

**EVALUACIÓN DE BRASINOESTEROIDES EN EL CULTIVO DEL
ROSAL (*Rosa spp.*) VAR. FREEDOM EN EL CANTÓN PATATE
PROVINCIA DEL TUNGURAHUA.**

NORMAN GEOVANNY SORIA LLERENA

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN ESTRUCTURADO DE
MANERA INDEPENDIENTE COMO REQUISITO PARA OPTAR
EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO**

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



AMBATO – ECUADOR

2011

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

El suscrito NORMAN GEOVANNY SORIA LLERENA, portador de la cédula de identidad número: 180270155-5, libre y voluntariamente declaro que el trabajo de investigación titulado EVALUACIÓN DE BRASINOESTEROIDES EN EL CULTIVO DEL ROSAL (*Rosa spp.*) VAR. FREEDOM EN EL CANTÓN PATATE PROVINCIA DEL TUNGURAHUA. es original, auténtica y personal. En tal virtud, declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica.

Norma Geovanny Soria Llerena

DERECHO DE AUTOR

Al presentar esta tesis como uno de los requisitos previos para la obtención del título de Tercer nivel en la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que haga de esta tesis un documento disponible para su lectura, según las normas de la universidad

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de esta tesis dentro de las regulaciones de la universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de esta tesis, o de parte de ella.

Norma Geovanny Soria Llerena

Fecha: 27 de noviembre del 2011

DERECHO DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta tesis o parte de la misma un documento disponible para la lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi tesis, con fines de difusión pública, además a pruebo la reproducción de esta tesis, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Norma Geovanny Soria Llerena

Fecha: 27 de noviembre del 2011

**EVALUACIÓN DE BRASINOESTEROIDES EN EL CULTIVO DEL ROSAL
(Rosa spp.) VAR. Freedom EN EL CANTÓN PATATE PROVINCIA DEL
TUNGURAHUA.**

REVISADO POR:

Ing. Mg. Luciano Valle Velástegui
TUTOR

Ing. Mg. Giovanny Velástegui Espín
ASESOR DE BIOMETRÍA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO:

Ing. Mg. Hernán Zurita Vásquez

Ing. M. Sc. Pedro Sánchez Cobo

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
I. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.2 ANÁLISIS CRÍTICO DEL PROBLEMA.....	1
1.3 JUSTIFICACIÓN	2
1.4 OBJETIVOS	3
1.4.1 Objetivo General.....	3
1.4.2 Objetivo Específicos	4
II. MARCO TEÓRICO E HIPÓTESIS	5
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	5
2.2 MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL	15
2.2.1 Actividad biológica y modo de acción de los brasinoesteroides	15
2.2.1.1 Bioensayos y relación estructura-actividad	15
2.2.1.2 Interacción con otras hormonas vegetales	21
2.2.1.3 Respuesta fisiológicas a los brasinoesteroides	24
2.2.1.4 Efectos fisiológicos sobre el crecimiento vegetal	25
2.2.1.5 Su papel como hormonas vegetales endógenas	34
2.2.1.6 Efectos sobre el metabolismo de las plantas	36
2.2.1.7 Mecanismos moleculares de acción	38
2.2.1.8 Niveles de regulación de los genes por los brasinoesteroides	39
2.2.1.9 Transducción de señales de los brasinoesteroides	40
3.3 HIPÓTESIS	42
3.4 VARIABLES DE LA HIPÓTESIS	42
3.4.1 Variable dependientes	42
3.4.2 Variable independientes	42
III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	43
3.1 ENFOQUE, MODALIDAD Y TIPO DE INVESTIGACIÓN	43
3.1.1 Enfoque	43
3.1.2 Modalidad	43
3.1.3 Tipo de investigación	43
3.2 UBICACIÓN DEL ENSAYO	43

	Pág.
3.3 CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR	44
3.3.1 Características del suelo	44
3.3.2 Condiciones climáticas	44
3.4 FACTORES DE ESTUDIO.....	44
3.4.1 Dosis de Brasinoesteroides.....	44
3.4.2 Estado fenológico de aplicación.....	45
3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	45
3.5.1 Análisis de Varianza.....	45
3.5.2 Análisis Estadístico.....	46
3.6 TRATAMIENTOS.....	46
3.7 CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO.....	46
3.7.1 Características de las unidades experimentales.....	47
3.7.2 Esquema de distribución en el campo.....	47
3.8 DATOS TOMADOS.....	47
3.8.1 Longitud de Tallos.....	47
3.8.2 Grosor del tallo.....	47
3.8.3 Tamaño de los botones.....	48
3.8.4 Peso seco de tallos, hojas y botones	49
3.8.5 Índice plastocrónico.	51
3.9 MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN.....	52
3.9.1 Selección de plantas y brotes	52
3.9.2 Nomenclatura de las repeticiones y tratamientos	52
3.9.3 Aplicación del brasinoesteroide	53
3.9.4 Manejo del cultivo	54
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
4.1 RESULTADOS, ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y DISCUSIÓN.....	56
4.1.1 Longitud de tallo	56
4.1.2 Grosor del tallo	62
4.1.3 Índice plastocrónico	67
4.1.4 Longitud y grosor del botón de las rosas	71
4.1.5 Peso seco de las hojas, tallo y botón de las rosas	73
4.2 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS	78

	Pág.
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	79
5.1 Conclusiones	79
5.2 Recomendaciones	80
VI. PROPUESTA	81
6.1 Título.....	81
6.2 Fundamentación.....	81
6.3 Objetivos.....	81
6.3.1 Objetivo General.....	81
6.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	81
6.5 PROPUESTA.....	82
6.5.1 Tecnología actual para la producción de rosas	82
6.5.2 Propuesta tecnológica como resultado de la investigación.....	83
6.6 IMPLEMENTACIÓN / PLAN DE ACCIÓN.....	85
BIBLIOGRAFÍA	86
ANEXOS	91

ÍNDICE DE CUADROS

Pág.

CUADRO 1. ESQUEMA DEL ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA EVALUACIÓN DE BRASINOESTEROIDES EN EL CULTIVO DEL ROSAL (<i>Rosa spp.</i>) VAR. FREEDOM EN EL CANTÓN PATATE PROVINCIA DEL TUNGURAHUA.....	45
CUADRO 2. ANÁLISIS DE VARIANCIAS PARA LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS BAJO EL EFECTO DE TRES DOSIS DE BRASINOESTEROIDES EN TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN. PATATE, TUNGURAHUA, 2011.....	57
CUADRO 3. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	59
CUADRO 4. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	59
CUADRO 5. EFECTO CONJUNTO DOSIS DE BRASINOESTEROIDES POR ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	60
CUADRO 6. ANÁLISIS DE VARIANCIAS PARA EL GROSOR DEL TALLO DE LAS ROSAS BAJO EL EFECTO DE TRES DOSIS DE BRASINOESTEROIDES EN TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN. PATATE, TUNGURAHUA, 2011.....	63

	Pág.
CUADRO 7. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLOGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL GROSOR DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.	64
CUADRO 8. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL GROSOR DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	65
CUADRO 9. EFECTO CONJUNTO DOSIS DE BRASINOESTEROIDES POR ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN SOBRE EL GROSOR DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	66
CUADRO 10. ANÁLISIS DE VARIANCIA PARA EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO DE LAS ROSAS BAJO EL EFECTO DE TRES DOSIS DE BRASINOESTEROIDES EN TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN. PATATE, TUNGURAHUA, 2011.....	67
CUADRO 11. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL ÍNDICE PLASTOCRONICO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	68
CUADRO 12. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO EN ROSAS VAR FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	69

	Pág.
CUADRO 13. EFECTO CONJUNTO DOSIS DE BRASINOESTEROIDES POR ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN SOBRE EL ÍNDICE PLASTÓCRÓNICO EN ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....	70
CUADRO 14. ANÁLISIS DE VARIANCIA PARA LA LONGITUD Y GROSOR DEL BOTÓN DE LAS ROSAS BAJO EL EFECTO DE TRES DOSIS DE BRASINOESTEROIDES EN TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN. PATATE, TUNGURAHUA, 2011	72
CUADRO 15. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM.....	72
CUADRO 16. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM.	73
CUADRO 17. EFECTO CONJUNTO DOSIS DE BRASINOESTEROIDES POR ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR.FREEDOM.....	73
CUADRO 18. ANÁLISIS DE VARIANCIA PARA EL PESO SECO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE LAS ROSAS BAJO EL EFECTO DE TRES DOSIS DE BRASINOESTEROIDES EN TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN. PATATE, TUNGURAHUA, 2011.....	74

CUADRO 19. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLOGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL PESO SECO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....74

CUADRO 20. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL PESO SECO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE LAS ROSAS VAR.FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....75

CUADRO 21. EFECTO CONJUNTO DOSIS DE BRASINOESTEROIDES POR ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN SOBRE EL PESO SECO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.....77

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
GRAFICO 1. LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM BAJO EL EFECTO DE TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES DENTRO DE CUATRO EVALUACIONES 15, 30, 45 Y 60 DÍAS.....	59
GRAFICO 2. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTROIDES SOBRE LA LONGITUD DE LOS TALLOS DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM.....	60
GRAFICO 3. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN BASE DE BRASIMOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DE LOS TALLOS DE LAS ROSAS VAR. FREEDON.....	61
GRAFICO 4. REGRESIÓN Y COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN ENTRE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES CON LA LONGITUD DE TALLO DE LAS ROSAS A LOS 15, 30, 45 Y 60 DÍAS.....	62
GRAFICO 5. GROSOR DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM BAJO EL EFECTO DE TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES DENTRO DE CUATRO EVALUACIONES 15, 30, 45 Y 60 DÍAS.....	64
GRAFICO 6. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTROIDES SOBRE EL GROSOR DE LOS TALLOS DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM.....	65
GRAFICO 7. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN BASE DE BRASIMOESTEROIDES SOBRE EL GROSOR DE LOS TALLOS DE LAS ROSAS VAR. FREEDON.....	66

Pág.

GRAFICO 8. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO, A LOS 30 Y 60 DÍAS.....	68
GRAFICO 9. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO EN LAS ROSAS VAR. FREEDOM.....	69
GRAFICO 10. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO EN ROSAS VAR. FREEDOM.....	71
GRAFICO 11. REGRESIÓN Y COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN ENTRE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDE CON EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO EN ROSAS	71
GRAFICO 12. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL PESO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE ROSAS VAR. FREEDOM.....	75
GRAFICO 13. EFECTO DE LAS DOSIS DE LOS BRASINOESTEROIDES SOBRE EL PESO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE ROSAS VAR. FREEDOM.....	76
GRAFICO 14. EFECTO CONJUNTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL PESO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE ROSAS VAR. FREEDOM.....	77

RESUMEN EJECUTIVO

El experimento se desarrolló en el período mayo a octubre del 2011; se realizó en la provincia de Tungurahua, cantón Patate, parroquia Matriz, sector Quinlata, en un invernadero de propiedad del Ing. Rubén Reyes, localizado a 2220 msnm, cuyas coordenadas corresponden a 778191.20 x, 9855453.47 con una temperatura media externa de 14 grados centígrados.

El objetivo general que persiguió el experimento fue: generar tecnología apropiada, de bajo costo, para incrementar la elongación del tallo y calidad del botón de (*Rosas spp.*) Var. Freedom mediante el uso de brasinoesteroides. Los tratamientos correspondieron a la interacción entre de tres dosis de brasinoesteroides (1 mL/L⁻¹, 2 mL/L⁻¹ y 3 mL/L⁻¹) aplicados en tres estados fenológicos (yema hinchada, brotes de 5 cm. y 10 cm. de longitud) más un testigo. Se aplicó un diseño de bloques al azar con arreglo factorial de 3 x 3 + 1, con tres repeticiones; la unidad experimental lo constituyeron 5 plantas de rosa sobre una hilera, de las cuales se tomaron 3 plantas centrales como parcela neta.

Se pudo evidenciar con claridad la eficacia de los brasinoesteroides en las variables de interés agronómico, pues los tratamientos con brasinoesteroides incrementaron la longitud y grosor de los tallos, índice plastocrónico, longitud y grosor del botón y el peso seco de las hojas, tallo y botón, en relación al testigo; la mejor respuesta de los brasinoesteroides se presentó cuando fueron aplicados en brotes de 10 cm. en la rosa variedad Freedom, alcanzando la mayor longitud y grosor del tallo, mejor índice plastocrónico y mayor peso seco de hojas, tallo y botón, seguidos por la aplicación en estado fenológico “yemas hinchada”. A medida que se incrementaron la dosis de brasinoesteroides, se incrementó la longitud del tallo, grosor de tallo, índice plastocrónico, longitud, grosor del botón, pero disminuyó el peso seco de las hojas. El tratamiento que alcanzó la mayor longitud del tallo en la rosa variedad Freedom correspondió a la aplicación de 3 mL /L⁻¹ de brasinoesteroides en el estado fenológico 3 (brote de 10 cm de longitud) que logró una longitud de 97,3 cm.

Se concluye que con aplicaciones de brasinoesteroides se incrementa la longitud de los tallos y se mejora la calidad del botón en rosa variedad Freedom.

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La floricultura ecuatoriana, dentro de ella la rosicultura, requiere niveles altos de exigencia respecto a la calidad de los tallos y botones, cuyos estándares no se logran con facilidad y como resultado de ello, una gran cantidad de la producción debe destinarse al mercado nacional, con la consiguiente pérdida económica por efecto de la venta a precios bajos (menos del 40 %), en comparación a los precios potenciales del mercado internacional, que exige tallos largos (promedio 100 cm), vigorosos y botones de mayor tamaño, condición que puede ser superada con el uso de los brasinoesteroides que intervienen en los procesos fisiológicos como división y elongación celular, para mejorar la calidad en el cultivo de Rosal (*Rosa spp.*) Var. Freedom en la provincia de Tungurahua, cantón Patate.

1.2 ANÁLISIS CRÍTICO DEL PROBLEMA

En las décadas del treinta y del cuarenta, diversos investigadores habían reconocido la existencia de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal en extractos de polen, semillas inmaduras, etc. Sin embargo, no fue hasta 1970 que Mitchell informaron que el polen de la *Brassica napus L.* contenía un nuevo grupo de hormonas de origen lipídico denominado brasinas. Posteriormente, Mandava (1988) demostraron que las brasinas podían estimular el rendimiento y la eficiencia de los cultivos, y el vigor de las semillas.

Estos nuevos compuestos estimularon el interés en el mundo, lo que se manifiesta en el hecho de que a pesar que fue un colectivo de investigadores norteamericanos, los autores del aislamiento e identificación de la brasinolina.

La estructura inusual de esta familia de compuestos, las bajas concentraciones en que se encuentran en la fuente natural, su interesante actividad promotora del

crecimiento vegetal y las amplias perspectivas que poseen para su aplicación en la agricultura han motivado a países como Estados Unidos, China, Japón, Rusia, Argentina, Alemania, Checoslovaquia, Canadá y Cuba entre otros, a desarrollar un intenso trabajo investigativo en las líneas siguientes:

- Aislamiento y caracterización de nuevos brasinoesteroides naturales
- Estudios de los mecanismos de acción de estos biorreguladores
- Búsqueda de nuevos efectos biológicos
- Empleo de métodos de síntesis más eficientes
- Síntesis de análogos de los brasinoesteroides naturales a partir de diferentes sustratos esteroidales
- Estudios de relación estructura-actividad de estos compuestos
- Determinación de las condiciones óptimas de aplicación en los diferentes cultivos.

El problema radica en que hay poca información y desconocimiento por parte de los productores respecto al beneficio potencial de los brasinoesteroides, pues no existen estudios realizados sobre el cultivo del Rosal, que permitan entender cómo influyen los brasinoesteroides en el crecimiento de tallos y botones de este tipo de especies, y hasta el momento no se conoce ninguna investigación en el país, donde se hayan utilizado a los Brasinoesteroides.

1.3 JUSTIFICACIÓN

En el Ecuador la producción de flores con perspectivas de explotación se inicia en la década de los setenta, presentándose su auge en el año de 1983. Entonces la actividad florícola experimenta una rápida evolución con más de 70 ha de rosas en el año de 1985 a 1360 ha en 1997, obteniéndose una superficie total plantada en el cultivo de flores de 150 ha en 1985 a 2250 ha en 1997.

Para el año 2009 se conoce de una superficie plantada de 3612 ha y en el año 2010 se reportan 2872 ha de superficie plantada del cultivo en todo el país. Tan solo desde hace unos pocos años se le ha venido cultivando comercialmente,

estableciéndose invernaderos de diversos tamaños, pero de gran importancia social y económica; esto, ha determinado desde hace unos 10 años un incremento progresivo de las técnicas del cultivo.

La importancia del cultivo de rosas radica en el logro de una alta calidad de tallos y botones para alcanzar buenos precios y mejorar la rentabilidad, pues una gran parte de las flores no alcanzan los estándares internacionales y deben comercializarse en el mercado nacional, con una pérdida económica muy grande; justamente es allí donde resulta justificable la investigación con brasinoesteroides, que presentan una opción muy valiosa para el mejoramiento de la calidad de tallos y botones, que promueva un incremento en la productividad y rentabilidad del cultivo, con beneficio directo para los productores del cantón Patate que han incursionado en la rosicultura.

Debido al crecimiento de la superficie cultivada con rosas y en razón de que es un cultivo muy conocido y apetecido nacional como internacionalmente, amerita que se realice una investigación profunda con uso de brasinoesteroides que permita desarrollar una tecnología de bajo costo para mejorar la calidad de flor del Ecuador, que por sus colores y calidad de luz es muy buena, pero a la que le falta condiciones de mayor crecimiento de tallos y botones que exige el mercado, ya que al estar en un mundo globalizado, el mejorar la calidad de la flor reduciendo costos de producción nos convertirá en un competidor con mayor posibilidades de incrementar las ventas a nivel internacional.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

Generar tecnología apropiada, de bajo costo, para incrementar la elongación del tallo y calidad del botón de (*Rosa spp.*) Var. Freedom mediante el uso de brasinoesteroides.

1.4.2 Objetivos Específicos

Determinar el estado fenológico adecuado para la aplicación de brasinoesteroides para incrementar la longitud del tallo y calidad del botón en Rosas (Rosas spp.) Var. Freedom

Determinar la mejor dosis de los brasinoesteroides para incrementar la elongación de tallos y mejorar la calidad del botón de la Rosa (Rosas spp.) Var. Freedom

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO E HIPÓTESIS

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Desde el aislamiento e identificación de la brasinolina en 1979, por un grupo de investigadores del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), se han dedicado numerosos recursos a la síntesis de estas lactonas esteroidales y a la evaluación de sus actividades biológicas (Adam y Marquardt, 1986).

En Japón, se sintetizó por primera vez la brasinolina en 1980, pero su proceso de síntesis requiere de múltiples pasos, indicando que su preparación es muy costosa para ser utilizado en la agricultura. Esta situación no se modificó aún después del descubrimiento de muchas rutas sintéticas, por lo que han sido pocos los brasinoesteroides que se han probado en condiciones de campo. (Ikekawa y Zhao, 1991).

Estos autores además destacaron que desde que el grupo de la USDA obtuvo los primeros resultados prometedores, pasaron diez años para la obtención de evidencias firmes que demostraron la utilidad de los brasinoesteroides en incrementar los rendimientos de los cultivos, la biomasa en los vegetales y los granos en los cereales.

Dentro de los análogos sintéticos de la brasinolina se seleccionó para las aplicaciones prácticas, la 24-epibrasinólida (24-epiBL), u epímero natural de la brasinolina, que posee una buena actividad biológica y un proceso de preparación relativamente simple a partir del brasicasterol (Takatsuto, 1994).

Los resultados del efecto de la 24-epiBL en el crecimiento y rendimiento de varios cultivos de importancia para Japón como son: trigo, arroz y soya, fueron resumidos por Takematsu (1989), citados por Ikekawa y Zhao (1991).

Takematsu (1989) cito que en el caso del trigo, se obtuvo 35 días después del tratamiento, un incremento de un 20 – 30 % en el peso seco de la panícula, cuando se asperjaron soluciones entre 0.001 y 1ppm en el momento de la floración. También se incrementó hasta un 30% el número de semillas por panícula.

Además, se investigó el consumo de sacarosa en los granos y se encontró que la 24-epiBL incrementó la incorporación de sacarosa en comparación con el control, siendo más significativa en la porción superior de la panícula, o sea, en los granos tercero y cuarto.

En arroz, la aplicación del compuesto en la floración incrementó el rendimiento en un 11% mientras que en soya se obtuvo un aumento entre 10 y 20%; también se obtuvieron resultados prometedores en pruebas con maíz, papa, boniato, espinaca, entre otros.

Las aplicaciones prácticas en la agricultura a una mayor escala comenzaron en Japón en 1985 y hasta 1990 se habían informado, de forma general, resultados similares a los anteriormente citados.

Al comparar los efectos de los brasinoesteroides con los de otras sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, se deben destacar las siguientes características:

1. los brasinoesteroides son activos a concentraciones extremadamente bajas, generalmente soluciones de 0.1 – 0.001 ppm, que es un rango 100 veces inferior que el de los otros reguladores del crecimiento vegetal.
2. Los brasinoesteroides estimulan el crecimiento de la raíz
3. Los brasinoesteroides no causan deformaciones en las plantas
4. El efecto de los brasinoesteroides en el crecimiento vegetal es particularmente fuerte en condiciones de crecimiento adversas (temperatura subóptima, salinidad), por lo que los brasinoesteroides pueden ser llamados “hormonas del estrés”
5. Los brasinoesteroides tienen baja toxicidad vide post.

Por otra parte, Ikekawa y Zhao (1991) también informaron que dada la colaboración entre Japón y China, a partir de 1985 se comenzaron las aplicaciones de epiobrasinólida en la agricultura china. Los resultados de las aplicaciones efectuadas durante cinco años en varias estaciones de diferentes provincias, se resumen como sigue:

Efecto en trigo. La 24-epiBL se asperjó en la etapa de floración o llenado en concentraciones de 0.01 – 0.05 ppm y los resultados demostraron que el rendimiento del trigo se incrementó de forma significativa, fundamentalmente con la dosis de 0.01 ppm. Este incremento se explica por el aumento en el número de espigas fértiles, el peso de las panículas, el número de granos y el peso de 1000 granos.

Ikekawa y Zhao (1991), demostró que la aplicación de la epibrasinólida a una concentración de 0.01 ppm disminuyó el contenido de carbohidratos en la hoja bandera, lo que puede sugerir que este compuesto facilita el transporte de las hojas a las panículas.

En general, el rango de incremento obtenido en todas las localidades donde se efectuaron las pruebas osciló entre 5 y 15%

Otro aspecto a destacar es que la resistencia a enfermedades en el trigo resultó por la aplicación con epibrasinólida. Por ejemplo, la marchitez de la hoja es uno de los efectos más dañinos inducidos por el estrés ambiental durante el período, desde la fase de llenado hasta la maduración y se encontró que la aspersión con este producto redujo la incidencia de este fenómeno y también la acumulación de amonio libre y de putrescina, que son considerados como indicadores de este fenómeno.

Los resultados de los efectos de la epibrasinólida en la producción de trigo a gran escala se resumen en la Tabla I.

Como se observa en la Tabla I, los resultados acumulados por un período de seis años en áreas grandes fueron muy constantes y confiables, confirmando lo que pueden significar las aplicaciones de 24-epiBL para la agricultura.

Tabla I. Efecto de la 24-epiBL en el rendimiento del trigo en China

Año	Área de campo (ha)	Incremento promedio en rendimiento (%)
1985 – 1987	266	>10
1988	666	6-15
1989	400	11
1990	2 000	11

Autor: Ikekawa y Zhao (1991) Tabla elaborada por Geovanny Soria

Efecto de maíz. La aplicación de la 24-epiBL en el maíz incrementó el rendimiento del cultivo, obteniéndose los mejores resultados cuando se asperjó el producto previo a la emergencia de la inflorescencia masculina (“tassel”). Este incremento en el rendimiento parece atribuible al incremento en el peso de 1000 granos y al número de granos por mazorca.

Los incrementos en rendimientos en la mayoría de las pruebas oscilaron entre 10 – 20% cuando se realizó una sola aspersión con solución de 0.01 ppm, a razón de 800 L.ha⁻¹, o sea aproximadamente 8mg.ha⁻¹. El área total de campo que se probó durante el período 1985-1990 fue de 2300 ha.

Efecto en tabaco y otras plantas. La epibrasinólida promovió el crecimiento de plantas de tabaco cuando se asperjó en las hojas. El compuesto promovió el crecimiento de las hojas y raíces que son cruciales para la síntesis de nicotina, resultando en el mejoramiento de la calidad y cantidad de hojas (Tabla II). Las aspersiones se realizaron a los 20, 35 y 50 días después del trasplante. Estos resultados serían de gran beneficio económico para la producción tabacalera en ese país.

En el cultivo del melón de agua, las aspersiones foliares de epibrasinólida durante la etapa de postura y en la floración incrementaron el cuajado del fruto y, por ende, el rendimiento del cultivo entre 10-20%. En rendimiento del pepino se incrementó en la misma magnitud por la aplicación del compuesto.

Tabla II. Efecto de la 24-epiBL en el rendimiento y la calidad del tabaco en China

Tratamientos	Peso de raíces (g)	Área foliar/planta (cm ²)	Contenido de nicotina (%)
CONTROL	14.0	6 750	1.4
0.01 ppm	26.8	8 140	2.5
0.05 ppm	20.6	7 398	2.0
1.00 ppm	16.3	6 810	2.1

Autor: Ikekawa y Zhao (1991) Tabla elaborada por Geovanny Soria

Cuando la 24-epibrasinólida se aplicó en el cultivo de la vid en la etapa de floración, se incrementaron el número de uvas por racimo y el rendimiento total en 66.7 y 29.9%, cuando se utilizaron dosis de 0.01 ppm, respectivamente. Este efecto puede resultar de la prevención de la abscisión del fruto, especialmente en condiciones de estrés.

Todos estos resultados contribuyeron a que los agricultores chinos promovieran el uso práctico de la 24-epibrasinólida, dado que es un compuesto natural muy efectivo como sustancia promotora del crecimiento vegetal.

Los estudios de toxicidad de la 24-epibrasinólida informados por estos autores, reflejaron que la toxicidad aguda, LD50, fue más de 1000 mg.kg⁻¹ para los ratones por administración oral y más de 2000 mg.kg⁻¹ para las ratas, tanto oral como dérmicamente. La toxicidad en los peces TML48, fue más que 10 ppm por carpa. El test de Ames para mutagénesis fue negativo y la solución de 0.01% no causó irritación ocular en el conejo, por lo que la toxicidad es extremadamente baja.

Como conclusión de los estudios de aplicaciones prácticas de la 24-epibrasinólida, Ikekawa y Zhao (1991) plantearon que los resultados obtenidos en China fueron más destacados que los obtenidos en Japón; no obstante, ellos

recomendaron continuar investigando en la formulación, el método y el momento de aplicación más adecuado para cada cultivo.

Por otra parte, Khripach, Zhabinskii y Khripach (2003) informaron los resultados de las aplicaciones de brasinoesteroides a diferentes cultivos en varias regiones de la antigua URSS. En guisantes, las aplicaciones de 24-epiBL en la etapa de ocho-nueve hojas y en la floración produjeron un incremento promedio en el rendimiento del cultivo de 2800 kg.ha⁻¹. En el caso de la cebada se comparó la efectividad de la BL con la de la 24-epiBL y los resultados demostraron que la primera fue más activa a dosis de 10 mg.ha⁻¹, pero menos activa a dosis de 50 y 100 mg.ha⁻¹, obteniéndose incrementos en el rendimiento hasta del 25%.

Además, en papa han obtenido buenos resultados y en dependencia del momento en que se efectuó el tratamiento, los incrementos oscilaron entre 11-34%. En cultivos como soya, centeno, maíz y trigo, también obtuvieron incrementos en los rendimientos. No obstante, los autores destacan que los tratamientos con brasinoesteroides no dieron siempre resultados notables.

También, Nakamura, y Matsuoka (1994) demostraron la influencia de los brasinoesteroides en la supresión de la brotación prematura de los tubérculos de papa.

Se ha demostrado también la utilidad de la aplicación conjunta de brasinoesteroides y varios fertilizantes, para reducir la acumulación de metales pesados en cultivos crecidos en suelos donde existe contaminación con estos elementos (Prusakova y Chizhova, 1996).

En Corea, Gray (2004) aplicó BL a semillas de tres variedades de arroz y seis semanas después del tratamiento encontró un mayor largo, ancho, masa fresca, masa seca y contenido de proteínas de las hojas. En tomate y pimiento, encontró que aspersiones foliares durante el período de crecimiento incrementaron las masas fresca y seca de frutos con mejores resultados para la dosis de 0.1 ppm.

En otros países, autores como Fujioka y Sakurai (1991) demostraron que en arroz, la BI incrementó la masa del grano y el porcentaje de granos maduros, lo cual fue atribuido a una mayor síntesis y translocación de productos fotosintéticos. Además, Kuraishi, Yamaki, y Yamanaka (1991) demostraron que la BL a 0.1 ppm asperjada en la antesis y 25 días después de ésta en árboles de navel, incrementó el rendimiento sin influir en la calidad interna de los frutos.

También, Wang (2000) estudiaron el efecto de la 24-epibrasinolida en el crecimiento y la calidad del fruto del melón de agua. Los experimentos conducidos durante el período 1989-1992, demostraron que dos aspersiones foliares de 0.1 mg.L^{-1} de este producto (la primera en posturas con tres hojas y la segunda cinco días después de la primera) promovieron marcadamente el crecimiento de las posturas, la altura de la planta, el grosor del tallo, la longitud de la raíz principal, la masa seca por planta, el contenido de clorofila, el área foliar y la fotosíntesis.

La aspersión en el momento de la floración con igual dosis incrementó el número de flores y el porcentaje de cuajado de los frutos; sin embargo, la masa del fruto individual no se incrementó. Los contenidos de sólidos solubles totales y de vitamina C de los frutos incrementaron en alguna medida, se retrasó la senescencia de las hojas y el rendimiento incrementó en un 20%.

Es bueno destacar que los brasinoesteroides se han utilizado, también, en combinación con otros compuestos. Así, Seto (2005) aplicaron 24-epiBL con sales de colina y obtuvieron incrementos en los rendimientos de diversos cultivos.

Prusakova, y Chizhova (1996) utilizaron la brasinolina en combinación con el CCC (chlormequat) en trigo perenne y encontraron en el primer año de crecimiento una estimulación del rendimiento de 1.33 t.ha^{-1} , mientras en el segundo año el incremento solamente fue de 0.23 t.ha^{-1} .

Además, se han informado los efectos de los brasinoesteroides en el período de acondicionamiento y en la germinación de las semillas. Así, Takatsuto y Yokota (1999) demostraron que la BL aplicado en la etapa inicial de acondicionamiento de

las semillas de *Striga asiatica*, acortó el período de acondicionamiento requerido para la germinación de las semillas. Resultados similares obtuvieron Takeuchi (1995) en semillas de *Orobancha minor* utilizando diferentes brasinoesteroides.

Todos estos resultados demuestran la efectividad de los brasinoesteroides como estimuladores del crecimiento y el rendimiento en la agricultura. No obstante Sasse (1997) plantea que los efectos de los brasinoesteroides naturales en el campo, pueden ser de corta duración o esporádicos, por lo que debe ser útil la aplicación de compuestos de más larga duración, que sean transformados en las plantas a brasinoesteroides activos.

Así, actualmente se centra la atención en un producto codificado como TS303 (Takatsuto et al, 1994), que se ha demostrado tiene efectos beneficiosos sobre el crecimiento, la germinación, el cuajado de frutos y el enraizamiento, entre otros, en varios cultivos de importancia agrícola; además, se han explorado también los efectos de las combinaciones con otros reguladores del crecimiento vegetal (Kamuro, 1991) y parece muy prometedora la utilización de este pro-BR en el cultivo del arroz.

Otro aspecto interesante a destacar y que debe tenerse en cuenta en todos los experimentos de aplicación de estos compuestos, es la producción promedio por área, ya que la influencia de los brasinoesteroides parece ser superior cuando las plantas están en condiciones no óptimas de crecimiento. Esta funcionalidad de hormona anti estrés convierte a los brasinoesteroides en productos muy interesantes para aplicaciones prácticas potenciales y sobre este tópico han tratado diversas publicaciones (Marquardt y Adam, 1991).

Así, Ikekawa y Zhao (1991) informaron que plantas de remolacha tratadas con homobrasinólida y sometidas a un estrés hídrico ligero (45-50 % de la capacidad hídrica máxima), fueron capaces de compensar completamente los efectos de dicho estrés. Sin embargo, el contenido de sacarosa incrementó solamente en casos de estrés severo (25-30 % de la capacidad hídrica máxima).

Por otra parte, Wang (2000) demostraron que el tratamiento de semillas de maíz con BL promovió la recuperación de las posturas después de sometidas a un estrés de bajas temperaturas.

En trigo, Sairam (1994) demostró que el tratamiento con homobrasinólida no solamente incrementó la actividad metabólica y el rendimiento del grano en condiciones de estrés hídrico, sino también ayudó a la recuperación de las plantas. El autor además señala que esta respuesta puede estar asociada a una mayor estabilidad de la membrana o la síntesis de proteínas específicas del estrés.

En condiciones de estrés, también se observó una influencia positiva en el contenido relativo de agua de las hojas, a pesar del incremento en la velocidad de transpiración y la disminución en la resistencia a la difusión, lo que sugiere un incremento en el consumo de agua por las plantas tratadas.

El tratamiento con epibrasinólida y ácido abscísico en plantas de sorgo, incrementó su capacidad de supervivencia en condiciones de déficit hídrico severo. Se demostró que hubo una interacción sinérgica entre ambos reguladores (Berger y Mulzer, 1999). Esta respuesta de las plantas se debe a que el tratamiento con epibrasinólida, ácido abscísico y su combinación no sólo incrementó la retención de agua sino que también aceleró la tolerancia fisiológica a un estado hídrico bajo (Berger y Mulzer, 1999).

En cuanto a los mecanismos para el efecto antiestrés de los brasinoesteroides en las plantas, Kulaeva (1991) demostró que en hojas de trigo sometidas a 40°C, la 22S, 23S-homobrasinólida y la 24-epibrasinólida activaron la síntesis de novo de polipeptidos. Además, la 22S, 23S-homobrasinólida también estimuló la formación de gránulos de choque térmico en el citoplasma e incrementó la termo tolerancia de la síntesis de proteínas totales. Por su parte, la 24-epiBL produjo un efecto protector en la ultra estructura de la célula en hojas colocadas en estrés salino (NaCl 0.5M) y previno la degradación del núcleo y el cloroplasto.

Recientemente, Wilen (2005) demostraron que los brasinoesteroides confieren a las células vegetales alguna tolerancia al estrés y sugieren que los mecanismos por los cuales estos compuestos ejercen estos efectos antiestrés pueden ser, en parte, similares a los del ácido abscísico.

Contrario a los resultados anteriores. Sairam (1994) encontraron que la epibrasinólida no aceleró la tolerancia a las altas temperaturas y la actividad antioxidante en *Vigna acotifolia*. Ellos ejecutaron un experimento donde las semillas fueron germinadas en agua y en soluciones de 24-epibrasinólida 0.1, 1 ó 2 mM. Después de 72 horas, las posturas fueron expuestas a 22 y 48°C por 90 minutos. A 48°C, detectaron que la 24-epiBL incrementó el electrolito total, el K⁺ y la peroxidación lipídica inducida por las altas temperaturas. Además, en las plantas tratadas se incrementó la actividad de la ácido ascórbico oxidasa y disminuyó la actividad de la superóxido dismutasa en comparación con las no tratadas.

Estos resultados lógicamente no apoyan la hipótesis de que los brasinoesteroides aceleran la tolerancia de las plantas al choque térmico, sino por el contrario aceleraron el daño en las posturas expuestas a la alta temperatura.

Por otra parte, el incremento en la resistencia a la infección patogénica por los brasinoesteroides ha sido informada, entre otros, por Korableva, Sukhova y Dogonadse citados por y Marquardt y Adam (1991) quienes infestaron artificialmente tubérculos de papa con *Phytophthora infestans* o *Fusarium* y encontraron que los tratados mostraron una resistencia superior a los fitopatógenos en comparación con el control y, además formaron más sustancias protectoras en respuesta a la infección.

Adam y Marquardt (1986) hicieron un resumen de aspectos relacionados con la química, fisiología y bioquímica de los brasinoesteroides y en este los autores indicaron que el amplio espectro de efectos biorregulatorios y antiestrés que presentan estos compuestos, los convierten en reguladores del crecimiento vegetal ecológicamente adecuados para su aplicación futura en la agricultura.

2.2 MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.2.1 Actividad biológica y modo de acción de los brasinoesteroides

2.2.1.1 Bioensayos y relación estructura-actividad

El primer bioensayo usado para detectar y aislar la brasinolina (BL) y los brasinoesteroides del polen y más tarde para determinar la relación estructura-actividad de los brasinoesteroides sintéticos y sus análogos, fue el del segundo entrenudo del frijol. Aunque en este bioensayo las giberelinas causan sólo alargamiento del entrenudo tratado y de los superiores, los brasinoesteroides provocan tanto el alargamiento como la división celular, lo que resulta en una elongación, engrosamiento, curvatura y desdoblamiento entrenudo (Mandava, 1988).

En general, los brasinoesteroides han sido probados para evaluar su actividad promotora de su crecimiento vegetal en más de 20 bioensayos típicos para la actividad de auxinas, giberelinas y citocininas

En varios sistemas, los brasinoesteroides interactúan fuertemente de forma sinérgica con las auxinas. Por otra parte, la respuesta de los brasinoesteroides y las giberelinas parecen ser ambas independientes y aditivas. En sistemas diseñados como característicos para citocininas, los brasinoesteroides actúan de varias formas (Marquardt y Adm, 1991). De acuerdo con esto, los brasinoesteroides pueden funcionar como auxinas en un momento y como giberelinas o citocininas en otro.

En relación con la actividad de estos compuestos en los bioensayos típicos para auxinas, Grove, Spencer y otros (1981) al probar la actividad biológica de la brasinolina en comparación con las auxinas en diversos bioensayos, encontraron que la BL estimuló respuestas similares a las mostradas por las auxinas en los bioensayos del hipocotilo de frijol, el alargamiento del mesocotilo del maíz y de segmentos de epicotilo de frijol Azuki y la ganancia en masa fresca de tejido envejecido de Artichoke jerusalem. Sin embargo, ellos también observaron que la BL

no fue efectiva en los bioensayos clásicos para las auxinas relacionados con la inhibición del crecimiento de la yema lateral en guisantes decapitados.

Por otra parte, estos autores encontraron que los brasinoesteroides no estimularon la formación de raíces adventicias en frijol mungo, efecto opuesto al producido por el AIA.

La aplicación simultánea de BL y AIA en los bioensayos del hipocotilo de frijol y de la elongación de segmentos de epicotilo de frijol Azuki y la elongación y ganancia en masa fresca del guisante enano, demostraron el fuerte efecto sinérgico que existe entre ambos compuesto.

En cuanto a la actividad de la brasinolina en algunos de los bioensayos típicos para giberelinas y citocininas, Mandava, (1988) informaron que la BL era muy activa en los bioensayos de la elongación de epicotilos de guisante enano e hipocotilo de frijol etiolado, respuestas típicas del ácido giberélico (GA_3) y no de las auxinas.

La BL al igual que el GA_3 inhibió la acumulación de betacianina en posturas de *Amaranthus* y previno la iniciación de raíces adventicias en hipocotilos de frijol mungo, frijol enano y pepino; sin embargo, la aplicación de BL promovió, en lugar de retardar, la senescencia de hojas de *Rumex*. A diferencia de la relación con el AIA, la BL no interactúa sinérgicamente con el GA_3 .

La GA_3 mostró una relación aditiva con la BL en el bioensayo de alargamiento celular del hipocotilo del frijol mungo, lo que sugirió que los dos promotores del crecimiento pueden actuar independientemente a nivel celular (Manadva, 1988).

En cuanto a la actividad de la BL en los bioensayos de citocininas, Mandava, (1988) plantearon que la BL incrementó la expansión de los cotiledones de pepino crecidos en la oscuridad, pero la respuesta fue solamente el 50% de la inducida por una cantidad equimolar de kinetina. La BL fue sólo

debidamente activa a 0.1 mM en la estimulación de la expansión lateral de los ápices de guisante, pero si estimuló la elongación y además no produjo la expansión lateral de la hoja en guisante enano etiolado.

La BL y la kinetina produjeron efectos opuestos en los bioensayos que involucran el retraso de la senescencia de discos foliares de *Xanthium* crecidos en la oscuridad. En posturas de *Amaranthus* crecidas en la oscuridad, la kinetina promovió la formación de betacianina, pero la BL fue inactiva en este ensayo.

Por otra parte, Takematsu (1989), citados por Ikekawa (1991), encontraron que la BL y la auxina combinadas estimularon el crecimiento de tejidos de callos de un número de plantas más efectivamente que la auxina y la benciladenina.

En general, de los diferentes bioensayos, el de la inclinación de la lámina de arroz (Wang, 2000) y el del segundo entrenudo del frijol (Mitchell y otros, 1970) representan los más específicos para brasinoesteroides y se han usado ampliamente para detectar su actividad.

No obstante, son útiles también los bioensayos de la curvatura del primer entrenudo del frijol, los ensayos de planta completa con tomate o *Raphanus sativus* (Marquardt y Adam, 1991), así como el ensayo de desenrollamiento de la hoja de trigo, descrito por Wang (2000).

Recientemente, Kauschman (2006) utilizaron los bioensayos del alargamiento de hipocotilos de plántulas de *Lactuca sativa* L., el del crecimiento recto de coleoptilos de *Triticum aestivum* L. y el del crecimiento de callos de cotiledones de *Glycine max* L., para evaluar la actividad biológica de distintos brasinoesteroides.

La sensibilidad de los diferentes bioensayos se muestra en la Tabla III (Marquardt y Adam, 1991).

De forma general, los brasinoesteroides (Mandava, 1988) producen actividad a concentraciones mucho más bajas (nM a pM) que las efectivas para giberelinas (usualmente un rango de μM).

TABLA III. Bioensayos para brasinoesteroides

Ensayo	Sensibilidad
Inclinación de la lámina de arroz	1.0 pmol.L ⁻¹
Curvatura del primer entrenudo del frijol	0.1 pmol.L ⁻¹
Segundo entrenudo del frijol	0.1 pmol.L ⁻¹
Mesocotilo del maíz	1.0 mmol.L ⁻¹
Epicotilo del frijol Azuki	1.0 mmol.L ⁻¹
Epicotilo de guisante enano	0.1 mmol.L ⁻¹
Desenrollamiento de la hoja de trigo	1.0 pmol.L ⁻¹
Inhibición de la acumulación de betacianina en <i>Amaranthus</i>	10.0 mmol.L ⁻¹
<i>Raphanus sativus</i>	0.01 ppm
Tomate	0.01 ppm

Autor: Marquardt y Adam, 1991

Este mismo autor destaca, además, que en los sistemas de ensayos que requieren oscuridad, la brasinolina generalmente no causa una promoción significativa en el crecimiento. Por ejemplo, los coleoptilos de avena son insensibles a la BL en un sistema de bioensayo conducido normalmente en la oscuridad, pero en la luz, los coleptilos responden a la BL de igual forma que a las auxinas. Es bueno destacar que los estudios del crecimiento inducido por la BL en frijoles, han permitido enfatizar la importancia de la energía radiante y la calidad espectral de la luz en este proceso, lo que además correlacionó con el contenido de clorofilas y la asimilación de fotosintatos. De esta forma, en posturas de soya y secciones de frijol mungo, el efecto promotor del crecimiento de a brasinolina ocurre solamente en la luz, pero no en la oscuridad y la región más importante es la luz roja (660 n, 2.6 W.cm⁻²).

Para establecer la relación estructura-actividad, se han probado en los diferentes bioensayos (Mandava, 1988; Wang, 2000), la mayoría de los brasinoesteroides naturales y muchos de los análogos sintéticos.

No obstante, Takatsuto et al (1994) concluyeron que los requerimientos estructurales de los brasinoesteroides para las actividades promotoras del crecimiento vegetal, obtenidos por los bioensayos del rábano y el tomate, eran más rigurosos que los obtenidos por el bioensayo de la inclinación de la lámina de arroz.

Según Adam y Marquardt (1986), los requerimientos estructurales de los brasinoesteroides para una alta actividad biológica son los siguientes: un grupo diol vecinal (22R, 23R), un grupo metilo o etilo (24S), la función 7 oxalactona o 6-oxo en el anillo b, un grupo 3 α hidroxilo, un grupo diol vecinal 2 α , 3 α ó 3 α , 4 α y una unión trans de los anillos A y B.

Posteriormente, Mandava (1988) estableció los siguientes requerimientos estructurales para estimular la actividad brasina de estos compuestos:

- Función glicol cis-vecinal en C₂ y C₃ del anillo A
- Unión trans del anillo A/B
- Función oxígeno en el C₆ en la forma de cetona o de lactona
- Cadena lateral del colesterol con grupo glicol vecinal en C₁₂ y C₂₃
- Sustitución en C₂₄

En general, los brasinoesteroides 7-oxalactónicos presentan mayor actividad que los 6-cetónicos y éstos mayor que los no oxidados (Yokota, 1997).

Por otra parte, McMorris y Chory (1994) plantearon que parece que existe una correlación entre las dimensiones totales de la cadena lateral esteroidal y la actividad biológica. Estudios en ese sentido revelan que la sustitución alquílica en la cadena lateral es necesaria para estimular la actividad biológica de este

tipo de compuesto, específicamente la presencia de un sustituyente alquílico saturado (un metilo o etilo en C₂₄ y un metilo en C₂₅ favorecen la efectividad biológica de los brasinoesteroides). Así, por ejemplo, la 25-metildolicosterona 23 es seis veces más activa que la dolicosterona 4 (Kim, 1991) y la 25 metilbrasinólida (brasinoesteroides sintético) es tres veces más potente que la brasinolina, que es considerada como el más potente de los brasinoesteroides naturales aislados hasta el presente (Yokota, 1997). Este autor explica que la ausencia de los metilos 26 y 27 en la cadena lateral no afecta la actividad biológica, lo que indica que estos grupos no son importantes en la bioactividad de estos compuestos.

En relación con la influencia de los sustituyentes en el anillo A, el orden de actividad mostrado por estos compuestos es $2\alpha, 3\alpha > 2\alpha, 3\beta > 2\beta, 3\alpha > 2\beta, 3\beta$, lo que sugiere que el grupo hidroxilo con esteroquímica 2α es esencial para una potente actividad biológica (Yokota, 1997).

Existen excepciones a la generalización planteada sobre la relación estructura actividad biológica, pues se han encontrado análogos 22,23-epoxidados, que siendo inactivos en el bioensayo de la inclinación de la lámina de arroz, son más efectivos que la brasinolina en términos de incremento de la actividad biológica con el tiempo, en un ensayo de crecimiento del rábano (*Raphanus sativus* L) realizado en condiciones de laboratorio (Yokota, 1997). También, Gray (2004) demostró que no era imprescindible la presencia de un grupo hidroxilo libre en C₂₂, para que exista actividad biológica y, más recientemente, Prusakova y Chizhova (1996) demostraron que no es imprescindible la presencia de la cadena lateral con grupo glicol vecinal, ya que el $2\alpha, 3\alpha, 17\beta$ -trihidroxi- 5α -androstan-6-ona, que no posee cadena lateral sino solamente un grupo OH en el C₁₇ mostró actividad citoquinínica en un bioensayo basado en la estimulación del crecimiento de yemas laterales de guisante y promovió además, la masa fresca de callos de tabaco.

Teniendo en cuenta que en dependencia del bioensayo varía la contribución a la bioactividad de uno y otro de los requerimientos estructurales postulados cualitativamente, Nakamura y Mitsuoka (1994) informó una nueva forma de definir estos requerimientos sobre la base de establecer una relación cuantitativa

de estructura actividad-biológica (QSAR), que permita diseñar nuevos análogos y predecir su actividad biológica.

Considerando que los brasinoesteroides activos tienen una estructura tridimensional, la cual se inserta en el receptor, esta autora desarrolló un estudio sistemático de modelación molecular, con el objetivo de encontrar “ la conformación activa” de cada brasinoesteroides que debe interactuar con el sitio de enlace del receptor, de cuyo análisis concluyó que la actividad biológica de los brasinoesteroides depende de la posición espacial de los átomos de oxígeno en la molécula.

De todo lo anterior, se puede resumir que aún queda mucho por investigar en este aspecto, para poder establecer definitivamente la relación estructura-actividad de los brasinoesteroides ya que, por ejemplo, en Cuba se ha logrado la síntesis de varios análogos biológicamente activos, que no poseen cada lateral sino anillo espirocetálico y en algunos casos, además, los grupos OH del anillo A se encuentran en C₃ y C₅ en lugar de C₂ y C₃ (Isabel Jomarrón, 1995) como plantea la literatura.

2.2.1.2 Interacción con otras hormonas vegetales

Se ha demostrado que, a pesar de las fuertes interacciones de los brasinoesteroides con las auxinas, estos compuestos no afectan ni el metabolismo ni el transporte del AIA en la sección del primer entrenudo de *Phaseolus vulgaris* (Sakurai , 1997).

Wang (2000), quien ha presentado algunos resultados sobre estas interacciones, concluyeron que la 24-epíbrasinólida probablemente promovió el crecimiento del epicotilo del frijol mungo a través de la estimulación del nivel endógeno de AIA, la cual pudo estar asociada a la inhibición de la peroxidasa y la AIA oxidasas, enzimas relacionadas con el metabolismo del AIA.

Por otra parte, se ha demostrado que los brasinoesteroides estimulan la producción de etileno inducida por auxinas. En este sentido, Arteca et al. (1983) ensayaron un análogo de la brasinolina junto con varias auxinas en sus efectos sobre la producción de etileno en segmentos etiolados de hipocotilo de frijol mungo (*Vigna radiata* (L.) Rwilcz cv. Berken) y encontraron que la BL actúa de forma sinérgica con las auxinas activas ensayadas (AIA, ANA, 2-4D, AIB, entre otras), pero no con los indoles inactivos (indolaldehído, indol-3-carbónico y 2-4D, AIB, entre otras), pero no con los indoles inactivos (indolaldehído, indol-3-carbónico y triptófano). Se constató, además, que este efecto era el resultado de la promoción de la síntesis de nuevo de la enzima Acc sintasa, en una forma similar a la causada por el AIA.

Hay que destacar que, contrario a los efectos sobre la promoción del crecimiento, la producción de etileno se redujo grandemente en hipocotilos etiolados por la exposición a la luz. Así, Mnadava (1988) encontraron que un pre tratamiento de baja irradiación por un corto periodo de tiempo ($3.7 \text{ mEm}^{-2}\text{s}^{-2}$, 15 min) redujo a la producción de etileno estimulada por los brasinoesteroides en segmentos etiolados de frijol mungo, así como la inducida por el AIA y por los efectos sinérgicos de los brasinoesteroides con el AIA.

Estas evidencias son de gran interés e indican que la disminución de la producción de etileno inducida por BL en plantas expuestas a la luz, puede ser explicada por la reducción de los niveles endógenos de AIA por la luz, lo que afecta, por ende, la capacidad de la BL de promover la formación de etileno.

Posteriormente, Thompson, Meudt y otros (2008) estudiaron la inhibición de la biosíntesis del etileno inducida por BL por el ácido 2,3,5, triodobenzoico (TIBA) y el ácido 2-(p-clorofenoxi)-2-metilpropiónico (CMPA) y concluyeron que la secuencia de tratamiento de TIBA o CMPA no tuvo efecto significativo sobre la producción de etileno o de ACC por BL o BL + AIA. Los efectos de estos inhibidores sobre la producción de ACC y etileno inducidos por BL y AIA parecen ser diferentes y confirma lo obtenido anteriormente, por Arteca, Bachman y Mandva (1988). Por otra parte, la fusiococina (Arteca et al., 1988) y el

CoCl₂ (Cao y Che, 1995) se han encontrado que inhiben la producción de etileno inducida por brasinoesteroides.

En cuanto a la interacción de los brasinoesteroides con otras hormonas vegetales se puede plantear que Wang (2000) encontraron incrementos en los niveles endógenos de GA₃ y ácido abscísico (ABA) en hipocotilos de pepino tratados con epibrasinólido. Después de 24 horas de tratamiento, la proporción de GA₃/ABA en hipocotilos tratados fue dos veces superior a la del control. Estos autores demostraron también que los efectos del epibrasinólido y del GA₃ fueron aditivos, estimulando la elongación del hipocotilo y la hidrólisis del almidón.

Yokota y Nakayama demostraron que el ácido abscísico contrarrestó el fuerte efecto estimulador que ejerce la 24-epibrasinólida en la secuencia de cotiledones separados de posturas de pepino.

Kumuro (1991) trataron plantas de cebada al comienzo de la floración con brasinolina o 24-epibrasinólida y determinaron que cuando el grano estaba en estado lechoso, los tratamientos redujeron marcadamente el contenido de ABA e incrementaron el contenido de giberelinas. Además, se detectó la presencia de dihidrozeatina, ribósido de dihidrozeatina e isopentenil adenina, que estaban ausentes en las plantas controles, lo que indica cambios en el metabolismo de las citocininas.

Más recientemente, Berger y Mulzer (1995) estudiaron los efectos de dos brasinoesteroides en el crecimiento y contenido de auxinas y citocininas de callos de tabaco y encontraron que los dos brasinoesteroides ensayados (24-epibrasinólida, 24-epiBL y 2 α , 3 α , 17 β -tri-hidroxi 5 α -androstan-6-ona, THA-BL) tuvieron efectos diferentes en la formación de la biomasa y estos efectos estuvieron inversamente relacionados con el contenido de citocininas endógenas, especialmente isopentenil adenina (iP) y trans-zeatina. Así, cuando suministraron al medio de cultivo 24-epiBL en concentraciones que oscilaron entre 8 x 10⁻⁹ y 5 x 10⁻⁶ M detectaron un decremento de la masa fresca de los callos y un incremento de la concentración de iP y de trans-zeatina, mientras que el otro análogo sintético

estimuló el crecimiento de los callos y disminuyó la concentración de las citocininas antes mencionadas.

Se puede especular , entonces, que algunos brasinoesteroides pueden estimular la actividad de las citocininas por inducción de la acumulación de citocininas endógenas. Es interesante destacar que el THA-BR, que suprimió la acumulación de citocininas en tejidos de tabaco, exhibió una actividad débil como citoquinina en los bioensayos para estas hormonas de callos de tabaco y yemas de guisantes mientras que la 24-epiBL fue inactiva.

2.2.1.3 Respuesta fisiológicas a los brasinoesteroides

Las respuestas a los brasinoesteroides incluyen efectos sobre la elongación, la división celular, el desarrollo vascular y reproductivo, la polarización de la membrana y el bombeo de protones, las relaciones fuente/sitio de consumo y la modulación del estrés. Los brasinoesteroides, además, interactúan con las señales ambientales y pueden afectar el desarrollo de insectos y hongos (Adam y Marquard, 1986; Seto, 1996 y Wilen, 2005). Los sitios de síntesis de estos compuestos en las plantas no se han elucidado aún; puede ser que todos los tejidos los produzcan, ya que los genes de transducción de señales y de la biosíntesis de los brasinoesteroides están expresados en una gama amplia de órganos vegetales y se pueden asumir efectos a corta distancia, como se ha visto en el polen, las semillas y los cultivos de células.

Los estudios sobre la distribución de brasinoesteroides marcados aplicados exógenamente, sugieren que el transporte a larga distancia es predominante acropetal (Yokota, 1997); sin embargo, no se conoce aún si su transporte a larga distancia es importante en el crecimiento y desarrollo vegetal normal.

El examen del fenotipo de los mutantes BR-deficientes y BR-insensibles provee confirmaciones independientes, de que muchos de los efectos

observados cuando se aplican exógenamente los brasinoesteroides a los sistemas de bioensayos ocurren, de hecho, en las plantas.

En *Arabidopsis*, los mutantes de brasinoesteroides muestran un enanismo extremo (tan pequeños como 1/30 del tamaño del tipo silvestre) que es restablecido por la aplicación exógena de BL en los mutantes deficientes, no así en los insensibles y el examen microscópico de las células muestran que las del mutante son más cortas que las del tipo silvestre (Clouse, 1996).

En *Arabidopsis* y en tomate, los mutantes muestran un fenotipo desetioloado en el que las posturas crecidas en la oscuridad exhiben un hipocotilo corto y cotiledones abiertos características éstas de plantas crecidas a la luz. En la luz, estos mismos mutantes muestran una morfología foliar alterada (Clouse, 1998). De esta forma, se puede asumir que los brasinoesteroides desempeñan un papel importante en la fotomorfogénesis y en la morfogénesis foliar. Estos mutantes, generalmente, tienen fertilidad reducida o esterilidad masculina, senescencia retardada y desarrollo vascular alterado, implicando a estos compuestos en todos los procesos del desarrollo (Clouse, 1996).

2.2.1.4 Efectos fisiológicos sobre el crecimiento vegetal

Los efectos promotores de los brasinoesteroides sobre la elongación del tejido vegetativo han sido observados en muchas especies, pero solamente en pocas se han estudiado en detalle.

Sasse (1998) plantea que el tratamiento con las hormonas vegetales reconocidas afecta la elongación inducida por la brasinolina; las giberelinas tienen un efecto aditivo y la zeatina un efecto inhibitorio. Con las auxinas hay un sinergismo donde la brasinolina permite a éstas inducir elongación cuando solas son inefectivas. La auxina exógena afecta la cinética de la respuesta a la brasinolina; sin embargo, el sinergismo encontrado en pepino puede ser atribuido a un incremento en la amplitud de la respuesta a la auxina. Esta es también el parámetro que se afecta cuando la elongación inducida por la BL en guisante es inhibida por el ABA.

Es interesante destacar que aunque tanto las auxinas como los brasinoesteroides promueven la elongación, sus cinéticas son muy diferentes, ya que generalmente las auxinas muestran un lapso de tiempo muy corto (10 a 15 min) entre la aplicación y el comienzo de la elongación; sin embargo, los brasinoesteroides tienen un lapso de al menos 45 minutos con velocidades de elongación que continúan creciendo por varias horas (Clouse, 1996).

Esta diferencia es la cinética también se ha demostrado al nivel de la expresión génica en Arabidopsis, donde las auxinas inducen el gen TCH4 mucho más rápidamente que los brasinoesteroides Takatsuto y Yokota (1999).

Otras diferencias en el efecto de las auxinas y los brasinoesteroides sobre la elongación se han observado en estudios fisiológicos (Sasse, 1998) y moleculares (Clouse, 1996).

En cuanto a la inhibición del efecto de los brasinoesteroides, el “ethephon” puede contrarrestar la elongación inducida por la BL, mientras que la colchicina e inhibidores específicos de la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos también son inhibidores potentes. Ellos no son inhibidores competitivos y la elongación continúa en la presencia de un inhibidor de la síntesis de ADN. Se sugiere que la síntesis y/o el mantenimiento del ARNm es esencial para la elongación inducida por la BL y en segmentos senescentes de guisantes son afectadas por la BL varias bandas de proteínas en las etapas tempranas de elongación.

Sasse (1998) también cita que en el trabajo de Sala y Sala (1985), se demostró que la BL puede imponer una morfología alargada en células en cultivo de zanahoria carentes de auxinas, pero en una planta completa, la altura final y la forma son probablemente el resultado de muchas influencias, tales como hormonas, nutrientes, estado hídrico y efectos ambientales, con interrelaciones complejas entre ellas.

El papel de los brasinoesteroides en el cultivo de células vegetales ha sido demostrado por varios autores. Por ejemplo, Ikekawa y Zhao (1991) plantearon que estos compuestos en combinación con la auxinas promueven el crecimiento de callos de varias plantas y en el cultivo de células de zanahoria, éstos indujeron el alargamiento celular pero no la división. Además, Fujioka y Sakurai (1991) demostraron que la 24-epiBL aumentó la eficiencia del plaqueo en suspensiones celulares de zanahoria, a través de la estimulación del alargamiento celular y de su acción sinérgica con los factores de acondicionamiento.

Kulaeva (1991) demostraron que el examen microscópico de los mutantes BR- deficientes y BR-insensibles en *Arabidopsis* mostró que el fenotipo enano era debido a una reducción en el tamaño de las células y no en el número. Sin embargo, Clouse y Zurek (1991) habían encontrado en células cultivadas del parénquima de *Helianthus tuberosus*, que la aplicación de concentraciones nanomolares de BR estimuló la división celular en al menos un 50% en presencia de auxina y citoquinina.

Por otra parte, en protoplastos de col china, la aplicación de la 24-epibrasinólida con 2.4-D y kinetina promovió la división celular en una forma dependiente de la dosis y, además, estimuló la formación de “clusters” y colonias, sugiriendo que la de diferenciación de los protoplastos fue acelerada y que este compuesto promovió o aceleró la regeneración necesaria de la pared celular antes de la división (Cerana, 1996).

Estos resultados contradictorios reflejan que el papel de los brasinoesteroides en la división celular no está claro y que requiere de mucho trabajo posterior, incluyendo estudios del efecto de estos compuestos sobre genes que controlan la división celular.

Es bueno destacar que, generalmente, la estimulación de los brasinoesteroides en la división celular no está claro y que se requiere de mucho trabajo posterior, incluyendo estudios del efecto de estos compuestos sobre los genes que controla la división celular.

Es bueno destacar que, generalmente, la estimación de la elongación provocada por los brasinoesteroides ocurre en la luz no en la oscuridad (Mandav, 1988). Kuraishi (1991) estudiaron la influencia de la luz en los efectos promotores del crecimiento de la brasinolina en epicotilos de frijol mungo (*Vigna radiata L.*) y ellos encontraron que la BL no ejerció efecto en la elongación en condiciones de oscuridad, luz azul monocromática y luz roja-lejana, sin embargo, en condiciones de oscuridad, luz azul monocromática y luz roja-lejana; sin embargo, en condiciones de luz blanca (400-700 nm) y luz roja monocromática (660 nm), con las cuales se retrasa normalmente el crecimiento, se observó claramente el efecto de este compuesto.

Estos resultados indican que el crecimiento de epicotilos involucra la regulación por fitocromos y que la acción de la BL puede estar relacionada con la regulación del crecimiento mediada por fitocromos (Mc Morris y Chory, 1994).

Es conocido que el consumo de nutrientes en las células vegetales, así como su distribución entre los órganos y tejidos, es un prerrequisito para el crecimiento y generalmente se acepta que el transporte demanda la energización de la membrana plasmática o plasmalema.

Para delimitar entonces el posible o los posibles modos de acción de los brasinoesteroides, Gonzales (1991) ejecutaron diferentes experimentos con varias plantas que deben indicar los cambios en la energización de la membrana y en el transporte inducido por fitoefectores. Ellos encontraron que la 22S, 23S homobrasinóida (SSHB) tanto en presencia de luz como en la oscuridad, provocó una hiperpolarización del gradiente de potencial eléctrico de la membrana, sin embargo, sorprendentemente la 24-epiBL, que es muy activa biológicamente no afectó el gradiente de potencial eléctrico en presencia de luz e hiperpolarizó el plasmalema solamente en ocasiones, en la oscuridad.

En relación con la expulsión de protones al medio externo debido a la actividad de la ATPasa del plasmalema, los autores antes

mencionados encontraron resultados diferentes cuando utilizaron hojas de *Egeria* y fragmentos de hojas de *Vicia*, ya que con la primera los efectos fueron similares a los del gradiente de potencial eléctrico; sin embargo, con la segunda se encontró una estimulación de la acidificación del medio no sólo en la presencia de 22S, 23 S homobrasinólida sino también con 24-epiBL. La adición al sistema de un inhibidor de la ATPasa de la membrana redujo fuertemente la expulsión de protones inducida por los brasinoesteroides, indicando que el efecto estimulador está mediado por la bomba de protones manejada por el ATP.

Se ejecutó otro experimento para estudiar la influencia de los brasinoesteroides en la apertura estomática, teniendo en cuenta que la bomba de protones del plasmalema entrega la fuerza motora para el fuerte influjo de iones que requiere este proceso. Acorde con esta estrategia, se midió el efecto de la SSHB y de la 24-epiBL en la apertura estomática y se encontró que ambas inhibieron este proceso en tiras epidérmicas de *Commelina*.

De toda esta información se concluyó que los brasinoesteroides interactúan con el plasmalema, de tal modo que muestran efectos a corto plazo sobre el potencial de membrana y/o la acidificación del medio. En algunos casos, estos efectos correlacionan con el movimiento de los estomas y el consumo de solutos en hojas o en tejidos conductores.

Por su parte, en relación con este tema, Marqueardt y Adam (1991) informaron que la BL estimula el crecimiento y la expulsión de protones en epicotilos de frijol Azuki e hiperpolariza el potencial eléctrico de la transmembrana de forma similar al AIA. Resultados similares también se obtuvieron usando segmentos de raíces de maíz y en el alga *Chlorella vulgaris*, Gregory y Mandava (1996) demostraron que los brasinoesteroides en concentraciones de 10^{-15} – 10^{-8} M estimularon marcadamente la expulsión de protones y aceleraron el ciclo de crecimiento.

Además, Wang (2000) demostraron que la aplicación de 300 ng de brasinoesteroides estimuló la elongación del hipocotilo de *Brassica*

chinensis, sin cambio en las propiedades mecánicas de las paredes celulares, pero con un incremento en las propiedades de elasticidad de la pared y una dilución pasiva de la presión osmótica de la savia celular.

También, Katsumi (1996) demostraron que la brasinolina causó crecimiento en elongación en segmentos de hipocotilo de *Cucurbita máxima Duch.*, por alteración de las propiedades de los tejidos internos y externos de la pared celular. Estos autores sugirieron que la BL indujo el crecimiento por reducción del potencial hídrico de la vacuola por consumo de iones y/o azúcar del apoplasto.

En cuanto al efecto de los brasinoesteroides en el crecimiento de la raíz, roddick e Ikekawa y Zhao (1991) encontraron que la 24-epiBL inhibió el crecimiento de la raíz en posturas de trigo, frijol mungo y maíz.

Posteriormente, Katatsuto y Yokota (1999) suministraron concentraciones submicromolares de 24-epiBL a las regiones basal y apical de raíces separadas de tomate y estas inhibieron el crecimiento.

También, Seto (2005) estudio la influencia de cuatro brasinoesteroides en el crecimiento en cultivo aséptico de raíces separadas de tomate, encontrando que todos los compuestos ensayados (brasinolina, 24-epibrasinólida 22,23,24-triepibrasinólida y 28-homobrasinólida) causaron inhibición del crecimiento, estando la actividad inhibitoria en el orden brasinolina > 24-epibrasinólida > 22,23,24-triepibrasinólida > 28-homobrasinólida. Sin embargo, según informa este autor, existen también numerosas evidencias de que los brasinoesteroides estimulan el crecimiento de sistemas de raíces intactas.

Por ejemplo, los brasinoesteroides promovieron el enraizamiento en tallos clonados de *Matricaria chamomilla*, en cortes de hipocotilo de soya, en posturas trasplantadas de *Pinus radiata* y en posturas o plantas de remolacha, trigo, maíz, tabaco y arroz. Además, el tratamiento de cortes de *Picea abies* con (22S, 23S)-28-homobrasinólida aceleró significativamente la formación de raíces adventicias.

Es de destacar que en todos los anteriores sistemas, los tallos han estado presentes y que los brasinoesteroides usualmente se aplican a este órgano por inmersión o aspersion, por lo que no se puede excluir la posibilidad de que la promoción causada por estos compuestos en la raíz, sea un efecto indirecto que se ejerce por la vía del tallo.

No obstante lo anterior, debe acentuarse que la inhibición de las raíces puede ocurrir en cortes y posturas, cuando los brasinoesteroides se aplican directamente y continuamente al extremo del corte o a las raíces, respectivamente

Todo lo anterior sugiere que las respuestas de las raíces a los brasinoesteroides son diversas y fisiológicamente diferentes a las respuestas de los tallos, por lo que deben ser cuidadosamente considerados aspectos tales como la formulación, la aplicación y el tiempo necesario de exposición.

Por otra parte, se ha planteado que los efectos inhibitorios de los brasinoesteroides particularmente sobre la expansión, están frecuentemente mediados por la inducción de la biosíntesis del etileno en el tejido del pedúnculo. Sin embargo, un trabajo reciente de Wilen (2005) sobre los efectos inhibitorios de un tratamiento breve de semillas de berro con brasinolina, demostraron que los niveles de etileno no se incrementaron en las semillas germinadas, lo que sugiere una acción inhibitoria independiente de los brasinoesteroides. No está claro qué papel juegan estos compuestos endógenos en las primeras etapas de la germinación, sin embargo, se han observado cambios en los niveles de castasterona y brasinolina después de la germinación de semillas de rábano.

Además de los efectos en el crecimiento vegetal, se han informado otros efectos de los brasinoesteroides, tales como la influencia en el gravitropismo (Mandava, 1987), en el retraso de la abscisión de hojas de citrus y ex

plantas de frutos y en la regulación de la diferenciación de elementos traquearios en células aisladas del mesófilo de *Zinnia elegans* (Takemutsu, 1988).

En Soya Clouse (1996) destacaron el papel de los brasinoesteroides en la diferenciación del xilema, a través de la expresión espacial del BRU1, un gen regulado por los brasinoesteroides que codifica una endotransglicosilasa de xiloglucano en esta especie. Se piensa que esta enzima está involucrada en los procesos que requieren modificación en la pared celular, incluyendo la expansión, la diferenciación vascular y la maduración del fruto .

En secciones transversales de epicotilos de soya en elongación, la expresión BRU1 fue más intensa en células del parénquima alrededor de los elementos de los vasos (Oh et al., 1998 citados por Clouse, 1998) sugiriendo un papel para los brasinoesteroides y para esta enzima en la formación del xilema.

La modificación de la división cambial que se ha visto en un mutante BR-deficiente (Nakamura y Matsuoka, 1994) , también sugiere la participación de los brasinoesteroides endógenos en la diferenciación del xilema in vivo y es de gran significación que se haya identificado este tipo de compuestos en las regiones cambiales del *Pinus silvestris* y en una especie de *Eucalyptus* (Clouse, 1998).

La influencia de los brasinoesteroides en la translocación de asimilados ha sido demostrado por Brosa (1997), quienes encontraron que la aplicación de homobrasinólida, 24-epibrasinólida , GA₃ y AIA a hojas de Vicia faba acelerada el consumo de sacarosa C¹⁴ por discos foliares.

Por su parte, Katsumi (1996) encontraron un efecto estimulador de la brasinolina en la translocación de asimilados en plantas de arroz.

Con anterioridad, Mandava (1988) habían planteado que uno de los papeles principales de los brasinoesteroides podía ser el de influir o dirigir

los procesos de movilización dentro de planta, por lo que de las formas en que pueden actuar estos compuestos es influyendo en el transporte por el floema.

Otras publicaciones han establecido que los brasinoesteroides estimulan la actividad fotosintética (Kakeuchi, 1984) expresada por una aceleración en la fijación del CO₂ incrementando la biosíntesis de proteínas y el contenido de azúcares reductores.

También se ha informado la activación de la síntesis de proteínas en hojas de trigo, después del tratamiento con 22S, 23S homobrasinólida, incluyendo la síntesis de proteínas específicas, algunas de las cuales corresponden a las proteínas del choque térmico (Marquardt y Adam, 1991).

En cuanto a la biología reproductiva, se puede señalar que el polen es una fuente rica de brasinoesteroides endógenos y los estudios in vitro han sugerido que la elongación del tubo polínico puede depender en parte de estos compuestos. La esterilidad masculina de algunos mutantes BR-insensibles apoyan este planteamiento (Clouse, 1998) pero la no suficiente elongación del filamento de forma tal que el polen, aunque viable, no pueda alcanzar el estigma, se señaló como un mecanismo alternativo de esterilidad masculina por el mutante *dwf4*, BR-deficiente (Choe y Feldmann, comunicación personal; citados por Clouse 1998).

Sin embargo, el mutante *cpd* presentó esterilidad masculina debido a que el polen por sí mismo no fue capaz de alongarse durante la germinación (Close, 1996). Además, con frecuencia la polinización es el paso inicial para la génesis de plantas haploides y en *Arabidopsis thaliana* y *Brassica juncea*, el tratamiento con BL indujo la formación de semillas haploides que desarrollaron plantas estables (Bellicampi y Morpurgo, 1994).

En el polen de *Brassica napus* y *Lolium temulentum*, se exploró la localización celular de los brasinoesteroides, usando anticuerpos policlonales generados contra la castasterona y los resultados sugirieron que estos compuestos podían estar almacenados o atrapados en los gránulos de almidón en desarrollo y se

liberaban en la imbibición (Sakurai, Yokota, y Clouse,1997). La distribución relativa de los brasinoesteroides en el polen en maduración se ha explorado químicamente y la teasterona conjugada estuvo presente en la etapa de micro espora. Su nivel descendió cuando el polen se desarrolló y los niveles de brasinoesteroides libres incrementaron. Uniendo todos estos datos, se puede plantear que los brasinoesteroides desempeñan un papel importante en la fertilización de las plantas.

En relación con el efecto general de los brasinoesteroides en la diferenciación del sexo en las plantas, Takematsu (1989) encontró que la aplicación directa de brasinólida a la inflorescencia esta minada de luffa cilíndrica indujo flores bisexuales y pistiladas.

Otro efecto de los brasinoesteroides es su influencia en la senescencia en algunos sistemas. Así, Ikekawa y Zhao (1991) encontraron que la 24-epibrasinólida, a diferencia de las citocininas, aceleró la senescencia del tejido cotiledonar y foliar. Ellos observaron un incremento marcado en el nivel del malondialdehído y actividades alteradas de las enzimas peroxidasa, su peróxido dismutasa y catalasa, sugiriendo que los brasinoesteroides pueden regular estos efectos vía “oxígeno activado”. La senescencia retardada en mutantes de brasinoesteroides de Arabidopsis, tendían a apoyar el papel de los brasinoesteroides en acelerar la senescencia en plantas normales. Sin embargo, el trabajo relacionado con la peroxidación lipídica sugiere que la 24-epibrasinólida inhibe la degradación oxidativa, disminuye los niveles de malondialdehído y actúa como un protector de membranas y de esta forma retrasa la senescencia.

Para ayudar al clarificar el papel de los brasinoesteroides en este proceso será necesario estudiar el efecto de la aplicación de estos compuestos en mutantes de Arabidopsis asociados con la senescencia, así como la expresión de los genes asociados a la senescencia en dichos mutantes.

2.2.1.5 Su papel como hormonas vegetales endógenas

Las hormonas vegetales, según la definición de Davies

(1987) citado por Sasse (1997), son compuestos naturales en las plantas con la capacidad de influir en los procesos fisiológicos a concentraciones por debajo de las que los nutrientes o las vitaminas influirían en éstos.

Existen muchos compuestos naturales que tienen efectos regulatorios del crecimiento en las plantas completas o en bioensayos y los brasinoesteroides son realmente potentes pero ¿deben ellos ser considerados como hormonas vegetales?

Las familias de hormonas vegetales conocidas: auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico y etileno, se caracterizan por los siguientes aspectos:

- Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal
- Tienen múltiples efectos
- Pueden modular los efectos unos de otros
- Se mueven a través de la planta en forma libre o conjugada
- Interactúan con señales ambientales tales como la luz, la disponibilidad de agua, la gravedad y la temperatura.

Además, las señales hormonales aceleran la síntesis de proteínas particulares y resulta de gran interés la búsqueda de receptores hormonales, su distribución y la transmisión y amplificación de la señal. Utilizando estos criterios, cabe preguntar entonces si los brasinoesteroides se comportan o no como hormonas vegetales.

Para responder a esta interrogante, Sasse (1997) hizo un análisis detallado de estos y llegó a la conclusión que existían evidencias consistentes para considerar a los brasinoesteroides como una nueva familia de hormonas vegetales endógenas. Sin embargo, existen aún aspectos de la fisiología y bioquímica de estos compuestos que necesitan estudiarse y algunas interrogantes como son, por ejemplo, ¿cuáles son los efectos en la anatomía y los parámetros físicos del crecimiento? ¿Cuáles son los niveles endógenos en los tejidos vegetativos en crecimiento?, ¿modulan

los brasinoesteroides la respuesta de los fitocromos? ¿Cuál es su papel en el polen?, etc.

Independientemente de lo anterior, las evidencias reafirman su consideración y sugieren que los brasinoesteroides tienen un papel independiente en las primeras etapas del crecimiento vegetativo.

2.2.1.6 Efectos sobre el metabolismo de las plantas

La división y el alargamiento celular en un tejido en crecimiento requieren de la síntesis de ácidos nucleicos y de proteínas. Las hormonas vegetales tales como las auxinas, giberelinas y citocininas, regulan el metabolismo de los ácidos nucleicos en las plantas (Sasse, 1998).

El efecto de los brasinoesteroides en el metabolismo de las proteínas y los ácidos nucleicos fue estudiado por Mandava (1988), los cuales utilizaron inhibidores de la síntesis de proteínas y del ARN para evaluar sus efectos en la respuesta inducida por brasinoesteroides en cortes de epicotilo de frijol mundo y ellos encontraron que los inhibidores ensayados y en particular, la actinomicina D y la cicloheximida, interfirieron en el crecimiento del epicotilo. Los efectos causados por estos inhibidores parecen ser revertidos por los brasinoesteroides, cuando el tejido tratado con el inhibidor se lava con agua y entonces se expone a la BL. Este procedimiento contrarrestó la respuesta inhibitoria y produjo adicionalmente un efecto promotor del crecimiento si el tejido pre tratado con BL se trata posteriormente con los inhidores, la promoción inducida por la BL se detiene completamente. Estos efectos son reversibles y dependientes de la concentración Metodologías similares utilizadas en epicotilos de frijol Azuki (Cerana, 1996) y guisante (Sasse, 1998).

Estos estudios claramente indican que los efectos en el crecimiento inducidos por los brasinoesteroides, al igual que los inducidos por auxinas y giberelinas, dependen de las síntesis de ácidos nucleicos y de proteínas celulares.

En otro estudio, Mandava (1988) encontraron que el tratamiento con BR incrementó significativamente las actividades de la ARN y ADN polimerasas, la síntesis del ARN, ADN y proteínas en *Phaseolus vulgaris* L. Y *Phaseolus aureus* Rox. Esto sugiere la inclusión de las brasinoesteroides en la replicación y transcripción durante el crecimiento del tejido. Bajo la influencia de los brasinoesteroides en la replicación y transcripción durante el crecimiento del tejido. Bajo la influencia de los brasinoesteroides, los cambios en las actividades enzimáticas aparentemente afectan el metabolismo de los ácidos nucleicos, de tal forma que los niveles de ARN, ADN y proteínas acumulados en el tejido incrementan durante el crecimiento.

Más recientemente, Seto (2005) encontraron que en el alga *Chlorella vulgaris* el contenido de proteínas es intensamente estimulado por la brasinolina y la 24-epibrasinólida durante un período de 12 a 36 horas de cultivo.

Aunque la BL causa un incremento en el contenido de la proteína celular, no afecta las actividades de la peroxidasa ni de la polifenoloxidasas en frijol mungo, lo que sugiere una inducción de la síntesis de proteínas específicas más que un incremento indiscriminado de la síntesis de todas las proteínas.

El tratamiento con BL incrementa además la actividad de la ATPasa en epicotilos de frijol Azuki y en raíces de maíz (Cerana, 1996). Esta actividad está relacionada con la fuerte secreción ácida en esas plantas. Por su parte, Katsumi (1996) informó que un inhibidor de la ATPasa asociada a la membrana, la dicitclohexil carbodiimida, afectó la elongación inducida por BL en hipocotilos de pepino.

Se ha encontrado también que la BL está implicada en el incremento de la velocidad de fijación del CO₂ en la oscuridad, mediante la activación de la síntesis del malato citoplasmático vía la fosfoenolpiruvato carboxilasa y en condiciones in vitro se ha informado la estimulación de la actividad de la ribulosa bifosfato carboxilasa (Mandava, 1988).

2.2.1.7 Mecanismos moleculares de acción

Para la elongación y otros procesos morfo genéticos que existen, la pared celular tiene que ser modificada, ya sea por relajación o ablandamiento y por incorporación de nuevos polímeros en la pared en extensión para mantener su integridad. Se han identificado varias proteínas con papeles posibles en los procesos de modificación de la pared como son glucanasas, endotransglucosilasas de xiloglucano (XETs) y expansinas (Clouse, 1998). Este autor plantea que las expansinas son primordialmente responsables de la relajación de la pared, pero la glucanasas y las XETs afectan la extensión de la actividad de la expansina, alterando la viscosidad de la matriz de hemicelulosa. Además, las XETs pueden funcionar incorporando nuevos xiloglucanos a la pared en crecimiento y la biosíntesis de la celulosa se espera también que ocurra. Es cierto, sin embargo, que los brasinoesteroides alteran las propiedades biofísicas de las paredes celulares de las plantas (Wang, 2000) e incrementan la abundancia de los transcritos de ARNm para proteínas que modifican la pared, tales como las endotransglucosilasas de xiloglucano (Clouse, 1996).

La aplicación de brasinoesteroides a epicotilos de soya e elongación provocó en dos horas un incremento en la extensibilidad plástica de las paredes, con un incremento concomitante en el nivel de ARNm del gen denominado BRUI, que mostró una homología significativa con numerosas XETs (Clouse, 1996). Además, el incremento en las concentraciones de los brasinoesteroides aplicados durante las etapas iniciales de la elongación condujo al incremento lineal en la actividad extraíble de la XET en los epicotilos. El gen BRUI estaba regulado específicamente por brasinoesteroides durante las primeras etapas de la elongación y el incremento de su expresión no fue simplemente la consecuencia de una elongación acelerada; por lo tanto, BRUI es probable que desempeñe un importante papel en la elongación del epicotilo promovido por brasinoesteroides en soya (Clouse, 1998).

En *Arabidopsis* también se han identificado XETs reguladas por brasinoesteroides. Se demostró que el gen TCH4 codifica una XET, cuya expresión se incrementó a los 30 minutos después del tratamiento con BL con un máximo a las 2 horas. Contrario al BRUI de la soya, el TCH4 fue también

rápidamente inducido por el tratamiento con auxinas. Los estímulos ambientales tales como la oscuridad y la temperatura, también afectan la expresión del TCH4. La expresión de este gen estuvo restringida al tejido en expansión y a órganos que sufren modificaciones en la pared celular tales como los elementos vasculares (Yokota, 1997).

La expresión del TCH4 se redujo grandemente en los mutantes BR-deficientes y BR-insensibles, demostrando el papel que juegan las XETs en la elongación promovida por los brasinoesteroides (Yokota, 1997).

La expansión celular, además depende de un suministro adecuado de componentes de pared y un trabajo relativamente reciente efectuado por Wang (2000) confirmó la inhibición de la elongación inducida por BR en tejido de tallo, por inhibidores de la biosíntesis de la celulosa o por orientación de los microtúbulos (Sasse, 1998).

La brasinolina, sola o en combinación con auxinas, estimula el porcentaje de microtúbulos corticales orientados transversalmente (Sairam, 1994). La orientación de microtúbulos corticales que, generalmente, correlaciona con la orientación de las microfibrillas sigue un patrón cíclico y la fosforilación de las proteínas, posiblemente las que unen los microtúbulos orientados transversalmente. La elongación inducida por los brasinoesteroides también depende de tal fosforilación.

2.2.1.8 Niveles de regulación de los genes por los brasinoesteroides

La regulación transcripcional de la expresión génica por los brasinoesteroides se ha demostrado con el gen TCH4 de Arabidopsis. Otros trabajos han localizado la región promotora responsable para la regulación por los brasinoesteroides dentro de 100 bp (Clouse y Sasse, 1998).

Por otra parte, también se ha observado la regulación postranscripcional. El gen BRUI de soya representa un ejemplo de la regulación postranscripcional de un gen por un esteroide vegetal (Zurek y Clouse, 1994). La regulación postranscripcional, que aparentemente involucra la estabilidad del ARNm de BRUI, se mantiene en una manera independiente de los brasinoesteroides en cultivos de suspensiones celulares de soya, proporcionando un excelente sistema modelo para discernir las secuencias que actúan en cis responsables de esta regulación.

2.2.1.9 Transducción de señales de los brasinoesteroides

El valor de los mutantes hormona-insensibles en desenredar la ruta de transducción de señales en las plantas, se ha demostrado para el etileno (Wada, Marumo, y otros, 1995) y el ácido abscísico y este enfoque ha resultado exitoso para los brasinoesteroides también Clouse (1996) identificaron un mutante BR-insensible en *Arabidopsis* por la capacidad de las plantas mutantes de alongar sus raíces en la presencia de concentraciones inhibitorias de BR con respecto al tipo silvestre.

El mutante denominado bril mostró defectos pleiotrópicos severos en el desarrollo como enanismo, desetiolación, esterilidad masculina y morfología foliar alterada, lo que sugirió que la proteína producto del BRII jugó un papel importante en la percepción o transducción de la señal de los brasinoesteroides.

En animales, existen dos modelos de transducción de señales. El primero involucra a un receptor asociado a la membrana con un dominio enlazado a un ligando extracelular y un dominio intracelular responsable de transmitir la señal al próximo miembro de la ruta, a menudo una quinasa o proteína G. La amplificación o proliferación de la señal procede por cascadas de fosforilación y desfosforilación e incluye segundos mensajeros como el calcio, la AMP cíclica y el diacil glicerol (Sasse, 1997). La segunda ruta incluye receptores intracelulares que reconocen esteroides o ligados similares a esteroides, para afectar directamente la transcripción a las hormonas.

A causa de la similitud estructural de las moléculas señales de los esteroides animales y vegetales, es razonable asumir que las plantas pueden tener miembros de la supe familia intracelular de los receptores esteroidales. El gen BRII se ha clonado y quizás, sorprendentemente, muestra una fuerte homología de secuencia, no a los receptores esteroidales, sino a las kinasas receptoras ricas en leucina que funcionan en la superficie para transmitir señales extracelulares (Wilensky, 2005).

El gen BRII comparte homología con las kinasas receptoras de plantas y animales en todos los dominios conservados incluyendo al enlazado al ligando, el dominio de membrana y el dominio de kinasa citoplasmática. Además, el análisis de la secuencia de cinco alelos del mutante confirma que el enlace al probable ligando y los dominios de la kinasa son esenciales para la función in vivo.

Sobre la base del fenotipo pleitrópico de los mutantes bril y la homología en la secuencia del BRII a moléculas importantes en la transducción de señales, es obvio que el BRII es un componente crítico de la ruta de transducción de señales de los brasinoesteroides. Sin embargo, no se ha confirmado su papel como receptor de los brasinoesteroides por estudios directos enlace.

No se han identificado ligados para las kinasas de los receptores vegetales y, en animales, todos los ligados conocidos para tales receptores son polipéptidos o glicoproteínas (Katsumi, 1996). Es posible que el receptor de brasinoesteroides sea un polipéptido que se une al BRII en la presencia de éstos o puede haber un ligando desconocido que se requiere para la actividad de los brasinoesteroides. Aún si los BRs se unen directamente al BRII, esto no excluye la posibilidad de que existan también receptores intracelulares de brasinoesteroides, ya que se conoce que en animales coexisten los receptores esteroidales intra y extracelulares, con el receptor intracelular mediando la expresión génica y el extracelular modulando las respuestas no genómicas, tales como el flujo de iones calcio y el estado de fosforilación de una variedad de proteínas (Gray, 2004).

3.3 HIPÓTESIS

H0: La aplicación de brasinoesteroides en Rosas (*Rosas spp.*) Var. Freedom no incrementan la elongación de los tallos y la calidad del botón.

Ha: Con la aplicación de brasinoesteroides en Rosas (*Rosas spp.*) Var. Freedom, se incrementan la elongación de los tallos y la calidad del botón.

3.4. VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

3.4.1 Variable Dependiente

- Longitud del tallos.
- Grosor del tallos.
- Tamaño de los botones.
- Peso seco de tallos, hojas y botones.
- Índice plastocrónico.

3.4.2 Variables Independientes

Dosis y estado fenológico de aplicación de Brasinoesteroides.

CAPÍTULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 ENFOQUE MODALIDAD Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

3.1.1 Enfoque

Este proyecto se realizó con un enfoque predominante cuantitativo.

3.1.2 Modalidad

La modalidad fue netamente experimental.

3.1.3 Nivel o tipo de investigación

En este proyecto se realizará una asociación de variables donde se probarán, dosis y estados fenológicos de aplicación.

3.2 UBICACIÓN DEL ENSAYO

El presente proyecto se llevará a cabo en la Florícola Patate propiedad del Ing. Rubén Reyes, perteneciente al cantón Patate, provincia de Tungurahua, las coordenadas geográficas son 778191,20 x, 9855453,47 y.



Fuente: Google Maps, 2010.

3.3 CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR

3.3.1 Características del suelo

Según el Plan de Ordenamiento territorial del cantón Patate donde se cita como fuente al MAG-PRONAREG, los suelos de esta zona del estudio están clasificados como Entic Eutrandep Limoso (polvo) Isothermic que se caracterizan por ser un suelo joven, con poca materia orgánica, limoso, con arena muy fina, polvo negro profundo húmedo (ceniza negra) pero color más claro. En cuanto al nivel de fertilidad el, nitrógeno bajo, fósforo medio y muy alto en potasio, la capacidad de intercambio catiónico es baja y la saturación de bases es alta. En conclusión el nivel de fertilidad es moderado en la capa superficial y bajo en la parte profunda del suelo.

3.3.2 Condiciones climáticas

PARÁMETROS CLIMÁTICOS	Reporte Mensual	
	Mínimo	Máximo
Temperatura media diaria (° C) microclimas	15°/11.2 ° C	17°/23 ° C
Humedad Relativa	7h 94 %	19 h 93 %
Precipitación (mm./mes)	65.8 normal	
Viento (Velocidad promedio)	1 Km./h	9 Km./h

FUENTE: Plan Desarrollo Cantonal, 2002.

3.4 FACTORES EN ESTUDIO

3.4.1. Dosis de Brasinoesteroides

Del producto comercial de brasinoesteroides se analizarán las siguientes dosis:

SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN
D1	Dosis una, 1 mL de brasinoesteroides (IA 0,02%) por litro de agua
D2	Dosis dos, 2 mL de brasinoesteroides (IA 0,02%) por litro de agua
D3	Dosis tres, 3 mL de brasinoesteroides (IA 0,02%) por litro de agua.

3.4.2. Estado fenológico de aplicación.

SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN
E1	Estado fenológico uno, aplicación en yema hinchada.
E2	Estado fenológico dos, aplicación en brote de 5 cm de longitud.
E3	Estado fenológico tres, aplicación en brote de 10 cm de longitud.

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se aplicó un diseño de bloques al azar con arreglo factorial de 3 x 3 + 1, con tres repeticiones.

3.5.1 Análisis de varianza

Para el procesamiento de la información obtenida durante el periodo de investigación y recolección de datos, se utilizó el Análisis de Varianza cuadro 1.

CUADRO 1. ESQUEMA DEL ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA EVALUACIÓN DE BRASINOESTEROIDES EN EL CULTIVO DEL ROSAL (Rosa spp.) VAR. Freedom EN EL CANTÓN PATATE PROVINCIA DEL TUNGURAHUA.

Fuente de variación	Grados de libertad
Repeticiones	2
Tratamientos	(9)
Estado fenológico	2
Brasinoesteroides	2
D x E	(4)
Testigo vs resto	1
Error Experimental	18
Total	29

3.5.2 Análisis Estadístico

Para los casos que presentaron diferencias estadísticas significativas en el ADEVA, se realizaron pruebas de Duncan al 5% respectivamente para tratamientos, entre dosis y estados fenológicos.

3.6 TRATAMIENTOS

TRAT.	SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN
1	D1E1	1 mL de brasinoesteroides por L de H ₂ O en yema hinchada
2	D1E2	1 mL de brasinoesteroides por L de H ₂ O con brote de 5cm.
3	D1E3	1 mL de brasinoesteroides por L de H ₂ O con brote de 10 cm.
4	D2E1	2 mL de brasinoesteroides por L de H ₂ O en brote yema hinchada.
5	D2E2	2 mL de brasinoesteroides por L de H ₂ O con brote de 5 cm.
6	D2E3	2 mL de brasinoesteroides por L de H ₂ O con brote de 10 cm.
7	D3E1	3 mL de brasinoesteroides por L de H ₂ O en yema hinchada.
8	D3E2	3 mL de brasinoesteroides por L de H ₂ O con brote de 5 cm.
9	D3E3	3 mL de brasinoesteroides por L de H ₂ O con brote de 10 cm.
10	D0E0	Testigo sin aplicación de brasinoesteroides.

3.7 CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

Ancho de cama	0,80 m
Altura de cama	0,40 m
Distancia entre plantas	0,25 m
Distancia entre hileras	0,30 m
Separación entre tratamientos	0,50 m
Separación entre camas	1,20 m
Largo de cama	150 m

3.7.1 Características de las unidades experimentales

La unidad experimental lo constituirán 5 plantas de rosa en hilera, de las cuales se tomarán las 3 plantas centrales como parcela neta en las cuales se tomó la información de las variables.

3.7.2 Esquema de distribución en el campo

	UNIDAD EXPERIMENTAL			PARCELA NETA											
R1	T3B1	T3B2	T3B3	T4B1	T4B2	T4B3	T6B1	T6B2	T6B3	T7B1	T7B2	T7B3	T1B1	T1B2	T1B3
	T5B1	T5B2	T5B3	T3B1	T3B2	T3B3	T9B1	T9B2	T9B3	T10B1	T10B2	T10B3	T2B1	T2B2	T2B3
R2	T10B1	T10B2	T10B3	T3B1	T3B2	T3B3	T5B1	T5B2	T5B3	T6B1	T6B2	T6B3	T4B1	T4B2	T4B3
	T2B1	T2B2	T2B3	T8B1	T8B2	T8B3	T1B1	T1B2	T1B3	T7B1	T7B2	T7B3	T9B1	T9B2	T9B3
R3	T9B1	T9B2	T9B3	T6B1	T6B2	T6B3	T5B1	T5B2	T5B3	T7B1	T7B2	T7B3	T1B1	T1B2	T1B3
	T3B1	T3B2	T3B3	T10B1	T10B2	T10B3	T2B1	T2B2	T2B3	T8B1	T8B2	T8B3	T4B1	T4B2	T4B3

3.8 DATOS TOMADOS

3.8.1 Longitud de Tallos.

Luego de poda o "pinch", cada 15 días, se midió la longitud de 3 brotes señalados al azar en cada repetición, desde su lugar de inserción en el tallo podado hasta el meristemo apical, para lo cual se utilizó un calibrador "pie de Rey" para los brotes pequeños o menores a 5 cm de longitud, y luego cuando los brotes alcanzaron una longitud mayor a los 5 cm se procedió a medir con una cinta métrica, la medición se hicieron hasta cuando los tallos llegaron a la cosecha. Con los datos se construyó una curva de elongación de los tallos.

3.8.2 Grosor del tallo.

En los brotes señalados para la elongación de tallo (variable anterior), con un calibrador pie de Rey, cada 15 días se midió el diámetro basal de los tres

tallos marcados al azar por repetición. La medición se lo hizo en la base de la inserción del tallo en la rama podada.



3.8.3 Tamaño de los botones

Cuando los tallos señalados para cada repetición estuvieron en época de corte, con un calibrador “pie de Rey” se procedió medir la longitud del botón y diámetro en la parte más ancha del botón, valores que se reportaron en cm.





3.8.4 Peso seco de tallos, hojas y botones.

Con los tallos cortados, se procedió a separar sus componentes: tallo, hojas y botones, luego de lo cual se eliminó el agua deshidratando los órganos colocándolos en una estufa a 70 grados centígrados, hasta cuando su peso no varió de un día para otro, y se estableció su peso seco, mismo que se midió con una balanza digital en gramos.







3.8.5 Índice Plastocrónico.

Con una frecuencia de 30 días hasta la época de corte de tallos, se determinó el índice plastocrónico (IP) en los tres tallos marcados al azar por repetición para la variable de longitud de tallos, utilizando la fórmula de (IP) según lo siguiente:

$$IP = n + \frac{\log L_n - \log 10}{\log L_n - \log L_{n+1}}$$

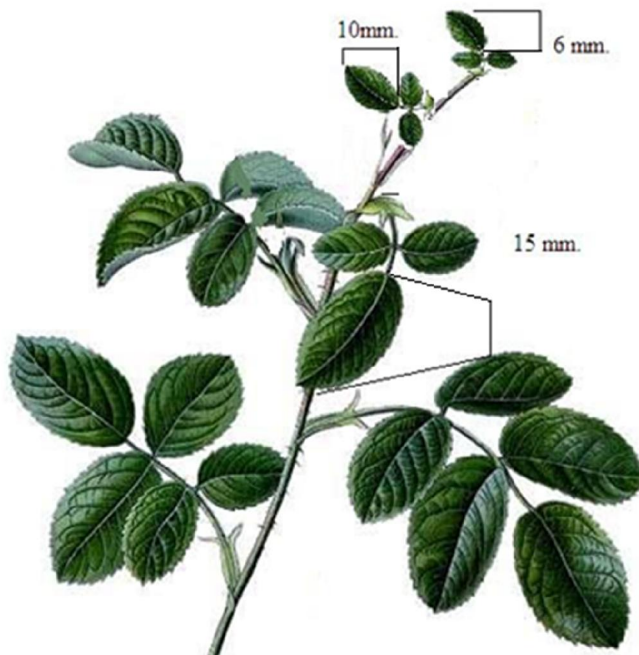
n= Número de serie (de la hoja más cercana que excede una longitud crítica)

Log 10 = Log de la hoja crítica

L_n = Longitud de la hoja n

L_{n+1} = Longitud de la hoja que es ligeramente menor.

La fórmula descrita anteriormente sirvió para el cálculo del Índice plastocrónico. Se midió la longitud desde la base hasta la punta de la hoja principal del foliolo. En el esquema se ejemplifica gráficamente el proceso de medición.



Esquema del proceso de medición del índice plastocrónico en una planta de rosa.

3.9 MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN

3.9.1 Selección de plantas y brotes

Se realizó el ensayo en cultivo establecido y en producción. Para lo cual se seleccionó camas con plantas lo más uniformemente posible, señalando 3 plantas como parcela neta y por cada planta se seleccionó un brote y/o una yema hinchada de acuerdo al tratamiento; de los que se tomaron los datos para la presente investigación.

3.9.2 Nomenclatura de las repeticiones y tratamientos

Para cada repetición se seleccionó 2 hileras a las cuales se rotuló para cada caso.



Con la ayuda de cintas se rotuló y se pintó cada uno de los brotes para cada tratamiento como se demuestra en la fotografía siguiente.



3.9.3 Aplicación del brasinoesteroide

Las aplicaciones se realizó con atomizador de litro para cada tratamiento; el producto se aplicó mojando de abajo hacia arriba los brotes y/o yemas de cada uno de los tratamientos, se realizó una sola aplicación al inicio del ensayo.



3.9.4 Manejo del cultivo

El manejo de cultivo se lo realiza normalmente siguiendo el procedimiento normal de la finca en referencia a controles fitosanitarios, riego, poda, manejo de temperatura y humedad como se detalla a continuación:

Poda o “Pinch”.- Se realiza la poda o “pinch” de tallos que han producido (o aquellos que alcanzan el grosor mayor a un lápiz), dejando tallos con una longitud de aproximadamente 20 cm., provistos de yemas basales, para que se generen nuevos brotes en los cuales aparecerán los botones de rosa.

Fertilización.- Luego de la poda o paralelamente a ella, se aplican fertilizantes edáficos y foliares para promover la salida de nuevos brotes sobre.

Riego.- Se mantienen las camas de cultivo regadas a capacidad de campo, sobre todo después de la poda.

Controles Fitosanitarios.- Se realizan aplicaciones de caldos pesticidas para prevenir las principales enfermedades que atacan a la rosa como son: Mildiú veloso (*Peronospora sparsa*), Oidio (*Sphaerotheca pannosa*), Roya

(*Phragmidium mocronatum*) y plagas como Afidos (*Macrosiphum rosae*), Ácaros (*Tetranychus urticae*), Trips (*Frankliniella occidentalis*) entre otras.

Cosecha.- Cuando los tallos han llegado a su máximo crecimiento y los botones están ligeramente abiertos “estado de caracol”, se procede a la cosecha de tallos, con un corte de tijera; luego se clasifican los tallos por su tamaño y se procede con el manejo poscosecha y empaque para la exportación.

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS, ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y DISCUSIÓN

4.1.1 Longitud de tallo

Al establecer el análisis de variancia para la longitud de tallo de las rosas bajo el efecto de tres dosis de brasinoesteroides, en tres estados fenológicos de aplicación, no se encontró diferencias estadísticas para repeticiones en cada una de las evaluaciones a excepción de la realizada a los 15 días donde se diferenciaron a nivel del 5%, mientras que los tratamientos se diferenciaron en cada una de las evaluaciones al 1% en las tres primeras y al nivel del 5% en la última. Los estados fenológicos de aplicación de los brasinoesteroides afectaron a nivel del 5% a esta variable en cada una de las evaluaciones realizadas, las dosis de brasinoesteroides se diferenciaron a nivel del 1% en las evaluaciones realizadas a los 15, 30 y 45 días, manifestando un efecto lineal al mismo nivel. Además hay que manifestar que en cada una de las evaluaciones el testigo se diferenció del resto de tratamientos al 1 % en las dos primeras y al 5% en las restantes (cuadro 2).

Los tallos que alcanzan una mayor longitud generan mayor rentabilidad en el cultivo de las rosas, por ello el resultado de que los estados fenológicos más importantes corresponden a yemas iniciales o llamadas en este estudio como yema hinchada, que corresponden a yemas en inicio de brotación, en donde al parecer los brasinoesteroides probablemente funcionan con efecto similar a las citocininas, que se traducirían en lograr mayor división celular, que termina con brotes de mayor longitud, derivadas de un mayor número de células en la división; por otro lado en cambio cuando los brotes han alcanzado unos 10 cm de longitud, se ha demostrado que nuevamente resulta en el estado fenológico más ideal para lograr mayor longitud de tallos, por lo que dicha respuesta probablemente se deba a una acción biorreguladora similar a las giberelinas que promueven mayor elongación de tallos, por efecto de ruptura de paredes celulares que promueven la elongación, como el proceso más importante para que las células multiplicadas con anterioridad tomen

más agua y a la vez crezcan como tejido especializado (tallo), lo anteriormente indicado ha sido encontrado en otros experimentos de los cuales se desprende que los brasinoesteroides tienen funciones diversas, por lo que justamente han sido clasificados como biorreguladores de un grupo aparte de los promotores de crecimiento; en cuanto a la actividad de la brasinolina en algunos de los bioensayos típicos para giberelinas y citocininas, Mandava (1988) informaron que la BL era muy activa en los bioensayos de la elongación de epicotilos de guisante enano e hipocotilo de frijol etiolado, respuestas típicas del ácido giberélico (GA₃) y no de las auxinas lo que corrobora los resultados de la investigación realizada en esta tesis.

CUADRO 2. ANÁLISIS DE VARIANCIA PARA LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS BAJO EL EFECTO DE TRES DOSIS DE BRASINOESTEROIDES EN TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN. PATATE, TUNGURAHUA, 2011.

FUENTES DE VARIACION	GL	LONGITUD DE TALLO (cm)			
		15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
TOTAL	29				
REPETICIONES	2	115.99 *	92.85 ns	167.20 ns	279.11 ns
TRATAMIENTOS	(9)	875.94 **	1367.50 **	1222.73 **	983.71 *
ESTADOS FENOLÓGICOS	2	126.63 *	596.51 *	1431.39 *	1341.92 *
BRASINOESTEROIDES	2	3128.31 **	4573.11 **	2249.22 **	965.80 ns
DOSIS LINEAL	1	6109.18 **	8961.13 **	4481.84 **	1439.52 ns
DOSIS CUADRÁTICA	1	147.44 *	185.19	16.61 ns	492.08 ns
D X E	(4)	22.27 ns	87.41 ns	400.81 ns	561.30 ns
Testigo vs resto	1	1284.54 **	1135.74 **	2039.46 *	1992.78 *
ERROR	18	31.25	149.74	309.46	345.04
X(cm)		27.59	50.48	73.47	84.58
CV(%)		20.26	24.24	23.94	21.36

Las dosis más altas de brasinoesteroides demostraron una mayor elongación de tallos, por lo que la acción apunta hacia un proceso de funcionamiento parecido a la respuesta ante la aplicación de nitrógeno que se traduce en la formación interna de giberelinas, que probablemente dan este resultado; además no hay que

olvidarse que los esteroides han demostrado una mayor eficiencia en la utilización de nutrimentos por parte de la planta, que en este caso al incrementarse las dosis, es posible que produzcan una mayor capacidad de absorción de nutrimentos, probablemente N y K que podrían ser responsables de dicha respuesta lo dicho anteriormente corrobora las investigaciones realizadas por Mandava (1988) en el bioensayo donde las giberelinas causan sólo alargamiento del entrenudo tratado y de los superiores, los brasinoesteroides provocan tanto el alargamiento como la división celular, lo que resulta en una elongación, engrosamiento, curvatura y desdoblamiento entrenudo.

El testigo resultó con una respuesta diferente a todos los tratamientos con brasinoesteroides, lo cual demuestra que el comportamiento respecto al balance hormonal interno de los órganos, cambia por efecto del biorregulador, situación que abre una interesante gama de posibilidades de uso de los esteroides con fines de lograr incrementar la calidad de tallo y botones, como lo demuestra este estudio en el que los brasinoesteroides actúan en forma compleja respecto a la biorregulación de procesos.

Los promedios generales de la longitud de tallo de las rosas fueron incrementándose de 27.59 cm a los 15 días hasta alcanzar 84.58 cm a los 60 días, con coeficientes de variación entre 20.26 a 24.24%.

Los promedios generales de la longitud de tallo de las rosas fueron incrementándose de 27.59 cm a los 15 días hasta alcanzar 84.58 cm a los 60 días, con coeficientes de variación entre 20.26 a 24.24%.

La aplicación de los brasinoesteroides fue más eficiente cuando se aplicó en yemas cuyo tamaño fue de 10 cm y en el estado de yema hinchada, pues se logró el mayor desarrollo de los tallos a lo largo de todas las evaluaciones (cuadro 3 y grafico 1)

A medida que se incrementó la dosis de brasinoesteroides se incrementó la longitud de los tallos de rosas en cada una de las evaluaciones, presentándose una mayor diferencia en las primeras evaluaciones a los 15 y 30 días,

mientras que en el resto de evaluaciones las diferencias son menores (cuadro 4y grafico 2).

CUADRO 3. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

ESTADOS FENOLÓGICOS	LONGITUD TALLO (cm)			
	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
E1 YEMA HINCHADA	29.32 ab	56.36 a	79.39 a	90.91 a
E2 LONGITUD 5 cm.	26.26 b	43.63 b	62.33 b	73.69 b
E3 LONGITUD 10 cm	33.72 a	58.80 a	86.94 a	97.30 a

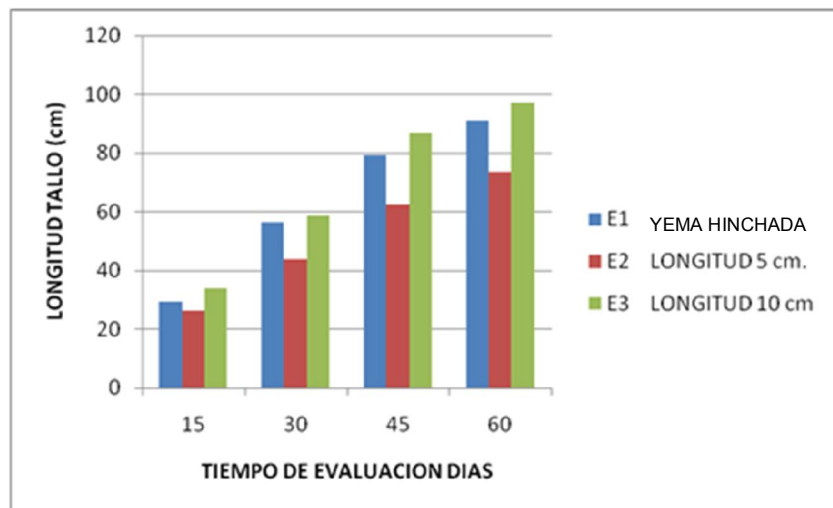


GRAFICO 1. LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM BAJO EL EFECTO DE TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES DENTRO DE CUATRO EVALUACIONES 15, 30, 45 Y 60 DÍAS.

CUADRO 4. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR.FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%

DOSIS BRASINOESTEROIDES	LONGITUD TALLO (cm)			
	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
D1 1 mL/L	9.69 c	28.76 c	61.00 b	81.37
D2 2 mL/L	33.07 b	56.63 b	75.11 b	81.26
D3 3 mL/L	46.54 a	73.39 a	92.55 a	99.26

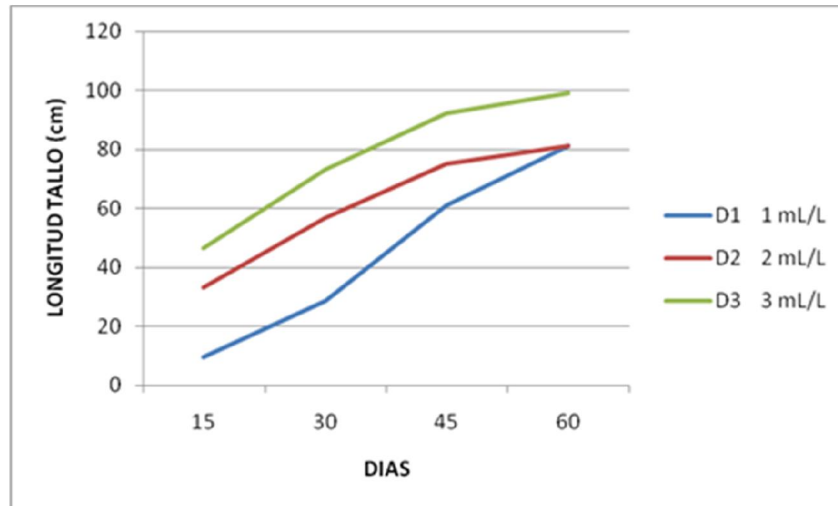


GRAFICO 2. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DE LOS TALLOS DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM.

Al analizar todos los tratamientos se destacan T6 y t9 que corresponden aquellos donde se aplicó la dosis más alta de los brasinosteroides en los estados fenológicos de 5 y 10 cm de largo de las yemas pues fue creciendo llegando a los 60 días con una altura que superó los 103 cm (cuadro 5 y grafico 3).

CUADRO 5. EFECTO CONJUNTO DOSIS DE BRASINOESTEROIDES POR ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

ESTADOS FENOLÓGICOS	LONGITUD TALLO (cm)			
	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
T1 E1D1	9.25 e	35.67 cd	73.11 abc	93.89 ab
T2 E1D2	33.11 cd	58.95 ab	78.28 abc	86.89 abc
T3 E1D3	45.61 ab	74.44 a	86.78 ab	91.94 abc
T4 E2D1	8.72 e	18.90 d	38.48 d	56.90 c
T5 E2D2	26.50 d	42.72 bc	55.50 abc	60.89 bc
T6 E2D3	43.56 ab	69.98 a	93.00 a	103.28 a
T7 E3D1	11.11 e	31.72 cd	71.39 abc	93.33 ab
T8 E3D2	39.61 bc	68.22 a	91.55 a	96.00 ab
T9 E3D3	50.45 a	76.14 a	97.89 a	102.54 a
T10 Testigo	7.96e	28.44 cd	48.73 d	60.13 c

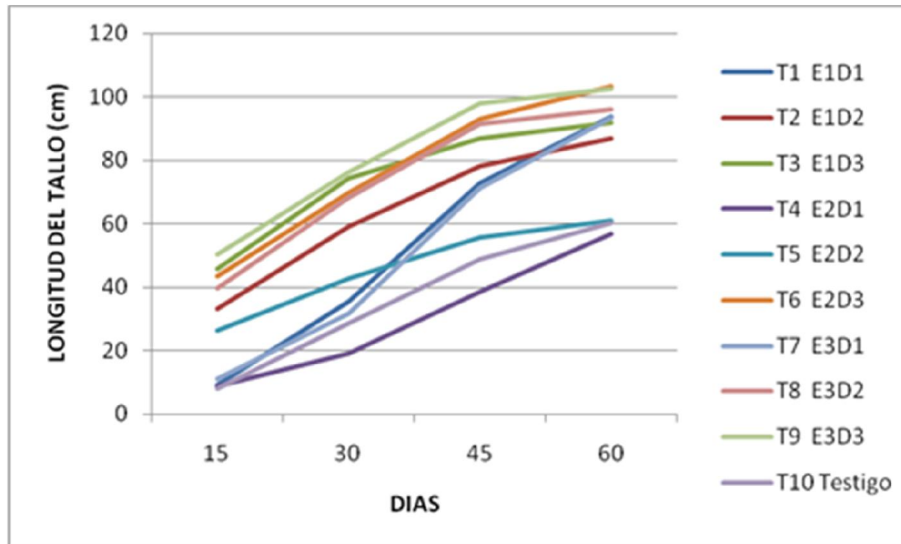


GRAFICO 3. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN BASE DE BRASIMOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DE LOS TALLOS DE LAS ROSAS VAR. FREEDON.

En el grafico 4 se puede apreciar claramente el efecto de las dosis de brasinolina sobre la longitud de los tallos a los 15 y 30 días donde los coeficientes de determinación superaron a 0.70, mientras que los obtenidos a los 45 y 50 días fueron bajos.

El resultado podría explicarse por la acción múltiple de las brasinolinas que actúan como citocininas y a la vez como giberelinas , pues si actúan en dicha forma es probable que a los 15 días principalmente y hasta los 30 días después de la aplicación se requiera de una balance entre citocininas y giberelinas por lo que el requerimiento de dichos biorreguladores es mayor, por ello es probable que al aumentar la dosis se produzca internamente la planta una mayor cantidad de dichos biorreguladores que promueven a la vez una mayor longitud de los tallos. A los 15 días se logra una mayor R^2 (0,83) lo que implica un resultado más claro respecto a la relación positiva en el incremento de la dosis y la respuesta directa en el concomitante incremento de la longitud del tallo

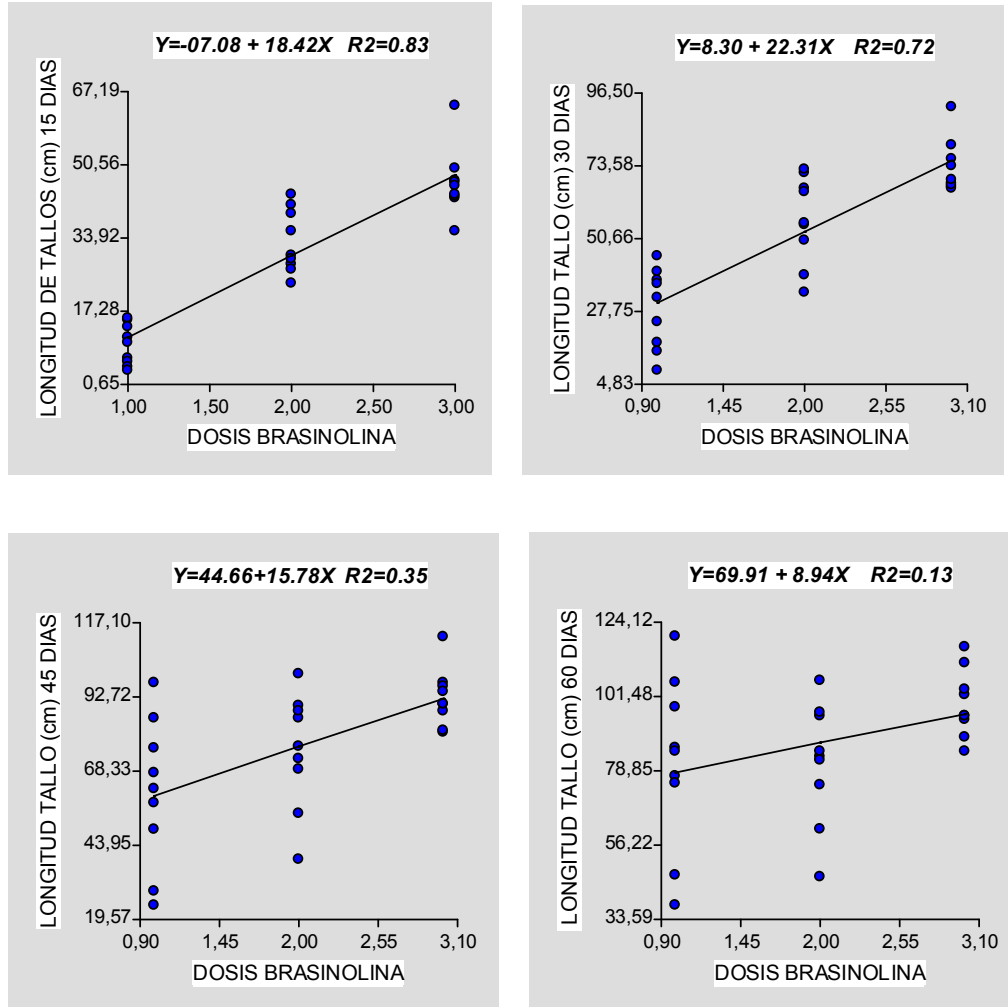


GRAFICO 4. REGRESIÓN Y COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN ENTRE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES CON LA LONGITUD DE TALLO DE LAS ROSAS A LOS 15, 30, 45 Y 60 DÍAS.

4.1.2 Grosor del tallo

Al establecer el análisis de variancia para el grosor de tallo de las rosas bajo el efecto de tres dosis de brasinoesteroides, en tres estados fenológicos de aplicación, no se encontró diferencias estadísticas para repeticiones y tratamientos en las evaluaciones realizadas a los 15, 30 y 60 días, mientras que en la evaluación a los 45 días los tratamientos se diferenciaron a nivel del 5%. Dentro de tratamientos se encontró diferencias estadísticas al nivel del 5% para los estados fenológicos de

aplicación a los 45 y 60 días, las dosis de los brasinoesteroides se diferenciaron a nivel del 5% en las evaluaciones a los 15, 30 y 35 días, manifestando una tendencia lineal, además se encontró diferencias estadísticas al 5% al comparar el testigo vs el resto de tratamientos en las evaluaciones a los 15 y 45 días (cuadro 6).

Los promedios generales de la longitud de tallo fueron de para las evaluaciones a los 15, 30, 45 y 60 días, respectivamente con coeficientes de variación entre 9.65 y 14.03%

CUADRO 6. ANÁLISIS DE VARIANCIA PARA EL GROSOR DEL TALLO DE LAS ROSAS BAJO EL EFECTO DE TRES DOSIS DE BRASINOESTEROIDES EN TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN. PATATE, TUNGURAHUA, 2011.

FUENTES DE VARIACION	GL	GROSOR DEL TALLO (cm.)			
		15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
TOTAL	29				
REPETICIONES	2	0.01 ns	0.00 ns	0.00 ns	0.01 ns
TRATAMIENTOS	(9)	0.01 ns	0.02 ns	0.01 *	0.01 ns
ESTADOS FENOLÓGICOS	2	0.01 ns	0.01 ns	0.02 *	0.03 *
BRASINOESTEROIDES	2	0.03 *	0.02 *	0.02 *	0.02 ns
DOSIS LINEAL	1	0.07 **	0.04 ns	0.02 *	0.02 ns
DOSIS CUADRATICA	1	0.00 ns	0.00 ns	0.01 ns	0.01 ns
D X E	(4)	0.00 ns	0.00 ns	0.00 ns	0.01 ns
Test vs Resto	1	0.03 *	0.02 ns	0.02 *	0.01 ns
ERROR	18	0.01	0.00	0.00	0.01
X(cm)		0.54	0.60	0.65	0.71
CV(%)		14.03	10.75	9.65	13.55

En cada una de las evaluaciones la aplicación de los brasinoesteroides provoco un mayor grosor del tallo cuando se realizó a los 10 cm de longitud del brote, pero sin diferenciarse estadísticamente a los 15 y 30 días del resto de estados fenológicos, y en las evaluaciones siguientes diferenciándose estadísticamente mediante la prueba de Duncan al 5% (cuadro 7 y grafico 5)

CUADRO 7. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL GROSOR DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

ESTADOS FENOLÓGICOS	GROSOR DEL TALLO (cm.)			
	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
E1 YEMA HINCHADA	0.55	0.61	0.66 ab	0.65 b
E2 LONGITUD 5 cm.	0.52	0.57	0.62 b	0.75 a
E3 LONGITUD 10 cm	0.57	0.64	0.71 a	0.76 a

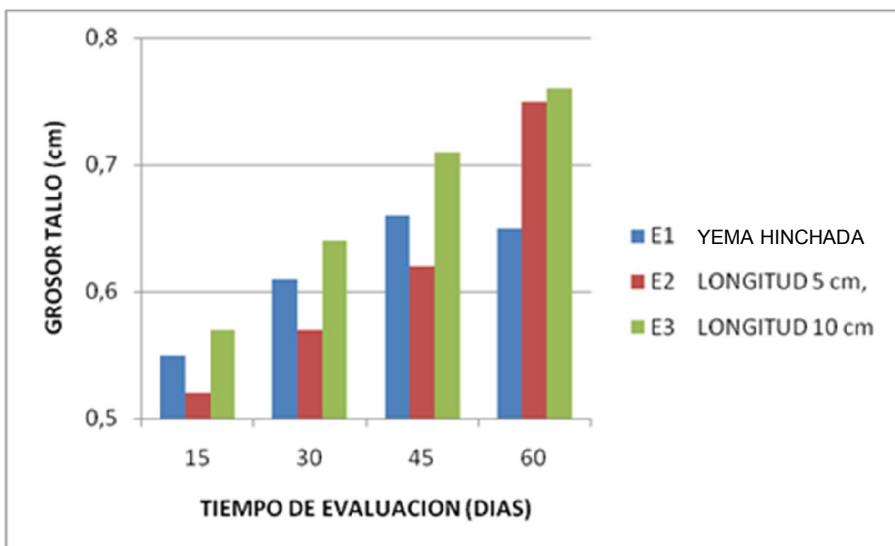


GRAFICO 5. GROSOR DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM BAJO EL EFECTO DE TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES DENTRO DE CUATRO EVALUACIONES 15, 30, 45 Y 60 DÍAS.

En términos generales a medida que se incrementó la dosis de los brasinoesteroides aumento el grosor del tallo en las rosas, especialmente en las evaluaciones a los 15, 30 y 45 días, donde se diferenció mediante la prueba de Duncan al 5% la dosis alta de 3mL/L del resto de dosis (cuadro 8 y grafico 6)

En cada una de las evaluaciones el mayor grosor de los tallos de las rosas se presentó cuando se aplicó los brasinoesteroides en brotes de 10 cm a una dosis de 3 mL/L, a excepción de la evaluación a los 60 días donde fue superado por

la misma dosis pero aplicada en yema hinchada, por otro lado la mayoría de los tratamientos en base de brasinoesteroides superaron al testigo a excepción del tratamiento T4 (E2D1) (cuadro 9 y grafico 7)

CUADRO 8. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL GROSOR DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

DOSIS BRASINOESTEROIDES	GROSOR DEL TALLO (cm.)			
	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
D1 1 mL/L	0.48 b	0.57 b	0.64 b	0.70
D2 2 mL/L	0.55 ab	0.60 b	0.64 b	0.69
D3 3 mL/L	0.61 a	0.66 a	0.71 a	0.77

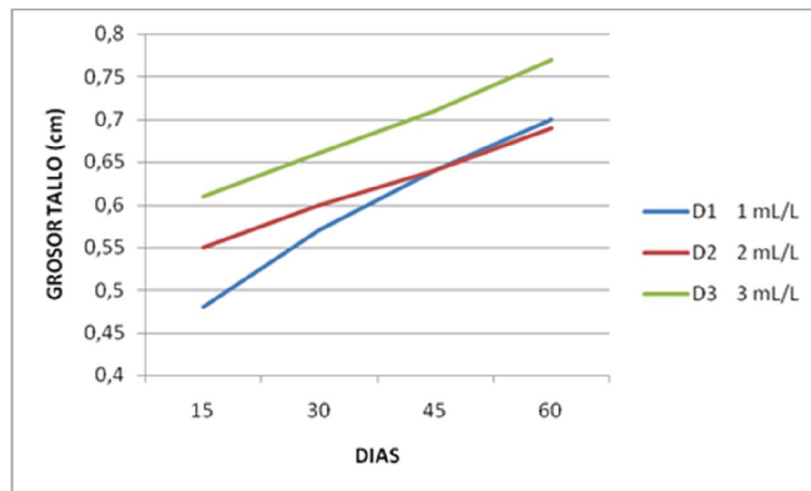


GRAFICO 6. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL GROSOR DE LOS TALLOS DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM.

Los brasinoesteroides aplicados en brotes de 10 cm demostraron una respuesta clara de incremento del grosor de los tallos es probable a que en dicho estado fenológico su acción se oriente hacia una respuesta de elongación celular por acción similar a las giberelinas; en cambio y en razón de que a los 60 días existe una respuesta de mayor grosor de tallos en el estado de gramo de arroz con la misma dosis, es probable que dicho tratamiento haya producido mayor número de células cuya elongación se presenta un poco más tardía de allí su mayor dimensión de tallo; es decir en este caso

en el estado de yema hinchada es probable que a inicios del crecimiento el efecto de los brasinoesteroides pueda ser similar a una citocinina que promueva mayor división celular y que luego a los 60 días dichas células crecieron o se elongaron pero su mayor tamaño versus el resto de tratamientos dependerían de una acción inicial de una mayor división celular sumada a la elongación posterior en el tiempo que se manifestó a los 60 días.

CUADRO 9. EFECTO CONJUNTO DOSIS DE BRASINOESTEROIDES POR ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN SOBRE EL GROSOR DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

TRATAMIENTOS	GROSPOR DEL TALLO (cm.)			
	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
T1 E1D1	0.48	0.59	0.64 abc	0.74
T2 E1D2	0.54	0.60	0.63 abc	0.73
T3 E1D3	0.62	0.65	0.71ab	0.81
T4 E2D1	0.47	0.52	0.58 c	0.62
T5 E2D2	0.53	0.57	0.59 bc	0.61
T6 E2D3	0.56	0.63	0.68 abc	0.72
T7 E3D1	0.51	0.59	0.69 abc	0.74
T8 E3D2	0.57	0.64	0.69 abc	0.73
T9 E3D3	0.64	0.69	0.74 a	0.78
T10 Testigo	0.44	0.53	0.58 c	0.65

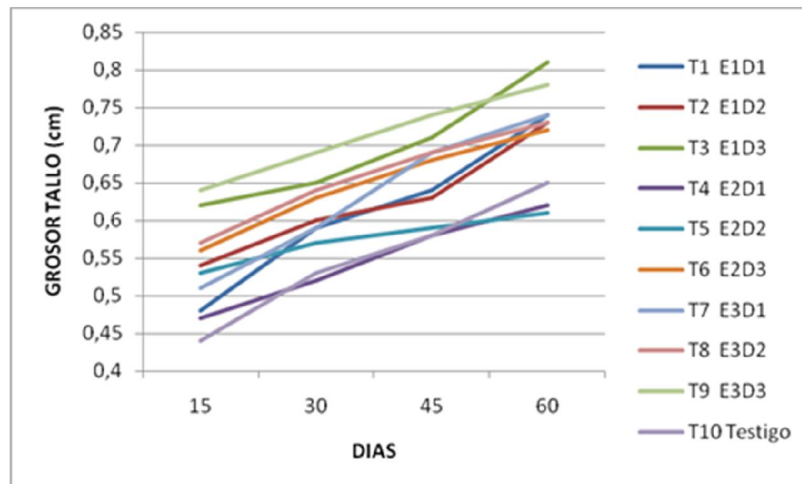


GRAFICO 7. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN BASE DE BRASIMOESTEROIDES SOBRE EL GROSOR DE LOS TALLOS DE LAS ROSAS VAR. FREEDON.

4.1.3 Índice plastocrónico

Al establecer el análisis de variancia para el índice plastocrónico en las rosas bajo el efecto de tres dosis de brasinoesteroides, en tres estados fenológicos de aplicación a los 30 días presento diferencias estadísticas al nivel del 1% para tratamientos, dentro de estos se determinó diferencias estadísticas al mismo nivel para las dosis de brasinoesteroides, manifestando un efecto lineal significativo al 1%, además se encontró diferencias estadísticas al 1% al comparar el testigo vs el resto de tratamientos. Mientras que a los 60 días no se determinó diferencias estadísticas para repeticiones y tratamientos en cada una de las fuentes de variación establecidas, a excepción de la comparación testigo vs resto que manifestó diferencias al nivel del 5%. (cuadro 10)

Los promedios generales del índice plastocrónico fueron de 12.08 y 17.81 para las evaluaciones a los 30, y 60 días, respectivamente, con coeficientes de variación entre 16.48 y 15.44 respectivamente.

CUADRO 10. ANÁLISIS DE VARIANCIA PARA EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO DE LAS ROSAS BAJO EL EFECTO DE TRES DOSIS DE BRASINOESTEROIDES EN TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN. PATATE, TUNGURAHUA, 2011.

FUENTES DE VARIACION	GL	ÍNDICE PLASTOCRÓNICO	
		30 DIAS	60 DIAS
TOTAL	29		
REPETICIONES	2	0.28 ns	4.17 ns
TRATAMIENTOS	(9)	33.73 **	9.46 ns
ESTADOS FENOLÓGICOS	2	12.74 ns	6.16 ns
BRASINOESTEROIDES	2	116.90 **	7.56 ns
DOSIS LINEAL	1	231.27 **	5.08 ns
DOSIS CUADRÁTICA	1	2.53 ns	10.04 ns
D X E	(4)	1.56 ns	1.60 ns
Test vs resto	1	38.10 **	51.33 *
ERROR	18	3.96	7.56
X(índice)		12.08	17.81
CV(%)		16.48	15.44

El mayor índice plastocrónico se presentó en los estados fenológicos de aplicación de los brotes a 10 cm. y en yema hinchada, tanto a los 30 como a los 60 días, el menor índice se presentó cuando se aplicó a brotes de 5cm.(cuadro 11 y grafico 8)

CUADRO 11. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE LOS BRASINOESTEROIDES	ÍNDICE PLASTOCRÓNICO	
	30 DIAS	60 DIAS
E1 YEMA HINCHADA	12.32 ab	18.17
E2 LONGITUD 5 cm.	11.34 b	17.46
E3 LONGITUD 10 cm	13.71 a	19.11

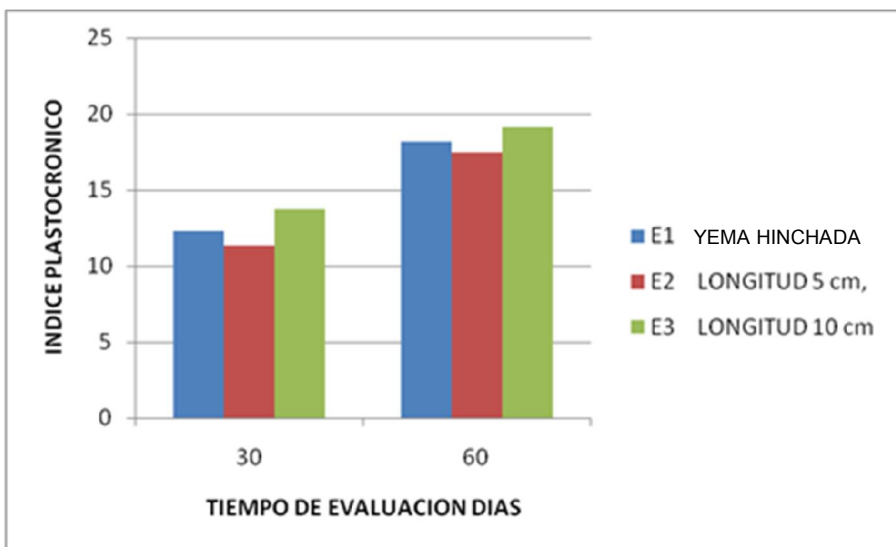


GRAFICO 8. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO, A LOS 30 Y 60 DÍAS

A medida que se incrementó la dosis de los brasinoesteroides, se aumentó el índice plastocrónico tanto en la evaluación a los 30 días, como en la realizada a los 60 días (cuadro 12 y grafico 9)

CUADRO 12. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO EN ROSAS VAR FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

DOSIS BRASINOESTEROIDES	ÍNDICE PLASTOCRÓNICO	
	30 DIAS	60 DIAS
D1 1 mL/L	8.66 c	18.15
D2 2 mL/L	12.89 b	17.38
D3 3 mL/L	15.82 a	19.21

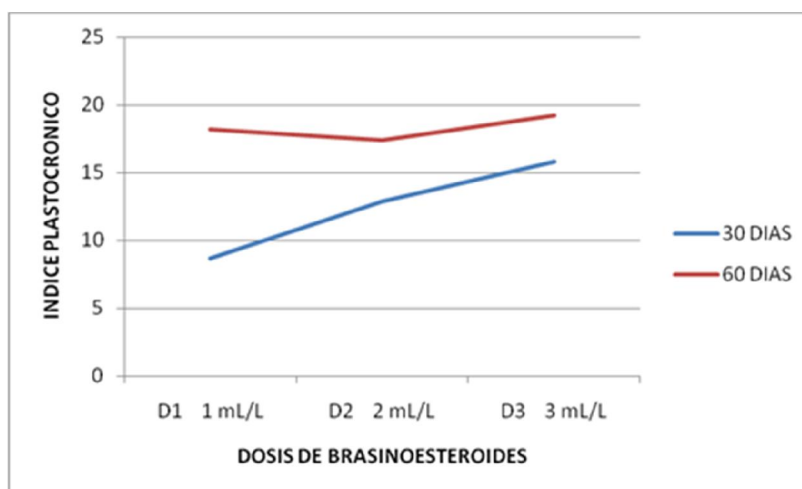


GRAFICO 9. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO EN LAS ROSAS VAR. FREEDOM.

La eficiencia de los brasinoesteroides fue manifiesta sobre el índice plastocrónico ya que en la evaluación a los 30 días únicamente el tratamiento T4(E2D1) fue inferior que el testigo. A los 60 días, en cambio todos los tratamientos superaron al testigo, pero sin diferenciarse estadísticamente (cuadro 13 y grafico 10).

A los 30 días se manifestó una alta relación entre las dosis de brasinolina con el índice plastocrónico, pero a los 60 días se perdió esta relación (grafico 11)

El efecto de los brasinoesteroides en la relación del número de hojas sobre un tallo, que implica el índice plastocrónico, ha demostrado que tempranamente a los 30 días hay una respuesta interesante, porque sobre todo en el

estado fenológico inicial de brotación o brote en tamaño yema hinchada, los tallos podrían estar favorecidos en un proceso de multiplicación celular muy activo y precoz con una respuesta parecida y lógica como lo analizado para la variable longitud del tallo, al igual que para estado fenológico 3 que corresponde a brotes de 10 cm de longitud, en los cuales inclusive la respuesta respecto al incremento del índice es mayor a los 30 días, probablemente por una acción nuevamente similar a la variable longitud de tallos, en donde al parecer los brasinoesteroides funcionan como una giberelina, que promueve mayor crecimiento que se traduce en un mayor índice plastocrónico en el tiempo; luego la respuesta a los 60 días es lógica respecto a esta variable, porque la respuesta del índice plastocrónico, es una variable relacionada con el código de la herencia, en este caso varietal, que en el tiempo debe lograr un cierto número de hojas sobre el tallo, por lo que el efecto de los esteroides parece acelera la manifestación del índice en el tiempo, es decir de acuerdo con los estados fenológicos, la variable se adelanta en el tiempo, pero al final su respuesta se va igualando, pues a los 60 días las respuestas ya no manifiestan diferencias significativas.

CUADRO 13. EFECTO CONJUNTO DOSIS DE BRASINOESTEROIDES POR ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN SOBRE EL ÍNDICE PLASTÓCRÓNICO EN ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

TRATAMIENTOS	ÍNDICE PLASTÓCRÓNICO	
	30 DIAS	60 DIAS
T1 E1D1	8.86 ef	18.37
T2 E1D2	13.13 bcd	17.71
T3 E1D3	14.97 abc	18.43
T4 E2D1	6.98 f	17.05
T5 E2D2	11.43 cde	15.99
T6 E2D3	15.60 ab	19.34
T7 E3D1	10.12 def	19.02
T8 E3D2	14.10 abc	18.45
T9 E3D3	16.90 a	19.86
T10 Testigo	8.70 ef	13.89

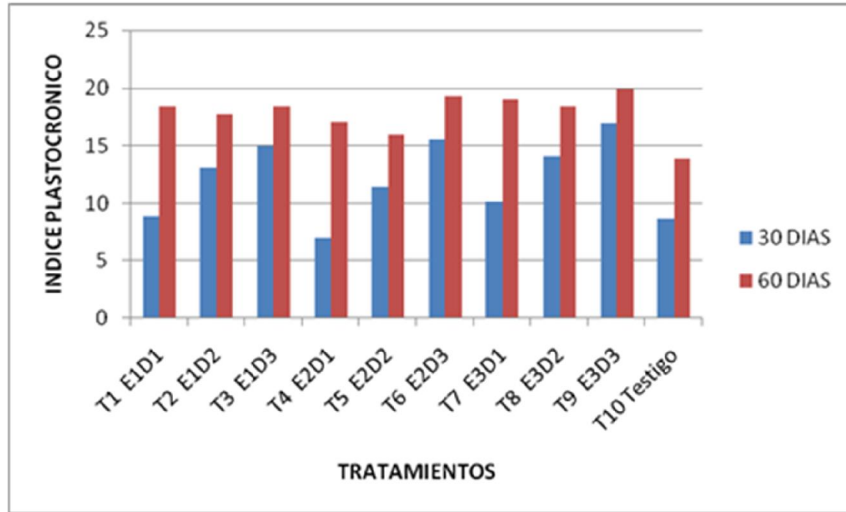


GRAFICO 10. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO EN ROSAS VAR. FREEDOM.

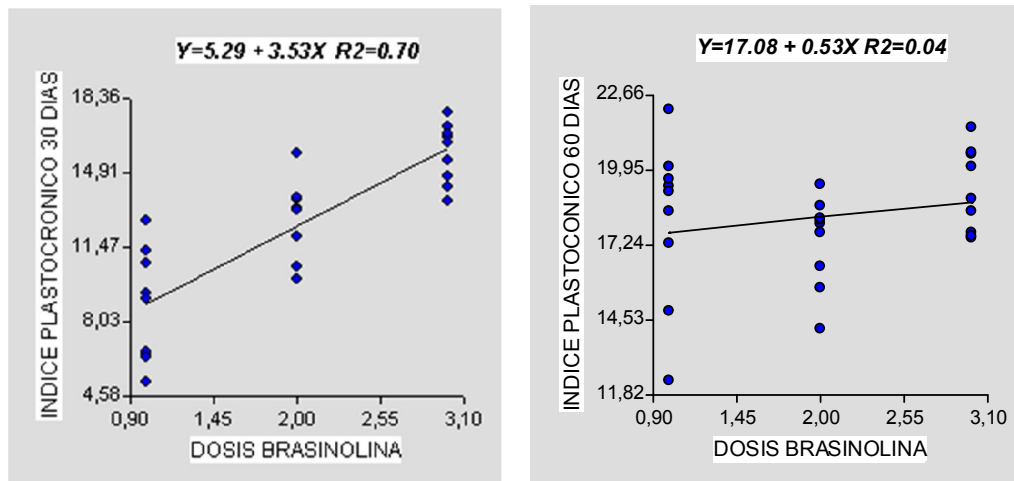


GRAFICO 11. REGRESIÓN Y COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN ENTRE LAS DOSIS DE BRASIOESTEROIDE CON EL ÍNDICE PLASTOCRÓNICO EN ROSAS

4.1.4 Longitud y grosor del botón de las rosas

En el cuadro 13 se presentan los análisis de variancia para la longitud y grosor del tallo de las rosas variedad Freedom, bajo la influencia del estados fenológico de aplicación y dosis de brasinoesteroides, en donde ninguna de las fuentes de variación establecidas dentro de cada una de estas variables en estudio manifestaron diferencias estadísticas a los niveles prefijados del 1 y 5% (cuadro 14).

Los promedios generales fueron de 5.02 y 3.6cm, para la longitud y grosor del botón de las rosas, respectivamente, con coeficientes de variación de 10.89 y 14.76%, coeficientes adecuados para la evaluación de este tipo de variable.

CUADRO 14. ANÁLISIS DE VARIANCIA PARA LA LONGITUD Y GROSOR DEL BOTÓN DE LAS ROSAS BAJO EL EFECTO DE TRES DOSIS DE BRASINOESTEROIDES EN TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN. PATATE, TUNGURAHUA, 2011

FUENTES DE VARIACION	GL	BOTON	
		LONGITUD	GROSOR
TOTAL	29		
REPETICIONES	2	0.34 ns	0.23 ns
TRATAMIENTOS	(9)	0.12 ns	0.21 ns
EPOCA DE APLICACIÓN	2	0.00 ns	0.71 ns
BRASINOESTEROIDES	2	0.06 ns	0.09 ns
DOSIS LINEAL	1	0.11 ns	0.08 ns
DOSIS CUADRATICA	1	0.00 ns	0.09 ns
D X E	(4)	0.06 ns	0.10 ns
Test vs resto	1	0.67 ns	0.65 ns
ERROR	18	0.30	0.29
X(cm)		5.02	3.64
CV(%)		10.89	14.76

En los cuadros 15, 16 y 17 se presentan los promedios de la longitud y grosor del botón de las rosas bajo el efecto de los estados fenológicos de aplicación de los brasinoesteroides, dosis de este producto y de los tratamientos en general, en donde se aprecian únicamente pequeñas diferencias matemáticas.

CUADRO 15. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM.

ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE LOS BRASINOESTEROIDES	BOTON	
	LONGITUD	GROSOR
E1 YEMA HINCHADA	5.07	3.51
E2 LONGITUD 5 cm.	5.04	3.90
E3 LONGITUD 10 cm	5.09	3.67

CUADRO 16. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM.

DOSIS BRASINOESTEROIDES	BOTON	
	LONGITUD	GROSOR
D1 1 mL/L	5.00	3.66
D2 2 mL/L	5.06	3.61
D3 3 mL/L	5.15	3.80

CUADRO 17. EFECTO CONJUNTO DOSIS DE BRASINOESTEROIDES POR ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN SOBRE LA LONGITUD DEL TALLO DE LAS ROSAS VAR.FREEDOM.

TRATAMIENTOS	BOTON	
	LONGITUD	GROSOR
T1 E1D1	5.13	3.53
T2 E1D2	5.00	3.33
T3 E1D3	5.08	3.65
T4 E2D1	4.97	3.92
T5 E2D2	5.12	3.98
T6 E2D3	5.05	3.80
T7 E3D1	4.89	3.54
T8 E3D2	5.05	3.52
T9 E3D3	5.33	3.95
T10 Testigo	4.57	3.20

4.1.5 Peso seco de las hojas, tallo y botón de las rosas

Al establecer los análisis de variancia para el peso de las hojas, tallo y botón, no se detectó diferencias estadísticas para repeticiones, mientras que los tratamientos se diferenciaron al nivel del 1% para cada una de estas variables. Dentro de tratamientos se encontró diferencias estadísticas entre los estados fenológicos de aplicación de los brasinoesteroides en las tres variables, las dosis de brasinoesteroides se diferenciaron al 1% únicamente en el peso seco de tallos y botón, manifestando efectos lineal y cuadrático. Además se encontró diferencias estadísticas al nivel del 1% al comparar el testigo vs el resto de tratamientos en el peso seco de las hojas y del botón de las rosas (cuadro 18).

Los promedios generales del peso seco fueron de 9.25, 8.67 y 3.87 g , para hojas, tallos y botón, respectivamente, con coeficientes de variación de 21.72, 15.29 y 10.29%.

CUADRO 18. ANÁLISIS DE VARIANCIA PARA EL PESO SECO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE LAS ROSAS BAJO EL EFECTO DE TRES DOSIS DE BRASINOESTEROIDES EN TRES ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN. PATATE, TUNGURAHUA, 2011.

FUENTES DE VARIACION	GL	PESO SECO g		
		HOJAS	TALLO	BOTON
TOTAL	29			
REPETICIONES	2	5.93 ns	0.53 ns	0.16 ns
TRATAMIENTOS	(9)	15.32 **	14.11 **	1.92 **
ESTADOS FENOLÓGICOS	2	39.73 **	41.36 **	4.62 **
BRASINOESTEROIDES	2	3.51 ns	15.53 **	1.81 **
DOSIS LINEAL	1	3.13 ns	19.01 **	1.39 **
DOSIS CUADRATICA	1	3.89 ns	12.04 *	2.24 **
D X E	(4)	2.15 ns	2.47 ns	0.48 ns
Testigo vs resto	1	42.80 **	3.33 ns	2.50 **
ERROR	18	4.04	1.76	0.16
X(g)		9.25	8.67	3.87
CV(%)		21.72	15.29	10.29

El peso seco de las hojas, del tallo y del botón de rosas, se fueron incrementándose a medida que la aplicación de los brasinoesteroides se realizó en brotes de mayor longitud. Y es así que los mayores promedios del peso seco de las hojas, tallos se presentaron cuando se aplicó en brotes de 10 cm (cuadro 19 y grafico 12)

CUADRO 19. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL PESO SECO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE LOS BRASINOESTEROIDES	PESO SECO g		
	HOJAS	TALLO	BOTÓN
E1 YEMA HINCHADA	7.72 b	6.72 c	3.17 b
E2 LONGITUD 5 cm.	9.33 b	8.61 b	4.17 a
E3 LONGITUD 10 cm	11.89 a	11.00 a	4.56 a

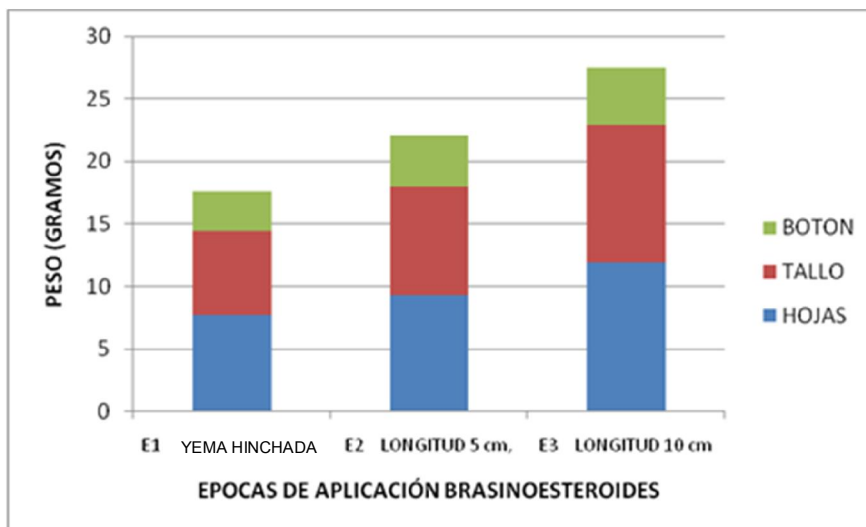


GRAFICO 12. EFECTO DE LOS ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL PESO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE ROSAS VAR. FREEDOM.

Los mayores pesos secos se presentaron cuando se aplicó los brasinoesteroides en la dosis más baja de 1 mL/L, y es así que la prueba de Duncan le diferencio del resto de dosis (cuadro 20 y grafico 13).

La eficiencia de los brasinoesteroides, es grande pues todos los tratamientos que presentaron este producto superaron al testigo e inclusive lo triplicaron (cuadro 21 y grafico 14)

CUADRO 20. EFECTO DE LAS DOSIS DE BRASINOESTEROIDES SOBRE EL PESO SECO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE LAS ROSAS VAR.FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

DOSIS BRASINOESTEROIDES	PESO SECO g		
	HOJAS	TALLO	BOTON
D1 1 mL/L	10.33	10.28 a	4.44 a
D2 2 mL/L	9.11	7.83 b	3.56 b
D3 3 mL/L	9.50	8.22 b	3.89 b

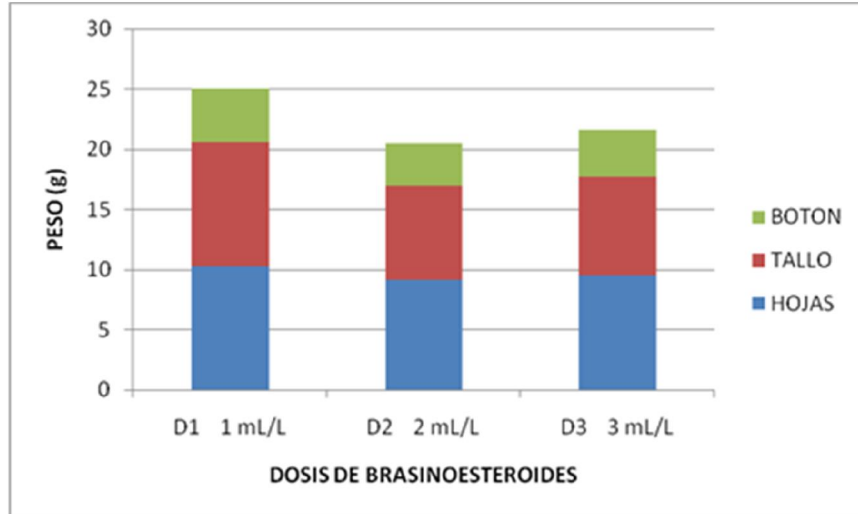


GRAFICO 13. EFECTO DE LAS DOSIS DE LOS BRASINOESTEROIDES SOBRE EL PESO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE ROSAS VAR. FREEDOM.

Los resultados demuestran claramente que hay un incremento en el peso seco de todos los órganos (hojas, tallos y botones), en especial del tallo y botones, lo cual implica que los brasinoesteroides promueven un incremento en los asimilados o fotosintatos, que a la vez se traducen en mayor estructura derivado de la presencia de compuestos bioquímicos integrados por elementos que confieren un mayor peso seco; es probable que este resultado sea uno de los logros más importantes en la floricultura, en especial en el cultivo de rosas, porque en la mayoría de variedades, existe un fenómeno denominado por los productores como “ciegos” que desde el punto de vista fisiológico, implican la poca capacidad de reserva en los tallos, que genera la presencia de nuevos brotes que no diferencian hacia flores, que se ha convertido en un problema muy grave para la producción de tallos con flor, de allí que la respuesta resulta muy interesante, porque a mayor peso seco en tallos, se espera una mayor reserva de asimilados, para la producción de nuevos brotes luego de la poda o pinch, que probablemente coadyuven a la solución respecto a la masiva presencia de “ciegos”.

Lo citado anteriormente se aprueba con las investigaciones realizadas por Takematsu (1989), el cual realizó investigaciones en trigo, donde después de 35

días de tratamiento con brasinoesteroides, se incrementó de un 20 – 30 % en el peso seco de la panícula, cuando se asperjaron soluciones entre 0.001 y 1ppm en el momento de la floración.

CUADRO 21. EFECTO CONJUNTO DOSIS DE BRASINOESTEROIDES POR ESTADOS FENOLÓGICOS DE APLICACIÓN SOBRE EL PESO SECO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE LAS ROSAS VAR. FREEDOM. PRUEBA DE DUNCAN AL 5%.

TRATAMIENTOS	PESO SECO g		
	HOJAS	TALLO	BOTON
T1 E1D1	9.00 abcde	8.33 bc	3.33 cde
T2 E1D2	7.67 cde	5.33 d	3.17 de
T3 E1D3	6.50 de	6.50 cd	3.00 e
T4 E2D1	9.67 abcd	9.17 b	4.67 ab
T5 E2D2	8.33 bcde	8.67 bc	3.83 cd
T6 E2D3	10.00 abcd	8.00 bc	4.00 bc
T7 E3D1	12.33 a	13.33 a	5.33 a
T8 E3D2	11.33 abc	9.50 b	3.67 cde
T9 E3D3	12.00 ab	10.17 b	4.67 ab
T10 Testigo	5.67 c	7.67 abc	3.00 e

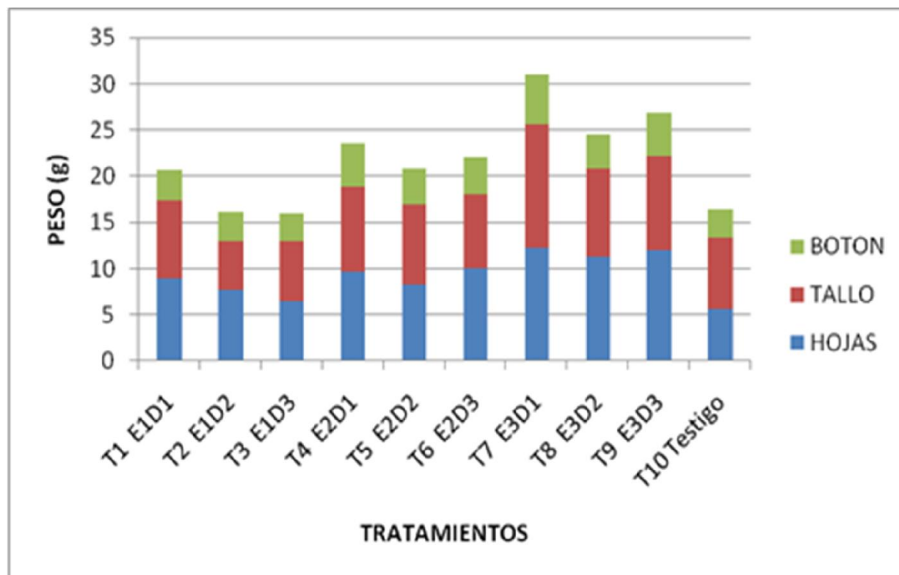


GRAFICO 14. EFECTO CONJUNTO DE LOS TRATAMIENTOS SOBRE EL PESO DE LAS HOJAS, TALLO Y BOTÓN DE ROSAS VAR. FREEDOM.

4.2 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Los resultados obtenidos en la evaluación de tres dosis de brasinoesteroides aplicados en tres estados fisiológicos de brotes de rosal (*Rosa spp*). Var. Freedom, permiten aceptar la hipótesis planteada, por cuanto, la aplicación de brasinoesteroides, especialmente a una dosis de 3mL/L^{-1} en brotes de 10 cm., alcanzaron la mayor longitud del tallo y grosor, mayor índice plastocrónico y peso seco de las hojas, tallo y botón, seguido de la aplicación en yema hinchada.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Una vez concluida con la investigación y después del análisis respectivo se llegaron a las siguientes conclusiones que se detallan a continuación:

La eficacia de la aplicación de los brasinoesteroides fue marcada, pues con los tratamientos con este biorregulador se incrementaron la longitud y grosor de los tallos, índice plastocrónico, longitud y grosor del botón y el peso seco de las hojas, tallo y botón, con relación al testigo.

La mejor respuesta de los brasinoesteroides se presentó cuando fueron aplicados en brotes de 10 cm. en la rosa variedad Freedom, alcanzando la mayor longitud del tallo, grosor del tallo, índice plastocrónico y el peso seco de hojas, tallo y botón; seguidos por la aplicación en el estado fenológico de yemas hinchadas o con el tamaño de yema hinchada.

En términos generales, a medida que se incrementó la dosis de brasinoesteroides, se incrementó la longitud del tallo, grosor de tallo, índice plastocrónico, longitud, grosor del botón, pero disminuyó el peso seco de las hojas, tallo y botón en la rosa variedad Freedom.

El tratamiento que alcanzó la mayor longitud del tallo en la rosa variedad Freedom correspondió a la aplicación de 3 mL/L^{-1} de brasinoesteroides en el estado fenológico 3 (longitud 10 cm) que alcanzó una longitud de 97,3 cm.

El estado fenológico de aplicación en el caso de los brasinoesteroides tiene una importancia crucial, pues en inicios de brotación parece provoca positivamente a la división celular, mientras que cuando se lo hace en brotes de 10 cm puede mejorar la elongación celular.

El incremento en el peso seco de los órganos (hojas, tallo y botón) con la aplicación de los brasinoesteroides, sugiere una mejor y mayor acumulación de asimilados o fotosintatos, que puede solucionar el problema de brotes “ciegos” o sin diferenciación a flor, que es frecuente en la producción de rosas.

El incremento en el peso seco en los órganos permite entender que los brasinoesteroides influyen positivamente en la fotosíntesis de la rosa variedad Freedom, que a la vez sugiere la presencia de mayor reserva en tallos, que se traduce en una potencial capacidad de mejor brotación y crecimiento de nuevos brotes.

En resumen se concluye que la aplicación de brasinoesteroides mejora la calidad de tallo y botones de rosas variedad Freedom, por cuanto se encontraron diferencias significativas para todas las variables analizadas en relación al testigo.

5.2 RECOMENDACIONES

Resulta importante probar la respuesta de aplicación de los brasinoesteroides en otras variedades de rosa y otras especies ornamentales, con el propósito de generar tecnología para el mejoramiento de la calidad productiva de flores.

Se podrían probar dosis de brasinoesteroides más altas que las utilizadas en el presente estudio, para determinar hasta cuando la dosis óptima, hasta cuando el tamaño se logre mayor el incremento del tamaño de tallos y botones de rosa.

Las aplicaciones de los brasinoesteroides deben ser realizadas en las primeras horas de la mañana, para que las respuestas fisiológicas promuevan el mejoramiento del crecimiento de tallos y botones en rosa.

En resumen se recomienda la aplicación de brasinoesteroides para mejorar la calidad de tallo y botón de rosas variedad Freedom, en razón de 3 mL/L^{-1} de brasinoesteroides en dos épocas de aplicación que corresponde a los estados fenológicos yema hichada y a brotes de 10 cm. de longitud.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1 TÍTULO

Aplicación de brasinoesteroides en dos estados fenológicos (yema hinchada y brotes de 10 cm) con brasinolina a una dosis de 3 mL/L⁻¹ en el cultivo del rosal (*Rosa spp.*) Var. Freedom.

6.2 FUNDAMENTACIÓN

La exigencia del mercado internacional, relacionado con el logro de estándares mínimos como la longitud del tallo y tamaño del botón en las rosas para exportación, presionan hacia la investigación para generar tecnologías apropiadas, que mejoren la calidad de la producción de especies ornamentales, dentro de ellas la rosa, situación que dio origen a la experimentación con biorreguladores de última generación, como lo constituyen los brasinoesteroides, que fueron probados en tres dosis y tres estados fenológicos en la variedad Freedom cultivada bajo invernadero, con el propósito de generar una tecnología de fácil manejo, que permita el mejoramiento global de la calidad del producto con fines de exportación.

6.3 OBJETIVOS

6.3.1 Objetivo General

Diseñar una tecnología innovadora para el manejo técnico de rosas, con aplicación de brasinolinas, orientada hacia el mejoramiento de la longitud de tallos y tamaño del botón, para cumplir con las exigencias del mercado de exportación.

6.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

La presente investigación permitirá a los floricultores específicamente a los cultivadores de rosa, contar con una tecnología innovadora, de fácil manejo,

complementaria al manejo tradicional de la producción de tallos de rosas con fines de exportación, mediante el uso de brasinolina aplicada en momentos oportunos, en dosis que implican muy bajo costo para lograr una mejor calidad del producto final, además se mejorará los ingresos de los exportadores, propiciando a la vez una mejor competitividad en sector florícola a nivel regional; por otro lado se disminuirá el fenómeno de la presencia de tallos sin botones denominados por los productores “ciegos”.

6.5 PROPUESTA

6.5.1 Tecnología actual para la producción de rosas

La tecnología actual para la producción de rosas con fines de exportación, se realiza siguiendo el siguiente esquema simplificado, que corresponde a lo que los productores denominan producción abierta:

Poda o “Pinch”.- Se realiza la poda o “pinch” de tallos que han producido (o aquellos que alcanzan el grosor mayor a un lápiz), dejando tallos con una longitud de aproximadamente 20 cm., provistos de yemas basales, para que se generen nuevos brotes en los cuales aparecerán los botones de rosa.

Fertilización.- Luego de la poda o paralelamente a ella, se aplican fertilizantes edáficos y foliares para promover la salida de nuevos brotes sobre.

Riego.- Se mantienen las camas de cultivo regadas a capacidad de campo, sobre todo después de la poda.

Controles Fitosanitarios.- Se realizan aplicaciones de caldos pesticidas para prevenir las principales enfermedades que atacan a la rosa como son: Botritis, Mildiú vellosa, Oidio, Roya, y plagas como Pulgón, Ácaros, Trips entre otras.

Cosecha.- Cuando los tallos han llegado a su máximo crecimiento y los botones están ligeramente abiertos “estado de caracol”, se procede a la cosecha de

tallos, con un corte de tijera; luego se clasifican los tallos por su tamaño y se procede con el manejo poscosecha y empaque para la exportación.

Resulta importante resaltar, que la tecnología tradicional de “producción abierta” de rosas, genera un problema muy frecuente, que los productores lo denominan “ciegos”, que son brotes que no llegan a hacer botones; probablemente derivados de la poca reserva en los tallos podados, por efecto de competencia por nutrientes entre los botones que existen y los nuevos que se generan por efecto de una poda continúa, por la presencia de brotes en todos los estados fenológicos en una misma cama que compiten por los asimilados.

6.5.2 Propuesta tecnológica como resultado de la investigación

Como resultado de la investigación con biorreguladores de última generación se proponen los cambios que se detallan y discuten a continuación.

Poda.- Como queda claro, los productores realizan un sistema de producción “abierto”, que consiste en realizar la poda de los tallos que han producido botones o aquellos que alcanzan un grosor mayor a un lápiz, es aquí donde se propone el principal cambio, que consiste en realizar una poda a nivel de cama, es decir a un corte global de tallos, seleccionando aquellos de buen vigor, eliminando los muy débiles o excesivamente viejos por tanto gruesos; tratando en todo momento que todos los tallos cortados correspondan a un estándar de grosor para propender a la brotación de nuevos brotes con características similares; la poda consistiría en una decapitación dejando una longitud de unos 20 cm de tallo en toda la cama, pero con grosores de tallo más homogéneos, tratando a la vez que todos los tallos podados queden espaciados, aprovechando así de mejor manera la luz.

Aplicación de brasinolina.- Luego de la poda, cuando las yemas se hayan hinchado y los nuevos brotes hayan alcanzado un tamaño parecido al de un “grano de arroz”, se debe hacer una primera aplicación con brasinolina en una dosis de 3mL/L^{-1} , mojando adecuadamente los pequeños brotes, para ello resulta recomendable el uso de acondicionadores de agua para que el pH quede en 6.5 y puede usarse

esparcidores adherentes, para mejorar el mojado de los pequeños brotes; este tratamiento ha demostrado que favorece probablemente la multiplicación celular, que permitirá lograr tallos más largos y botones de mayor tamaño, derivados de la presencia de un mayor número de células en el proceso de división celular, que es uno de los eventos más importantes en el incremento del crecimiento en los órganos vegetales.

Luego cuando los nuevos tallos hayan alcanzado una longitud de 10 cm., se deberá hacer una segunda aplicación con brasinolina en dosis de 3mL/L^{-1} , tendiente a que las células multiplicadas masivamente por efecto del tratamiento en brotes en tamaño de yema hinchada, se agranden hasta alcanzar el mayor tamaño celular, que se traducirá en una mayor longitud del tallo y mayor tamaño del botón, en este caso como resultado de un proceso de elongación celular, que conjuntamente con la división celular previa, permiten alcanzar el mayor tamaño de tallos y botones en rosa. En los dos casos, es recomendable realizar las aplicaciones de brasinolina, en las primeras horas de la mañana, para facilitar la absorción por parte de los brotes.

Fertilización.-Resulta recomendable una fertilización balanceada pero rica en N, K y Ca, con adición de microelementos principalmente (Zn, Fe, Mg y Mn), para propiciar un mayor crecimiento y generar una mejor reserva nutrimental en los tallos, para beneficiar las futuras producciones, disminuyendo así el número de “ciegos”, que es una característica muy frecuente generada por el manejo de “producción abierta”, que realizan los productores de rosa.

Riego.-El riego puede ser similar a lo que practican los floricultores tradicionales; pero hay que insistir en que debe haber mejor control, en el sentido de que el suelo se mantenga en capacidad de campo, sin generar excesos de agua, que pudieran afectar la respiración del sistema radical, y disminuir el crecimiento de los tallos y botones.

Controles fitosanitarios.- Los controles practicados por los productores podrían disminuir en su frecuencia, pues con el uso de brasinolina, se ha observado que las plantas mejoran en su desempeño relacionado con la defensa natural, o lo que es lo mismo presentan una mejor sanidad global.

6.6 IMPLEMENTACIÓN / PLAN DE ACCIÓN

Socialización del tema y entrega de trípticos a los floricultores de la zona centro del país inmersos en procesos de cambios tecnológicos en la rosicultura.

Charlas técnicas de las ventajas de utilizar biorreguladores de última generación en el cultivo de rosas en la parroquia Matriz del cantón Patate.

Días de campo a diferentes plantaciones de rosas de cortes para exportación.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Adam, G.; Marquardt, V. 1986. Brassinosteroids. *Phytochemistry* 25, 1787-1799.

Bellicampi, D. y G. Morpurgo. 1994. Stimulation of growth induced by brassinosteroid and conditioning factors in plant-cell culture. En: *Brassinosteroids Chemistry, Bioactivity and Applications*-Washington: AM. Chem. Soc.

Berger, M.; Mulzer, J. 1999. Total Synthesis of Tartrolon B. *Journal of the American Chemical Society*, 121, 8393-8394.

Brosa C. 1997. Biological effects of Brassinosteroids En: *Biochemistry and Function of Sterols*, Parish, E.J., Nes, D. Ed. CRC Press. 116:118.

Cerana, R. 1996. Regulating effects of Brassinosteroid and of sterols on growth and H⁺ secretion in maize roots. *J. Plant Physiol.* 114: 221-225.

Clouse, S. 1996. Molecular genetic studies confirm the role of brassinosteroids in plant growth and development. *the Plant j.* 10: 1-8.

Clouse, S y J. Sasse. 1998. Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development. *Ann.Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:427-451.

Fujioka, S.; Sakurai, A. 1991. Brassinosteroids. *Natural Product Reports*, 14, 1-10.

González, M. 1991. Utilización del brasinoesteroide como posible sustituto de citoquininas in vitro. Programa y Resúmenes. IX Seminario Científico INCA Cult. Trop. 15: 78.

Gray, W. 2004. Hormonal Regulation of Plant Growth and Development. *PLoS Biology*, 1270-1273.

Gregory, L.E y N.B Mandava. The activity and interaction of brassinolide *Physiol. Plant.* 54: 239-243,1982.

Grove, M. D.; Spencer, G. F.; Rohwedder, W. K.; Mandava, N.; Worley, J. F.; Warthen, J. D., Jr.; Steffens, G. L.; Flippen-Anderson, J. L., Cook, J. C., Jr. 1981. Brassinolide, a Plant Growth-Promoting Steroid Isolated From *Brassica Napus* Pollen. *Nature (London, United Kingdom)*, 281, 216- 217.

Ikekawa, N.; Zhao, Y. 1991. Application of 24-Epibrassinolide in Agriculture. *ACS Symposium Series*, 474, 280-291.

Kamuro, Y. 1991. *Brassinosteroids, Chemistry, Bioactivity and Applications-* Washington: American Chem. Society.

Katsumi, M. 1985. Interaction of a brassinosteroid with IAA and GA3 in the elongation of cucumber hypocotyl sections. *Plant Cell Physiol.* 26: 615-625,

Kauschman, A. 2006. Genetic evidence for an essential role of brassinosteroids in plant development. *Plant J.* 9: 701-713.

Khripach, V. A.; Zhabinskii, V. N., Khripach, N. B. 2003. New Practical Aspects of Brassinosteroids and Results of Their Ten-Year Agricultural Use in Russia and Belarus. *Brassinosteroids*, 189-230.

Kim, S. K. 1991. Natural Occurrences of Brassinosteroids. *ACS Symposium Series*, 474, 26-35.

Kulaeva, O. En: *Brasinosteroids. Chemistry. Bioactivty and Applications-* Washington: American Chem. Society.

Kuraishi, S.; Yamaki, Y., Yamanaka, Y. 1991. Plant growth-stimulating solutions containing brassinolides, 103- 105.

Mandava, N. B. 1988. Plant Growth-Promoting Brassinosteroids. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 39, 23-52

Marquardt , G.; Adam, G. 1991. New Developments in Brassinosteroid Research. *Studies in Natural Products Chemistry*, 18, 495-549.

McMorris, T. C., Chory, J. A. 1994. Role for Brassinosteroids in Light- Dependent Development of Arabidopsis. *Science (Washington, D.C.)*, 272, 398-401.

Mitchell, J. W.; Mandava, N.; Worley, J. F.; Plimmer, J. R., Smith, M. V. 1970. Brassins--a New Family of Plant Hormones From Rape Pollen. *Nature (London, United Kingdom)*, 225, 1065-1066.

Nakamura, A.; Matsuoka, M. 1994. New Development of Studies on Brassinosteroid. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 50, 121-130.

Prusakova, L. D.; Chizhova, S. I. 1996. Application of Brassinosteroids in Plants Under Extreme Conditions. *Agrokhimiya*, 87-94.

Sairam, R. K. 1994. Effects of Homobrassinolide Application on Plant Metabolism and Grain Yield Under Irrigated and Moisture-Stress Conditions of Two Wheat Varieties. *Plant Growth Regulation*, 14, 173-181.

Sakurai, A. 1997. Brassinosteroids. *Natural Product Reports* 19(1): 1-10,

Sakurai, A.; Yokota, T.; Clouse, S. D. 1997. *Biological Activity of Brassinolide*; Springer: Tokyo, pp.254.

Sasse, J.M. 1997. Brassinosteroids, Chemistry, bioactivity and Applications.- Washington American Chem. Society. pp.136

Sasse. J.M. 1998. Brassinosteroids regulators of plant. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:427-451.

Seto, H. 2005. Binding Mechanism of Brassinosteroid, Plant Growth Hormone, and Receptor BRI 1. BRAIN Techno News, 109, 17-22.

Takatsuto, S. 1994. Brassinosteroids: Distribution in Plants, Bioassays and Microanalysis by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Journal of Chromatography, 658, 3-15.

Takatsuto, S.; Yokota, T. 1999. Biochemical Analysis of Natural Brassinosteroids. Ed. Springer: Tokyo, 47-68.

Takematsu, T. 1989. Brassinolide derivative, 213-217.

Takeuchi, Y. 1995. Structure- Activity Relationship of Brassinosteroids. Phytochemistry (Elsevier), 22, 2437-2441.

Thompson, M. J.; Meudt, W. J.; Mandava, N. B.; Dutky, S. R.; Lusby, W. R., Spaulding, D. W. 2008. Synthesis of Brassinosteroids and Relationship of Structure to Plant Growth-Promoting Effects. Steroids, 39, 89-105.

Wada, K.; Marumo, S.; Abe, H.; Morishita, T.; Nakamura, K.; Uchiyama, M., Mori, K. A . 1995. Microquantitative Bioassay for Brassinosteroids. Agricultural and Biological Chemistry, 48, 719-726.

Wang, Z. 2000. Perception of Brassinosteroids by the Extracellular Domain of the Receptor Kinase BRI1. Science (Washington, D.C.), 288, 2360-2363.

Wilen, R. W.; Sacco, M.; Gusta, L. V., Krishna, P. 2005. Effects of 24-Epibrassinolide on Cell. Physiologia Plantarum, 195-202.

Yokota, T. Nakayama N. 2000. Metabolism Brassinolide in Explant. Phytochemistry, 33, 1361-1367.

Yokota, T. Clouse, S. D. 1997. Brassinosteroids Steroidal plant hormones; Springer:
Tokyo; pp.254.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1. LONGITUD DE LOS TALLOS

TRAT	REP	EPOCA	DOSIS	LONGITUD DEL TALLO											
				15 DIAS			30 DIAS			45 DIAS			60 DIAS		
				cm.	SUMA	MEDIA	cm.	SUMA	MEDIA	cm.	SUMA	MEDIA	cm.	SUMA	MEDIA
1	1	1	1	6,60			37,67			75,67			98,33		
1	2	1	1	15,17	27,73	9,24	45,00	107,00	35,67	85,67	219,33	73,11	106,00	281,67	93,89
1	3	1	1	5,97			24,33			58,00			77,33		
2	1	1	2	28,17			55,00			76,50			83,00		
2	2	1	2	41,33	99,33	33,11	71,67	176,83	58,94	89,67	234,83	78,28	95,67	260,67	86,89
2	3	1	2	29,83			50,17			68,67			82,00		
3	1	1	3	43,00			80,33			81,33			102,00		
3	2	1	3	47,17	136,83	45,61	76,00	223,33	74,44	97,33	260,33	86,78	89,00	275,83	91,94
3	3	1	3	46,67			67,00			81,67			84,83		
4	1	2	1	4,70			15,37			29,12			37,70		
4	2	2	1	11,30	26,17	8,72	9,00	56,70	18,90	24,00	115,45	38,48	47,00	170,70	56,90
4	3	2	1	10,17			32,33			62,33			86,00		
5	1	2	2	29,33			55,67			72,33			74,67		
5	2	2	2	26,67	79,50	26,50	33,50	128,17	42,72	39,50	166,50	55,50	46,67	182,67	60,89
5	3	2	2	23,50			39,00			54,67			61,33		
6	1	2	3	35,33			66,50			96,33			103,67		
6	2	2	3	45,67	130,67	43,56	68,00	207,83	69,28	88,33	279,00	93,00	94,33	309,83	103,28
6	3	2	3	49,67			73,33			94,33			111,83		
7	1	3	1	3,67			18,17			49,00			75,00		
7	2	3	1	15,83	33,33	11,11	40,33	95,17	31,72	97,50	214,17	71,39	120,00	280,00	93,33
7	3	3	1	13,83			36,67			67,67			85,00		
8	1	3	2	35,67			66,67			86,00			85,00		
8	2	3	2	43,83	118,83	39,61	65,33	204,67	68,22	88,33	274,67	91,56	96,67	288,00	96,00
8	3	3	2	39,33			72,67			100,33			106,33		
9	1	3	3	43,50			67,83			90,67			95,67		
9	2	3	3	43,67	151,33	50,44	69,17	229,33	76,44	90,33	293,67	97,89	95,67	307,67	102,56
9	3	3	3	64,17			92,33			112,67			116,33		
10	1			6,67			26,83			48,00			60,33		
10	2			2,53	23,87	7,96	6,50	85,33	28,44	17,20	146,20	48,73	24,23	180,40	60,13
10	3			14,67			52,00			81,00			95,83		

ANEXO 2. GROSOR DEL TALLO

TRAT	REP	EPOCA	DOSIS	GROSOR TALLO (cm)											
				15 DIAS			30 DIAS			45 DIAS			60 DIAS		
				cm	SUMA	MEDIA	cm	SUMA	MEDIA	cm	SUMA	MEDIA	cm	SUMA	MEDIA
1	1	1	1	0,47			0,62			0,65			0,82		
1	2	1	1	0,53	1,43	0,48	0,63	1,78	0,59	0,68	1,93	0,64	0,73	2,22	0,74
1	3	1	1	0,43			0,53			0,60			0,67		
2	1	1	2	0,57			0,63			0,65			0,88		
2	2	1	2	0,53	1,63	0,54	0,60	1,81	0,60	0,63	1,90	0,63	0,68	2,19	0,73
2	3	1	2	0,53			0,58			0,62			0,63		
3	1	1	3	0,57			0,62			0,70			0,72		
3	2	1	3	0,73	1,87	0,62	0,72	1,93	0,64	0,75	2,13	0,71	0,78	2,42	0,81
3	3	1	3	0,57			0,60			0,68			0,92		
4	1	2	1	0,40			0,45			0,50			0,53		
4	2	2	1	0,42	1,39	0,46	0,50	1,55	0,52	0,60	1,73	0,58	0,60	1,84	0,61
4	3	2	1	0,58			0,60			0,63			0,72		
5	1	2	2	0,57			0,63			0,68			0,70		
5	2	2	2	0,50	1,60	0,53	0,52	1,72	0,57	0,52	1,78	0,59	0,53	1,83	0,61
5	3	2	2	0,53			0,57			0,58			0,60		
6	1	2	3	0,53			0,65			0,68			0,72		
6	2	2	3	0,57	1,67	0,56	0,60	1,90	0,63	0,65	2,03	0,68	0,70	2,15	0,72
6	3	2	3	0,57			0,65			0,70			0,73		
7	1	3	1	0,37			0,55			0,65			0,65		
7	2	3	1	0,57	1,52	0,51	0,60	1,77	0,59	0,75	2,07	0,69	0,85	2,22	0,74
7	3	3	1	0,58			0,62			0,67			0,72		
8	1	3	2	0,53			0,60			0,65			0,68		
8	2	3	2	0,55	1,70	0,57	0,63	1,92	0,64	0,65	2,07	0,69	0,70	2,18	0,73
8	3	3	2	0,62			0,68			0,77			0,80		
9	1	3	3	0,66			0,70			0,75			0,80		
9	2	3	3	0,58	1,91	0,64	0,65	2,08	0,69	0,68	2,23	0,74	0,72	2,35	0,78
9	3	3	3	0,67			0,73			0,80			0,83		
10	1			0,43			0,57			0,57			0,62		
10	2			0,32	1,33	0,44	0,38	1,60	0,53	0,47	1,73	0,58	0,50	1,93	0,64
10	3			0,58			0,65			0,70			0,82		

ANEXO 3. INDICE PLASTOCRONICO

TRAT	REP	EPOCA	DOSIS	INDICE PLASTOCRONICO					
				30 DIAS			60 DIAS		
				IP	SUMA	MEDIA	IP	SUMA	MEDIA
1	1	1	1	9,35			19,36		
1	2	1	1	10,76	26,59	8,86	18,46	55,12	18,37
1	3	1	1	6,48			17,29		
2	1	1	2	13,70			18,65		
2	2	1	2	13,74	39,39	13,13	16,47	53,15	17,72
2	3	1	2	11,95			18,02		
3	1	1	3	14,73			17,51		
3	2	1	3	16,58	44,91	14,97	20,09	55,29	18,43
3	3	1	3	13,60			17,69		
4	1	2	1	6,65			12,31		
4	2	2	1	5,21	20,96	6,99	19,66	51,15	17,05
4	3	2	1	9,09			19,18		
5	1	2	2	13,73			18,14		
5	2	2	2	9,97	34,29	11,43	14,18	47,98	15,99
5	3	2	2	10,60			15,66		
6	1	2	3	17,06			21,53		
6	2	2	3	15,47	46,81	15,60	17,55	58,02	19,34
6	3	2	3	14,28			18,93		
7	1	3	1	6,40			14,82		
7	2	3	1	12,66	30,35	10,12	22,17	57,07	19,02
7	3	3	1	11,30			20,07		
8	1	3	2	13,27			18,20		
8	2	3	2	13,20	42,32	14,11	17,70	55,34	18,45
8	3	3	2	15,84			19,44		
9	1	3	3	17,73			20,51		
9	2	3	3	16,28	50,69	16,90	18,49	59,59	19,86
9	3	3	3	16,69			20,58		
10	1			6,61			14,69		
10	2			-	17,40	8,70	8,41	41,66	13,89
10	3			10,79			18,56		

ANEXO 4. LONGITUD Y GROSOR DEL BOTON

TRAT	REP	EPOCA	DOSIS	BOTON					
				LONGITUD			GROSOR		
				cm.	SUMA	MEDIA	cm.	SUMA	MEDIA
1	1	1	1	5,30	15,40	5,13	3,90	10,60	3,53
1	2	1	1	5,35			3,55		
1	3	1	1	4,75			3,15		
2	1	1	2	5,25	15,00	5,00	3,50	10,00	3,33
2	2	1	2	4,75			2,85		
2	3	1	2	5,00			3,65		
3	1	1	3	4,75	15,25	5,08	3,40	10,95	3,65
3	2	1	3	5,35			4,00		
3	3	1	3	5,15			3,55		
4	1	2	1	4,20	14,90	4,97	3,90	11,75	3,92
4	2	2	1	5,10			3,70		
4	3	2	1	5,60			4,15		
5	1	2	2	5,45	15,35	5,12	4,20	11,95	3,98
5	2	2	2	4,90			3,80		
5	3	2	2	5,00			3,95		
6	1	2	3	5,25	15,15	5,05	4,05	11,40	3,80
6	2	2	3	5,00			3,55		
6	3	2	3	4,90			3,80		
7	1	3	1	4,10	14,68	4,89	2,60	10,62	3,54
7	2	3	1	5,55			4,15		
7	3	3	1	5,03			3,87		
8	1	3	2	4,40	15,15	5,05	3,10	10,55	3,52
8	2	3	2	4,95			3,25		
8	3	3	2	5,80			4,20		
9	1	3	3	5,75	15,98	5,33	4,55	11,85	3,95
9	2	3	3	5,07			3,77		
9	3	3	3	5,17			3,53		
10	1			4,00	13,70	4,57	2,50	9,60	3,20
10	2			4,00			2,80		
10	3			5,70			4,30		

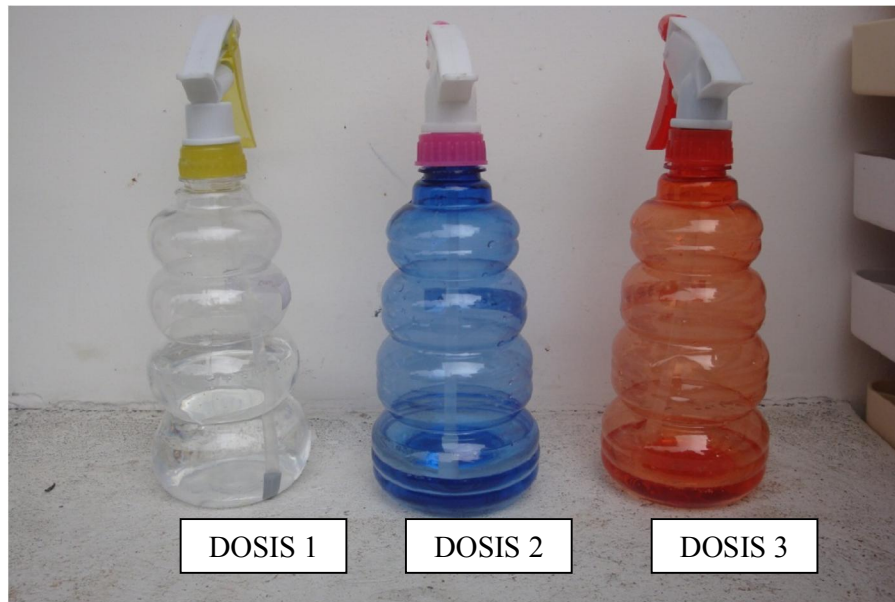
ANEXO 5. PESO SECO (HOJAS, TALLO Y BOTON)

TRAT	REP	EPOCA	DOSIS	PESO SECO								
				HOJAS			TALLO			BOTON		
				g.	SUMA	MEDIA	g.	SUMA	MEDIA	g.	SUMA	MEDIA
1	1	1	1	10,00			10,00			4,00		
1	2	1	1	9,00	27,00	9,00	8,00	25,00	8,33	3,00	10,00	3,33
1	3	1	1	8,00			7,00			3,00		
2	1	1	2	7,00			5,00			3,00		
2	2	1	2	8,00	23,00	7,67	6,00	16,00	5,33	3,50	9,50	3,17
2	3	1	2	8,00			5,00			3,00		
3	1	1	3	8,50			7,50			3,00		
3	2	1	3	7,00	19,50	6,50	6,00	19,50	6,50	3,00	9,00	3,00
3	3	1	3	4,00			6,00			3,00		
4	1	2	1	9,00			8,00			4,00		
4	2	2	1	10,00	29,00	9,67	9,00	27,50	9,17	5,00	14,00	4,67
4	3	2	1	10,00			10,50			5,00		
5	1	2	2	9,00			9,00			4,00		
5	2	2	2	8,00	25,00	8,33	8,00	26,00	8,67	3,50	11,50	3,83
5	3	2	2	8,00			9,00			4,00		
6	1	2	3	11,00			9,00			4,00		
6	2	2	3	9,00	30,00	10,00	8,00	24,00	8,00	4,00	12,00	4,00
6	3	2	3	10,00			7,00			4,00		
7	1	3	1	12,00			12,00			5,00		
7	2	3	1	15,00	37,00	12,33	15,00	40,00	13,33	6,00	16,00	5,33
7	3	3	1	10,00			13,00			5,00		
8	1	3	2	8,00			8,50			3,50		
8	2	3	2	17,00	34,00	11,33	12,00	28,50	9,50	4,00	11,00	3,67
8	3	3	2	9,00			8,00			3,50		
9	1	3	3	13,00			11,00			5,00		
9	2	3	3	12,00	36,00	12,00	10,00	30,50	10,17	5,00	14,00	4,67
9	3	3	3	11,00			9,50			4,00		
10	1			7,00			8,00			3,00		
10	2			4,00	17,00	5,67	6,00	23,00	7,67	3,00	9,00	3,00
10	3			6,00			9,00			3,00		

ANEXO 6. ROTULACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS REPETICIONES



ANEXO 7. EQUIPO DE APLICACION DE DEL PRODUCTO



ANEXO 8. APLICACIÓN DEL PRODUCTO

