 2015, p. 15). Dando como resultado, su alto valor monetario basado en factores como la fluctuación del mercado, la política y los efectos de condiciones ambientales de los cultivos (Khojratty, Kodja , & Verpoorte, 2018, p. 435)

Es considerada como la sustancia aromatizante más usada en la industria. Representa un recurso filogenético de suma importancia, debido a su creciente demanda (Flores *et al*, 2017, p.976). También se lo conoce como uno de los legados agro biológicos de las culturas mesoamericanas. La herencia genética primaria de esta especie es el resultado del espécimen

silvestre y la especie cultivable *Vanilla planifolia* (Hernández *et al*, 2015, p. 236).

2.1.2 Origen de la vainilla.

La vainilla es originaria de México siendo producida en las regiones de Veracruz, Totonaca del norte y Puebla (Velázquez, Camacho, Naranjo, & Tovar, 2014, p. 1139) desde el siglo XVIII, siendo la vainilla el cultivo tropical más caro en el mundo. Es la única orquídea con frutos comestibles, cultivada comercialmente por sus vainas, (Mendoza, García, Jiménez, Calva, & Jiménez, 2018, p. 146). Existen otras siete especies que son genéticamente parecidas a la *Vanilla planifolia* con los cuales se pueden crear híbridos (Soto, AMO, Instituto Chinoín., 2009)

Normalmente distribuida en zonas tropicales húmedas y bajas con no más de 800 msnm desde el sur de México hasta el norte de Bolivia la especie que más se siembra es la *Vanilla planifolia* procedente de la zona norte del Estado de Veracruz, México. Hoy en día, la vainilla es utilizada a nivel mundial en la industria alimenticia, artesanal, cosmética y farmacéutica; por lo tanto, este cultivo está relacionado directamente en aspectos económicos, sociales y ecológicos en las regiones de su producción. Sin embargo, aun cuando existen las condiciones climáticas y culturales del uso y manejo del cultivo, el Ecuador se limita a la importación de la misma para la elaboración de productos a base a de vainilla (Kelso, Sánchez, & Reyes, 2012, p. 2).

2.1.3 Taxonomía.

De acuerdo a Díaz (2016, p. 9), la taxonomía es la siguiente:

Reino:	Plantae
División:	Magnliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Orchidales
Familia:	orchidaceae
Género:	<i>Vainilla</i>
Especie:	<i>tahitensis</i>

2.1.4 Requerimientos agroecológicos.

Según INIFAP, estos son los requerimientos agroecológicos de la vainilla:

- *Clima*: es una especie que se desarrolla de buena manera en climas tropicales y húmedos, temperatura: 20 ° a 32 °C.
- *Precipitación*: la vainilla requiere de una precipitación de entre 2 000 a 3 000 mm anual también necesita de dos a tres meses parcialmente secos para la estimulación del desarrollo de las flores.
- *Altitud*: de cero a 600 msnm es la altitud que más favorece a la vainilla.
- *Luz-sombra*: para un desarrollo óptimo la vainilla necesita de 50 % de luz o sombra en gran parte del año, en épocas secas con demasiada luminosidad se recomienda mantener sombra de 50 a 70 % para la mantención de humedad de suelo y aire en cambio en meses lluviosos la cantidad de sombra varia a 30 a 50 % (INIFAP, 2011). La luz es un factor influyente en el desarrollo y crecimiento de especies en cultivos *in vitro* (Ramírez, Iglesias, & Luna, 2017, p. 288).

2.1.5 Nutrientes necesarios para el desarrollo de la planta.

Este es un ejemplo resumido de los nutrientes necesarios para las plantas citado por Goncalvez (2018), obtenido de (Haifa Gruop, s.f., p. 7).

Tabla 1. Resumen de las principales funciones de los nutrientes de las plantas

Nutriente	Función
Nitrógeno (N)	El nitrógeno es importante para la síntesis de proteínas (crecimiento y rendimiento).
Fósforo (P)	Multiplicación celular y formación de estructuras energéticas.
Potasio (K)	Transporte de azúcares, control de estomas, cofactor de diversas enzimas, reduce la susceptibilidad a enfermedades de las plantas.
Calcio (Ca)	Importante para el desarrollo de la pared celular y reduciendo la susceptibilidad a enfermedades.
Azufre (S)	Es la parte central de la molécula de clorofila
Hierro (Fe)	Ayuda a la síntesis de la clorofila.
Manganeso (Mn)	Importante componente en el desarrollo de la fotosíntesis.
Boro (B)	Formación de la pared celular. Participa en el metabolismo y transporte de los azúcares. Germinación y elongación del tubo de polen.
Zinc (Zn)	Actúa en la síntesis de las auxinas.
Cobre (Cu)	Actúa en el metabolismo del nitrógeno y carbohidratos.

Fuente: Haifa Grupo citado por Goncalvez (2018).

Elaborado por: El Autor

2.1.6 Plagas y enfermedades.

2.1.6.1 Chinche roja (*Pyrrhocoris apterus*).

Es un insecto que se caracteriza por las manchas negras sobre su fondo naranja que se suele encontrar en todo tipo de plantaciones en numerosos grupos (Smykal, y otros, 2014) si no es controlado puede afectar a la plantación ya que estos se alimentan de la misma. Su tamaño puede variar de 7 a 12 mm (FERNATURA, 2011). Produce heridas que promueven el ingreso de hongos y bacterias, provocando defoliación total de la planta (Vargas & Gámez, 2014, p. 14).

Control.

A tiempo se puede controlar manualmente eliminando los insectos en horas de la mañana cuando se encuentran inmóviles o aplicando aceite de Neem que es un producto natural efectivo contra esta plaga aplicándose 4ml/lit de agua (INIFAP, 2011).

2.1.6.2 Gusano peludo (*Plusia aurifera*).

Es una larva cuyo cuerpo está cubierto por pelos color negro, puede alcanzar hasta los 5 cm de longitud, y su daño radica en que se alimenta de la planta y puede devorar de dos a 3 cogollos por noche lo que retrasa el desarrollo de las plantas recién plantadas (Hérendez & Sánchez, 2011, p. 16) las heridas causadas a las plantas permiten el paso de hongos y bacterias que pudren la planta. Ocasionalmente este insecto tiende a afectar flores y frutos (Francisco, 2015, p. 48).

Control.

Al ser de hábito nocturno lo más recomendable es eliminarlo manualmente en la noche o durante el amanecer es decir cuando sea visible y se encuentre en la planta es recomendable recolectar los gusanos y matarlos manualmente. Si se encuentra un cogollo dañado se puede buscar al helminto al pie de la planta y eliminarlo (Francisco, 2015, p. 48)

2.1.6.3 Pudrición de raíz y tallo.

Fusarium oxysporum vanillae, es el hongo más perjudicial en el cultivo de vainilla, causa la pudrición de raíz, tallo y fruto en la planta y como consecuencia la muerte de la planta, sino es controlado a tiempo se estima que en una plantación se puede llegar a perder un 67 % de la plantación (SEGARPA, 2011). El efecto que tiene este hongo sobre los cultivos de vainilla, se observa en los tallos con aparición de lesiones café oscuro. En la raíz se observa que el daño desciende hacia las raíces adventicias, impidiendo que pueda absorber los nutrientes y el agua necesaria para su desarrollo (Jiménez, Schmidt, Quesada, & Moreira, 2015, p. 118).

Un control más eficiente de este tipo de hongo patógeno, es la utilización de fungicidas específicos a la familia taxonómica que pertenece el hongo (Quijano, Martin, Cauichi, & Montejó, 2017, p. 207).

Control.

De acuerdo Acurio (2010, p. 13) el control de *Fusarium oxysporum vanillae*

Tabla 2. Control químico, físico y biológico de *Fusarium oxysporum vanillae*

Químico	Físico	Biológico
Dazomet, Methan sodio, metil isotiocianato	La solarización	Introducción de algún organismo benéfico
Fungicidas sistémicos como benomyl, Thiabendazol, Carbendazim y metilthiofanato.	Manejo integrado de suelos	Modificando las características del suelo para beneficio de los organismos antagónicos naturales

Fuente: Acurio (2010, p. 13).

Elaborado por: El Autor

2.1.6.4 Antracnosis.

Según Francisco:

La enfermedad se caracteriza por la presencia de una mancha oscura hendidas de color café en el tallo y en las hojas, el fruto también presenta manchas cafés oscuro a lo largo. En consecuencia, la prevención de la presente enfermedad se enfocará en la regulación de la sombra, eliminando malezas para mejorar la ventilación y evitar la conformación de microclimas que pudieran incrementar la incidencia de estos patógenos (Francisco, 2015, p. 47)

Control.

Evitar encharcamiento, espaciamiento adecuado, usar materia orgánica sana, buena relación luz-sombra, usar rastrojo con lignina. Emplear Químico: como medida preventiva, inoculación en vivero de Fungicidas vegetales: extractos de *swingla* (Francisco, 2015, p. 47).

2.2 Cultivos *in vitro*

2.2.1 Definición.

Es un grupo de técnicas por la cual un explante (parte separada de una planta, por ejemplo: célula, tejido u órgano (Cubero, 2013, p. 355), se cultiva en un medio aséptico y se incuba en un ambiente controlado esta es una de las definiciones más aceptadas (Mroginski & Roca, Cultivos in-vitro, s.f., p. 20).

2.2.2 Objetivos del cultivo *in vitro*.

Según Mroginski y Roca (s.f., p. 20) los objetivos son:

- Estudios básicos fisiología, genética, bioquímica, y ciencias afines
- Bioconversión y producción de compuestos útiles
- Incremento variabilidad genética
- Obtención de plantas libres de patógenos
- Propagación de plantas
- Conversiones e intercambio de germoplasma

2.2.3 Ventajas y desventajas.

De acuerdo a Dubos (2006, p. 4), las ventajas y desventajas *in vitro*, son las siguientes:

Tabla 3. Ventajas y desventajas de la reproducción asexual *in vitro*

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Incremento acelerado de número de plantas derivadas por genotipo.	Alto costo material sofisticado de trabajo.
Reducción del tiempo de multiplicación.	Alto costo inicial de las labores.
Grandes cantidades de plantas en superficies reducidas en tiempos cortos.	La contaminación puede causar grandes pérdidas en poco tiempo.
Facilidad de transporte de un país a otro (menos restricción aduanera).	Se necesita un volumen alto de forma continua en el sistema de distribución de materiales e insumos.
Posibilidad de multiplicar rápidamente una variedad de la cual existían pocos individuos.	Se requiere de mano de obra calificada.

Fuente: Dubos (2006, p. 4).

Elaborado por: El Autor

2.3 Definiciones generales

2.3.1 Explante.

El término explante indica la parte del órgano o tejido vegetal que se cultiva *in vitro*. La complejidad de reproducir las condiciones naturales en condiciones de laboratorio, es un punto influyente en su desarrollo (Cavazos, et al., 2018, p. 183), también se debe añadir en este caso la dificultad de proveer al explante todo lo que obtenía del sistema completo natural. De tal manera, que el cultivo *in vitro* de plantas es una técnica que requiere un control específico del ambiente, tanto físico como químico, en el que se va a situar al explante. Por lo tanto, es importante conocer cuáles son los principales factores que conforman el ambiente propicio para el cultivo y cuáles deberían ser controlados (Castillo , s.f., p. 2).

Además, se debe conocer la procedencia de los explantes para poder describir características morfológicas, que en lo posterior influirá en el regulamiento de condiciones aproximadas a las que se debe aclimatar y desarrollar la planta (Azofeifa, Rivera, Paniagua, & Cordero, 2018, p. 369).

2.3.2 Auxinas.

Según Garay, Sánchez, García y Gutiérrez (2014), las auxinas son hormonas que intervienen durante todo el ciclo de vida de las plantas y son muy interesantes debido a que se distribuyen diferencialmente dentro de los tejidos lo que provoca diferentes procesos morfogenéticos. Sería importante conocer cómo es que la misma molécula puede estimular proliferación, alargamiento y diferenciación en distintos momentos y tejidos durante el desarrollo. Los gradientes de auxinas se establecen por medio del transporte polar, la síntesis y la inactivación de formas bioactivas y la función de las mismas es el resultado de una regulación compleja que incluye:

- La cantidad de auxina biológicamente activa que se encuentra en los tejidos está dada por la expresión diferencial de los genes (Bargmann, et al., 2013, p. 2), tanto en tiempo como en espacio, que codifican para

receptores, transportadores y aquellos que participan en la síntesis de las auxinas

- La capacidad que tiene para formar tanto homo como heterodímeros de las proteínas que intervienen en la vía de transducción de señales lo cual incrementa la combinatoria de las mismas y la regulación de la expresión genética en respuesta a auxinas
- La localización dinámica y polar dentro de la membrana plasmática de algunos de los transportadores de auxinas lo que permite que el flujo de las mismas se ajuste a diferentes condiciones de crecimiento (Flores & Flores, 2018, p. 176).
- Finalmente, la cantidad libre de auxinas que se altera por conjugación y por compartimentalización. El entendimiento de cómo funcionan estos procesos se adaptan para dar una respuesta diferencial de células y tejidos y, además, es uno de los principales retos actuales en el desarrollo de las plantas (Garay, Sánchez, García, Álvarez, & Gutiérrez, 2014, p. 1).

2.3.3 Fenoles.

Los fenoles son compuestos aromáticos que están formados por grupos hidroxilo ligados directamente al anillo aromático y se clasifican en monohidroxílicos, dihidroxílicos, trihidroxílicos; de acuerdo al número de grupos hidroxilo. De manera frecuente los fenoles se nombran como derivados del miembro más sencillo de la familia, que es el fenol. En algunas ocasiones, los fenoles se denominan hidroxicompuestos y los metilfenoles reciben el nombre especial de cresoles (Toasa, 2012, p. 18). Son considerados metabolitos secundarios, existen alrededor de 8000 compuestos distintos en diferentes plantas. Los compuestos fenólicos en Vainilla expelen el aroma intenso dulce que lo caracteriza, además de una actividad antioxidante contra radicales libres (Mendoza, et al., 2016, p. 134).

2.3.4 Protocormo.

Es una masa indiferenciada de células que se produce cuando la semilla germina para mantener sus condiciones normales, el protocormo continuará su crecimiento por varias semanas, meses o incluso años dependiendo de la especie hasta que alcance la edad adecuada para producir raíces y hojas (Gallo, Souza, Milaneze, & Almeida, 2016, p. 70). En el caso de orquídeas terrestres, es muy importante que la relación orquídea-hongo se mantenga durante los primeros meses de vida de la planta debido a que el protocormo enterrado no puede fabricar alimento por su cuenta. Por otro lado, los protocormos de las orquídeas epífitas son generalmente verdes, lo que les facilita producir parte de su alimento. La relación orquídea-hongo no ha sido en su totalidad investigada para el caso de las orquídeas tropicales (Neville, 2001).

2.3.5 Totipotencia.

La totipotencia celular se define como la capacidad que tiene cualquier célula para dar origen a todos los tipos de células diferenciadas de un organismo dado así como la regeneración del mismo, pero también se puede definir como la habilidad de una célula individual de expresar su genoma completo obtenido de las células de donde surgió por división celular (Portillo & Santacruz, 2004, p. 13).

2.3.6 Asepsia.

Es el conjunto de procedimientos que se utilizan para evitar las infecciones de los tejidos en las intervenciones (Majano, 2011, p. 11).

La asociación explante medio y las condiciones físicas en que normalmente se incuban los cultivos conforman un ambiente propicio para la proliferación de microorganismos (bacterias y hongos), los cuales pueden destruir tales cultivos, competir con el explante por el medio de cultivo o modificarlo. Evitar contaminaciones con microorganismos es un aspecto básico que se debe tener en cuenta para el éxito, no solamente en el

establecimiento del cultivo sino en su posterior incubación y manipulación (s.f., p. 21). Representa una ventaja posterior en adaptación de invernadero, evitando el desecho de material vegetal y optimizando los recursos (Rosales, Brenes, Salas, & Arce, 2018, pp. 77-78).

2.3.7 Aminoácidos.

Los aminoácidos son moléculas orgánicas compuestas de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. La metionina y la cistina contienen, además, azufre. Su nombre se debe a los grupos funcionales que contiene: un grupo amino básico (NH₂) y un grupo carboxilo ácido (COOH) unidos a una cadena carbonada (R) (AEFA, 1998, p. 1).

Tomando en cuenta que en la investigación se probaran dos medios y en cada uno diferentes dosis de glutamina a continuación información sobre la misma.

2.3.7.1 Glutamina.

Es un aminoácido que interviene en las reacciones para la asimilación de nitrógeno en la planta. En los tejidos vegetales prácticamente la totalidad del nitrógeno es asimilado por una reacción catalizada por el glutamato sintetasa y un amino transferasa (Andrade & Chaug, 2017, p. 33).

2.3.8 Murashige & Skoog 1962 (MS).

Es un medio de cultivo comúnmente utilizado para cultivos de tejidos vegetales y se ha comprobado que es muy efectivo para el crecimiento y propagación de monocotiledóneas y dicotiledóneas. La fórmula original fue desarrollada mediante estudios nutricionales que necesitan de muestras de tabaco y contienen una alta concentración de sal que la planta tradicional de la fórmula *Knop* o *White*. MS se caracteriza por una gran concentración de nitrato (NO₃) y amonio (NH₄), el incremento de crecimiento es de cinco a siete veces más al compararlo con los medios tradicionales. Gran parte de las alteraciones del medio MS se han desarrollado desde la fórmula original de

1962. Aunque el medio MS fue originalmente desarrollado para el callo del tabaco, cuando el MS es propiamente suplementado a base de sales, puede soportar el crecimiento y la iniciación del callo, el crecimiento de las células en suspensión y la regeneración de brotes y plántulas de muchas especies de plantas. Para las orquídeas es común emplear una versión del MS desarrollada por la casa Sigma, que se llama Phytamax® (Guillén & Castro, 2015, p. 40).

A continuación, un cuadro sobre los componentes del Murashige & Skoog 1962:

Tabla 4. Componentes Murashige & Skoog 1962.

SUSTANCIA	CANTIDAD (g y mg/L)
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
KH ₂ PO ₄	170
CaCl ₂ -2H ₂ O	440
MgSO ₄ -7H ₂ O	370
KI	0.83
H ₂ BO ₃	6.20
MnSO ₄ -4H ₂ O	22.30
ZnSO ₄ -7H ₂ O	8.60
Na ₂ MoO ₄ -2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ -5H ₂ O	0.025
FeSO ₄ -7H ₂ O	27.80
Na ₂ EDTA	37.30
CoCl ₂ -6H ₂ O	0.025
Glicina	2.00
Tiamina- HCl	0.10
Piridoxina- HCl	0.50
Acido nicotínico	0.50
Mioinositol	100.00
Sacarosa	30 000
pH	5.7

Fuente: Mroginski y Roca (s.f., p. 31).

Elaborado por: El Autor

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Localización del ensayo

El Trabajo de Titulación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de propiedad de la Ing. Laura Paris Moreno, Docente de la FETD, ubicado en la ciudad de Guayaquil-parroquia, Pascuales Avda. Narcisa de Jesús (Metrópolis II etapa H, Mz. 1290).

3.2 Caracterización del cultivo

A continuación, se podrán observar ciertas características del cultivo de vainilla en el laboratorio

Caracterización del cultivo de vainilla

- Fecha de compra plantas madre: sábado 6 octubre de 2018
- Edad plantas madre: 6 años
- Variedad utilizada: *Vanilla tahitensis*
- Medio de cultivo utilizado: MURASHIGE & SKOOG 1962

3.3 Materiales

3.3.1 Material biológico.

- Plantas madre
- Reactivo químicamente puro
- Fitohormonas
- Vitaminas
- Agente gelificante

3.3.2 Material técnico.

- Agenda
- Guantes
- Campana de bioseguridad
- Probetas
- Pipetas
- Balanza analítica
- Autoclave

- Agitador magnético
- Refrigerador
- Frascos desecadores
- Mascarilla
- Mandil
- Balanza
- Cajas Petri
- Frascos

3.3.3 Material tecnológico.

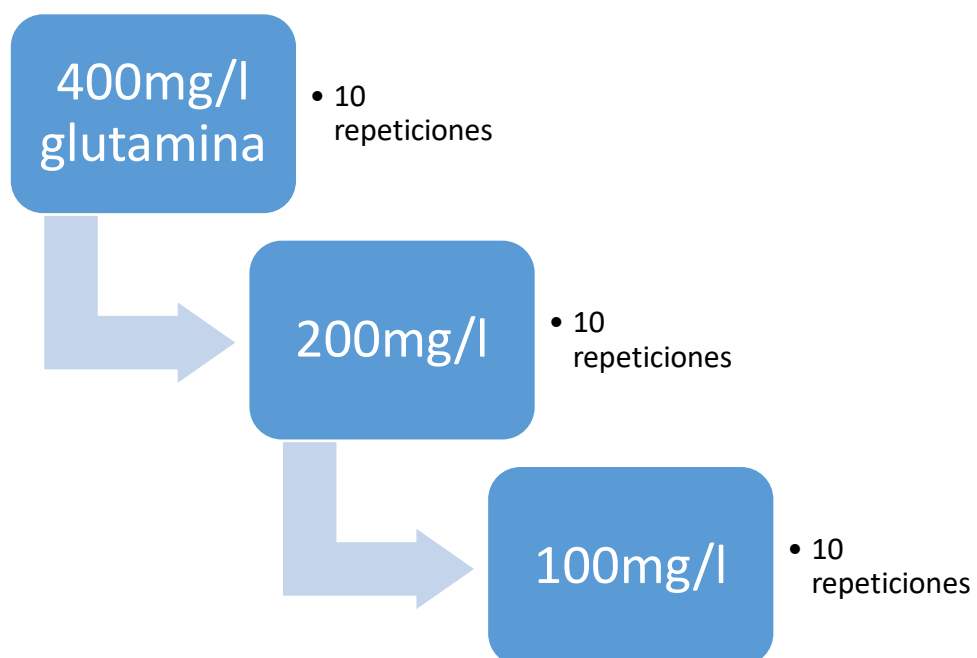
- Computadora
- Cámara Fotográfica
- Cámara de flujo laminar
- Teléfono celular

3.4 Variables a estudiar

- Número de entrenudos
- Color explante
- Número explantes contaminados

3.5 Diseño Experimental

MS & SKOOG 1962 (100 %)



MS & SKOOG 1962 (50 %)

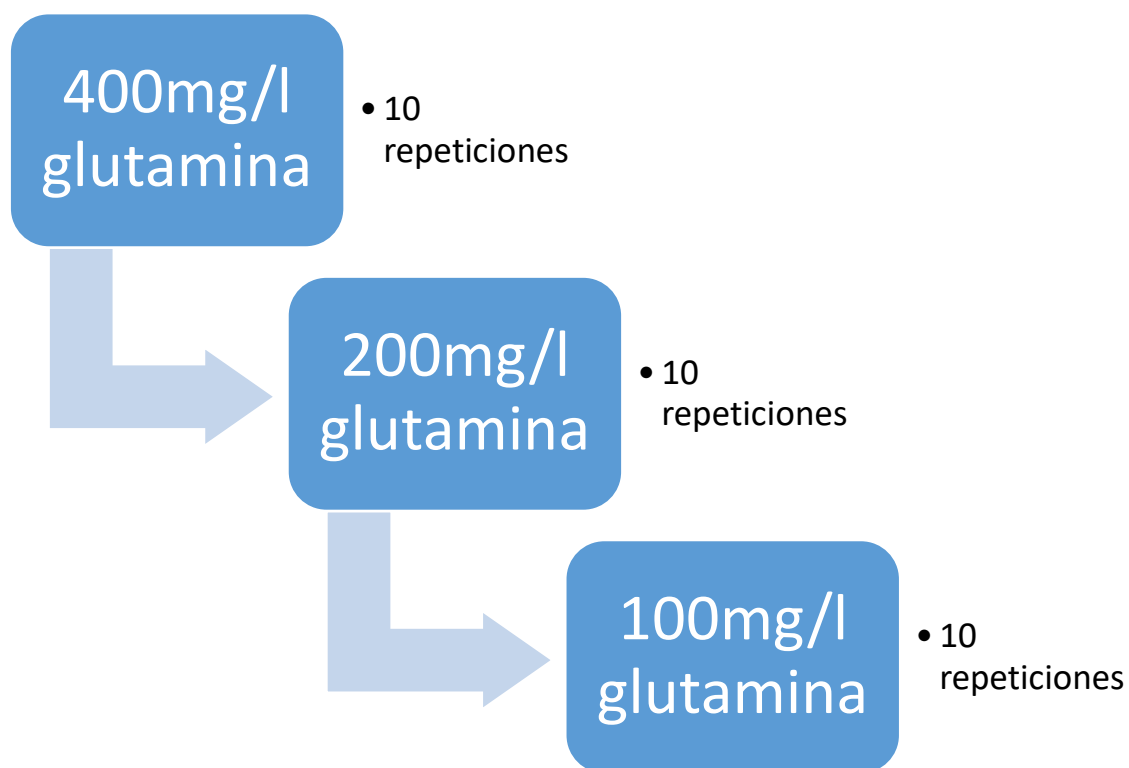


Tabla 5. Modelo de Tabla de las repeticiones realizadas en la concentración de MS al 100 % con tres dosis de glutamina.

Repeticiones	Glutamina (mg)		
	400	200	100
1	x	x	x
2	x	x	x
3	x	x	x
4	x	x	x
5	x	x	x
6	x	x	x
7	x	x	x
8	x	x	x
9	x	x	x
10	x	x	x

Elaborado por: El Autor

Tabla 6. Modelo de Tabla de las repeticiones realizadas en la concentración de MS al 50 % con tres dosis de glutamina

Repeticiones	Glutamina (mg)		
	400	200	100
1	x	x	x
2	x	x	x
3	x	x	x
4	x	x	x
5	x	x	x
6	x	x	x
7	x	x	x
8	x	x	x
9	x	x	x
10	x	x	x

Elaborado por: El Autor

3.7 Metodología

El método utilizado fue el experimental con un enfoque cuantitativo de alcance descriptivo y correlacional en laboratorio, donde se probaron dos factores que son el Murashigue & Skoog al 50 y 100 % con tres dosis de glutamina que son 100, 200 y 400 mg para el desarrollo de las nuevas plántulas de *Vanilla tahitensis* en un ambiente aséptico y controlado.

Donde el objeto de investigación fue la *Vanilla tahitensis* con condiciones ambientales controladas dentro de laboratorio.

El proceso se llevó a cabo a partir de ocho plantas madres de las cuales se obtuvieron las pruebas para la muestra con 60 unidades experimentales y se evaluó el color del explante, número de entrenudos y número de explantes contaminados con método de conteo.

Los factores investigados fueron: el medio de cultivo con tres dosis de glutamina y dos niveles al 50 y 100 % usando un diseño completamente aleatorizado (DCA). La validez interna se logró con la aleatorización del experimento con una significancia estadística de 0.05.

La validación externa se verificó mediante la discusión de los resultados y comparación con los resultados de otros autores. El registro de datos se realizó semanalmente mediante conteos los fines de semana, planillas de medición y seguimiento fotográfico. Se usó un tabulador electrónico (Excel) para el registro de datos y un paquete estadístico para las respectivas pruebas y comparaciones (INFOSTAT)

Se calculó la estadística descriptiva para el cálculo de las medidas de tendencia central y ANDEVA para la determinación de diferencias significativas promedios de los tratamientos y dosis bajo prueba. Se realizaron las respectivas pruebas a posteriori para diferencia entre medios usando la prueba de DUNCAN

Se elaboraron indicadores de los supuestos teóricos de la ANDEVA con resultados en forma de Tablas y figuras.

Las plantas madres fueron obtenidas en Santo Domingo de los Tsáchilas.

Los tratamientos bajo estudio fueron: MS al 100 % y el MS al 50 %

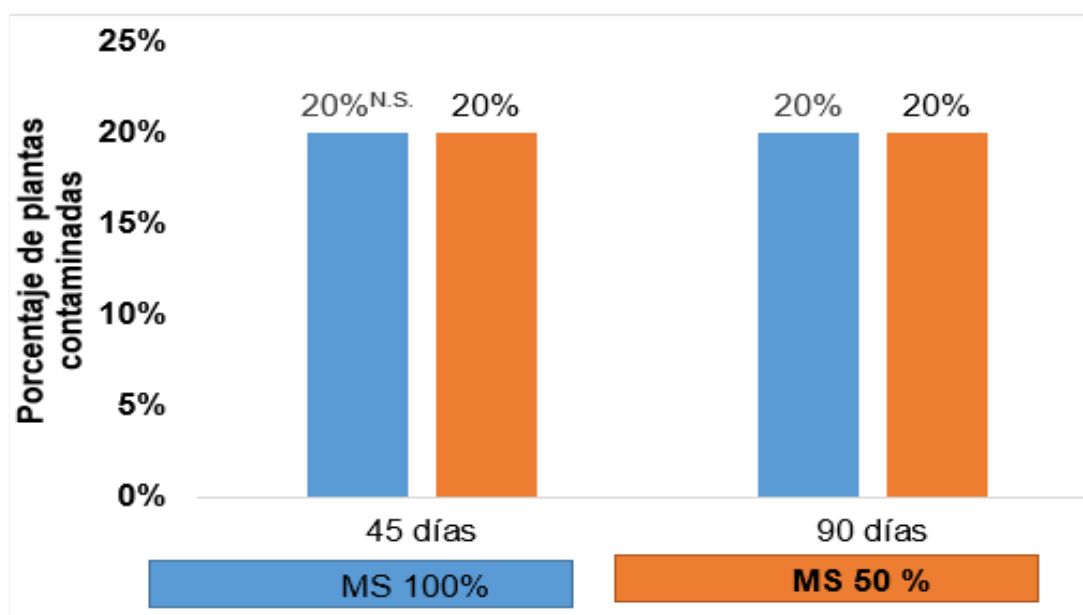
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Explantes contaminados a los 45 y 90 días

De acuerdo a los anexos uno y dos, concentración, dosis e interacción no presentaron significancia estadística entre sus promedios, estadísticamente no presentaron efecto dichos tratamientos sobre esta variable, considerando al nivel de significancia $\alpha=0.5$, el promedio general fue de 20 % y 30 % de explantes contaminados a los 45 y 90 días respectivamente, con un coeficiente de variación de 17.43 y 18.44 % respectivamente.

En la Tabla siete se presentan los promedios de explantes contaminados a los 45 y 90 días. En concentración las dos concentraciones de Murashige y skoog (100 y 50 %) presentaron el mismo porcentaje de plantas contaminadas a los 45 y 90 días con un promedio de 20 %, es decir dos plantas contaminadas una por hongo y la otra por bacteria (Gráfico 2).

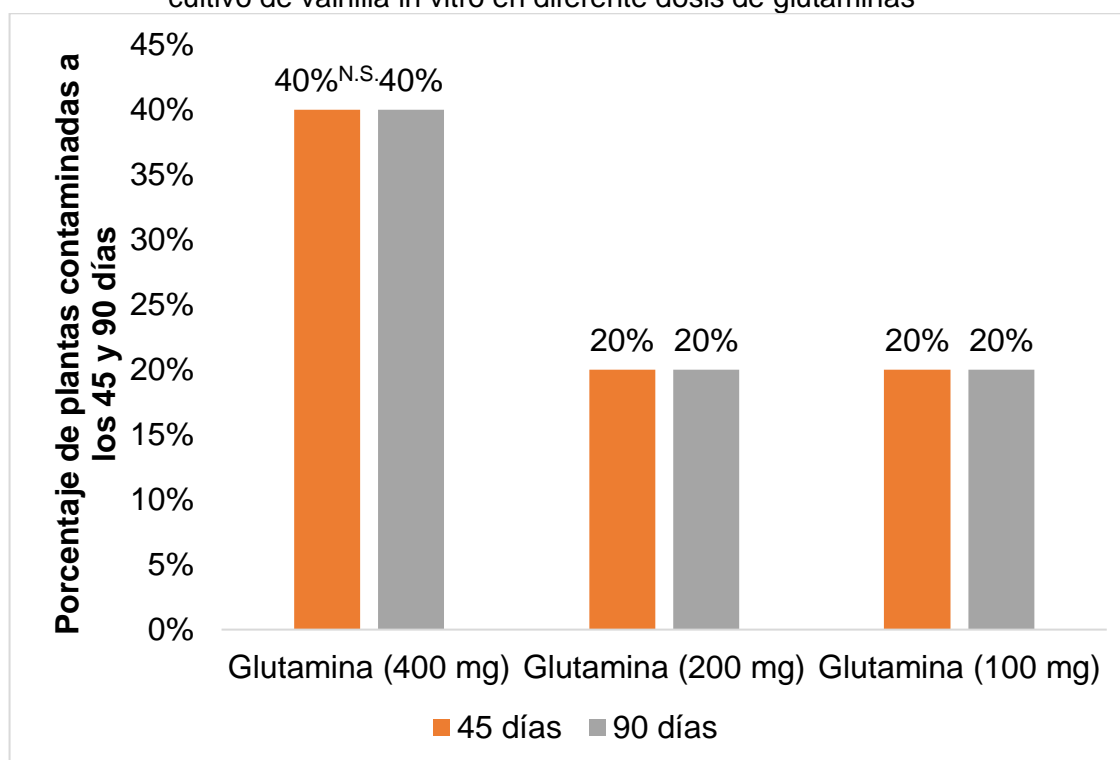
Gráfico 1. Porcentaje de plantas contaminadas evaluadas a los 45 y 90 días en el cultivo de vainilla in vitro en diferentes concentraciones de Murashige y skoog 1962



Elaborado por: El Autor.

En dosis de glutamina la dosis de 400 mg alcanzó el mayor número de explantes contaminados a los 45 y 90 días con un promedio de 40 % (cuatro plantas), tres fueron contaminadas por hongo y una por bacteria, la dosis de 200 y 100 mg de glutamina obtuvieron el menor número de explantes contaminados con un promedio de 20 % respectivamente (Gráfico 2).

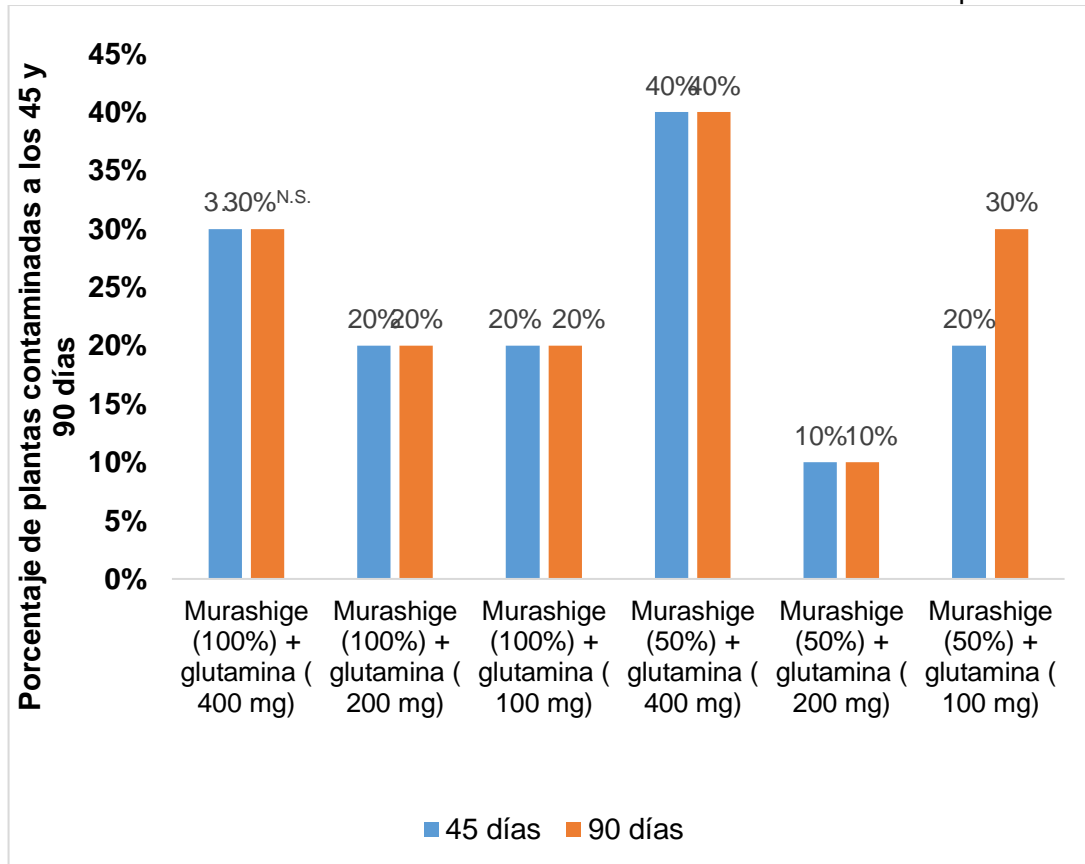
Gráfico 2. Porcentaje de plantas contaminadas evaluadas a los 45 y 90 días en el cultivo de vainilla in vitro en diferente dosis de glutaminas



Elaborado por: El Autor.

El menor porcentaje de explantes contaminados se presentó en la combinación de MS (50 %) + glutamina (200 mg) con un promedio de 10 %, mientras que el tratamiento de MS (50 %) + glutamina (400 mg) presentó el mayor número de explantes contaminados con un promedio de 40 % (Gráfico 3). Resultado que coincide con Menchaca, Ramos, Moreno, Luna, Mata, Vázquez, & Lozano (2011, p. 84), quienes en un experimento realizado en Xalapa (México) mediante la aplicación de Murashige y skoog + glutamina (400 mg) presentaron el menor porcentaje de plantas contaminadas.

Gráfico 3. Porcentaje de plantas contaminadas evaluados a los 45 y 90 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes medios de cultivos asépticos.



Elaborado por: El Autor

Tabla 7. Promedio de explantes contaminados a los 45 y 90 días determinadas en el cultivo de vainilla in vitro en diferentes medios de cultivos asépticos.

Factores e interacción	Explantes contaminados a los 45 días	Explantes contaminados a los 90 días
Concentración de Murashige y skoog (%)		
100	20 % ^{N.S.1/}	20 % ^{N.S.}
50	20 %	20 %
Dosis de glutamina (mg)		
400	40 % ^{N.S.}	40 % ^{N.S.}
200	20 %	20 %
100	20 %	20 %
Interacción (concentración x dosis)		
MS(100%) + glutamina (400 mg)	30 % ^{N.S.}	30 % ^{N.S.}
MS (100%) + glutamina (200 mg)	20 %	20 %
MS (100%) + glutamina (100 mg)	20 %	20 %
MS (50%) + glutamina (400 mg)	40 %	40 %
MS (50%) + glutamina (200 mg)	10 %	10 %
MS (50%) + glutamina (100 mg)	20 %	30 %
x	20	30
C.V (%)	17.43	18.44

1/. Valore(s) señalado(s) con la(s) misma(s) letra(s) no difieren estadísticamente entre sí (Duncan α 0,05); N.S. No Significativo.

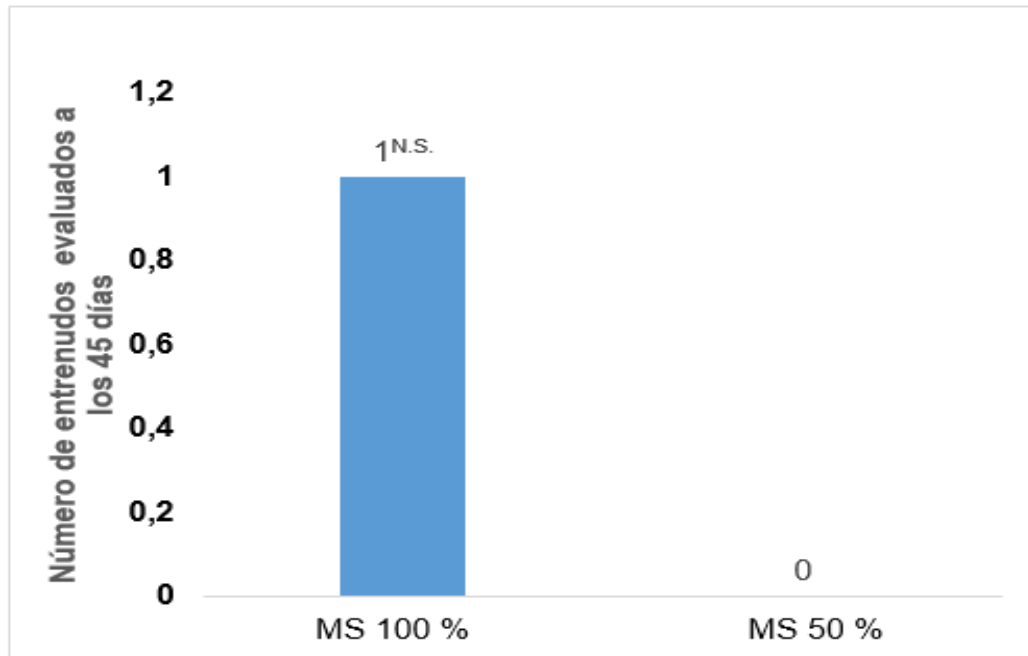
Elaborada por: El Autor.

4.2 Número de entrenudos a los 45 y 90 días

De acuerdo con las Tablas tres y cuatro de los anexos, concentración, dosis e interacción no alcanzaron significancias estadísticas entre sus promedios a los 45 y 90 días, dichos tratamientos no ejercieron ningún efecto estadístico sobre el número de entrenudos, considerando al nivel de significancia $\alpha=0.5$, presentó un coeficiente de variación de 14.14 y 10.01 % respectivamente, su promedio general fue de 0 y un entrenudo respectivamente.

Los promedios de número de entrenudos se presentan en la Tabla seis, la concentración de Murashige y Skoog al 100 % presentó el mayor número de entrenudo a los 45 días con un promedio de 1 explante, mientras que en la concentración al 50 % no reportó ningún entrenudo (Gráfico 4).

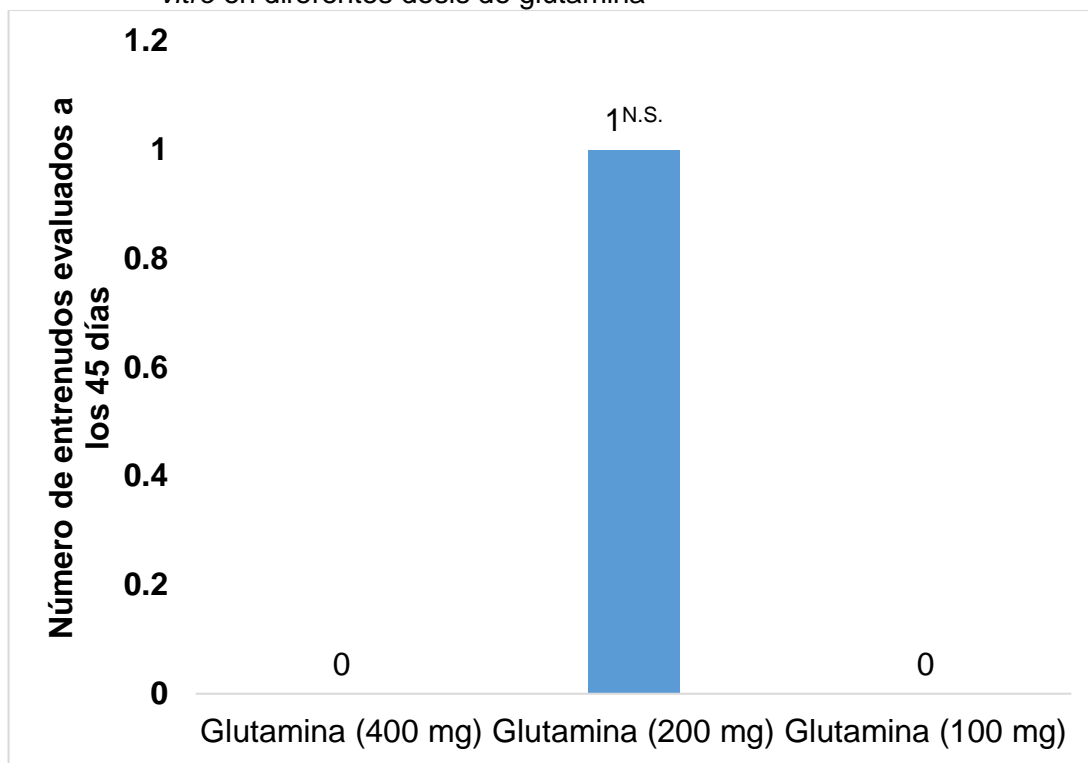
Gráfico 4. Número de entrenudos evaluados a los 45 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes concentraciones de Murashige y Skoog.



Elaborado por: El Autor.

La glutamina en dosis de 200 mg alcanzó el mayor número de entrenudos por explante con un promedio de un entrenudo, a diferencias de las dosis de 400 y 100 mg de glutamina que no presentaron entrenudos (Gráfico 5).

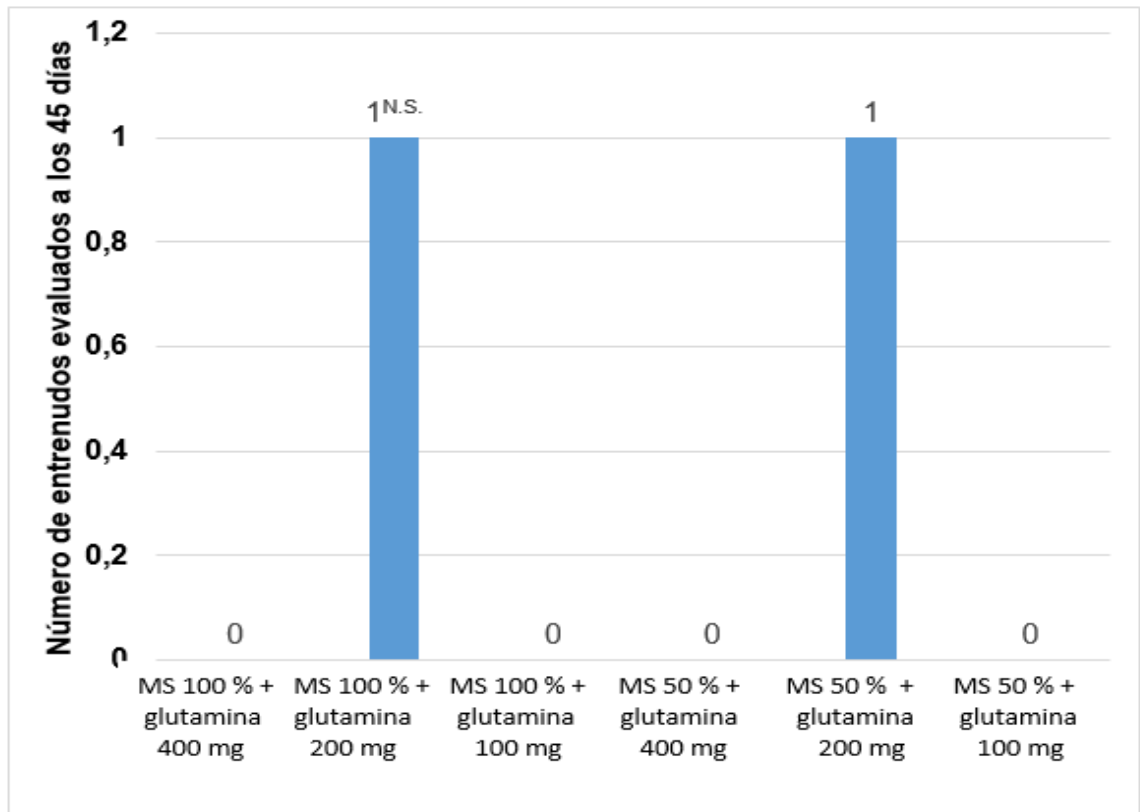
Gráfico 5. Número de entrenudos evaluados a los 45 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes dosis de glutamina



Elaborado por: El Autor.

La interacción entre MS (100 %) + glutamina (200 mg) y MS (50 %) + glutamina (200 mg) reportaron entrenudos con un promedio de un entrenudo, a diferencia de las demás interacciones que no obtuvieron entrenudos (Gráfico 6).

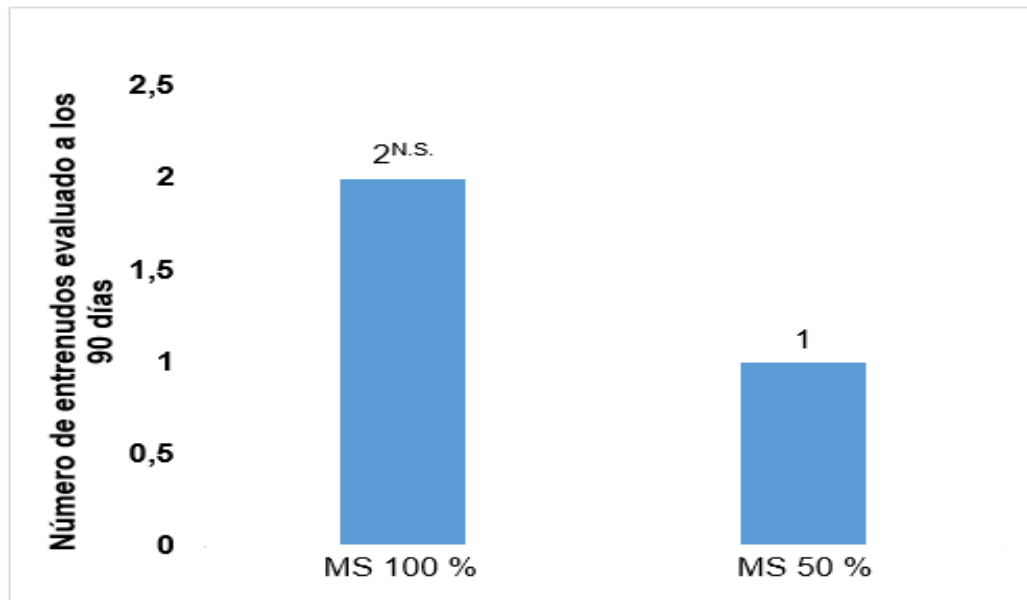
Gráfico 6. Número de entrenudos evaluados a los 45 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes medios de cultivos asépticos.



Elaborado por: El Autor.

La evaluación del número de entrenudos a los 90 días nos indica que la concentración de MS al 100 % alcanzó el mayor número de entrenudos con un promedio de dos entrenudos, mientras que la concentración al 50 % alcanzó el menor número de entrenudo con un promedio de un entrenudo (Gráfico 7). Resultado que coincide con Guillén & Castro (2015, p.4) quien manifiesta que el medio de cultivo Murashige y skoog, permite el crecimiento de las células en suspensión, la regeneración de brotes y plántulas, desarrollo de entrenudos en muchas especies.

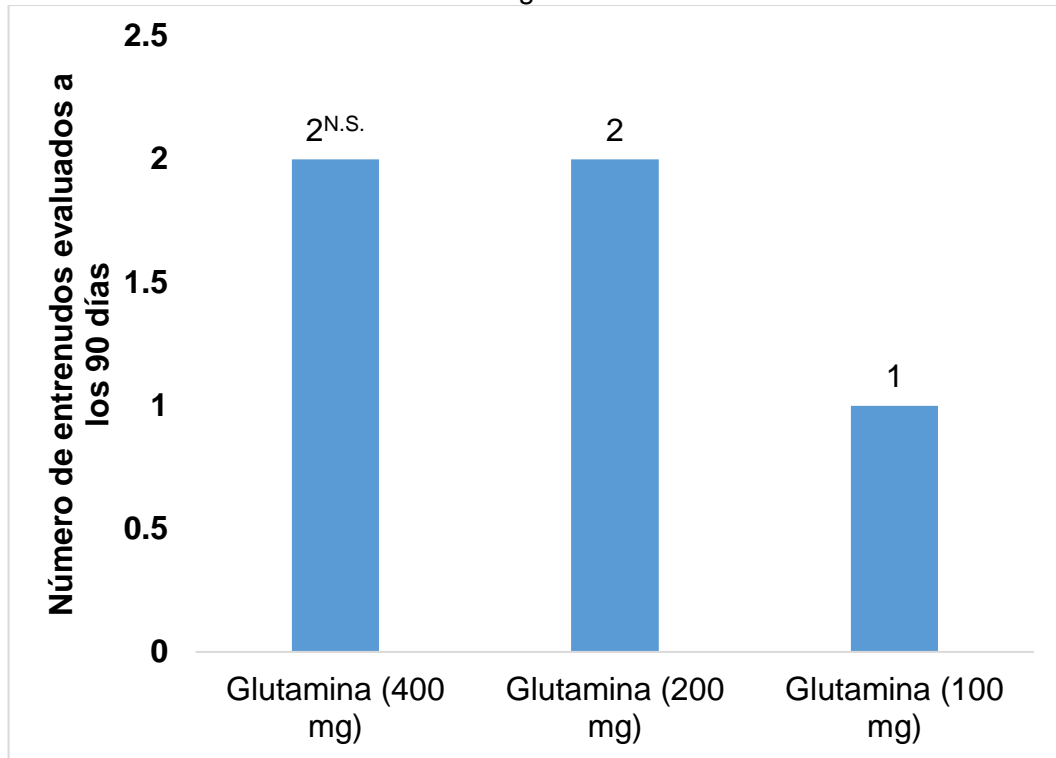
Gráfico 7. Número de entrenudos evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes concentraciones de MS.



Elaborado por: El Autor.

La dosis de glutamina de 400 y 200 mg generaron el mayor promedio de entrenudos con dos entrenudos, diferente de la dosis de 100 mg que reportó el menor número de entrenudos con un promedio de un entrenudo (Gráfico 8). Resultado que coincide con Andrade & Chaung (2017, p.33) quien manifiesta que la glutamina es un aminoácido que interviene en la asimilación de nitrógeno favoreciendo la división celular, generando la emisión de entrenudos.

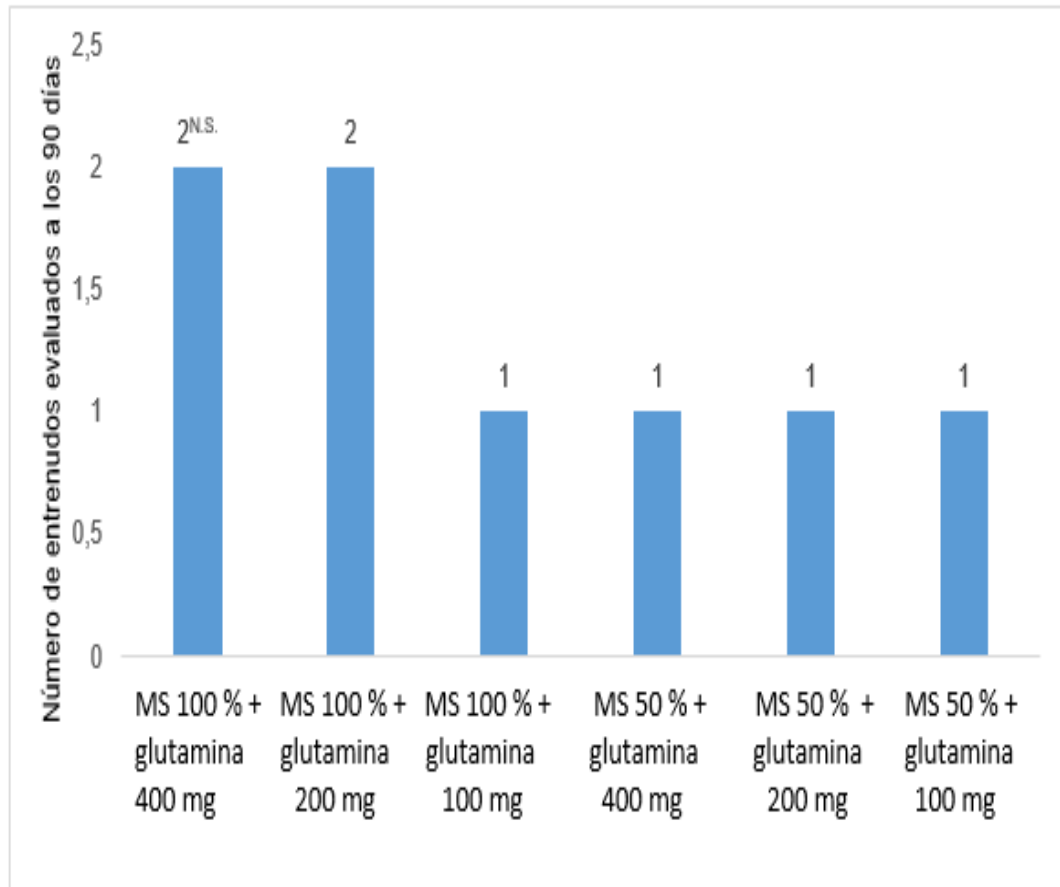
Gráfico 8. Número de entrenados evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes dosis de glutamina.



Elaborado por: El Autor

La interacción de MS (100 %) + glutamina (400 mg) y MS (100 %) + glutamina (400 mg) obtuvieron el mayor promedio de entrenado de dos, las demás interacciones presentaron el menor número de entrenados con un entrenado (Gráfico 9).

Gráfico 9. Número de entrenudos evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes medios de cultivos asépticos.



Elaborado por: El Autor

Tabla 8. Promedio de número de entrenudos a los 45 y 90 días determinados en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes medios de cultivos asépticos. 2019.

Factores e interacción	Número de entrenudos a los 45 días	Número de entrenudos a los 90 días
Concentración de MS (%)		
100	1 ^{N.S.1/}	2 ^{N.S.}
50	0	1
Dosis de glutamina (mg)		
400	0 ^{N.S.}	2 ^{N.S.}
200	1	2
100	0	1
Interacción (concentración x dosis)		
MS (100%) + glutamina (400 mg)	0 ^{N.S.}	2 ^{N.S.}
MS (100%) + glutamina (200 mg)	1	2
MS (100%) + glutamina (100 mg)	0	1
MS (50%) + glutamina (400 mg)	0	1
MS (50%) + glutamina (200 mg)	1	1
MS (50%) + glutamina (100 mg)	0	1
x	0	1
C.V (%)	14.14	10.01

1/. Valore(s) señalado(s) con la(s) misma(s) letra(s) no difieren estadísticamente entre sí (Duncan α 0,05); N.S. No Significativo.

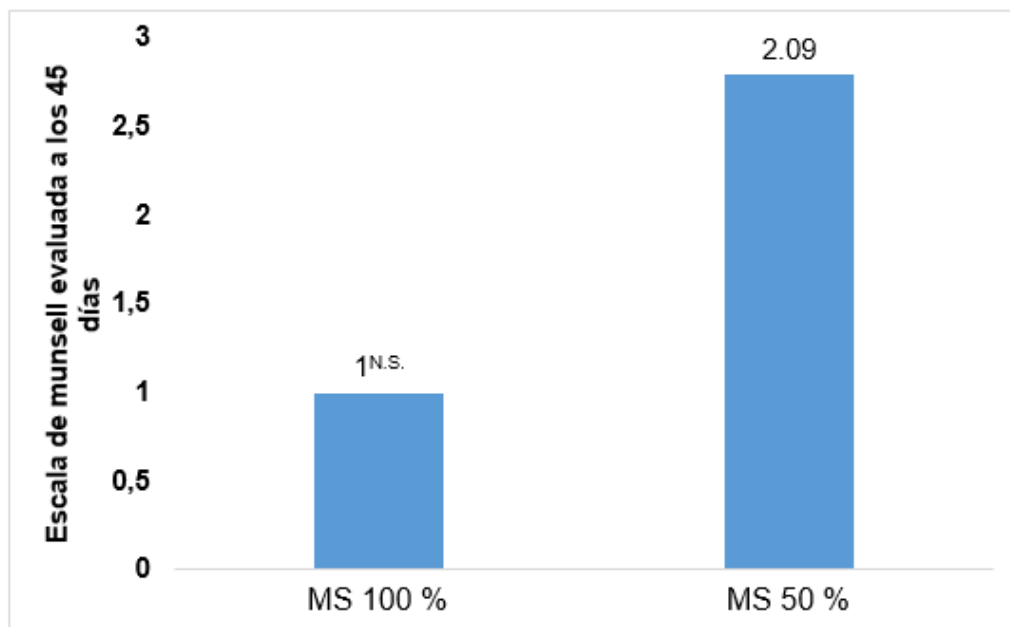
Elaborado por: El Autor.

4.3 Color de explante a través de la escala de Munsell a los 45 y 90 días.

De acuerdo con el Anexo cinco concentraciones, dosis de glutamina e interacción no obtuvieron significancias estadísticas entre sus promedios, no hubo ningún efecto significativo de las concentraciones de MS, dosis de glutamina y la interacción de ambas sobre esta variable, considerando al nivel de significancia $\alpha=0.5$. El promedio general de esta variable fue de 2.81, con un coeficiente de variación de 8.66 %.

En la Tabla nueve se visualizan los promedios del color de los explantes mediante la escala de Munsell a los 45 días. La concentración de MS al 50 % alcanzó el mayor valor en la escala de Munsell con un promedio de 2.09, mientras que la concentración al 100 % presentó el menor valor en la escala de Munsell con 1.0 a los 45 días (Gráfico 10).

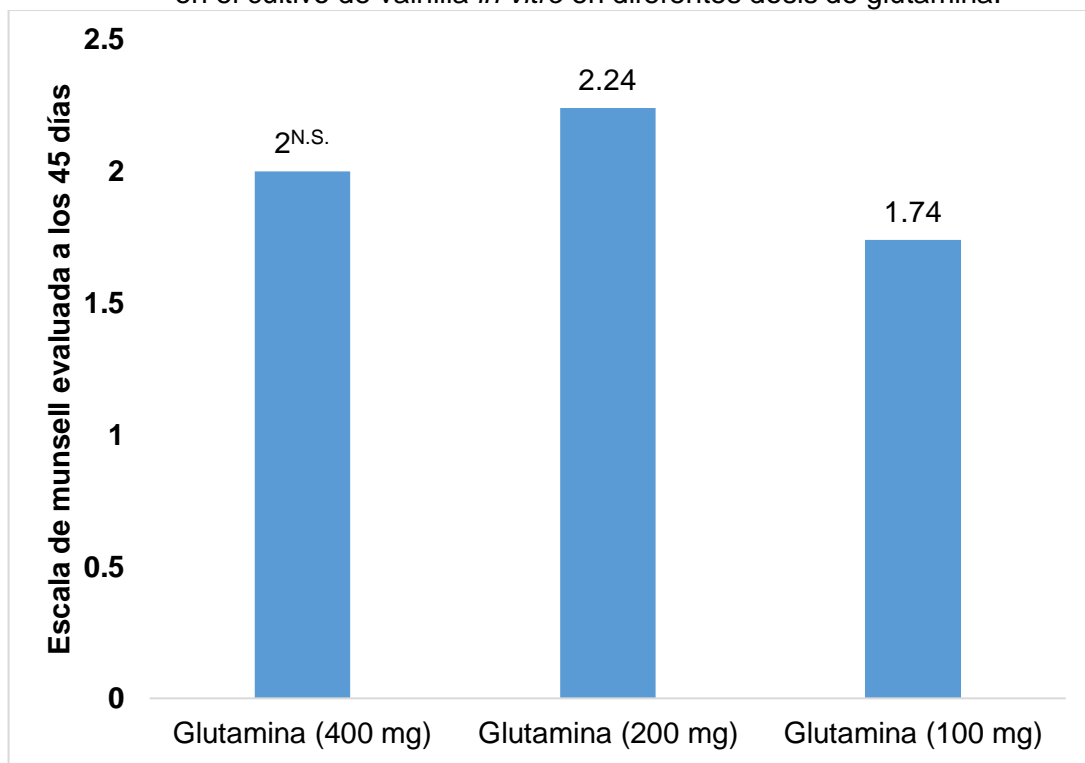
Gráfico 10. Color de explantes mediante la escala de Munsell a los 45 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes concentraciones de MS.



Elaborado por: El Autor.

La dosis de 200 mg de glutamina alcanzó el mayor valor en la escala de Munsell con un promedio de 2.24, a diferencia de la dosis de 100 mg que presentó el menor valor en la escala de Munsell con un promedio de 1.74 (Gráfico 11).

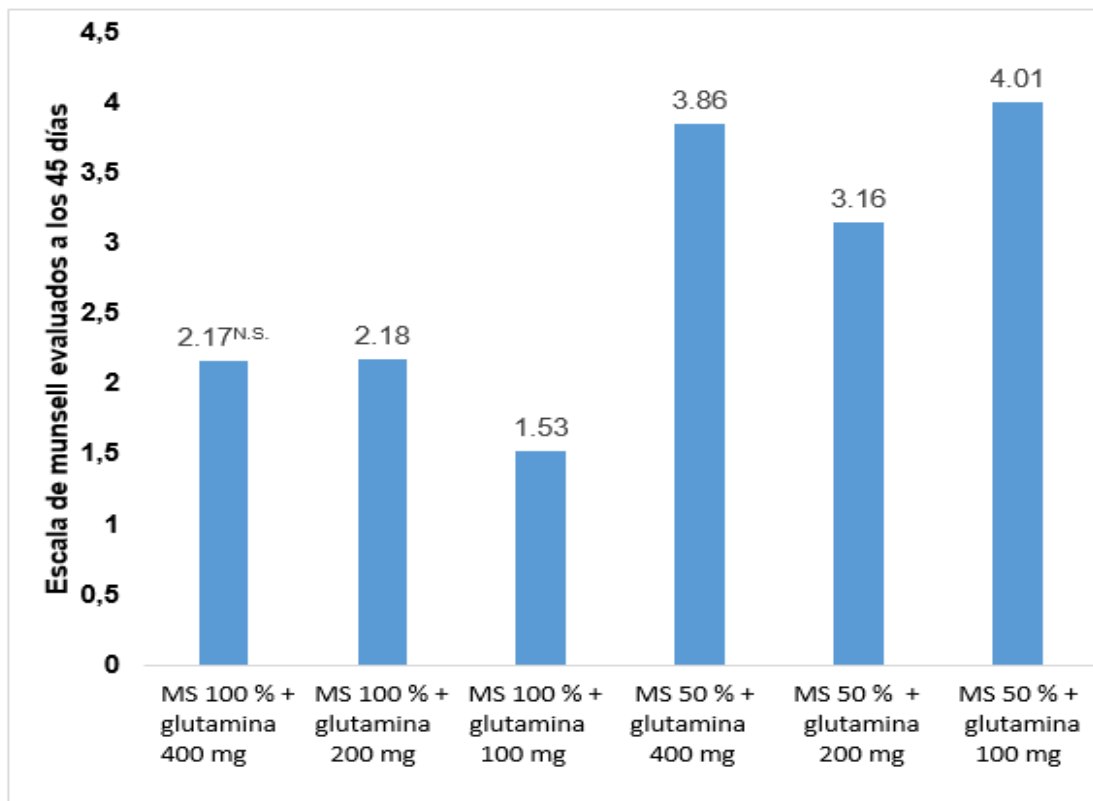
Gráfico 11. Color de explante mediante la escala de Munsell evaluados a los 45 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes dosis de glutamina.



Elaborado por: El Autor.

La interacción de MS (50 %) + glutamina (100 mg) presentó un mayor valor en la escala de Munsell con un promedio de 4.01, la aplicación de MS (100 %) + glutamina (100 mg) reportó la menor escala de Munsell del explante con un promedio de 1.53 (Gráfico 12).

Gráfico 12. Color de explante mediante la escala de Munsell evaluados a los 45 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes medios de cultivos asépticos.

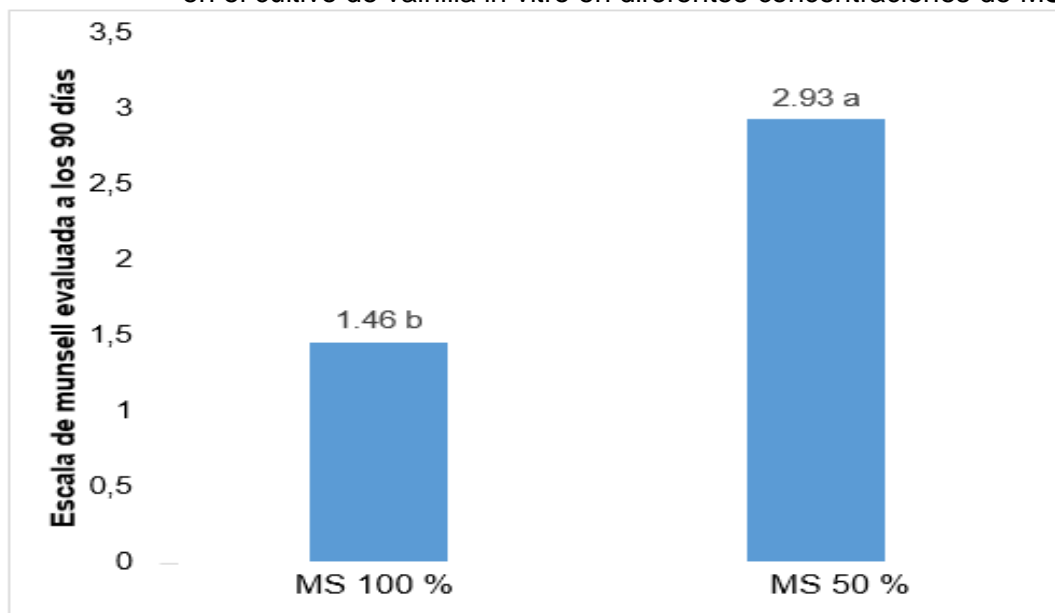


Elaborado por: El Autor.

En el Anexo 6, se aprecia que concentración presentó significancia estadística, que al realizar la prueba de Duncan al 5 % de probabilidad se determinó dos rangos de significancia (a y b), a diferencia de dosis de glutamina e interacción no alcanzaron significancias estadísticas entre sus promedios, no tuvieron efectos los tratamientos en esta variable, desde el punto de vista estadístico, con un coeficiente de variación de 7.38 % y un promedio de 3.30.

La concentración al 50 % de Murashige y Skoog presentó el mayor valor de la escala de Munsell con 2.93 difiere estadísticamente de la concentración de Murashige y Skoog al 100 % obtuvo la menor escala con 1.46 (Gráfico 13).

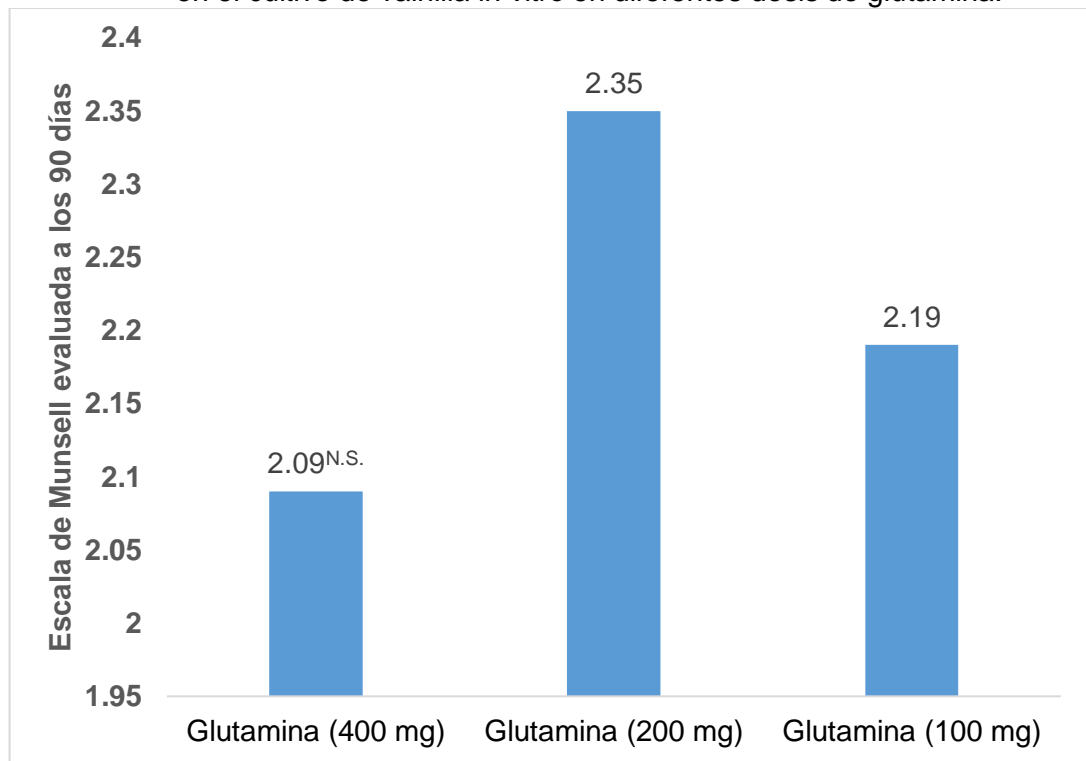
Gráfico 13. Color de explante mediante la escala de Munsell evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla in vitro en diferentes concentraciones de MS.



Elaborado por: El Autor.

La dosis de 200 mg de glutamina reportó el mayor valor dentro de la escala de Munsell con 2.35, el menor valor dentro de la escala fue para la dosis de 400 mg con 2.09 (Gráfico 14).

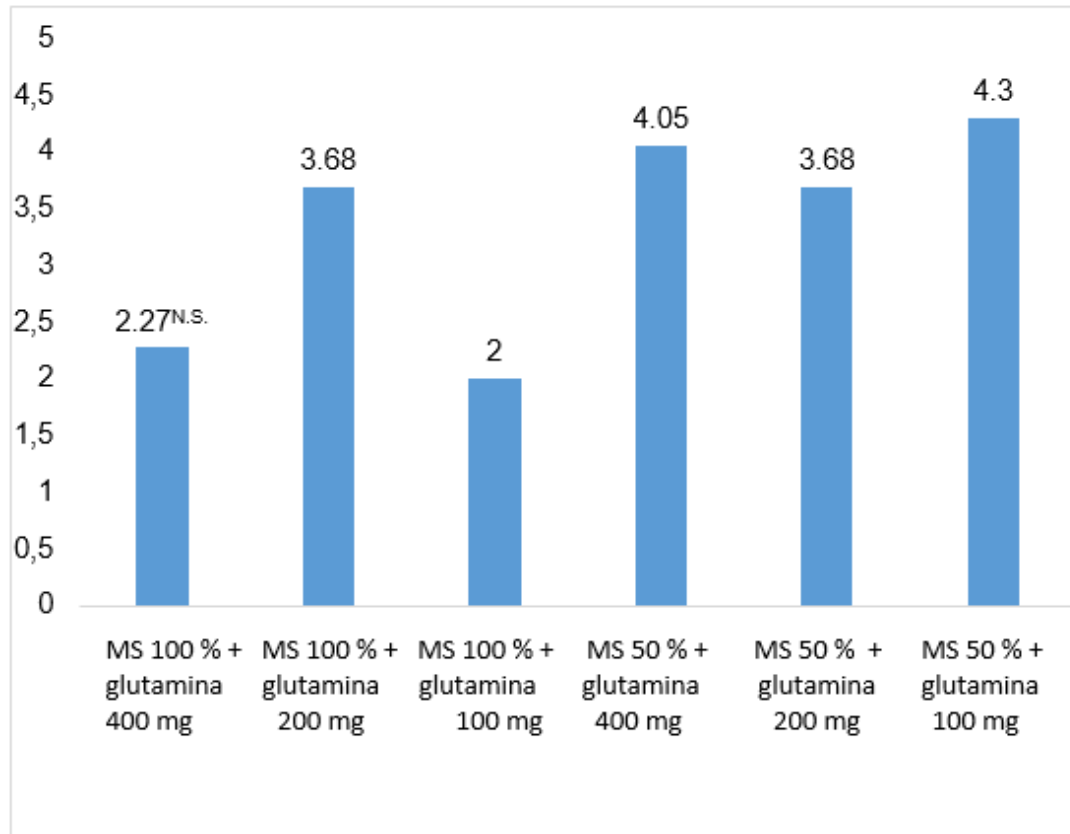
Gráfico 14. Color de explante mediante la escala de Munsell evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes dosis de glutamina.



Elaborado por: El Autor.

La interacción de MS (50 %) + glutamina (100 mg) alcanzó el valor mayor con un promedio de 4.30 dentro de la escala de Munsell, el valor menor de se presentó con la aplicación de MS (100 %) + glutamina (100 mg) con un promedio de 2.00 (Gráfico 15).

Gráfico 15. Color de explante mediante la escala de Munsell evaluados a los 90 días en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes medios de cultivos asépticos.



Elaborado por: El Autor.

Tabla 9. Promedio de color de explante a los 45 y 90 días determinados en el cultivo de vainilla *in vitro* en diferentes medios de cultivos asépticos.

Factores e interacción	Color de explante en escala de Munsell a los 45 días	Color de explante en escala de Munsell a los 90 días
Concentración de Murashige y skoog (%)		
100	1 ^{N.S.1/}	1.46b
50	2.09	2.93a
Dosis de glutamina (mg)		
400	2.0 ^{N.S.}	2.09 ^{N.S.}
200	2.24	2.35
100	1.74	2.19
Interacción (concentración x dosis)		
MS (100 %) + glutamina (400 mg)	2.17 ^{N.S.}	2.27 ^{N.S.}
MS (100 %) + glutamina (200 mg)	2.18	3.68
MS (100 %) + glutamina (100 mg)	1.53	2.00
MS (50 %) + glutamina (400 mg)	3.86	4.05
MS (50 %) + glutamina (200 mg)	3.16	3.68
MS (50 %) + glutamina (100 mg)	4.01	4.30
x	2.81	3.30
C.V (%)	8.66	7.38

1/. Valore(s) señalado(s) con la(s) misma(s) letra(s) no difieren estadísticamente entre sí (Duncan α 0,05); N.S. No Significativo.

Elaborado por: El Autor.

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

1. La concentración de Murashige y Skoog al 100 % permitió el mayor desarrollo del cultivo de vainilla.
2. La dosis de 400 mg y 200 mg de glutamina obtuvieron los mejores resultados en el desarrollo y formación de entrenudos en la vainilla por lo tanto la interacción de Murashige y Skoog al 100 % con dosis de 200 mg de glutamina es la más recomendada basada en los resultados de esta investigación.

5.2 Recomendaciones

1. Se recomienda el uso de Murashige & skoog 1962 al 100 % como medio de cultivo más glutamina en dosis de 200 mg para el desarrollo de las plantas de vainillas *in vitro*.
2. Verdadero control en el proceso de manipulación de materiales ya que un pequeño descuido puede afectar a todos los explantes inoculados y perder esa producción.
3. Realizar ensayos similares de Murashige y Skoog con glutamina en otros cultivos.
4. Continuar realizando toma de datos a los 180 días para verificar la formación de entrenudos.

BIBLIOGRAFÍA

- Acurio. (2010). *Control Fusarium oxysporum*. Recuperé sur <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1868/1/tesis-010%20Gesti%C3%B3n%20de%20la%20prod.%20de%20flores%20y%20Frut.....pdf>
- AEFA. (1998). *Definición aminoácidos, asociación española de fabricantes de agronutrientes*. Recuperé sur <https://aefa-agronutrientes.org/los-aminoacidos-y-su-interaccion-con-los-vegetales>
- Andrade, E., & Chaug, J. (2017). *GLUTAMINA*. Recuperé sur <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/9074/1/T-UCSG-PRE-MED-NUTRI-336.pdf>
- Azofeifa, J., Rivera, G., Paniagua, A., & Cordero, R. (2018). Respuestas morfogénicas de plantas in vitro y esquejes de *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) durante el desarrollo inicial del cultivo en invernadero y en sistemas agroforestales. *Cuadernos de Investigación UNED*, 10(2), 368-378. doi:<https://dx.doi.org/10.22458/urj.v10i2.1995>
- Bargmann, B., Vanneste, S., Krouk, G., Nawy, T., Efroni, I., Shani, E., . . . Birnbaum, K. (2013). A map of cell type-specific auxin responses. *Molecular Systems Biology*, 9, 1-13. doi:10.1038/msb.2013.4
- Castillo, A. (s.f.). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. Recuperé sur <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>

Cavazos, J., Santos, J., Alvarado, O., Rodríguez, H., Moreno, G., & Ojeda, M. (2018). Propagación clonal de dos cultivares adultos de vid (*Vitis vinifera* L.) para su conservación in vitro. *Polibotánica*, 45, 181-190. doi:<https://dx.doi.org/10.18387/polibotanica.45.13>

CONAIBO. (2006). *Generalidades de la vainilla*. Recuperé sur <https://www.biodiversidad.gob.mx/usos/alimentacion/vainilla.html>

Cubero, I. (2013). *Introducción a la mejora genética vegetal* (3era ed.). Madrid, España: Mundi-Prensa Libros. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=qwoDwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Introducci%C3%B3n+a+la+mejora+gen%C3%A9tica+vegetal&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiL0byNuJPgAhWidd8KHTCbCQcQ6AEIKDAA#v=onepage&q=Introducci%C3%B3n%20a%20la%20mejora%20gen%C3%A9tica%20vegetal>

Díaz, D. (2016). *Taxonomía de la vainilla*. Recuperé sur <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17067/1/Diana%20Maricela%20D%C3%ADaz%20Paillacho.pdf>

Dubos, R. (2006). *Establecimiento in vitro de diferentes especies y genotipos del género Rhododendron mediante el uso de técnicas de micropropagación*. Recuperé sur <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2006/fad817e/doc/fad817e.pdf>

FERNATURA. (2011). *Chinche rojo*. Obtenido de Goncalvez, J (2018). Nutrientes necesarios para las plantas

- Flores, A., Reyes, D., Jimenez, D., Romero, O., Rivera, J., Huerta, M., & Pérez, A. (2017). Diversidad de Vanilla spp. (Orchidaceae) y sus perfiles bioclimáticos en México. *Revista de Biología Tropical*, 65(3), 975-987. doi:<https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v65i3.29438>
- Flores, E., & Flores, R. (2018). Estabilidad de Antocianinas, Fenoles totales y Capacidad Antioxidante de Bebidas de Maíz Morado (*Zea mays* L.) y Uña de Gato (*Uncaria tomentosa* sp). *Información tecnológica*, 29(2), 175-184. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-0764201800020017>
- Francisco, J. (2015). Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro. *El Cultivo de la Vainilla y sus principales Plagas*. Buenavista, México.
- Gallage, N., & Lindberg, B. (2015). Vanillin–Bioconversion and Bioengineering of the Most Popular Plant Flavor and Its De Novo Biosynthesis in the Vanilla Orchid. *Molecular Plant*, 8(1), 40-57. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.008>
- Gallo, F., Souza, L., Milaneze, M., & Almeida, O. (2016). Estructura de semillas y desarrollo de plántulas in vitro de ciertas especies de Laeliinae (Orchidaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(1), 68-73. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.rmb.2016.01.005>
- Garay, A., Sánchez, M., García, B., Álvarez, E., & Gutiérrez, C. (2014). La Homeostasis de las Auxinas y su importancia en el Desarrollo de Arabidopsis Thaliana. *Revista de Educación Bioquímica.*, 33(1).
 Recuperé sur http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-19952014000100003

Goncalvez, J. (2018). *Nutrientes necesarios para las plantas*. Obtenido de [/TT%20GONCALVEZ%2001-03-18%20\(1\).pdf](#)

Guillén, S., & Castro, V. (2015). *Evaluación del crecimiento in vitro de plantulas de orquídea dacyglossumedwardi en medios de cultivo simples con suplementos orgánicos frente a medio de cultivo murashige y skoog modificado como testigo (Bachelor's thesis)*. Recuperé sur <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/23175/1/tesis.pdf>

Haifa Gruop. (s.f.).

Hernández, J., & Sánchez, S. (2011). Producción de planta de calidad de vainilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson). *Instituto Nacional de investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias*, 1-32. Retrieved from <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/3177/ProducciondePlantadeCalidaddeVainilla.pdf?sequence=1>

Hernández, J., Herrera, B., Delgado, A., Salazar, V., Bustamante, A., Campos, J., & Ramírez, J. (2015). Distribución potencial y características geográficas de poblaciones silvestres de *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) en Oaxaca, México. *Revista de Biología Tropical*, 64(1), 235-246. doi:10.15517/rbt.v64i1.17854

INIFAP. (2011). *Requerimientos agroecológicos*. Obtenido de www.inifap.gob.mx/Documents/inicio/paquetes/vainilla_establecimiento.pdf

- Jiménez, K., Schmidt, A., Quesada, K., & Moreira, I. (2015). Aislamiento de una bacteria endófitas de vainilla (*Vanilla planifolia*) con actividad biocontroladora in vitro contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vanillae*. *Tecnología en Marcha*, 28(2), 116-125. Retrieved from http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/2338/2127
- Kelso, H., Sánchez, S., & Reyes, D. (2012). Estimación in situ del KCini de la vainilla (*Vanilla planifolia* A). *Agrociencia*, 46(5). Récupéré sur http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952012000500007
- Khoyratty, S., Kodja , H., & Verpoorte, R. (2018). Vanilla flavor production methods: A review. *Industrial Crops & Products*, 125(1), 433-442. doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.028>
- Majano. (2011). *Asepsia*. Récupéré sur <http://repositorio.unan.edu.ni/7119/1/t620.pdf>
- Mendoza, M., García, O., Jiménez, M., Calva, E., & Jiménez, V. (2018). Microencapsulation of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) and powder characterization. *Powder Technology*, 323(1), 416-423. doi:<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.10.035>
- Mendoza, N., Muñoz, A., Morales, M., Pezzat, E., Ita, M., Reyes, D., . . . Lara, E. (2016). Evaluación de la concentración de compuestos fenólicos en extractos de *Vanilla* spp. *Memorias 1er Congreso de Biotecnología y Química Aplicada*, 1(1), 133-137.
- Mroginski, & Roca. (s.f.). *Cultivos in-vitro*. Récupéré sur <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Cultivo%20de%20Tejidos%20en%20la%20Agricultura/capitulo2.pdf>

- Mroginski, & Roca. (s.f.). *Establecimiento de cultivos vegetales in-vitro*.
 Recuperé sur
<http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Cultivo%20de%20Tejidos%20en%20la%20Agricultura/capitulo2.pdf>
- Neville, E. (2001). *Manual para la germinación in vitro de las orquídeas*.
 Obtenido de <http://www.grancanariaweb.com/edgar/orquidea/vitro.htm>
- Portillo, L., & Santacruz, F. (2004). *Totipotencia celular: Una revisión y aplicación del concepto*. Recuperé sur
http://www.floradejalisco.cucba.udg.mx/sites/default/files/publicaciones1/page_scientia_cucba/scientia_1.pdf#page=17
- Quijano, A., Martín, R., Cauchi, A., & Montejo, E. (2017). Hongos fitopatógenos asociados a enfermedades en orquídeas cultivadas en la península de Yucatán. *Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C*, 9, 203-208. Retrieved from
https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2017/2017-11-09-Martin-Mex-Hongos-fitopatogenos.pdf
- Ramírez, M., Iglesias, L., & Luna, I. (2017). Light quality affects growth and development of in vitro plantlet of Vanilla. *South African Journal of Botany*, 109, 288-293. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2017.01.205>
- Rosales, C., Brenes, J., Salas, K., & Arce, S. (2018). Micropropagation of *Stevia rebaudiana* in temporary immersion systems as an alternative horticultural production method. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 24(1), 69-84. doi:10.5154/r.rchsh.2017.08.028

- SAGARPA. (2011). *Fusarium oxysporum*. Obtenido de www.inifap.gob.mx/Documents/inicio/paquetes/vainilla_establecimiento.pdf
- Smykal, V., Bajgar, A., Provaznik, J., Fexova, S., Buricova, M., Takaki, K., . . . Jindra, M. (2014). Juvenile hormone signaling during reproduction and development. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45, 69-76. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ibmb.2013.12.003>
- Soto, AMO, Instituto Chinoín. (2009). *Recopilación y análisis de la información existente sobre las especies mexicanas del género Vanilla*. Recuperé [sur https://www.biodiversidad.gob.mx/genes/centrosOrigen/Vanilla/Proyecto/Proyecto%20Vanilla.pdf](https://www.biodiversidad.gob.mx/genes/centrosOrigen/Vanilla/Proyecto/Proyecto%20Vanilla.pdf)
- Toasa, F. (2012). *Validación de los métodos de ensayo para fenoles, tensoactivos, sólidos suspendidos y total de sólidos disueltos*. Recuperé [sur a partir de http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/894/1/T-UCE-0017-19.pdf](http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/894/1/T-UCE-0017-19.pdf)
- Vargas, J., & Gámez, H. (2014). Producción de vainilla en tres sistemas de producción en la Sierra Huesteca Potosina. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*, 1-31. Retrieved from http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/4248/010208327100070899_CIRNE.pdf?sequence=1

Velázquez, M., Camacho, A., Naranjo, E., & Tovar, A. (2014). Distribución e incidencia de *Leidyula moreleti* y *Sarasinula plebeia* (Soleolifera: Veronicellidae), babosas plaga en la región principal productora de vainilla México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 1139-1144. doi:10.7550/rmb.42653

ANEXOS

Anexo 1. Análisis estadístico de explantes contaminados a los 45 días.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F"C"	F"T"
					5%
Concentración	1	0.01	0.01	0.05 ^{N.S.}	4.00
Dosis	2	0.05	0.025	0.025 ^{N.S.}	3.15
Concentración x dosis	2	0.0008	0.00004	0.00002 ^{N.S.}	2.17
Error experimental	57	11.19	0.19		
Total	59	11.25			

N.S. No Significativo.

Elaborado por: El Autor**Anexo 2.** Análisis estadístico de explantes contaminados a los 90 días.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F"C"	F"T"
					5 %
Concentración	1	0.01	0.01	0.05 ^{N.S.}	4.00
Dosis	2	0.05	0.025	0.13 ^{N.S.}	3.15
Concentración x dosis	2	0.001	0.005	0.02 ^{N.S.}	2.17
Error experimental	57	10.66	0.18		
Total	59	10.73			

N.S. No Significativo.

Elaborado por: El Autor

Anexo 3. Análisis estadístico de número de entrenados a los 45 días.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F"C"	F"T"
					5%
Concentración	1	1.07	1.07	3.34 ^{N.S.}	4.00
Dosis	2	1.08	0.54	1.69 ^{N.S.}	3.15
Concentración x dosis	2	0.19	0.01	0.03 ^{N.S.}	2.17
Error experimental	57	18.06	0.32		
Total	59	20.4			

N.S. No Significativo.

Elaborado por: El Autor**Anexo 4.** Análisis estadístico de número de entrenados a los 90 días.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F"C"	F"T"
					5%
Concentración	1	0.20	0.20	0.20 ^{N.S.}	4.00
Dosis	2	0.05	0.025	0.025 ^{N.S.}	3.15
Concentración x dosis	2	0.04	0.02	0.020 ^{N.S.}	2.17
Error experimental	57	56.70	0.99		
Total	59	56.99			

N.S. No Significativo.

Elaborado por: El Autor

Anexo 5. Análisis estadístico de color de explante según escala Munsell a los 45 días.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F"C"	F"T"
					5%
Concentración	1	12.67	12.67	3.11 ^{N.S.}	4.00
Dosis	2	2.52	1.26	0.31 ^{N.S.}	3.15
Concentración x dosis	2	5.32	2.66	0.65 ^{N.S.}	2.17
Error experimental	57	231.89	4.07		
Total	59	252.4			

N.S. No Significativo.

Elaborado por: El Autor

Anexo 6. Análisis estadístico de color de explante según escala Munsell a los 90 días.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F"C"	F"T"
					5%
Concentración	1	19.36	19.36	7.28 ^{**}	4.00
Dosis	2	0.09	0.045	0.017 ^{N.S.}	3.15
Concentración x dosis	2	3.24	1.62	0.61 ^{N.S.}	2.17
Error experimental	57	151.8	2.66		
Total	59	174.49			

N.S. No Significativo.

Elaborado por: El Autor

Anexo 7. Materiales utilizados en la elaboración de medios de cultivos



Elaborado por: El autor

Anexo 8. Selección de explantes iniciales



Elaborado por: autor

Anexo 9. Explantes con internudos de vainilla.



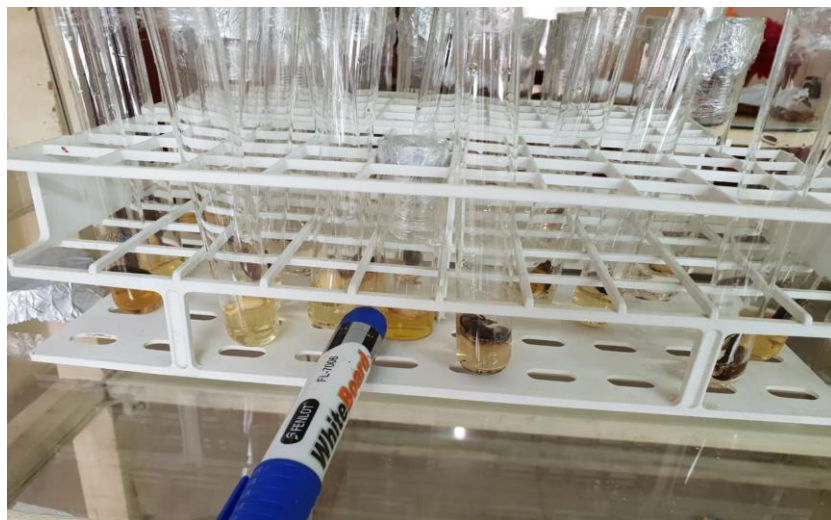
Elaborado por: El autor.

Anexo 10. Siembra de los explantes *in vitro* con su respectivo medio de cultivo.



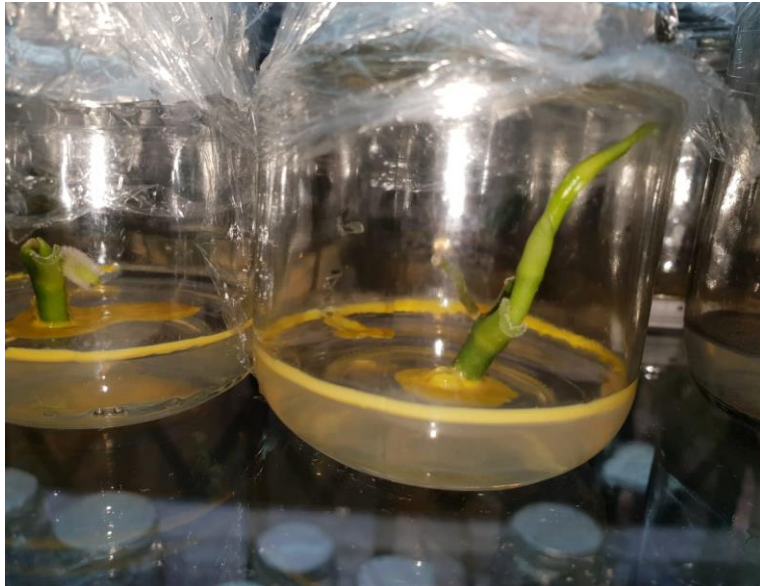
Elaborado por: El autor

Anexo 11. Explantes contaminados por hongos y bacterias



Elaborado por: El autor

Anexo 12. Explante de vainilla conteniendo heterósidos



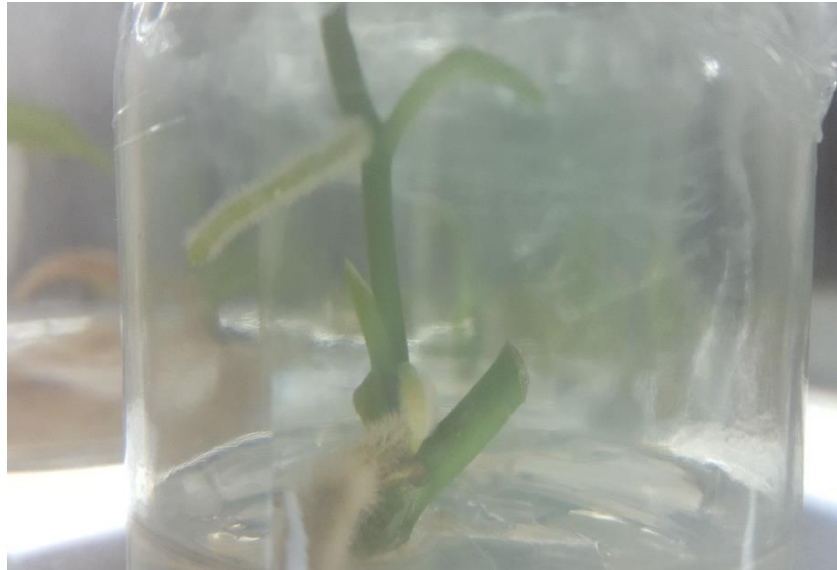
Elaborado por: El autor

Anexo 13. Entrenudo *in vitro* conteniendo yema axilar alargada.



Elaborado por: El autor

Anexo 14. Vitroplanta de vainilla, desarrollo caulinar y radicular



Elaborado por: El autor

Anexo 15. Diferencias de desarrollo caulinar y radicular.



Elaborado por: El autor



**Presidencia
de la República
del Ecuador**



**Plan Nacional
de Ciencia, Tecnología,
Innovación y Saberes**



SENESCYT
Secretaría Nacional de Educación Superior,
Ciencia, Tecnología e Innovación

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **Luis Hernán Loaiza Álvarez**, con C.C: # 070537748-9 autor del trabajo de titulación: **Estudio preliminar para la reproducción asexual *in vitro* de vainilla (*Vanilla tahitensis*) en diferentes medios de cultivos asépticos** previo a la obtención del título de **Ingeniero Agropecuario** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, **19 de marzo de 2019**

f. _____

Nombre: **Luis Hernán Loaiza Álvarez**,

C.C: **070537748-9**



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA			
FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN			
TEMA Y SUBTEMA:	Estudio preliminar para la reproducción asexual <i>in vitro</i> de vainilla (<i>Vanilla tahitensis</i>) en diferentes medios de cultivos asépticos		
AUTOR(ES)	Luis Hernán Loaiza Álvarez		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES)	Ing. Paris Moreno Rivas, Laura Lucía, M.Sc.		
INSTITUCIÓN:	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
FACULTAD:	Educación Técnica para el Desarrollo		
CARRERA:	Ingeniería Agropecuaria		
TÍTULO OBTENIDO:	Ingeniero Agropecuario		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	19 de marzo de 2019	No. DE PÁGINAS:	72
ÁREAS TEMÁTICAS:	Producción de alimentos,		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	Murashige y skoog, medio de cultivo, glutamina, <i>in vitro</i> , explante, entrenudos.		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras):			
<p>Se contrasta la eficiencia estadística entre dos medios de cultivos con tres diferentes dosis, Murashige y Skoog al 50 y 100 % con las dosis de 100, 200 y 400 mg de glutamina, para determinar cuál es la mejor concentración y dosis que se puede aplicar en el desarrollo de plantas de vainilla <i>in vitro</i>. Se realizaron conteos semana a semana y observación del desarrollo de los nuevos brotes donde las variables fueron: el color de explantes, número de entrenudos y explantes contaminados para lo que se tomaron datos a los 45 y 90 días. A partir de las variables medidas en laboratorio se analizó que la mejor concentración y dosis en interacción fue el Murashige y skoog al 100 % con glutamina en dosis de 400 y 200 mg donde se alcanzó el mejor desarrollo del cultivo de <i>vainilla in vitro</i>. De acuerdo con la hipótesis la aplicación de diferentes medios de cultivo y diferentes dosis de glutamina para vainilla si influyó en el desarrollo de las plantas de vainilla.</p>			
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: +593-997921285	E-mail: luisloaiza1994@gmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE)::	Nombre: Ing. Noelia Carolina Caicedo Coello, M.Sc.		
	Teléfono: +593-987361675		
	E-mail: noelia.caicedo@cu.ucsg.edu.ec		
SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA			
Nº. DE REGISTRO (en base a datos):			
Nº. DE CLASIFICACIÓN:			
DIRECCIÓN URL (tesis en la web):			