



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA

“Generación de variedades mejoradas de café con resistencia a roya”

TESIS

Que presenta

JOSUE ARTURO ORTEGA ORTEGA

Para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE BIOTECNOLOGÍA

Directora de Tesis: **DRA. GUADALUPE BEATRIZ XOCONOSTLE CÁZARES**

Ciudad de México

Octubre, 2019



El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio 24 de Biología Molecular de Plantas del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Zacatenco, Bajo la Dirección de la Dra. Beatriz Xoconostle Cázares y con asesoría del Dr. Roberto Ruíz Medrano.

Agradecimientos

Agradezco sinceramente a:

CINVESTAV-IPN Unidad Zacatenco en su Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, por el apoyo e interés brindado para el desarrollo de este trabajo y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (Número de beca 263998).

A la Dra. Beatriz Xoconostle Cázares, por el interés, paciencia y ayuda para el desarrollo de este trabajo, por guiarme en mi formación como Doctor en Biotecnología, por los consejos hacia mi formación y mi persona.

Al Dr. Roberto Ruíz Medrano por la orientación, el soporte y discusión crítica en el trabajo realizado gracias también por su estimable paciencia y orientación.

A mi comité tutorial, Dra. María del Carmen Montes Horcasitas, Dra. Rosalía Lira Carmona y Dr. Jesús Hinojosa Moya por la ayuda, disposición y observaciones brindadas a lo largo de mi estancia en el programa de Doctorado.

A Lourdes López Cruz por su valiosa ayuda en la realización de los injertos de café y en el desarrollo de este trabajo. A Estela Xoconostle Cázares, por sus valiosos consejos personales y profesionales.

A los auxiliares de laboratorio 24, Maestra Brenda Yazmín Vargas Hernández y Maestro Leandro Alberto Núñez Muñoz, por su encarecido apoyo durante mi estancia en el departamento de Biotecnología.

CONTENIDO

Agradecimientos	II
Índice de tablas	VI
Índice de figuras	VII
Resumen.....	XIV
Abstract.....	XV
1. Marco teórico	1
1.1 El género <i>Coffea</i>	1
1.2 Consumo mundial de café	2
1.3 El café en México	2
1.4 Producción de café en México.....	3
1.5 Etapas en el desarrollo del café.....	4
1.5.1 Crecimiento y desarrollo del café.....	5
1.5.2 Formación y crecimiento del fruto	6
1.6 Base genética del café cultivado en América.....	7
1.6.1 Principales cultivares de café en México	8
1.7 Plagas y enfermedades del café.....	15
1.7.1 Roya del café (<i>Hemileia vastatrix</i>)	15
1.7.2 Razas de <i>H. vastatrix</i>	18
1.7.3 Genes con resistencia a roya.....	19
1.8 Manejo integrado del café por medio de propagación asexual	20
1.9 Injertos	22
1.9.1 Injerto Natural	23
1.9.2 Métodos de injerto	24
1.9.3 Unión del injerto.....	25
1.9.4 Producción y entrelazamiento celular entre injerto y portainjerto	26
1.9.5 Producción de un nuevo cambium a través del puente de callo.....	27
1.9.6 Formación de nuevo floema y xilema a partir del cambium vascular producido en el puente de callo	28
1.9.7 Cicatrización del injerto.....	31
1.9.8 Incompatibilidad en injerto	32
1.9.9 Tipos de incompatibilidad en injertos	33
1.9.10 Límites del injerto.....	34

1.9.11 Injerto entre especies de un género.....	34
1.9.12 Injertos entre Géneros de una familia	35
1.9.13 Interacciones moleculares en el injerto	36
1.9.14 Significancia evolutiva de los injertos.....	40
1.9.15 Transferencia horizontal de genes en injertos.....	40
1.10 Poliploidía en plantas.....	45
1.10.1 Cambios en el genoma después de la poliploidización	48
1.10.11 Poliploidía y mejoramiento de plantas.....	50
1.10.12 Confirmación del aumento de la ploidía en plantas.....	51
1.11 Citometría de Flujo (CMF)	52
1.12 Ciclo celular.....	56
1.12.1 El ciclo celular y el tamaño de genoma.....	57
2. Justificación.....	59
3. Hipótesis experimental	59
4. Objetivos	59
4.1 Objetivo general	59
4.2 Objetivos particulares	59
5. Materiales y métodos	60
5.1 Generación de variedades de café por vía asexual	60
5.2 Establecimiento de cultivo <i>in vitro</i> de plantas de café	62
5.3 Desinfección de tallos de café	62
5.4 Desinfección de secciones de unión en plantas injertadas	63
5.5 Efecto de reguladores de crecimiento sobre la organogénesis directa de 16 cultivares de <i>C. arabica</i>	63
5.6 Preparación de la muestra para Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	64
5.7 Análisis estadístico del efecto de reguladores de crecimiento sobre la organogénesis directa de 16 cultivares de <i>C. arabica</i>	65
5.8 Inducción y regeneración de embriones somáticos de café.....	66
5.9 Análisis de citometría de flujo	67
5.9.1 Material vegetal	67
5.9.2 Aislamiento de núcleos de café	68
5.9.3 Diseño experimental	69
5.10 Composición de pares de bases.....	70
5.11 Análisis estadístico del tamaño de genoma obtenido por CMF.....	70

5.12	Conteo de cromosomas en raíces y estructuras pre-embriogénicas de café	71
6.	Resultados y discusión.....	74
6.1	Injertos entre cultivares de <i>C. arabica</i> y <i>C. canephora</i>	74
6.2	Pruebas de regeneración en explantes de café sin injertar.....	81
6.3	Regeneración de injertos de café por medio de organogénesis directa	96
6.4	Análisis del tamaño de genoma de plantas de café por Citometría de Flujo	102
6.4.1	Contenido de ADN nuclear de los estándares utilizados.....	102
6.4.2	Histogramas de fluorescencia de cultivares de <i>C. arabica</i>	106
6.4.3	Análisis del tamaño de genoma en cultivares de <i>C. arabica</i>	114
6.4.4	Análisis estadístico del tamaño de genoma de 16 cultivares de <i>C. arabica</i>	118
6.4.5	Comparación del tamaño de genoma utilizando DAPI y IP como compuestos de tinción.....	120
6.5	Análisis del tamaño de genoma de plantas regeneradas de injertos de café	125
6.6	Embriogénesis somática de plantas regeneradas de café	139
6.6.1	inducción de callo	139
6.6.2.	Regeneración de estructuras pre-embriogénicas de café	145
6.6.3	Embriogénesis somática directa	148
6.7	Conteo de cromosomas en raíces y estructuras pre-embriogénicas de café	150
7.	Conclusiones.....	161
8.	Perspectivas.....	162
9.	Bibliografía	163
10.	Anexos	188
	Anexo 1. Injertos entre 19 cultivares de <i>C. arabica</i> y uno de <i>C. canephora</i>	188
	Anexo 2. Medio basal Murashige & Stock (MS) y medios de cultivo para la embriogénesis somática de café	190
	Anexo 3. Análisis del ciclo celular de cinco cultivares de <i>C. arabica</i> : Blue Mountain, CR-56, Geisha, Padang y Sarchimor.....	192
	Anexo 4. Comparación estadística del porcentaje de regeneración entre tratamientos altos y bajos. Análisis. <i>t</i> de Student.....	193
	Anexo 5. Comparación estadística de los porcentajes de regeneración entre los diferentes tratamientos estudiados en 16 cultivares de <i>C. arabica</i> . Análisis ANOVA de dos vías.	196
	Anexo 6. Análisis del ciclo celular y graficas Dot plot de diferentes plantas modelo usadas como estándares para Citometría de flujo.	248

Anexo 7. Graficas de dispersión celular (Dot-plot) de 16 cultivares de <i>C. arabica</i> . IP fue usado como compuesto de tinción de núcleos.	249
Anexo 8. Graficas de dispersión celular (Dot-plot) de 16 cultivares de <i>C. arabica</i> . DAPI fue usado como compuesto de tinción de núcleos.	250
Anexo 9. Prueba <i>t</i> de student. Comparación del tamaño de genoma de 16 Cultivares de <i>C. arabica</i> . Soya y <i>C. canephora</i> fueron usados como estándares, IP como compuesto de tinción.....	251
Anexo 10 Análisis Fisher´s Least Significant Difference (LSD). Comparación del tamaño de genoma de 16 Cultivares de <i>C. arabica</i> . Soya y <i>C.canephora</i> fueron usados como estándares, IP como compuesto de tinción de núcleos.	257
Anexo 11 Prueba <i>t</i> de student. Comparación del tamaño de genoma de 16 cultivares de <i>C. arabica</i> usando DAPI y IP como compuestos de tinción de núcleos.....	259
Anexo 12. Cálculo del AT% y GC%.....	269

Índice de tablas

Tabla 1. Cultivares de café utilizados en injertos.	60
Tabla 2. Componentes de las mezclas enzimáticas.....	72
Tabla 3. Efecto de la concentración y combinación de reguladores de crecimiento en la regeneración directa de 16 cultivares de <i>C. arabica</i>	82
Tabla 4. injertos regenerados en medio MS suplementado con TDZ (9.16 μ M) y NAA (2.86 μ M).....	96
Tabla 5. Valores de fluorescencia pertenecientes a 16 cultivares de <i>C. arabica</i> . Como estándar primario se utilizó soya, <i>C. canephora</i> fue usado como estándar secundario.	107
Tabla 6. Contenido de ADN nuclear de cultivares de <i>C. arabica</i> teñidos con DAPI y IP como estándares.	115
Tabla 7. Comparación del tamaño de genoma y porcentaje de pb de 16 cultivares de <i>C. arabica</i> teñidos con DAPI, así como IP. Soya fue utilizado como estándar.	123
Tabla 8. Contenido genético de 28 plantas regeneradas de café, usando IP como compuesto de tinción. Soya (A) y <i>C. canephora</i> (B) fueron utilizados como estándares.	129
Tabla 9. Metodología utilizada para establecer el protocolo de conteo de cromosomas en raíces y estructuras pre-embriogénicas de café.	152

Índice de figuras

Figura 1. Producción de café en México. Principales cuatro macro regiones del país en donde se cultiva café.....	3
Figura 2. Etapas de crecimiento y desarrollo del cafeto en su ciclo de vida. a) etapa de crecimiento b) etapa productiva.	4
Figura 3. Representación esquemática de las yemas axilares del cafeto (modificado de López-Morgado <i>et al.</i> , 2013).	5
Figura 4. Curva de crecimiento promedio del fruto de café (Modificado de López-Morgado <i>et al.</i> , 2013).	7
Figura 5. Principales cultivares de café con resistencia a roya (López-Morgado <i>et al.</i> , 2013).	14
Figura 6. Microscopia electrónica de barrido de uredosporas de <i>Hemileia vastatrix</i> (bar= 10 µm) (Liberato & Silva, 2006).	16
Figura 7. Ciclo de la enfermedad del café causada por <i>Hemileia Vastatrix</i> (modificado de Staples <i>et al.</i> , 2000).	17
Figura 8. Manchas anaranjadas características de la roya del café. Panel izquierdo, esporas del hongo en el envés de la hoja. Panel derecho, acercamiento de las esporas en la hoja de café.	18
Figura 9. Estructura de un injerto. Constituido por un injerto que posteriormente forma el sistema aéreo y un portainjerto que forma el sistema radical de la planta (modificado de Toogood, 1999).	22
Figura 10. Injerto natural entre la fusión de tallos de dos árboles afuera del departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV-Zacatenco.	23
Figura 11. Principales categorías de injertos. Entre los más utilizados se encuentran a) injerto de corte; b) injerto hendido, c) injerto de corona, d) injerto de empalme, e) injerto de lengua, f) injerto de aproximación (modificado de Wang <i>et al.</i> , 2017a).	24
Figura 12. Esquema longitudinal de la unión del injerto (Hartmann <i>et al.</i> , 2010).	27
Figura 13. Sección transversal de un injerto de tipo hendidura (Hartmann <i>et al.</i> , 2010).	28
Figura 14. Herramientas empleadas en la biología de formación del injerto. Tinción con azul de toluidina, hibridación <i>in situ</i> y utilización de genes reporteros (GFP) (Melnyk <i>et al.</i> , 2015b).	29

Figura 15. Movimiento a larga distancia del mRNA y la proteína del gen <i>AtTCTP2</i> . a) Cuantificación del movimiento a larga distancia del AtTCTP2-GFP mRNA. b) la proteína AtTCTP2-GFP se mueve a larga distancia en injertos de tabaco (Toscano-Morales <i>et al.</i> , 2014).....	38
Figura 16. Esquema de señales moleculares transportadas entre injerto y portainjerto. a) Transferencia horizontal de DNA en la zona del injerto vía plasmodesmos. b) Movimiento de pequeños ARNs (sARN) a través de la unión del injerto a tejidos distantes y su función como señales de silenciamiento. c) movimiento a larga distancia de ARN mensajeros (mARN). d) Señales hormonales juegan un papel importante en la interacción de injerto y portainjerto, los colores representan moléculas de diferentes tejidos. Azul representa moléculas del injerto, y morado representa moléculas del portainjerto (Modificado de Wang <i>et al.</i> , 2017a).....	39
Figura 17. Intercambio de material genético entre células de la zona del injerto (Stegemann & Bock 2009).....	41
Figura 18. Transferencia Horizontal de genes en dos especies incompatibles de <i>Nicotiana</i> , las plantas regeneradas de la zona del injerto contienen mayor número de cromosomas, así como un fenotipo diferente al de los parentales con los que se hizo el injerto (modificado de Fuentes <i>et al.</i> , 2014).	43
Figura 19. Vías naturales para la formación de poliploides (Tayalé & Parisod, 2013).....	46
Figura 20. Cambios en el genoma después de la poliploidización de plantas. Los efectos aditivos se refieren a cambios en la dosificación de genes y el nivel de heterocigosidad en poliploides en comparación con plantas de menor nivel de ploidía. Los poliploides generalmente muestran cambios no aditivos (es decir, reorganización del genoma) incluyendo reestructuraciones y modificaciones funcionales. Los genes duplicados pueden seguir una sub- funcionalización o neo-funcionalización. La reestructuración del genoma puede involucrar reordenamientos de cromosomas, pérdida y amplificación de secuencias repetitivas. Algunos cambios funcionales pueden ocurrir sin modificación de la secuencia de nucleótidos a través de la metilación y el remodelamiento de la cromatina. Los elementos transponibles juegan un papel importante durante la reorganización del genoma, induciendo la reestructuración y cambios epigenéticos (modificado de Tayalé & Parisod, 2013).	49
Figura 21. Componentes básicos de un citómetro de flujo. Sistema de fluidos, sistema óptico y sistema electrónico (modificado de Doležel & Bartos, 2005).	52
Figura 22. Formas de presentar los datos en un citómetro de flujo: a) citogramas, b) dot plot, c) gráficos 3D (modificado de Doležel & Bartos, 2005).	54

Figura 23. Etapas de división del ciclo celular. Fase G0, G1 S, G2 y M.....	57
Figura 24. Injerto por aproximación. a) Selección de parentales de café a injertar, b) Corte horizontal del tallo de cada parental, la zona cambial de cada uno se hace coincidir. c) Unión de los parentales con cinta parafilm. d) Adición cera con el fin de evitar deshidratación o contaminación en la zona de injerto.	61
Figura 25. Injertos representativos de Cultivares de café. a) Oro Azteca x Robusta; b) ICATU x Mundo Novo; c) Iapar 59 x Typica; d) Colombia x Garena; e) Costa Rica x Bourbon y f) Oro Azteca x ICATU.....	74
Figura 26: Corte transversal de la unión de diferentes injertos de café (magnificación 3x). a) IAPAR 59 x Costa Rica; b) ICATU x Typica; c) Colombia x Catuai d) Robusta x Garnica. ...	75
Figura 27. Germinación y elaboración de injertos a partir de semilla de café a) plántulas de café crecidas en el invernadero de CINVESTAV-Zacatenco; b) Injertos de café en etapa soldado y cotiledonar.	77
Figura 28. Injertos representativos de Cultivares de café a) Oro Azteca x Robusta; b) ICATU x Mundo Novo; c) Iapar 59 x Typica; d) Colombia x Garena; e) Costa Rica x Bourbon y f) Oro Azteca x ICATU.....	78
Figura 29. Esquema general del proceso de cicatrización de los injertos de café. a) Inicio de la unión del injerto; b) cicatrización del injerto posterior a un mes de su elaboración (magnificación 3x). c) Injerto después de dos meses de unión (magnificación 3x). d) fusión de tallos de los parentales y formación de callo después de tres meses. 1= parental 1; 2= Parental 2.....	79
Figure 30. Organogénesis directa de explantes de tallo de cultivares de <i>C. arabica</i>. a) Un explante de tallo en el inicio del estudio. b) Experimento representativo con 15 explantes por caja Petri. c) Imagen de SEM de un explante de tallo con cero días de cultivo (bar 100 μ m). d) Explante usado como control en medio sin reguladores de crecimiento, después de dos semanas de cultivo. e) Aglomerado de células fotosintéticas en medio MS suplementado con 9.16 μ M TDZ y 2.86 μ M NAA después de 2 semanas de cultivo f) Imagen de SEM de aglomerados de células fotosintéticas después de 2 semanas de cultivo. g) Explante usado como control en medio sin reguladores de crecimiento, después de cinco semanas de cultivo. h) Regeneración directa de brotes después de 5 semanas de cultivo. i) Imagen de SEM de un meristemo vegetativo ya diferenciado después de 5 semanas de cultivo (bar 100 μ m). j) Formación y elongación de múltiples brotes después de 8 semanas de cultivo. k) Una	

planta regenerada con sistema radical bien desarrollado después de 12 semanas de cultivo.	
I) Planta aclimatada creciendo en invernadero.....	87
Figura 31. Extremos de respuesta de los porcentajes de regeneración de 16 cultivares de <i>C. arabica</i> . Las barras de error representan las medias de regeneración \pm DE. Los valores indicados por la misma letra dentro de las variables de respuesta no son significativamente diferentes (suma de rangos de Mann-whitney, $P \leq 0.001$). ZEA=Zeatina. CIN=Cinetina.	89
Figura 32. Efecto de 12 combinaciones y tres diferentes tratamientos de Auxinas/Citocininas, en la regeneración de brotes a partir de explantes de tallo de 16 cultivares de <i>C. arabica</i> . La organogénesis es favorecida a concentraciones altas de reguladores de crecimiento. Concentraciones bajas muestran un menor porcentaje de regeneración en todos los cultivares.....	95
Figure 33. Organogénesis directa de injertos de café. a) Injerto de café previo al proceso de regeneración. b) Explante representativo de un corte transversal del injerto al inicio del ensayo. c) Explante en medio MS suplementado con 9.16 μ M TDZ y 2.86 μ M NAA, después de dos semanas de cultivo. d) Aglomerado de células isodiamétricas no diferenciadas después de cuatro semanas de cultivo. e) Imagen de SEM de un meristemo vegetativo y primordios de hoja ya diferenciados, posterior a 12 semanas de cultivo (bar 100 μ m). f) Regeneración directa de un brote proveniente de la zona del injerto, posterior a 13 semanas de cultivo. g) Imagen de SEM del inicio del desarrollo de las primeras hojas (bar 100 μ m). h) Elongación de brotes creciendo de diferentes maneras. i) Imagen de SEM de dos brotes creciendo en un explante, posterior a 15 semanas de cultivo (bar 100 μ m). j) Imagen representativa de dos brotes creciendo en un explante, posterior a 15 semanas de cultivo k) Planta regenerada con sistema radical, posterior a 20 semanas de cultivo. I) Planta aclimatada creciendo en invernadero.....	99
Figura 34. Plantas regeneradas de la zona del injerto. a) <i>C. canephora</i> cv. Robusta x <i>C. arabica</i> cv. Oro Azteca. b) <i>C. arabica</i> cv. Costa Rica x <i>C. arabica</i> cv. Colombia. c) <i>C. canephora</i> cv. Robusta x <i>C. arabica</i> cv. Garena. d) <i>C. arabica</i> cv. IAPAR 59 x <i>C. arabica</i> cv. Typica. e) <i>C. arabica</i> cv. ICATU x <i>C. arabica</i> cv. Garnica. f) <i>C. arabica</i> cv. IAPAR 59 x <i>C. arabica</i> cv. Bourbon. g) <i>C. canephora</i> cv. Robusta x <i>C. arabica</i> cv. Caturra h) <i>C. canephora</i> cv. Robusta x <i>C. arabica</i> cv. IAPAR 59 i) <i>C. canephora</i> cv. Robusta x <i>C. arabica</i> cv. Catuai.	101
Figura 35. Análisis del tamaño de genoma de soya. a) Grafica dot plot, núcleos teñidos con IP. b) citograma, núcleos teñidos con IP. c) Grafica dot plot, núcleos teñidos con DAPI. d) citograma, núcleos teñidos con DAPI.....	103

Figura 36. Análisis del tamaño de genoma de <i>C. arabica</i>. a) Grafica dot plot de núcleos teñidos con IP; b) citograma de núcleos teñidos con IP; c) Grafica dot plot de núcleos teñidos con DAPI; d) citograma de núcleos teñidos con DAPI.....	105
Figura 37. Citogramas representativos de la intensidad de fluorescencia de núcleos de cultivares de <i>C. arabica</i> y estándares. 1) Soya (canal 163.6) y 2) <i>C. canephora</i> (canal 92.85). 16 cultivares representativos son mostrados: 3) Typica; 4) Maragogype; 5) Pluma Hidalgo; 6) Villa sarchi; 7) Bourbon; 8) Caturra; 9) Catuai; 10) Mundo Novo; 11) Garnica; 12) Pacamara; 13) Garena; 14) Colombia; 15) IAPAR 59; 16) Costa Rica; 17) Oro Azteca; 18). ICATU.....	109
Figura 38. Citogramas del contenido de ADN relativo de núcleos de 16 cultivares de <i>C. arabica</i> teñidos con IP. a) Familia de cultivares relacionados con Typica. Soya y <i>C. canephora</i> fueron usados como controles. b) Familia de cultivares relacionados con cultivares provenientes de cruza artificiales o híbridos. Los controles fueron similares a los empleados en panel a).....	111
Figura 39. Genealogía de cultivares de <i>C. arabica</i> analizados en este trabajo. Se distinguen diferentes linajes que dan origen a los cultivares más utilizados en el mundo. Los cultivares indicados con una flecha punteada se originaron como mutaciones naturales Del cruce genético Typica y Robusta, se generaron diferentes híbridos. Los cultivares que muestran resistencia parcial a la roya del café se resaltan en cuadros sombreados. El código internacional para las accesiones de cultivares de Timor se indica entre paréntesis.....	113
Figura 40. Comparación lineal del contenido nuclear de ADN de cultivares de <i>C. arabica</i>, utilizando dos estándares. Se encontró una pendiente similar ($R^2 = 0.98$) en todos los cultivares evaluados, los núcleos se tiñeron con IP.	116
Figura 41. Tamaño de genoma de 16 cultivares de <i>C. arabica</i>. Valores 2C (pg) ordenados de manera ascendente cuando los núcleos se tiñeron con IP y DAPI. Soya fue usado como estándar. IP= Yoduro de propidio. DAPI= 4', 6'-diamino-2-fenilindol dihidrocloruro de hidrato.	121
Figura 42. Análisis por CMF de los estándares utilizados. a) Gráfica dot plot (dispersión celular) de núcleos de soya. b) Citograma representativo de la distribución de núcleos de soya en fase G0/G1. Canal de fluorescencia 163 (2C= 2.30 ± 0.030 pg). c) Gráfica dot plot de núcleos de <i>C. canephora</i> . d) Citograma representativo de la distribución de núcleos de <i>C. canephora</i> en fase G0/G1. Canal de fluorescencia 92 (2C= 1.29 ± 0.051 pg).	127
Figura 43. Dot plot de núcleos teñidos con IP, correspondiente a 28 plantas regeneradas de café.	131

Figura 44. Citogramas representativos de la distribución de núcleos en fase G0/G1 de 128 plantas regeneradas de café, núcleos teñidos con IP. Canal de fluorescencia de 160.67 a 403.81.....	133
Figura 45. Regresión lineal del canal de fluorescencia con respecto al contenido de DNA (pg) obtenido con <i>G. max</i> (estándar primario) y <i>C. canephora</i> (estándar secundario).....	136
Figura 46. Prueba de t de Student compuesta por una prueba de normalidad y una prueba de varianza aprobados por los tamaños genómicos obtenidos con el estándar primario y secundario que comprueba que no hay varianza significativa entre ellos.....	136
Figura 47. Gráfica overlay de la planta 27. a) citogramas representativos de los núcleos en fase G0/G1 de los parentales injertados: IAPAR 59 =3.05 pg (1), Oro Azteca =3.15 pg (2) y la planta 27= 5.61 pg (3). b) Análisis del ciclo celular de la planta 27 por medio del algoritmo Michel H. Fox.	137
Figura 48. Inducción de embriones somáticos de hojas de café en diferentes medios de cultivo.....	140
Figura 49. Efecto de reguladores de crecimiento en la inducción de callo de diferentes características a 60 días.....	141
Figura 50. Efecto de reguladores de crecimiento en el porcentaje de producción de estructuras pre-embriogénicas (callo). Total de explantes por medio de cultivo= 60, Número de explantes con callo: Medio Callo = 54; M1 = 33, CIM = 42, Inducción Callo = 52. Porcentaje de formación de callo : Medio callo = 90%, M1 = 55%, CIM = 70%, Inducción Callo = 87%.	143
Figura 51. Estructuras pre-embriogénicas en medio de Callo a 120 días.	144
Figura 52. Estructuras pre-embriogénicas a 30 y 60 días de incubación en distintos medios de regeneración (RM, M2 Embryo y SED).	145
Figura 53. Diferentes etapas de la embriogénesis somática en callos de café después de 60 días de cultivo. a) Formación de estructuras globulares en medio RM. b) Formación de estructuras globulares y torpedo en medio M2. c) Formación de estructuras globulares y torpedo en medio embryo. d) Formación de estructuras globulares y torpedo en medio SED.	146
Figura 54. Porcentaje de regeneración en diferentes medios de cultivo después de 60 días de incubación. Total de explantes analizados por medio de cultivo= 20. Número de callos con	

estructuras globular/ torpedo: **RM**= 10, **M2**= 13, **Embryo**= 17, **SED**= 19. Porcentaje de regeneración: **RM**= 50%, **M2**= 65%, **Embryo**= 85%, **SED** 95%. 148

Figura 55. Imágenes representativas de la Inducción de embriogénesis somática directa en los 3 medios de inducción de callo. **a)** Estructuras corazón en medio de callo. **b)** Estructuras globulares en medio de callo. **c)** Estructura globular y corazón en medio de callo. **d)** Estructuras globulares y de corazón en medio CIM. **e)** Estructuras globulares y de corazón en medio M1. **f)** Inicio de la formación de estructuras globulares en medio M1. **g)** Estructuras globulares en medio CIM. **h)** Estructuras corazón en medio de callo. 149

Figura 56. Tejido meristemático de raíz con un pretratamiento de colchicina a 4°C por 24h y teñido con acetocarmín por 2h. **a)** y **b)** Sin disgregación enzimática. **c)** y **d)** Con disgregación enzimática pectinasa 5%-celulasa 2% a 30°C por 1h. **e)** Células en diferentes etapas de mitosis..... 154

Figura 57. Tejido meristemático de raíz de café con un pretratamiento de colchicina a 4°C por 24h y teñido con Agente de Schiff por 12h. **a)** Sin disgregación enzimática. **b)** Con disgregación enzimática pectinasa 5%-celulasa 2% a 30°C por 1h..... 155

Figura 58. Estructuras pre-embriogénicas de café, disgregadas con pectinasa 5%-celulasa 2% a 30°C por 1h y teñido con Giemsa (3% en PBS) por 25 min. **a)** Pretratamiento con colchicina a 4°C por 24h. **b)** Con un pretratamiento de hidroxurea 28°C por 24h y colchicina a 4°C por 24h..... 156

Figura 59. Cromosomas de estructuras pre-embriogénicas de café, con pretratamiento de hidroxurea y colchicina, disgregadas con pectinasa-celulasa y teñido con DAPI..... 157

Figura 60. Proyección 3D de un cromosoma de café mediante microscopía confocal. 158

Figura 61. Conteo de cromosomas de la planta regenerada 27 (88 cromosomas). **a)** Imagen de cromosomas de *C. arabica* cv. IAPAR 59. **b)** Imagen de cromosomas de *C. arabica* cv. Oro Azteca. **c)** Imagen de cromosomas de la planta regenerada 27. **d)** Conteo de los cromosomas de la planta 27, el conteo se realizó a través del programa Image J. 159

Resumen

El género *Coffea* está constituido por más de 100 especies, todas diploides y alógamas con excepción de *Coffea arabica*, la cual es la planta más utilizada en el mundo debido a sus características agronómicas, así como a la calidad de la bebida producida con su semilla. Sin embargo, la baja diversidad genética de *C. arabica* ocasiona que sea susceptible a plagas y enfermedades. Debido a lo anterior, surge la necesidad de generar plantas de café resistentes a diferentes tipos de estrés biótico. El aumento en la ploidía del café es una herramienta que podría permitir obtener variedades con mayor número de cromosomas, así como nuevos genes de resistencia. Una manera novedosa de obtener plantas con mayor contenido de ADN es mediante Transferencia Horizontal de genes (THG). Estudios recientes han demostrado que el movimiento de material genético entre dos o más organismos sexualmente incompatibles favorece la formación de nuevas especies con mayor variabilidad genética. El objetivo del presente trabajo fue obtener plantas de café con mayor contenido de ADN. Se llevaron a cabo más de 200 injertos diferentes, utilizando como parentales a 19 cultivares de *C. arabica* y uno de *C. canephora*. Posteriormente, la zona de cada injerto se regeneró por medio de cultivo de tejidos, se probaron 36 combinaciones de reguladores de crecimiento (citocininas y auxinas) en diferentes concentraciones. De acuerdo con el análisis estadístico (Anova de dos vías y prueba *t* de student), la combinación que tuvo la mejor respuesta de regeneración fue con TDZ (9.16 μM) y NAA (2.86 μM). Asimismo, se estableció un sistema de embriogénesis somática (ES) con el propósito de obtener plantas completas (con parte aérea y parte de raíz), la combinación de reguladores de crecimiento que permitió la mejor inducción de estructuras pre-embriogénicas fue 2-4-D (12.5 μM) y Cinetina (0.75 μM), mientras que la combinación con mejores resultados en la regeneración de estructuras como globular y corazón, fue 2-4-D (4.53 μM) y BAP (17.76 μM). Para determinar el contenido de ADN en las plantas regeneradas, se estableció un protocolo para la extracción y análisis de núcleos por Citometría de Flujo (CMF). En primer lugar, se caracterizó el tamaño de genoma de los parentales con los que se hicieron los injertos, se obtuvieron valores de 2.56 a 3.16 picogramos (pg) y se realizó un análisis estadístico LSD para establecer la variabilidad genética entre cultivares de *C. arabica*. El tamaño de genoma de las plantas regeneradas se observó en un intervalo de 2.26 a 5.69 pg.

Abstract

The genus *Coffea* it is constituted of more than 100 species, all diploids and allogamas with the exception of *Coffea arabica*, which is the most widely used plant in the world due to its agronomic characteristics, as well as the quality of the beverage produced with its seed. However, the low genetic diversity of *C. arabica* causes it to be susceptible to pests and diseases. So it is necessary to generate coffee plants resistant to different types of biotic stress. The increase in coffee ploidy is a tool that could allow obtaining varieties with a greater number of chromosomes as well as new resistance genes. A novel way to obtain plants with higher DNA content is by Horizontal Gene Transfer (THG). Recent studies have shown that the movement of genetic material between two or more sexually incompatible organisms favors the formation of new species with greater genetic variability. The objective of this work was to obtain coffee plants with a higher DNA content. More than 200 different grafts were carried out, using 19 cultivars of *C. arabica* and one of *C. canephora* as parentals. Subsequently, the area of each graft was regenerated by tissue culture, 36 combinations of growth regulators (cytokinins and auxins) were tested at different concentrations. According to the statistical analysis (two-way Anova and student's t-test), the combination that had the best regeneration response was TDZ (9.16 μM) and NAA (2.86 μM). Likewise, a somatic embryogenesis (ES) system was established with the purpose of obtaining complete plants (with aerial part and root part), the combination of growth regulators that allowed the best induction of pre-embryogenic structures was 2-4- D (12.5 μM) and Kinetin (0.75 μM), while, the best results in the regeneration of globular and heart, structrues was 2-4-D (4.53 μM) and BAP (17.76 μM) combination. To determine the DNA content in the regenerated plants, a protocol was established for the extraction and analysis of nuclei by Flow Cytometry (CMF). First, the genome size of the parents with which the grafts were made was characterized, values of 2.56 to 3.16 picograms (pg) were obtained and an LSD statistical analysis was performed to establish genetic variability between cultivars of *C. arabica*. The genome size of the regenerated plants was observed in a range of 2.26 to 5.69 pg.

1. Marco teórico

1.1 El género *Coffea*

El café pertenece a la familia *Rubiaceae*, conformada por cerca de 400 géneros y 5,000 especies, principalmente árboles o arbustos (Guzzo *et al.*, 2009). El género *Coffea* es el único de atractivo económico dentro de esta familia, por lo que actualmente hay un abundante trabajo taxonómico del mismo. Estos estudios engloban a las especies de *Coffea* de mayor interés para el mejoramiento genético en la sección *Eucoffea*, subsección *Erythrocoffea*, donde están contenidas *C. arábica*, *C. canephora*, *C. congensis* y *C. eugenioides* (Davis *et al.*, 2005; Bremer & Eriksson, 2009). El café es una planta perenne con $2x=22$ cromosomas para las especies diploides y $2x=44$ para la especie tetraploide *C. arabica*, especie aloploide formado por la hibridación entre dos especies diploides cercanas: *C. eugenioides* y *C. canephora* (Lashermes *et al.*, 1999).

En las áreas cultivadas con café en el mundo, *C. arábica* y *C. canephora* sobresalen por el valor comercial de sus granos. En México se cultivan principalmente *C. arábica* por las características organolépticas de la bebida, mientras que *C. canephora* se utiliza para la elaboración de cafés solubles y su adaptación a zonas de altitud baja (López-Morgado *et al.*, 2013)

Las especies de café se distribuyen a lo largo de la región tropical de África Central, particularmente en Madagascar y sus alrededores; algunas especies también están presentes en la India. Las poblaciones silvestres de café se encuentran conservadas en condiciones *ex situ* en diversos bancos genéticos. Todas ellas favorecen una fuente

importante de variabilidad genética para la generación de variedades de café con buenas características agronómicas (Lashermes *et al.*, 1997).

1.2 Consumo mundial de café

El grano del café es uno de los productos o “commodities” de mayor valor comercial en el mundo, siendo el café el segundo producto más comercializado después del petróleo (Eskes & Leroy, 2004). México exporta alrededor del 64.4% de la producción nacional de café, de la cual el 63.14% se envía a los Estados Unidos de América, el cual es el mayor consumidor en el mundo (Hernández *et al.*, 2011).

1.3 El café en México

La caficultura es una actividad muy importante en nuestro país, ya que permite la generación de divisas y empleos. Entre los 10 países principales productores de café, Brasil es el principal país productor de este grano con aproximadamente 47.2 millones de sacos de 60 kg. Vietnam se encuentra como segundo productor de este grano con el cultivo principalmente de café robusta, con una cosecha de aproximadamente 18.7 millones de sacos de 60 kg (ICO, 2018).

El café es cultivado en 10.2 millones de hectáreas por 25 millones de productores en 50 países. El 75 % de los cafetales son pequeñas fincas que van desde 1 hasta 10 hectáreas, manipuladas principalmente mediante mano de obra familiar (López-Morgado *et al.*, 2013). Cerca de 34% de la producción mundial del grano de café, y 30 % de la superficie cultivada, se localiza en Latinoamérica (Ramírez, 2014).

1.4 Producción de café en México.

Los cafetales se instauraron básicamente en las cadenas montañosas del centro y sur del país, en terrenos con pendientes de suaves a muy profundas, y bajo la cubierta de diversos árboles. Hoy en día, se identifican cuatro grandes macro regiones con peculiaridades y condiciones agroecológicas ajustadas para el cultivo, Principalmente estas regiones están localizadas en 12 estados del país (**figura 1**). Asimismo, existe café cultivado en el Estado de México, Michoacán y Morelos, entre otros (López-Morgado *et al.*, 2013).

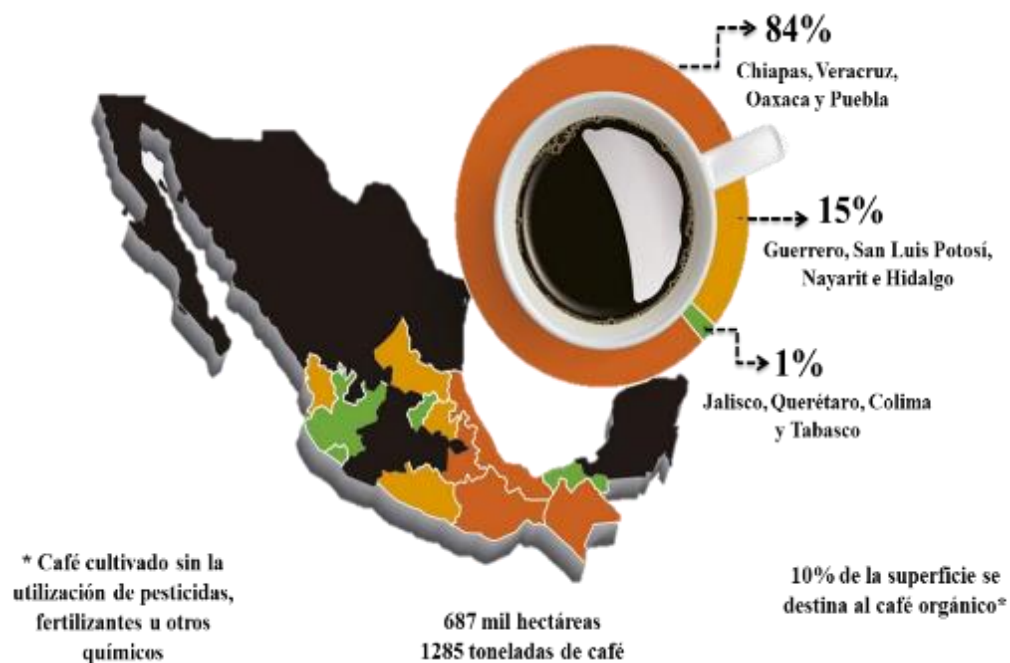


Figura 1. Producción de café en México. Principales cuatro macro regiones del país en donde se cultiva café.

1.5 Etapas en el desarrollo del café

En el cafeto se reconocen dos etapas: la etapa pre-productiva, que va desde la germinación de la semilla hasta la finalización del periodo juvenil, y se delimita por la imposibilidad del cafeto para florecer; regularmente tiene una duración de tres a cuatro años (Ramírez, 2014), y la etapa de madurez, en donde el cafeto tiene la capacidad fisiológica de producir flores y frutos; este periodo dura aproximadamente ocho años. En ambas etapas, el crecimiento vegetativo es continuo (Farah & Dos santos 2015), además, puede considerarse como una tercera etapa, el final de la capacidad de producción, seguido de la muerte de la planta. No obstante, el manejo del cafetal en la etapa productiva puede determinar la vida útil de la plantación. En la **figura 2** se muestran las diferentes etapas de crecimiento y desarrollo del cafeto.



Figura 2. Etapas de crecimiento y desarrollo del cafeto en su ciclo de vida. **a)** etapa de crecimiento **b)** etapa productiva.

1.5.1 Crecimiento y desarrollo del café

El café es un arbusto de crecimiento continuo, el tallo crece en altura, y las ramas, a partir del eje central, hasta los lados. Las ramas laterales denominadas primarias, empiezan a aparecer en la plántula del sexto al décimo par de hojas, cuya inserción al tallo principal define los nudos y entrenudos del eje central cuyo resultado son arbustos de forma más o menos piramidal o cónica (Davis *et al.*, 2005). El crecimiento vertical u ortotrópico abarca el tallo principal o eje central, brotes verticales y brotes laterales, este crecimiento define la altura de la planta conforme a las características del cultivar, llegando a presentar ramificaciones sólo si se suprime la dominancia apical, a fin de estimular la formación de un mayor número de ejes ortotrópicos (Eskes & Leroy, 2004). En la **figura 3** se observan las principales características de la morfología del cafeto y las estructuras botánicas del desarrollo vegetal, haciendo énfasis en la estructura anatómica de yemas seriadas y yemas de cabeza de serie como origen del crecimiento tanto horizontal como vertical.

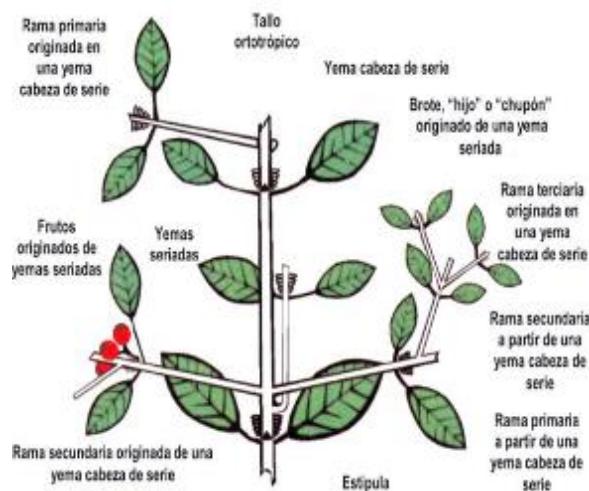


Figura 3. Representación esquemática de las yemas axilares del cafeto (modificado de López-Morgado *et al.*, 2013).

1.5.2 Formación y crecimiento del fruto

Existen tres procesos principales en la formación del fruto de café: creación, desarrollo, y maduración. La formación del fruto se inicia con la polinización del ovario y la fecundación del óvulo; ordinariamente se alcanza un grado de autofecundación por arriba del 94% (Davis *et al.*, 2005). La manifestación de temperaturas congruentemente altas, déficit hídrico y el exceso de lluvia, inducen anormalidades a la flor, ocasionando que ésta permanezca verde o atrofiada, ocasionando que la polinización no se lleve a cabo. El crecimiento de los frutos después de la fecundación dura cerca de seis meses, con poca ganancia en peso y volumen (Eskes & Leroy, 2004).

El desarrollo del fruto consiste en dos periodos; en el primero hay un crecimiento rápido en volumen y peso seco del fruto y consigue un contenido de humedad del 80 al 84%. Los espacios donde se formarán las semillas se expanden a su tamaño definitivo, llenándose de un líquido lechoso que formará el endospermo; asimismo se da el crecimiento y lignificación del endocarpio (pergamino), lo cual delimita la dimensión que va a tener el grano (Davis *et al.*, 2006; Farah *et al.*, 2014). El segundo periodo en el desarrollo del fruto se origina posterior a cuatro meses de la fecundación; en este periodo el crecimiento exterior es paulatino y sucede el llenado del grano, lo cual provoca un alto requerimiento de asimilados y nutrientes (**figura 4**) (Farah *et al.*, 2014).

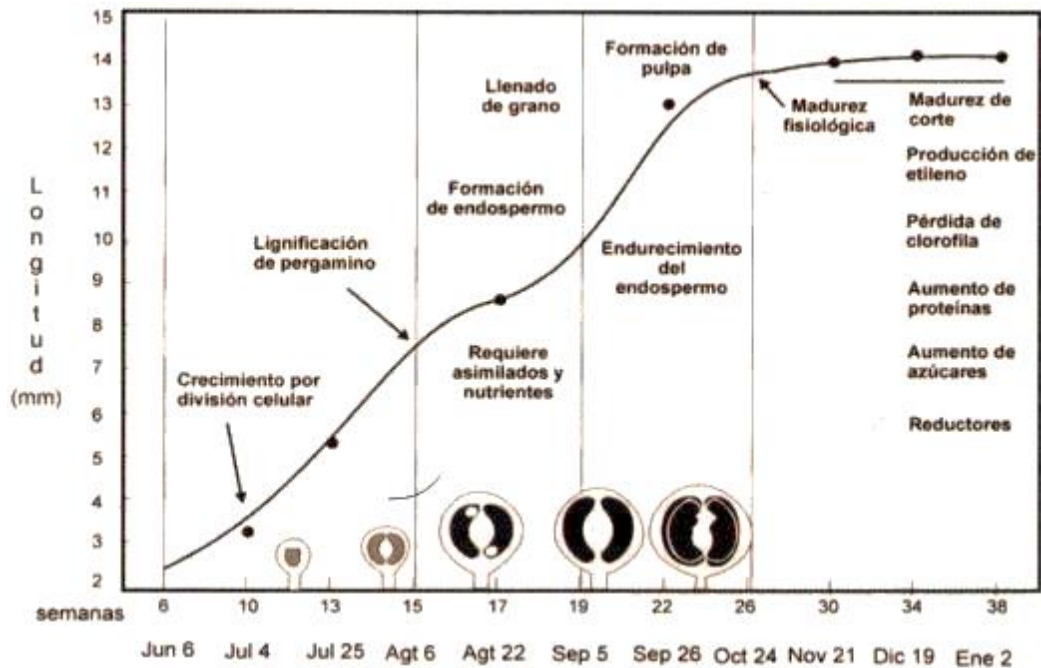


Figura 4. Curva de crecimiento promedio del fruto de café (Modificado de López-Morgado *et al.*, 2013).

1.6 Base genética del café cultivado en América

C. arabica se caracteriza por su baja diversidad genética, la cual se atribuye a que es una especie autógama, con un 90% de autopolinización, así como al proceso evolutivo de las especies. Otra razón de la variabilidad baja en *C. arabica* es la combinación de genes muy restringida de la especie, ya que la mayoría de los huertos de café en el continente americano se han plantado con materiales provenientes de semillas obtenidas de unos cuantos individuos de *C. arabica* cv. *Typica* (Fischersworing & Robkamp, 2001).

1.6.1 Principales cultivares de café en México

La caficultura mexicana ha utilizado ampliamente el cultivar Typica por más de 200 años, este cultivar se ha adaptado a diferentes condiciones ambientales, exponiendo capacidad de vida productiva. No obstante, se considera de rendimiento bajo y de alternancia alta entre cosechas. La sustitución del cultivar Typica empezó en la década de los 50, del siglo pasado; este sucedió con la introducción de los cultivares de porte alto Bourbon y Mundo Novo; después, cobró importancia la introducción de cultivares de bajo porte como Caturra en los 60 y Catuaí en los 80 (López-Morgado *et al.*, 2013).

El proceso de introducción y expansión del nuevo material genético, a base de otros cultivares comerciales, desde más de medio siglo, ha sido diferente por regiones y tipos de productores. Conforme con los cultivares disponibles en México, a continuación, se describen los cultivares más utilizados por los caficultores del país (Hernández *et al.*, 2011).

Bourbón: Se considera como una mutación del subtipo Typica. De Bourbon se han derivado otros cultivares como Caturra. En los años 70 el 38% de los productores la cultivaban. Se adapta mejor a latitudes de 1,000 m o más; es susceptible al viento, tolera la insolación y es susceptible a roya (ICO, 2018).

Mundo Novo: Es una cruce o híbrido natural entre Bourbón y Sumatra, siendo esta última una selección dentro de progenies de Typica. El cultivar Mundo Novo se encuentra en la mayor parte de las regiones cafetaleras, ya que presenta rusticidad alta y vigor prominente, aunque su manejo es más difícil debido precisamente a su porte tan alto, apartada en particular a zonas bajas, con tolerancia a sequía, pero susceptible a roya. Se asemeja al cultivar Bourbón, sin embargo, algunas selecciones presentan brotes bronceados. Tiene tendencia a emitir hijuelos en la base del tallo. Y presenta porcentaje alto de frutos vanos; sin embargo, algunas selecciones en México como Mundo Novo 23, 25, 26, 28, 254 y 443 presentan valores bajos (2.5 a 4.5%) (Hernández *et al.*, 2011).

Caturra: Su nombre significa pequeño en guaraní. Es una mutación de Bourbón que se dio en Brasil, más precoz y productiva que cualquier tipo de Bourbón y Typica, lo cual conlleva a un mayor manejo agronómico, sobre todo fertilización y podas. De porte bajo, con ramas secundarias abundantes, entrenudos cortos y estructura compacta, debido a un mayor número de inflorescencias por axila y más flores por inflorescencia, presenta rendimientos altos. Similar a Bourbón tanto en frutos como en semillas (López-Morgado *et al.*, 2013).

Pacamara: Se originó en un cruce controlado, hecho en El Salvador, entre Pacas y Maragogipe, a fin de obtener plantas de porte intermedio y grano grande. Pacamara no es un cultivar estable, y todavía se encuentran plantas segregantes, distintas al tipo original de planta seleccionada, sobretodo en el tamaño de la planta, color de los brotes jóvenes, rendimiento y tamaño del grano (López-Morgado *et al.*, 2013).

Catuaí: Significa muy bueno en guaraní. Se originó de la cruce Mundo Novo x Caturra, y fue liberado en Brasil en 1964. Es de porte bajo muy parecido a Caturra, produce bandolas abundantemente, con ramas secundarias, por lo que su crecimiento lateral es importante. Muestra mayores rendimientos que Caturra y se acopla bien a zonas por debajo de los 1,000 m de altitud (ICO, 2018).

Garnica: Está formada por generaciones avanzadas de la cruce entre Mundo Novo y Caturra, es el primer híbrido de café originado en México, por el ya desaparecido INMECAFÉ en el Campo Experimental Garnica, en Xalapa, Veracruz. Se constituye de 18 selecciones, es de producción alta y vigor excepcional. La planta tiene forma piramidal alargada, intermedia entre Mundo Novo y Caturra. Su tallo presenta entrenudos de tamaño medio; las ramas son largas, con ramificaciones abundantes (Hernández *et al.*, 2011).

Garena: Es una mutación del cultivar Garnica, encontrada en Xicotepec de Juárez, Puebla. Es similar a Garnica, pero con un porte mucho más pequeño. Las plantas no superan 1.2 m de altura. Su tamaño la hace apta para establecerla en superficies pequeñas, sobretodo en huertos familiares, ya que permite su asociación con árboles frutales (ICO, 2018).

Pluma Hidalgo: Es un cultivar de Typica bastante adaptado a las condiciones ambientales de Pluma Hidalgo, Oaxaca México. De acuerdo con López-Morgado *et al.* (2013), diversos autores describen a Mundo Novo y Typica como genotipos de importancia notable en México, el primero por la producción de superficie cultivada que ocupa, y el segundo por sus cualidades organolépticas López-Morgado *et al.*, 2013.

Geisha: es un cultivar originario de Etiopía, identificada dentro del subtipo Typica, y una de los cultivares de porte alto más exclusivas, ya que su grano se cataloga como uno de los más exóticos, y es altamente cotizado por su calidad; se le han encontrado sabores con toques de mandarina, esencia de nueces, mora, mango maduro y canela. Su aroma a jazmín y toda clase de flores, hacen de este cultivar un referente para calidad a la taza en aspectos de catación de café (ICO, 2018).

Maragogipe: otro cultivar de interés dentro de los portes altos es originada de una mutación de Typica en Bahía, Brasil. Normalmente los frutos de Maragogipe son notablemente grandes, por lo que su grano se describe como una forma gigante del grano de café de Typica; sin embargo, es poco productiva (López-Morgado *et al.*, 2013).

Pacas: este cultivar se formó en el Salvador a partir de una mutación de Bourbón; es de entrenudos cortos y ramificaciones más uniforme y compacta que Caturra. Proviene de la cruce Maragogipe x Caturra (López-Morgado *et al.*, 2013).

Villa Sarchí: o Villalobos (mutación de Bourbón), encontrada en Costa Rica, tiene un sistema radical abundante y apariencia compacta, es vigorosa y de rendimiento alto, si bien semejante a Caturra y a Pacas, sus granos son de tamaño menor comparados con los Caturra y proviene de la cruce Maragogipe x Caturra (ICO, 2018).

Las introducciones del Híbrido de Timor tienen origen en el Centro de Investigación de la Roya del Café (CIFC, por sus siglas en portugués) en Oeiras, Portugal, Este centro tiene varios clones provenientes de tres recolecciones en el lugar del híbrido, realizadas en los años de 1955, 1960 y 1969; estos clones están identificados como CIFC-1343, CIFC-833 Y CIFC-2252, respectivamente (Pereira *et al.*, 2008). Así, a través de cruzamientos controlados entre el híbrido de timor y otros cultivares comerciales, se han generado progenies que han dado origen a híbridos. Al cruzar el híbrido de timor con Caturra, Villa Sarchí y Catuaí se originaron los Catimores, Sarchimores y Cavimores, respectivamente (Capucho *et al.*, 2012), los cuales poseen características agronómicas importantes (Silva *et al.*, 2018)

ICATU: una cruce artificial entre *C. arábica* y *C. canephora* cv. Robusta. ICATU se logró a través de la duplicación de los 22 cromosomas del cultivar Robusta, mediante el uso de colchicina, para hacerlo compatible con *C. arábica* cv. Mundo Novo de 44 cromosomas (Eskes *et al.*, 1990).

Oro Azteca: Su principal característica es su resistencia a la roya anaranjada. La primera acción fue la introducción de líneas avanzadas portadoras de genes resistentes a la enfermedad. Posteriormente, durante 14 años se caracterizaron, seleccionaron y realizaron las pruebas de adaptación en Chiapas, Veracruz, Puebla y Oaxaca para obtener el nuevo cultivar (López-Morgado *et al.*, 2013). El cultivar Oro Azteca es el resultado de la cruce Caturra Rojo x Híbrido de Timor; el cultivar caturra le confiere características de porte bajo y rendimiento alto, mientras que el Híbrido de Timor le otorga la resistencia a *H. vastatrix*. Este cruzamiento fue efectuado en el estado de Chiapas en el año 1995 (López-Morgado *et al.*, 2013).

Colombia: Este cultivar surgió en el país de Colombia ante la ausencia de la resistencia a *H. vastatrix*, se planeó la obtención de un cultivar con resistencia a la enfermedad a través de cruzamientos entre plantas que complementan sus atributos agronómicos y la resistencia genética a roya. Los progenitores seleccionados fueron el cultivar Caturra de *C. arábica*, y el Híbrido de Timor (CIFC 1343). La resistencia a la roya está vigente, luego de 20 años en presencia de la enfermedad, gracias a la diversidad genética existente en la misma, y al uso conjunto de las resistencias completa e incompleta, mecanismo análogo al observado en las plantaciones del Híbrido de Timor (CENICAFE, 2015).

Costa Rica : Es resultado de la hibridación artificial entre Caturra rojo (Caturra rojo cafeto CIFC 19/1 x Híbrido de Timor cafeto 832/1), realizada por el CIFC en 1959. Se realizó la selección de los mejores individuos que conformaron las líneas más sobresalientes, para posteriormente evaluarse en diversas regiones cafetaleras de Costa Rica. Los resultados de estas evaluaciones mostraron en promedio, una superioridad en rendimiento de 18.2% respecto a Catuaí, la cual fue considerada en los ensayos regionales como cultivar testigo (CENICAFE, 2015).

IAPAR 59: El cultivar IAPAR-59 muestra rendimientos altos, prevaleciendo en algunas veces a los cultivares comerciales regionales. Tiene buenas características de grano y respuesta ajustada a la poda. Es adaptable en altitudes mayores a 800 m. De porte bajo, vigorosa, brotes color bronceado oscuro. La precocidad es alta, con marcada bianualidad en la producción (ICO, 2018)

El fruto es rojo y la maduración es de temprana a intermedia. Expresa resistencia a la roya del cafeto; No obstante, es susceptible a otras enfermedades y plagas como ojo de gallo, broca del fruto y nematodos (López-Morgado et al., 2013). Cabe mencionar que en Costa Rica se ha generado una polémica en torno a la calidad organoléptica de este cultivar.

De estos híbridos se han liberado gran parte de los cultivares resistentes a la roya en Latinoamérica. De tal manera, que cuando la roya se detectó en Colombia en 1983, este país ya contaba con el cultivar Colombia, resistente a la enfermedad, liberada en 1982 (Hernández et al., 2011). En la **figura 5** se esquematiza el proceso de obtención de cultivares de café resistentes a roya.

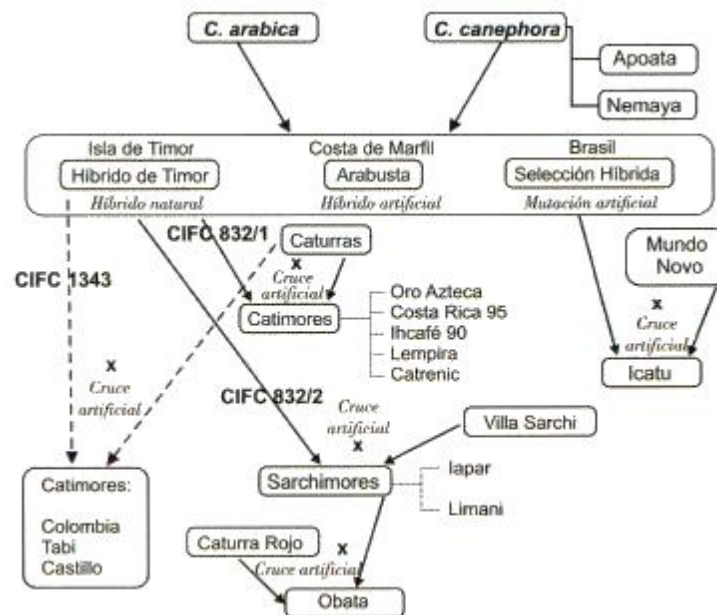


Figura 5. Principales cultivares de café con resistencia a roya (López-Morgado et al., 2013).

1.7 Plagas y enfermedades del café

El cultivo del cafeto es atacado por varios cientos de insectos alrededor del mundo, sin embargo, unos cuantos insectos pueden ocasionar pérdidas que ameriten su control; incluso, solo unos pocos son considerados plagas globales del cultivo (Barrera, 2008).

Las enfermedades más frecuentes en el café son causadas principalmente por hongos. Ocasionan síntomas locales o generales en sus hospedantes y pueden desarrollar síntomas separadamente en cada uno de ellos, En general los hongos causan necrosis en los tejidos de las plantas, así como caída de hojas, lesiones a frutos, muerte de ramas, y pudrición de raíces (Jones & Dangl, 2006).

1.7.1 Roya del café (*Hemileia vastatrix*.)

La roya de la hoja del café es la enfermedad más importante de este cultivo, su primer registro se hizo en África Oriental en 1861, y en 1869 fue descubierta en Sri Lanka donde causó epidemias devastadoras, propagándose rápidamente a plantaciones de India, Java y Filipinas, también con epidemias, en 1970 llegó a Brasil, donde se encontró por primera vez en el estado de Bahía; de allí se propagó a toda Sudamérica y Centroamérica, hasta alcanzar todas las zonas cafetaleras de América Latina (Kilambo *et al.*, 2013).

La roya anaranjada del cafeto se detectó por primera vez en México en el ejido Felipe Carrillo Puerto, entre los límites de los municipios de Tuxtla Chico y Tapachula en el estado de Chiapas, el día 11 de julio de 1981. En la actualidad, la roya es un fitopatógeno presente en todas las regiones del mundo donde se produce café, con

excepción de Hawái (González *et al.*, 2013). El agente causal es el hongo *Hemileia vastatrix*, perteneciente a la clase *Basidiomycetes*, orden *Uredinales* y familia *Pucciniaceae* (Silva *et al.*, 1999).

Este hongo es un parásito obligado, ya que sólo puede crecer en los tejidos vivos de la planta de café (APS, 2019), donde básicamente forma un tipo de esporas llamadas uredosporas (Avelino, 2004), las cuales son esporas unicelulares, asimétricas y angostas (**Figura 6**). La parte más redondeada está densamente con espinas erectas, el otro lado plano o cóncavo y normalmente liso, nacen en grupos sobre un pedicelo; teliosporas unicelulares ovoides redondeadas y con una pequeña prominencia en el ápice con poca o nada de espinas. *Hemileia* significa Hemi = mitad y Leios = lisa (APS, 2019).

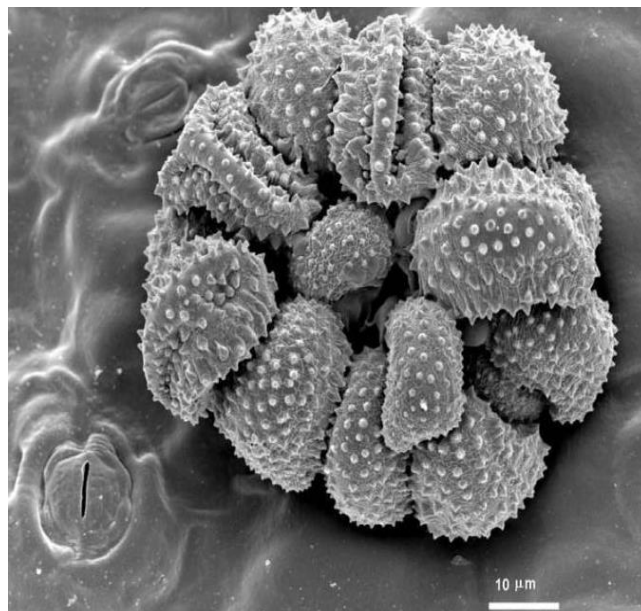


Figura 6. Microscopia electrónica de barrido de uredosporas de *Hemileia vastatrix* (bar= 10 μ m) (Liberato & Silva, 2006).

Las esporas germinan en presencia de agua y luego penetran al tejido foliar por a través de los estomas de las hojas donde se da el proceso de patogénesis (**Figura 7**) (Staples, 2000).

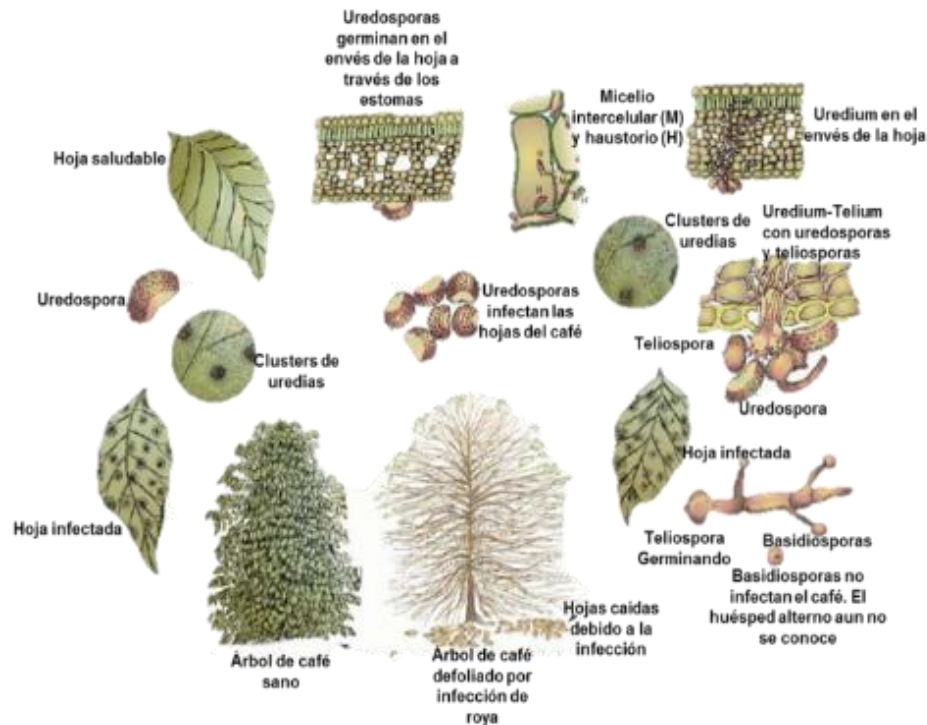


Figura 7. Ciclo de la enfermedad del café causada por *Hemileia Vastatrix* (modificado de Staples *et al.*, 2000).

La cantidad de inóculo residual (hojas con roya) presente en las épocas de mayor formación de follaje y de frutos, determinan la tasa de crecimiento de la epidemia y su severidad (Silva *et al.*, 1999). Los síntomas empiezan con pequeños puntos de manchas redondas, de 1 a 3 mm de diámetro, de color amarillo claro en el envés de la hoja, luego estas manchas o pústulas crecen rápidamente hasta alcanzar unos 2 cm de diámetro (Staples, 2000), cubriéndose de un polvo anaranjado formado por las esporas del hongo (**figura 8**).



Figura 8. Manchas anaranjadas características de la roya del café. Panel izquierdo, esporas del hongo en el envés de la hoja. Panel derecho, acercamiento de las esporas en la hoja de café.

1.7.2 Razas de *H. vastatrix*

Actualmente se han descrito más de 50 razas del hongo, identificándose 16 de estas razas (I, II, III, VII, X, XIII, XV, XVI, XVII, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXXI y XXXVII) en América Latina (Capucho *et al.*, 2012). De todas las razas conocidas solo dos de ellas (VI y XVIII) son inocuas a *C. arabica* y a híbridos tetraploides (Cabral *et al.*, 2009) Asimismo, se ha documentado que existen siete razas del hongo que atacan de menor manera a especies diploides como *C. canephora*, aunque estas razas solo se encuentran en una pequeña región del continente africano (Kilambo *et al.*, 2013).

La raza II es la de mayor espectro de infección y ha sido detectada en más de 33 regiones de todo el mundo a lo largo de África, Asia y América. Su presencia generalizada se debe probablemente a la homogeneidad genética de la mayoría de los cultivos de *C. arabica* prevalentes en el planeta (Cabral *et al.*, 2009).

1.7.3 Genes con resistencia a roya

De acuerdo con Eckardt, (2006) la resistencia contra este hongo es conferida por al menos nueve genes aparentemente independientes llamados SH (desde SH1 a SH9); de igual manera se conoce que existe la misma cantidad de efectores (V1-V9) en el hongo. Hoy en día se conoce que los genes SH3 están presentes en genotipos de *Coffea liberica*, mientras que los genes SH6, SH7, SH8, SH9 (los cuales confieren resistencia completa a la roya) están relacionados con *Coffea canephora* y también con híbridos interespecíficos incluyendo al Híbrido de Timor y sus derivados (Prakash *et al.*, 2004; Eckardt, 2006; Diola *et al.*, 2011).

Asimismo, los genes SH1, SH2, SH4, SH5 confieren resistencia parcial a la plaga y están presentes en genotipos de *Coffea arabica*. Sin embargo, actualmente se conocen más de 45 razas de *Hemileia Vastatrix* que evolucionan constantemente, por lo que *Coffea arabica* ya no presenta resistencia contra este hongo (Diola *et al.*, 2011; Kilambo *et al.*, 2013).

1.8 Manejo integrado del café por medio de propagación asexual

Una alternativa para el manejo de plagas y enfermedades del café es la propagación asexual, la cual consiste en la reproducción de individuos a partir de porciones vegetativas de las plantas. Esto es posible debido a que los órganos vegetativos de las plantas tienen toda la información genética necesaria para regenerar al organismo completo. Las porciones de tallo tienen la capacidad de formar nuevas raíces y las partes de raíz pueden regenerar un nuevo tallo. Se pueden tener plantas nuevas partiendo de una sola célula. Las células (cultivadas en medio aséptico) de la médula de tabaco y de la raíz de zanahoria, han regenerado plantas completas idénticas a aquellas de donde procedió la célula inicial (Macías, 2001).

El injerto se ha usado ampliamente para mejorar la resistencia a plagas y enfermedades. Por ejemplo, el injerto puede aliviar el desarrollo de enfermedades posteriores a la cosecha en el aguacate Hass (Willingham *et al.*, 2001). La antracnosis, causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, es la enfermedad postcosecha más grave del aguacate. Los portainjertos pueden afectar significativamente la postcosecha, así como la resistencia a antracnosis. Investigaciones en pimiento, han demostrado que los injertos pueden conferir resistencia al tizón, enfermedad fúngica causada por diferentes especies del género *Phytophthora* (Jang *et al.*, 2012). Asimismo, un estudio en tomate reveló que los cultivares injertados obtuvieron mayores rendimientos que los no injertados (Lopez-Perez *et al.*, 2006). Resultados similares se han encontrado en berenjenas (Ioannou, 2001), pepinos (Gu *et al.*, 2006) y pimientos (Oka *et al.*, 2004).

El injerto también puede afectar la tolerancia al estrés abiótico. Experimentos en tomate cherry demostraron que los injertos tienen una mayor producción de fruta (Sánchez-Rodríguez *et al.*,2012). Varios estudios han demostrado que el estrés salino en pepino se alivia injertando pepino en portainjertos de Calabaza.

El alivio del estrés salino puede deberse a retrasar la fotoinhibición, causada por cambios en el metabolismo del nitrógeno durante la solubilización de solutos en la célula. (Papadakis *et al.*, 2004).

La capacidad de los portainjertos de ciertos árboles frutales para empequeñecer a sus injertos ha sido reconocida durante décadas. Una serie de portainjertos se han desarrollado en manzanas para conferir enanismo y se han realizado análisis con marcadores genéticos para vincular los rasgos del enanismo (Warschefsky *et al.*, 2015).

En la siguiente sección se abordan los aspectos generales de los injertos, así como de algunas investigaciones en los que son utilizados con diferente finalidad. Como, por ejemplo, la transferencia horizontal de genes. Con el objeto de obtener nuevas variedades de plantas en menor tiempo.

.

1.9 Injertos

El injerto se define como una técnica de propagación asexual que consiste en unir partes de plantas de tal manera que se ligen y continúe su crecimiento como una sola planta (Wang *et al.*, 2011c). Comúnmente consta de la unión de dos segmentos; la parte de la combinación de injerto que va a constituirse en la parte superior de la nueva planta se conoce como injerto o púa y aquella que va a formar la porción baja o la raíz, se le llama patrón o portainjerto (**figura 9**). Es importante mencionar que existen diferentes tipos distintos de injertos de los cuales no todos cumplen estrictamente con los términos de injerto y porta injerto (Flaishman *et al.*, 2008).

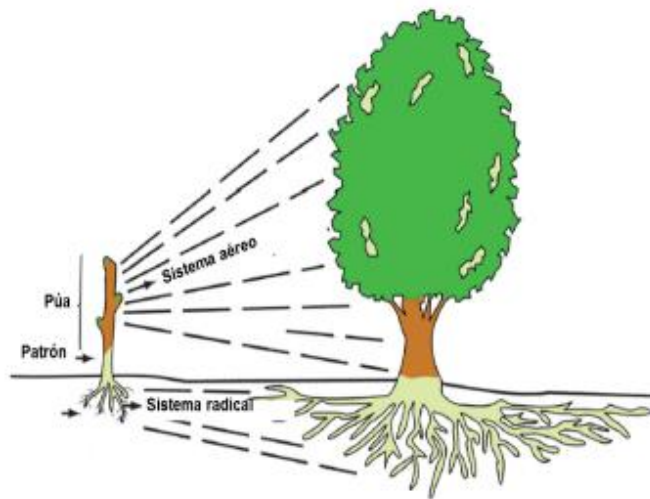


Figura 9. Estructura de un injerto. Constituido por un injerto que posteriormente forma el sistema aéreo y un portainjerto que forma el sistema radical de la planta (modificado de Toogood, 1999).

Esta técnica ha sido usada desde hace años utilizando algunos grupos de plantas, incluyendo la mayoría de las especies que producen frutas, arboles de bosque, ornamentales y hortalizas. El injerto tiene diversos objetivos, algunos de ellos son:

proporcionar robustez a la planta, aceleración del crecimiento, facilidad de propagación, aumentar la productividad o conferir resistencia a estrés biótico y abiótico. De igual manera, hoy en día tiene un papel relevante en diferentes tipos de investigaciones fisiológicas (Corbesier *et al.*, 2007; Buhtz *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011b).

1.9.1 Injerto Natural

Además de referirse al injerto como una técnica de propagación asexual, esporádicamente se observan ramas de árboles que se han unido por injerto de forma natural después de un periodo largo de haber estado oprimidas sin interrupción y sin perturbarlas (**Figura 10**). También existen injertos de raíz que son comunes entre raíces del mismo árbol o entre raíces de árboles de la misma especie (Mudge *et al.*, 2009).



Figura 10. Injerto natural entre la fusión de tallos de dos árboles afuera del departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV-Zacatenco.

1.9.2 Métodos de injerto

De acuerdo con Wang *et al.* (2017a), existen diferentes tipos de injertos que se usan en función del tamaño y especie de las plantas a injertar. Los injertos pueden ser clasificados en dos amplias categorías: injertos de madera e injertos de corteza. En los injertos de madera, la parte más joven de la madera (albura) se abre o se corta y el injerto es colocado en contacto cambial con el portainjerto y el injerto es mantenido por la presión del leño. En los injertos de corteza la madera no se corta, solamente se levanta la corteza, permitiendo que las capas de cambium entren en contacto entre portainjerto e injerto (**figura 11**). Existen diversos reportes en donde se describe a detalle los diferentes tipos de injertos que son más usados en la propagación de plantas (Wang *et al.*, 2017a).

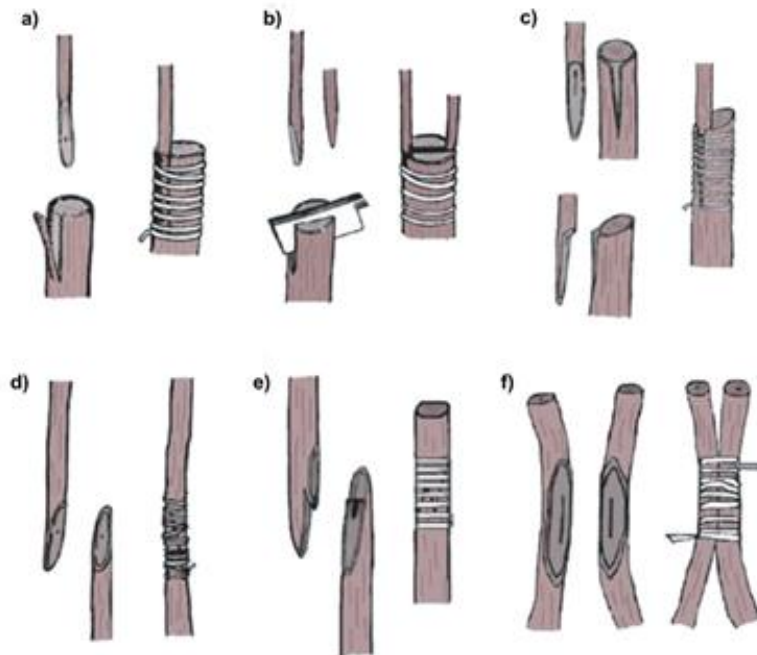


Figura 11. Principales categorías de injertos. Entre los más utilizados se encuentran **a)** injerto de corte; **b)** injerto hendido, **c)** injerto de corona, **d)** injerto de empalme, **e)** injerto de lengua, **f)** injerto de aproximación (modificado de Wang *et al.*, 2017a).

1.9.3 Unión del injerto

Se han llevado a cabo diversos estudios detallados de la cicatrización de injerto, en su mayor parte de las plantas leñosas. Para llevar a cabo el injerto, se necesita el establecimiento de contacto íntimo de una porción considerable de las regiones cambiales del portainjerto y del injerto bajo condiciones ambientales favorables (Yin *et al.*, 2012; Garner, 2013).

El nuevo tejido de callo que se origina en la región cambial está formado por células turgentes, de pared delgada, que se pueden desecar y morir con facilidad. Para la producción de esas células de parénquima es importante que cerca de la región cambial de la unión la humedad se mantenga elevada (Melnik & Meyerowitz 2017). Esto explica la necesidad de encerar minuciosamente la unión del injerto o de usar algún otro método para mantener un alto nivel de hidratación del tejido (Goldschmidt, 2015)

También es importante que la región de unión del injerto se mantenga lo más posible libre de organismos patógenos, así como las células del parénquima de pared delgada con la temperatura y la humedad relativamente elevada, proporcionan condiciones favorables para el desarrollo de hongos y bacterias que son en extremo perjudiciales a la cicatrización exitosa de la unión de injerto. El pronto encerado del injerto impide la infección de los cortes (Toogood, 1999; Yin *et al.*, 2012).

Es esencial que los dos componentes originales del injerto se mantengan en contacto estrecho por algún medio, como envoltura, atadura o clavado, de tal modo que las

partes no se muevan y se perturbe a las células de parénquima que se están entrelazando cuando ha comenzado la proliferación (Goldschmidt, 2014).

En ocasiones se indica que para el éxito del injerto es necesario hacer coincidir las capas de cambium, aunque es poco probable que se logre una coincidencia perfecta de las dos capas de cambium. De hecho, solo se necesita que las regiones cambiales queden lo bastante cercanas para que puedan entrelazarse las células de parénquima producidas en esa región tanto por el portainjerto como por el injerto. Es en esta región del cambium donde la producción de callo alcanza su mayor nivel. Si dos capas cambiales no coinciden bien puede retardarse la unión, o si la coincidencia es nula, la unión no llega a formarse (Turnbull *et al.*, 2010)

1.9.4 Producción y entrelazamiento celular entre injerto y portainjerto

Durante la operación de injerto, las células cortadas y dañadas por la navaja de injertar se vuelven de color pardo y mueren, formando una placa necrótica. Se puede desarrollar peridermo de lesiones y las capas que están en contacto se vuelven muy suberizadas. Yin *et al.*, 2012; Melnyk & Meyerowitz 2015a). Debajo de estas células muertas, en un periodo de uno a siete días (dependiendo la especie de planta), se forman células nuevas de parénquima tanto en el portainjerto como en el injerto, en los radios del floema como en las partes inmaduras del xilema. Las capas cambiales mismas parece que toman poca o ninguna parte del primer desarrollo del callo (Melnyk, 2017). Al injertar sobre patrones establecidos, el portainjerto produce la mayor parte del callo. Las células de parénquima que forman la mayor parte del tejido esponjoso de callo llenan el espacio entre los dos componentes originales del injerto,

entrelazándose íntimamente y proporcionando cierto sostén mecánico, así como permitiendo el paso de una determinada cantidad de nutrientes del portainjerto al injerto (**figura 12**) (Garner, 2013).

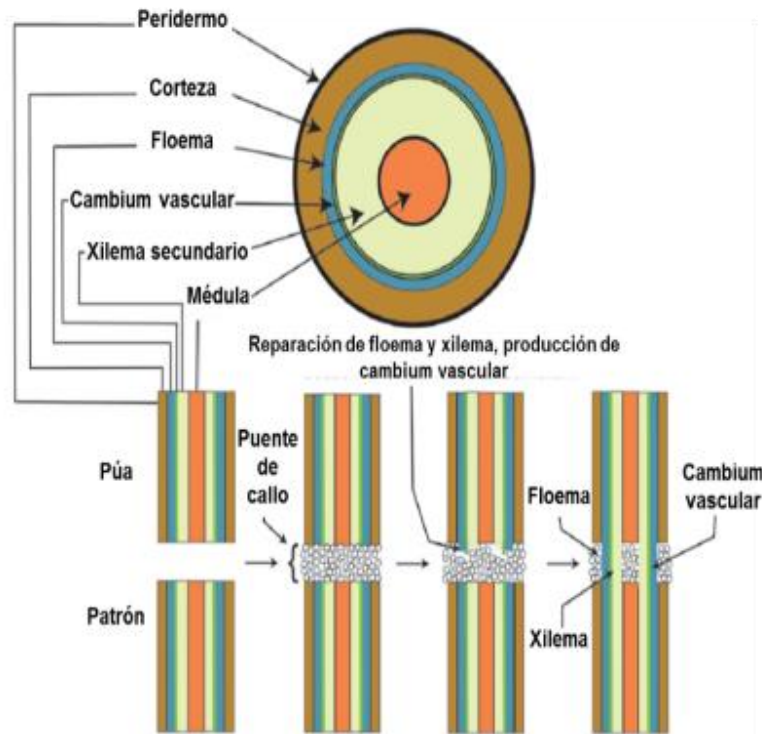


Figura 12. Esquema longitudinal de la unión del injerto (Hartmann *et al.*, 2010).

1.9.5 Producción de un nuevo cambium a través del puente de callo

Después de algunas semanas de haberse realizado el injerto, en los bordes de la masa de callo recién formada, las células de parénquima que están en contacto se diferencian a nuevas células cambiales (Melnyk & Meyerowitz 2015b). Esta formación de cambium en la masa de callo sigue más y más hacia adentro, alejándose del cambium original del portainjerto y del injerto. Posteriormente, se desarrolla a través del puente de callo hasta que se forma una conexión cambial continua entre portainjerto e injerto (Melnyk, 2017) (**Figura 13**).

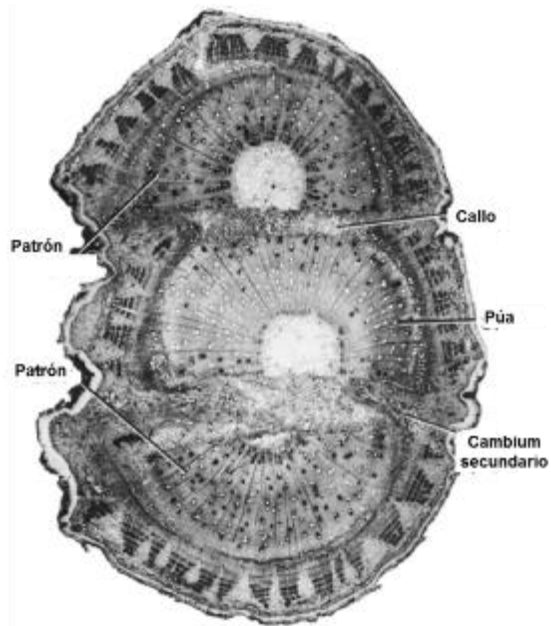


Figura 13. Sección transversal de un injerto de tipo hendidura (Hartmann *et al.*, 2010).

1.9.6 Formación de nuevo floema y xilema a partir del cambium vascular producido en el puente de callo

En el puente de callo, la envoltura de cambium recién formada comienza a tener actividad cambial característica, depositando nuevo xilema y nuevo floema al igual que el cambium vascular original del portainjerto y del injerto (Hartmann *et al.*, 2010; Yin *et al.*, 2012). En la formación de nuevos tejidos vasculares que se efectúa después de establecerse la continuidad cambial, se observa que el tipo de células formadas por el cambium puede estar influido por las células del portainjerto que están adyacentes al cambium (Melnik & Meyerowitz 2015a).

Actualmente existen diferentes herramientas que permiten estudiar la formación del sistema vascular en injertos. Algunas de ellas se basan en tinciones con azul de toluidina, utilización de genes reporteros unidos a genes implicados en la respuesta de

auxinas o citocininas, así como hibridaciones *in situ* que permiten ver las divisiones celulares cerca de la zona del injerto (Melnyk *et al.*, 2015b) (**figura 14**).

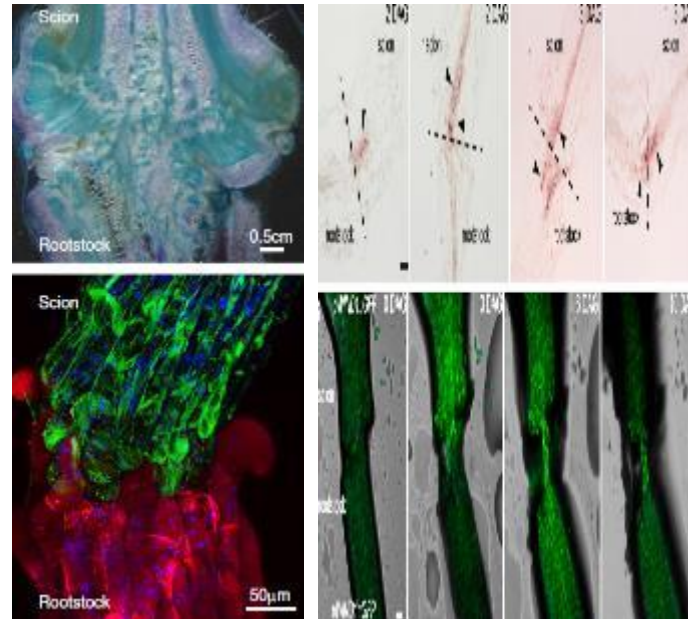


Figura 14. Herramientas empleadas en la biología de formación del injerto. Tinción con azul de toluidina, hibridación *in situ* y utilización de genes reporteros (GFP) (Melnyk *et al.*, 2015b).

Cabe mencionar que el nuevo tejido de xilema se origina principalmente de los tejidos del injerto en comparación de los del portainjerto. Esto se demuestra por medio del injerto tipo anillo (en el cual de un árbol joven se remueve un anillo de corteza y se reemplaza con un anillo de corteza de otro árbol (Goldschmidt, 2014). Hartmann *et al.*, (2010) han encontrado que en manzano (variedad Scugog que tiene xilema púrpura) el xilema fue por completo púrpura justo debajo del anillo de corteza, en tanto que en el resto del árbol, el xilema permaneció blanco.

Esta producción de nuevo xilema y floema, permite establecer la conexión vascular ente el injerto y el portainjerto. En condiciones de transpiración elevada, esto se debe realizar antes de que haya demasiado crecimiento de hojas nuevas en las yemas del injerto. De otra manera, las superficies foliares crecientes de las ramas del injerto tendrán poca o ninguna provisión de agua para compensar las pérdidas por transpiración y el injerto pronto se seca y muere (Yin *et al.*, 2012).

Sin embargo, en ciertas condiciones en que no llega a formarse la conexión vascular, puede haber a través de las células de parénquima del callo, suficiente translocación que permite la supervivencia. En injertos hechos en orquídea, la púa sobrevivió y crecieron durante dos años solo con la unión de parénquima (Toogood, 1999). En el tabaco y algodón se presenta una secuencia de desarrollo algo diferente, en los elementos traqueales del xilema de los tubos cribosos del floema, o ambos se forman directamente por diferenciación del callo en estos elementos vasculares. Subsecuentemente se desarrolla una capa de cambium entre los dos elementos vasculares. Al parecer las células de parénquima que forman el callo, pueden diferenciarse con relativa facilidad en elementos de tipo traquedial (Hartmann *et al.*, 2010).

La inducción de tejidos vasculares en el callo, como el que se forma en la cicatrización de unión de injerto, está bajo el control de materiales que se originan en los puntos de crecimiento de las ramas, además, el estímulo de esos ápices de las ramas en la formación de xilema puede reemplazarse por concentraciones apropiadas de hormonas como auxinas, citocininas giberelinas y azúcares (Garner, 2013; Golan *et al.*, 2013; Spiegelman *et al.*, 2015).

1.9.7 Cicatrización del injerto

La cicatrización de la unión del injerto puede considerarse como la cicatrización de una herida. Una herida como la que puede presentarse si se parte longitudinalmente la punta de una rama, se cicatriza con rapidez si las partes cortadas se unen y se atan estrechamente. La proliferación de células en la región cambial de ambas partes produce nuevas células de parénquima, formando tejido de callo (Melnyk & Meyerowitz 2015a)

Si entre las dos partes de la rama partida se interpone una tercera sección que se ha cortado en forma tal que un gran número de células de su región del cambium pueden colocarse en contacto íntimo con las células cambiales de las dos porciones partidas, la proliferación de células de todas esas áreas cambiales pronto conduce a una completa cicatrización, y la porción extraña separada queda soldada por completo a las dos porciones que originalmente se separaron formando una unidad. En lo esencial, la unión del injerto es una herida cicatrizada en la que se ha quedado incorporada una porción adicional de tejido extraño (Garner, 2013).

Sin embargo, como se ha comentado anteriormente esa porción de tejido extraño, el injerto, no reasumirá con éxito su crecimiento a menos que se haya establecido una conexión vascular que le permita obtener agua y nutrientes. Además, el injerto debe tener una región meristemática terminal, una yema, para que pueda reanudarse el crecimiento de la rama y que finalmente produzca fotosintato que abastezca al sistema radical (Toogood, 1999).

1.9.8 Incompatibilidad en injerto

Uno de los síntomas de incompatibilidad en injertos entre plantas de parentesco lejano, es la falta completa o un porcentaje muy bajo de uniones exitosas. Sin embargo, los injertos entre algunas plantas que se saben son incompatibles, inicialmente forman una unión satisfactoria, aunque a la postre desarrollan síntomas de incompatibilidad, debido ya sea a una falla de la unión o al desarrollo de patrones anormales de crecimiento (Goldschmidt, 2014).

Aunque la incompatibilidad está relacionada de manera clara con diferencias genéticas entre el injerto y portainjerto, los mecanismos por los que se manifiesta en casos particulares no se han aclarado. Se han propuesto diversas teorías en un intento de explicar la incompatibilidad, pero las pruebas que las apoyan en general son inadecuadas y a veces contradictorias (cambios epigenéticos) (Wu *et al.*, 2013).

Uno de los mecanismos posibles es que existen diferencias en las características de crecimiento del injerto y portainjerto, esto es, si se presentan diferencias marcadas en vigor o en la época de iniciación o terminación del ciclo vegetativo de la estación, se puede esperar que se presente incompatibilidad. Sin embargo, se han encontrado combinaciones completamente compatibles en las cuales las diferencias de crecimiento entre injerto y portainjerto son tan grandes como las que se encuentran en combinaciones incompatibles (Wu *et al.*, 2013).

1.9.9 Tipos de incompatibilidad en injertos

De acuerdo con Toogood (1999), la incompatibilidad de injertos se clasifica principalmente en dos tipos: (1) incompatibilidad translocada e (2) incompatibilidad localizada. La mayoría de los casos pueden situarse en uno u otro grupo. Incompatibilidad translocada: Incluye aquellos casos en que la condición incompatible no es superada por la inserción de un injerto intermedio que sea compatible con ambos, debido aparentemente a que alguna influencia lábil puede moverse a través de él.

Este tipo de incompatibilidad implica degradación del floema y puede reconocerse por el desarrollo de una línea o zona necrótica en la corteza. En consecuencia, se presenta restricción del movimiento de carbohidratos en la unión del injerto, acumulación arriba y reducción abajo. Las combinaciones recíprocas pueden ser compatibles. En las diversas modalidades de esta categoría, la gama de descomposición del tejido cortical puede extenderse desde la falta virtual de unión o la unión mecánicamente débil con tejidos deformados (Toogood, 1999).

Incompatibilidad localizada: Aquí se incluyen combinaciones en las cuales las reacciones de incompatibilidad aparentemente dependen del contacto mismo entre portainjerto e injerto. La separación de los componentes mediante la inserción de un portainjerto intermedio mutuamente compatible supera las manifestaciones de incompatibilidad. (Toogood, 1999). En la combinación incompatible la estructura de la unión en general tiene debilidad mecánica, estando rota la continuidad del cambium y de los tejidos vasculares, aunque hay casos en que la unión es fuerte y los tejidos se

unen de modo normal. En ocasiones los síntomas externos se desarrollan con lentitud, apareciendo en proporción al grado de perturbación anatómica que haya en la unión del injerto. Al final se presenta el agotamiento de las raíces, debido a las dificultades de translocación a través de la unión del injerto defectuosa (Toogod, 1999).

1.9.10 Límites del injerto

Uno de los requisitos para que tenga éxito una unión de injerto es la fusión de los tejidos productores de callo que se encuentran cerca de las capas cambiales, en general los injertos están limitados a las dicotiledóneas en las angiospermas y a las gimnospermas, las plantas coníferas. Ambos grupos tienen una capa de cambium vascular que se presenta como un tejido continuo entre el xilema y floema. En las plantas monocotiledóneas de las angiospermas, que no tienen cambium vascular, el injerto es mucho más difícil y el porcentaje de prendimiento mucho más bajo que en las dicotiledóneas. (Goldschmidt, 2014).

Hay casos de uniones exitosas entre partes de tallos de monocotiledóneas haciendo uso de las propiedades meristemáticas que tienen los tejidos intercalares (situados en las bases de los entrenudos), en donde se han logrado injertos exitosos en varias especies de gramíneas, así como en la orquídea *vanilla*, una monocotiledónea tropical de gran tamaño (Garner, 2013).

1.9.11 Injerto entre especies de un género

En plantas de diferentes especies, pero del mismo género, la situación no es clara. En algunos casos el injerto puede hacerse con éxito y en otros no. Por ejemplo, el injerto

entre la mayoría de las especies de *Citrus* tiene éxito y se practica con amplitud en escala comercial. Las variedades de almendro (*Prunus amygdalus*), del albaricoquero (*Prunus armeniaca*), del ciruelo europeo (*Prunus domestica*) y del ciruelo japonés (*Prunus salicina*) son injertadas comercialmente usando la especie de durazno (*Prunus persica*) (Bryant, 2006).

Por otra parte, el almendro y el albaricoquero, ambos del mismo género, no se pueden injertar con éxito entre sí. La compatibilidad entre especies puede depender de la clona específica o de la planta procedente de la semilla a utilizar. En otro ejemplo, en algunos cultivares de almendro (que son clonas) se tiene mucho éxito cuando se les injerta sobre el ciruelo como clon, pero no sucede lo mismo cuando se emplean otros cultivares (Hartmann *et al.*, 2010).

En algunos casos un injerto interespecífico tiene éxito, pero no la combinación recíproca. Por ejemplo, aunque muchas variedades del ciruelo japonés pueden injertarse con éxito sobre el ciruelo europeo, los injertos de ciruelo europeo sobre ciruelo japonés no han sido satisfactorios (Hartmann *et al.*, 2010).

1.9.12 Injertos entre Géneros de una familia

Cuando las plantas que se desea injertar son de diferente género, pero de la misma familia, las probabilidades de que la unión tenga éxito son remotas. Se pueden encontrar casos en que esos injertos han tenido mucho éxito y se usan comercialmente, pero en general tienden a fallar (Bryant, 2006).

El naranjo trifoliado (*Poncirus trifoliata*) se usa en forma comercial como portainjerto achaparrante para diversas especies del género *Citrus*. El membrillero (*Cydonia oblonga*) desde hace tiempo se ha usado como portainjerto achaparrante para ciertas variedades de peral (*Pyrus cmmunis*). La combinación opuesta no tiene éxito (Bryant, 2006).

1.9.13 Interacciones moleculares en el injerto

El desarrollo de la unión del injerto es un proceso intrincado en el que hay cambios fisiológicos tales como la regeneración de órganos e incluso se ha reportado intercambio de material genético entre diferentes células (Stegemann & Bock, 2009).

Si bien los mecanismos moleculares de estos procesos no han sido totalmente elucidados, indudablemente el uso de injertos en diferentes especies de plantas ha disminuido considerablemente el progreso de la investigación en esta área. La reciente introducción de la planta modelo *Arabidopsis thaliana* en el estudio de injertos ha abierto camino a investigaciones crecidamente avanzadas y específicas en señalización a larga distancia (Bainbridge *et al.*, 2005).

Por ejemplo, el descubrimiento de la proteína FT que induce la floración en plantas (Corbesier *et al.*, 2007), el fenómeno de elongación de tallo (Turnbull *et al.*, 2002), resistencia a enfermedades (Xia *et al.*, 2004; Thatcher *et al.*, 2009) o silenciamiento génico post transcripcional por medio de señales transmisibles de raíz a tallo y de tallo a raíz (Brosnan *et al.*, 2007; Molnar *et al.*, 2010)

El transporte a larga distancia de proteínas y ARN en floema, así como su posible papel en la señalización entre órganos se ha convertido de igual manera en una importante área de investigación en los últimos años (Golecki *et al.*, 1998; Lough & Lucas, 2006; Omid *et al.*, 2007; Kalantidis *et al.*, 2008; Harada, 2010; Kehr & Buhtz, 2013; Spiegelman *et al.*, 2013).

De igual manera, el soporte directo del concepto de que las moléculas de ARN circulan por toda la planta a través del floema, fue proporcionado a través de la caracterización del ARNm de savia de floema de calabaza (*Cucurbita maxima*). El transporte del ARNm de CmNACP en el floema se demostró directamente por estudios de heteroinjertos entre plantas de calabaza y pepino. CmNACP, es miembro de la familia de genes NAC y se ha demostrado que los genes de esta familia están involucrados en el desarrollo del meristemo apical (Ruiz-Medrano *et al.*, 1999).

También se ha reportado que algunas proteínas (como chaperonas) que son capaces de unirse a ARNm como chaperonas durante el transporte desde la zona de producción en el parénquima clorofílico hasta los órganos de consumo (raíces, frutos, meristemas etc.). Estas proteínas de unión a ARN pueden facilitar el transporte y proteger el ARNm de la degradación. CmPP16, la primera chaperona reportada, fue detectada en el floema de *Cucurbita máxima* usando injertos, se demostró que CmPP16 es transportada junto al ARNm del injerto al (Xoconostle-Cázares *et al.*, 1999).

Aunado a esto, Toscano-Morales *et al.* (2014) demostraron el movimiento a larga distancia en tabaco de un ARN mensajero (mARN) y de la proteína AtTCTP2, utilizando heteroinjertos de tabaco (transgénico/WT y WT/transgénico). Los resultados indicaron que tanto el ARNm de *AtTCTP2* como la proteína son capaces de moverse a larga distancia en ambas direcciones (injerto-portainjerto y portainjerto-injerto), aunque con muy diferente eficiencia (**figura 15**).

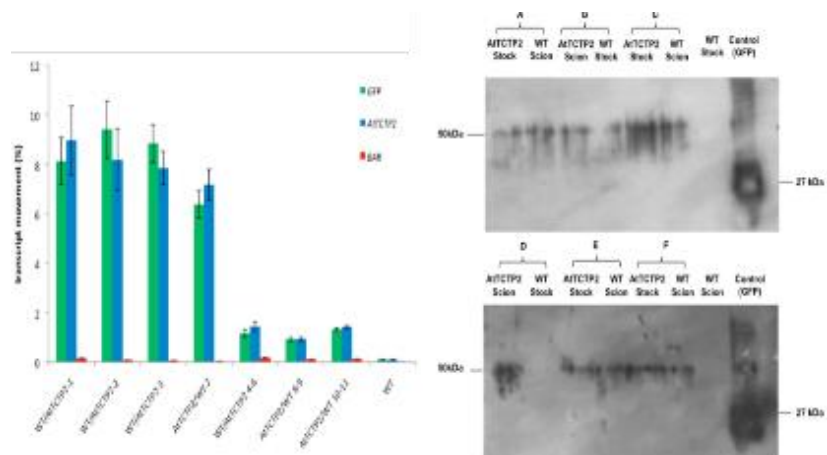


Figura 15. Movimiento a larga distancia del mARN y la proteína del gen *AtTCTP2*. **a)** Cuantificación del movimiento a larga distancia del AtTCTP2-GFP mARN. **b)** la proteína AtTCTP2-GFP se mueve a larga distancia en injertos de tabaco (Toscano-Morales *et al.*, 2014).

Todas estas investigaciones sugieren que el injerto puede tener una significancia evolutiva. De manera general, en la **figura 16** se muestra un esquema del transporte de las señales moleculares que pueden existir en un injerto. La transferencia de genes en injertos es mencionada en los siguientes párrafos.

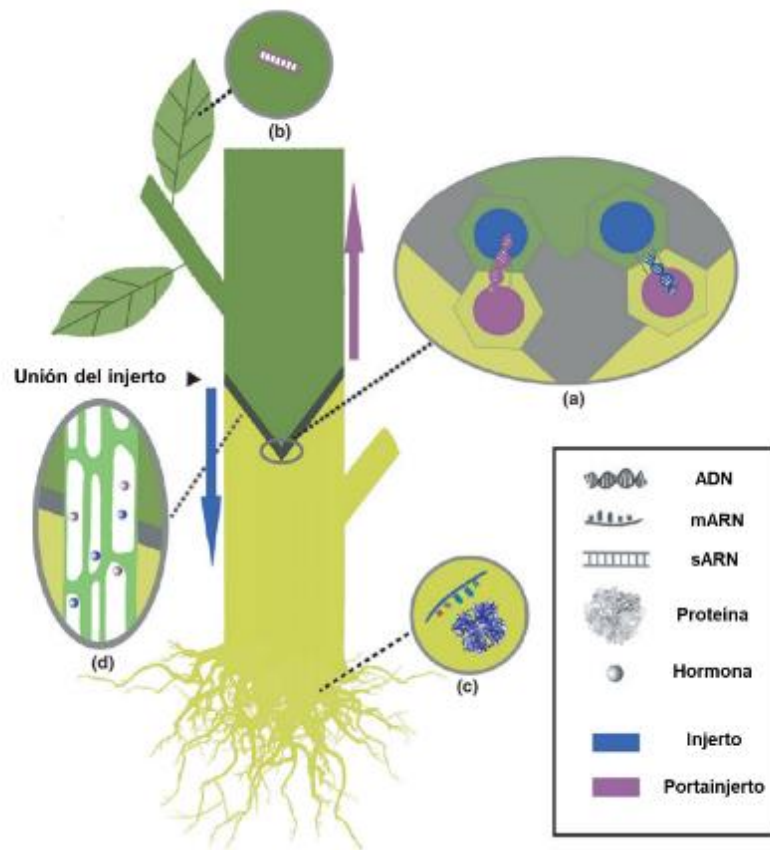


Figura 16. Esquema de señales moleculares transportadas entre injerto y portainjerto. **a)** Transferencia horizontal de DNA en la zona del injerto vía plasmodesmos. **b)** Movimiento de pequeños ARNs (sARN) a través de la unión del injerto a tejidos distantes y su función como señales de silenciamiento. **c)** movimiento a larga distancia de ARN mensajeros (mARN). **d)** Señales hormonales juegan un papel importante en la interacción de injerto y portainjerto, los colores representan moléculas de diferentes tejidos. Azul representa moléculas del injerto, y morado representa moléculas del portainjerto (Modificado de Wang *et al.*, 2017a).

1.9.14 Significancia evolutiva de los injertos

El estudio del injerto como un potencial mecanismo evolutivo debe tomar en cuenta la antigua creencia de que el injerto puede dar lugar a nuevas especies de plantas. Algunas de las nuevas especies conocidas son atribuidas a quimeras de injertos, las cuales no son verdaderos híbridos (Hartmann *et al.*, 2010). Se pueden desarrollar brotes adventicios a partir de la unión del injerto; el desarrollo de estos brotes se produce con frecuencia y un porcentaje considerable de ellos son quimeras estables (Garner, 2013).

1.9.15 Transferencia horizontal de genes en injertos

Los cambios fenotípicos inducidos en el injerto sugieren que los procesos regulatorios subyacentes a la comunicación entre el injerto y portainjerto también envuelven la transferencia de material genético (Taller *et al.*, 1998; Tsaballa *et al.*, 2013). De hecho, la transferencia de material genético en el injerto coincide con la hipótesis del “injerto híbrido de Lysenko”, que sugiere que la hibridación del injerto tiene propiedades similares a las de la hibridación sexual.

Este concepto, que parece ser inconsistente con la genética mendeliana fue inicialmente rechazado por científicos occidentales, pero la investigación en las últimas décadas ha proporcionado evidencia de la existencia de hibridación genética en el injerto. Pandey (1976) propuso que debido a la ruptura de células en la formación del injerto; fragmentos de cromatina pueden migrar a células vecinas a través de plasmodesmos. Más tarde, Ohta (1991) proporcionó evidencia de que la cromatina

puede moverse a través de los haces vasculares del material lignificante, a través de la unión del injerto, y hacia el punto de crecimiento del portainjerto.

Para demostrar el intercambio de material genético entre células en plantas injertadas, Stegemann & Bock, (2009) crearon dos líneas transgénicas de tabaco que albergan diferentes genes marcadores y reporteros en su genoma nuclear y de cloroplasto, respectivamente. Estas dos líneas fueron injertadas recíprocamente y las regiones del tallo injertadas fueron expuestas a selección de resistencia (**figura 17**).

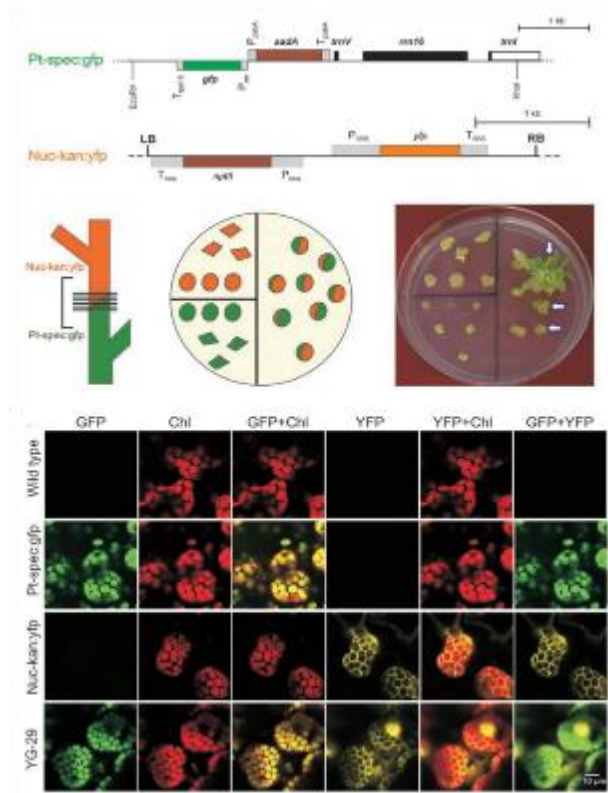


Figura 17. Intercambio de material genético entre células de la zona del injerto (Stegemann & Bock 2009).

En experimentos posteriores de la expresión del reportero, se descubrió que los genes de los plastidos se mueven a distancias cortas a través de la unión del injerto, lo que indica que existe transferencia de ADN en la zona del injerto debido a la transferencia horizontal de genes (THG).

La transferencia horizontal de genes es definida como el movimiento de material genético entre células que no están relacionadas entre sí por un vínculo de descendencia directa. La THG tuvo una parte importante en la evolución del genoma eucariota (Bock, 2010; Stegemann *et al.*, 2012). Para investigar si grandes fragmentos de ADN u orgánulos enteros están involucrados en la transferencia de genes, Stegemann *et al.* (2012) generaron otras tres líneas de tabaco que se injertaron reciprocamente (una línea transplastómica *N. tabacum*, y dos líneas transgénicas: *N. glauca* y *N. benthamiana*). Después, secuenciaron dos regiones polimórficas distantes de las regiones transgénicas en los plástidos y descubrieron que no hubo recombinación del genoma entre injerto y portainjerto. Este hallazgo indicó que todo el genoma de los plástidos viaja a través de la unión del injerto (Stegemann *et al.*, 2012).

De igual manera, Fuentes *et al.* (2014) demostraron la transferencia completa del genoma nuclear en dos especies sexualmente incompatibles de *Nicotiana*. Estos autores realizaron injertos con, *N. tabacum* y *N. glauca*, obteniendo una nueva especie por medio de cultivo de tejidos, la cual llamaron tentativamente con el nombre de *Nicotiana tabauca*.

El análisis de cariotipo reveló el estatus poliploide de esta nueva especie, ya que posee 72 cromosomas, es decir la suma del conjunto de cromosomas de sus progenitores. Así mismo, el fenotipo vegetativo de *N. tabauca* mostró mayor altura en comparación a sus progenitores y mayor pigmentación en las hojas en comparación a *N. glauca*. De igual manera, se corroboró el estatus poliploide por medio de citometría de flujo, indicando que el tamaño del genoma de *N. tabauca* es igual a la suma del tamaño de los genomas de sus progenitores (**figura 18**).

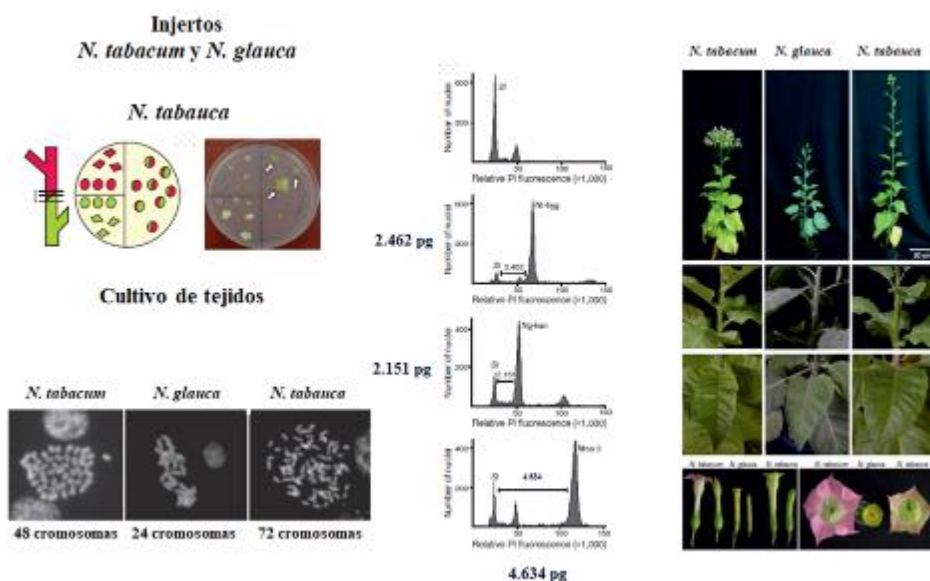


Figura 18. Transferencia Horizontal de genes en dos especies incompatibles de *Nicotiana*, las plantas regeneradas de la zona del injerto contienen mayor número de cromosomas, así como un fenotipo diferente al de los parentales con los que se hizo el injerto (modificado de Fuentes *et al.*, 2014).

Los recientes hallazgos sugieren que los injertos pueden tener un papel activo en la evolución y especiación de plantas. Sin embargo, se necesitan más estudios con otras especies. Es difícil en la actualidad estimar la contribución real de este camino asexual en la evolución de las plantas.

Aunque aparentemente depende de una secuencia de eventos, esta vía asexual podría haber sido utilizada por las plantas como un mecanismo de supervivencia en condiciones extremas de presión selectiva (Hare, 2014). Es importante mencionar que estos estudios muestran una alternativa viable y novedosa para producir nuevas especies de *Coffea* poliploides con resistencia a diferentes plagas y enfermedades

La poliploidización se considera regularmente como una herramienta importante para la generación de germoplasma y el mejoramiento en diferentes especies de plantas. La inducción de la poliploidía se ha aplicado con éxito en vegetales, plantas ornamentales y medicinales, con el propósito de obtener plantas con nuevas características agronómicas. Este procedimiento ha proporcionado plantas sin semillas, frutos y flores significativamente más grandes, flores de mayor duración, así como mayor resistencia a las plagas y tolerancia al estrés físico (Predieri, 2001) aunque estos efectos pueden variar según la especie, el grado de heterocigosidad y el nivel de ploidía (Soltis *et al.*, 1999).

1.10 Poliploidía en plantas

La poliploidía es un fenómeno intrigante en las plantas que ha proporcionado un importante camino para la evolución y la especiación. Aunque se descubrió el primer poliploide hace más de un siglo, las implicaciones genéticas y evolutivas de la poliploidía siguen conociéndose. (Ramsey & Schemske, 2002). En un nivel más práctico, hay muchas oportunidades para utilizar la poliploidía como una herramienta valiosa en los programas de fitomejoramiento.

Un poliploide es un organismo que contiene más de dos conjuntos completos de cromosomas (Chen, 2010), en las plantas, la poliploidía ocurre naturalmente y es muy común. El término "ploidía" o "nivel de ploidía" se refiere al número de juegos completos de cromosomas y está anotado por una "x" (Chen, 2010). Un individuo con dos conjuntos de cromosomas se conoce como diploide (2x), tres conjuntos serían un triploide (3x), y así sucesivamente con tetraploide (4x), pentaploide (5x), hexaploide (6x), etc. Es importante identificar la diferencia al referirse al número reducido de cromosomas que se encontraría en una célula después de la meiosis (denotado como "n") (Mable, 2004). Así, por ejemplo, *C. arabica* se presentaría como $2n = 4x = 44$.

La poliploidía puede surgir naturalmente de diferentes maneras. En algunos casos, puede ocurrir una mutación somática debido a una interrupción en la mitosis, resultando en una duplicación de los cromosomas en una célula o células meristemáticas, dando lugar a un brote poliploide (Washburn & Birchler 2014).

Los poliploides también pueden resultar de la unión de gametos no reducidos: que no se han sometido a meiosis normal y todavía tienen una constitución $2n$ (Tayalé & Parisod 2013). La clasificación general de los poliploides es mostrada en la **figura 19**.

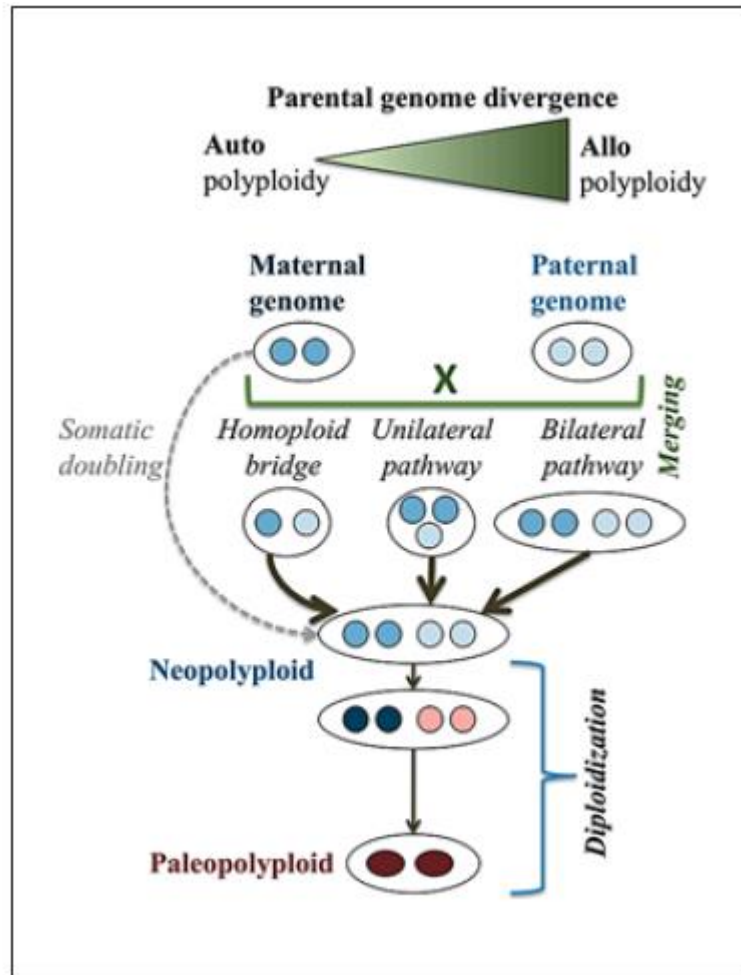


Figura 19. Vías naturales para la formación de poliploides (Tayalé & Parisod, 2013).

Si un tetraploide surge de la duplicación espontánea en un brote o de la unión de gametos no reducidos de dos individuos diploides estrechamente relacionados (por ejemplo, la misma especie), tendrá cuatro versiones similares (homólogas) de cada cromosoma. A pesar de los diferentes orígenes, ambos poliploides se comportan de manera similar en la reproducción y a menudo se los conoce como autotetraploides (o

tetraploides polisómicos) (Ramsey & Schemske, 2002). Los autopoliploides pueden o no ser fértiles, la infertilidad puede surgir en los autopoliploides debido al hecho de que hay más de dos cromosomas homólogos (Chen, 2010). La presencia de múltiples cromosomas homólogos a menudo da como resultado un emparejamiento ilegítimo entre múltiples cromosomas, cromosomas no apareados y gametos con números de cromosomas desequilibrados (aneuploides) (Moore, 2002).

Los aloploiploides se obtienen después de la hibridación entre especies divergentes y la poliploidización posterior, por lo tanto, combina dos genomas distintos (Lashermes *et al.*, 2014). Al igual que los organismos autopoliploides, los aloploiploides pueden ser inducidos por dos mecanismos: poliploidización mitótica, que se basa en la duplicación de tejidos somáticos, y poliploidización meiótica, que genera $2n$ gametos (Chen, 2010; Lashermes *et al.*, 2014).

Dado que los gametos $2n$ pueden usarse inmediatamente en experimentos de cruce, la poliploidización meiótica puede reducir el proceso de reproducción en una generación, además, los gametos $2n$ mejoran la variación genética en la progenie (Moore, 2002). Muchas flores y frutas propagadas vegetativamente, así como diferentes cultivos agrícolas son aloploiploides (Tayalé & Parisod, 2013). Dado que la poliploidía natural no existe en todos los géneros y debido a los interesantes efectos obtenidos por la poliploidización, los poliploides de varios cultivos económicamente importantes han sido inducidos artificialmente en las últimas décadas (Mable, 2004; Osborn *et al.*, 2003).

1.10.1 Cambios en el genoma después de la poliploidización

Se ha reportado que en diferentes poliploides del género *Brassica*, *Nicotiana*, *Tragopogon* o *Triticum*, existen eventos de reestructuración del genoma como la pérdida de secuencias en el ADN, la amplificación o reducción de secuencias repetitivas, así como la redistribución cromosómica que implica delección, inserción, inversión y translocación de segmentos de cromosomas (Oskan *et al.*, 2001; Leitch *et al.*, 2008; Lysak *et al.*, 2008; Braszewska-Zalewska *et al.*, 2009; Tayalé & Parisod, 2013) Asimismo, existen ejemplos de cambios estructurales limitados en géneros como *Gossypium* o *Spartina* (Salmon *et al.*, 2005; Konan *et al.*, 2007).

La pérdida de secuencias de ADN es común después de la poliploidización y la reducción de tamaño del genoma parece ser una respuesta general tanto para auto y alopoliploides (Eilam *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2011). Sin embargo, algunos estudios han informado que no hubo pérdida de secuencias ADN (Ozkan *et al.*, 2006; Mestiri *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2010) o expansión del genoma (Leitch *et al.*, 2008). En la **figura 20** se muestra un esquema general de los principales cambios en el genoma durante la poliploidización.

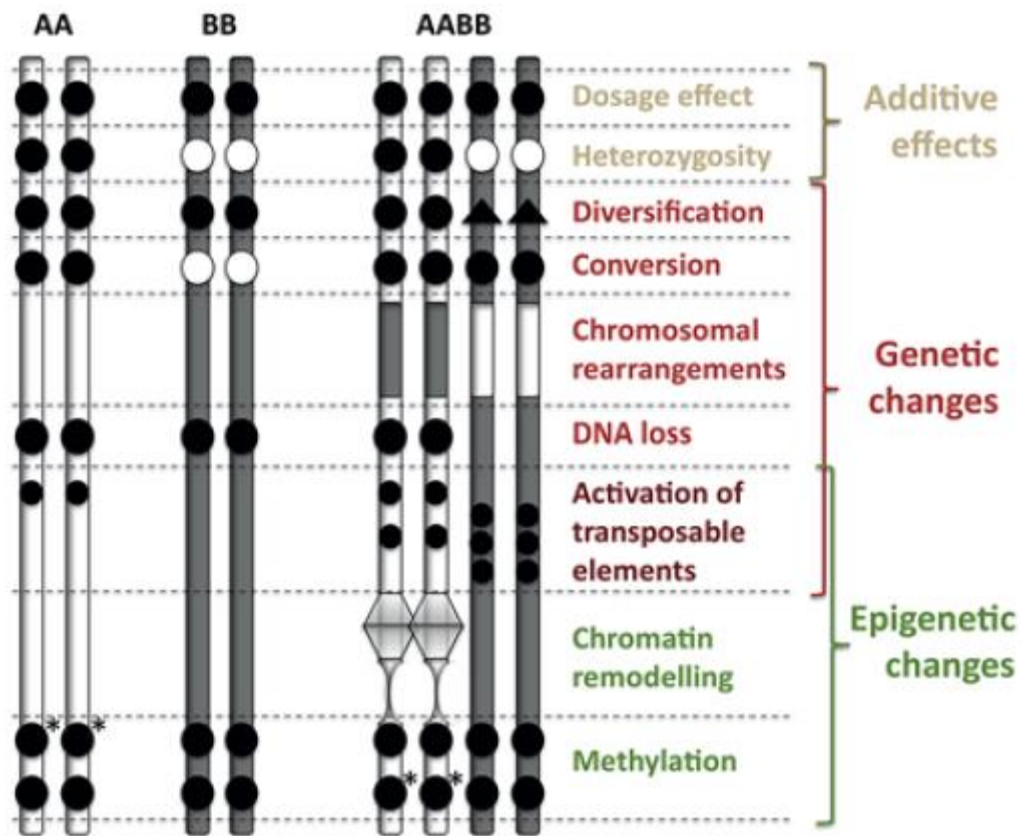


Figura 20. Cambios en el genoma después de la poliploidización de plantas. Los efectos aditivos se refieren a cambios en la dosificación de genes y el nivel de heterocigosidad en poliploides en comparación con plantas de menor nivel de ploidía. Los poliploides generalmente muestran cambios no aditivos (es decir, reorganización del genoma) incluyendo reestructuraciones y modificaciones funcionales. Los genes duplicados pueden seguir una sub- funcionalización o neo-funcionalización. La reestructuración del genoma puede involucrar reordenamientos de cromosomas, pérdida y amplificación de secuencias repetitivas. Algunos cambios funcionales pueden ocurrir sin modificación de la secuencia de nucleótidos a través de la metilación y el remodelamiento de la cromatina. Los elementos transponibles juegan un papel importante durante la reorganización del genoma, induciendo la reestructuración y cambios epigenéticos (modificado de Tayalé & Parisod, 2013).

1.10.11 Poliploidía y mejoramiento de plantas

Considerando la profunda importancia de la poliploidía en la evolución de las plantas, es comprensible que exista un amplio interés en desarrollar poliploides inducidos desde que los inhibidores mitóticos se descubrieron por primera vez en la década de 1930 (Chen, 2010). Sin embargo, a pesar del hecho de que los poliploides se han desarrollado para muchos cultivos importantes, estas plantas son casi siempre inferiores respecto a sus características agronómicas en comparación con sus progenitores con menor nivel de ploidía (Moghe & Shiu, 20014). La duplicación somática no introduce ningún material genético nuevo, sino que produce copias adicionales de cromosomas existentes (Moore, 2002)

Este ADN adicional debe replicarse con cada división celular. Sin embargo, con el paso del tiempo, las células con mayor contenido de ADN regresan a su nivel de ploidía natural (Moore, 2002). Otros efectos nocivos pueden incluir porte errático, madera frágil o fruta acuosa (Mason *et al.*, 2015). Los poliploides de alto nivel (por ejemplo, Octaploides) pueden sufrir malformaciones, posiblemente como resultado de la redundancia genética extrema, así como inestabilidad somática que conduce al tejido quimeral (Moore, 2002; Chen, 2010; Tayalé & Parisod, 2013). Históricamente, el trabajo con poliploides no ha progresado mucho más allá de la duplicación somática, lo que resulta en una considerable redundancia genética (Mason *et al.*, 2015). Según el conocimiento general de los sistemas naturales y la evolución, parece que se pueden lograr avances mucho mayores trabajando hacia una heterocigosidad mejorada, incluido el desarrollo de aloploides por medio de THG.

1.10.12 Confirmación del aumento de la ploidía en plantas

Diferentes métodos pueden ser usados para determinar poliploidía, entre los más importantes se encuentra el conteo de cromosomas, citometría de flujo (CMF) y la evaluación de parámetros morfológicos y anatómicos (Dhooghe *et al.*, 2011). El conteo de cromosomas es el método más concreto porque determina el número efectivo de cromosomas (Doležel *et al.*, 2007). Sin embargo, este método es muy laborioso e involucra tratamientos enzimáticos específicos de la planta, así como mediciones en hojas jóvenes, puntas de raíces, brotes y anteras, teniendo como resultado, un número limitado de células y errores durante el conteo (Dhooghe *et al.*, 2011).

Asimismo, las plantas con niveles elevados de ploidía en ocasiones son evidentes por su morfología distintiva. El aumento de la ploidía a menudo resulta en un aumento del tamaño de la célula que a su vez da como resultado hojas más gruesas o anchas, así como flores y frutos más grandes. Los brotes a menudo son más gruesos y pueden tener entrenudos acortados (Zlesak *et al.*, 2005). Otras medidas efectivas que indican poliploidía, pero que requieren más tiempo, incluyen un mayor tamaño de estomas, polen y un mayor número de cloroplastos (Dewitte *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2010).

Por otra parte, se ha reportado que en diferentes especies de plantas con altos niveles de ploidía (por ejemplo, octaploides), pueden tener un crecimiento distorsionado y tasas de crecimiento reducidas (Dhooghe *et al.*, 2011). De todas las medidas para detectar poliploidía en plantas, CMF es una herramienta muy útil y rápida para medir el contenido de ADN que se puede correlacionar con el nivel de ploidía en plantas (Doležel *et al.*, 2007).

1.11 Citometría de Flujo (CMF)

La citometría de flujo (CFM) es una técnica que permite la estimación del tamaño del genoma nuclear de las células, la evaluación del nivel de ploidía y sus alteraciones (mixoploidía, aneuploidía, etc.) mediante el análisis del ciclo celular (Shapiro, 2005). El análisis del contenido de ADN Nuclear está basado en el uso de fluorocromos específicos de ADN que al teñir los núcleos les darán una intensidad de fluorescencia relativa que será analizada en un citómetro de flujo (Sliwinska, 2018).

El citómetro de flujo es un equipo compuesto por una fuente de luz, la cámara de flujo y el montaje óptico que consiste en fotodetectores y procesadores que detectan la fluorescencia de los núcleos como señales luminosas y lo convierten en impulsos analógicos eléctricos, que se convierten en señales digitales y son analizadas mediante un programa de computadora (**figura 21**) Doležel *et al.*, 2007.

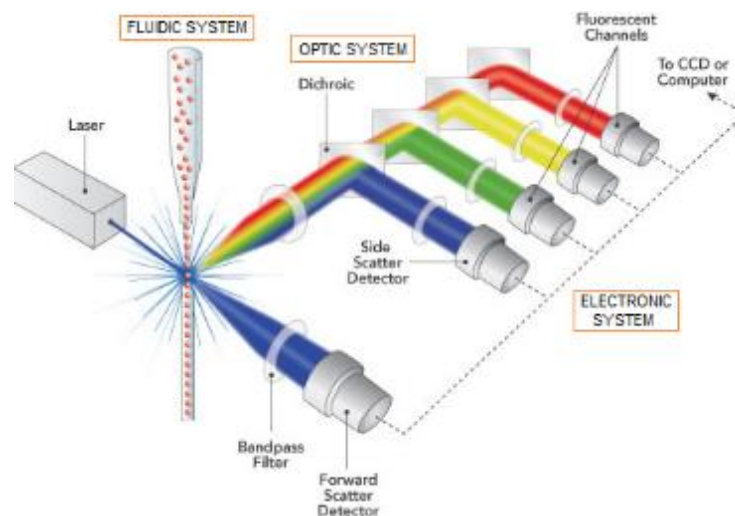


Figura 21. Componentes básicos de un citómetro de flujo. Sistema de fluidos, sistema óptico y sistema electrónico (modificado de Doležel & Bartos, 2005).

El centro del citómetro de flujo es la cámara de flujo en donde la suspensión de células es analizada, se hace pasar un flujo de velocidad constante a través de un orificio con un diámetro de 50- 100 μm , así se asegura que las células pasen de una en una enfrente de una fuente de luz, la fuente de luz es un láser monocromático de alto voltaje, por lo general son utilizadas lámparas de mercurio para producir esta luz, la cual será absorbida por los fluorocromos con los cuales fueron teñidos los núcleos, las emisiones fluorescentes de los núcleos serán las señales que serán analizadas para poder cuantificar el contenido de ADN nuclear (Doležel *et al.*, 2007).

Los citómetros de flujo permiten realizar análisis multiparamétricos dependiendo del número de detectores ópticos con los que cuente el equipo (Shapiro, 2005), por lo tanto, los resultados pueden ser presentados en dos formas: citogramas y dot plot (dispersión) (Sliwinska, 2018). Los citogramas representan la distribución de una propiedad celular específica que es medida en términos de fluorescencia por célula (**figura 22a**). Cada citograma contiene un pico predominante que representa los núcleos o las células que se encuentran en la fase G0/G1 del ciclo de división celular (Ochatt, 2008).

Las gráficas dot plot muestran datos de dos parámetros cualquiera en forma de dispersión de toda la muestra analizada (**figura 22b**). Los datos también pueden ser presentados en gráficas 3D (**figura 22c**) presentando el número de eventos o un tercer parámetro (Ochatt, 2008).

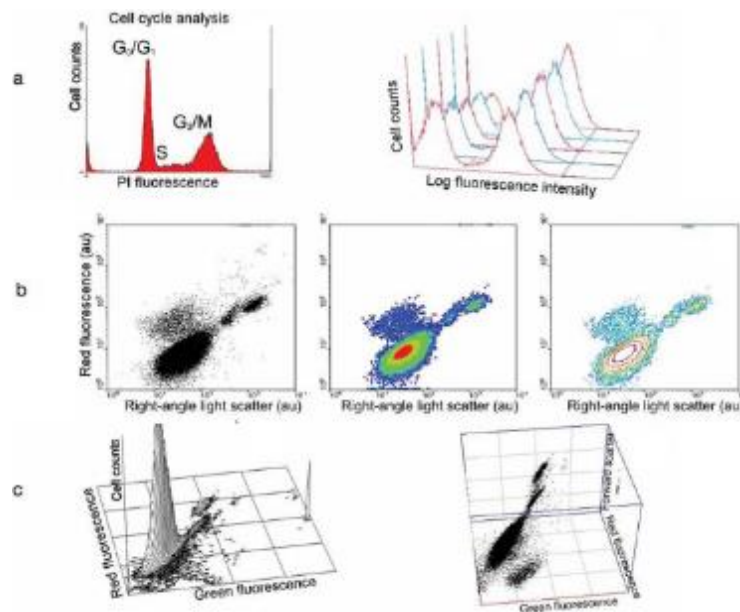


Figura 22. Formas de presentar los datos en un citómetro de flujo: **a)** citogramas, **b)** dot plot, **c)** gráficos 3D (modificado de Doležel & Bartos, 2005).

Para llevar a cabo la cuantificación del material genético en células vegetales es necesario emplear un método de aislamiento de núcleos para su posterior tinción con fluorocromos. Una vez elegido el explante, se lleva a cabo el aislamiento de los núcleos, el cual consiste básicamente en disgregar mecánicamente el tejido en un buffer de extracción; la composición del buffer es esencial para facilitar la liberación del núcleo, mantener su integridad, proteger el DNA de las endonucleasas y facilitar la tinción del DNA (Greilhuber, 2005a). Posteriormente se realiza un filtrado de la suspensión para eliminar las partículas grandes y por último se tiñen los núcleos con el fluorocromo de elección (Ortega-Ortega *et al.*, 2019).

Existen diversos compuestos fluorescentes de tinción de DNA nuclear. El bromuro de etidio (EB) se intercala cuantitativamente en el DNA de doble cadena, sin embargo, se une también al ARN de doble cadena, por lo tanto, las muestras deben tratarse con ribonucleasas para dar mediciones significativas (Shapiro, 2005). La mitramicina y otros antibióticos fluorescentes (cromomicina, olivomicina) son altamente específicos para el DNA de doble cadena ya que se une preferentemente a las regiones ricas en Guanina Citocina (Van Dyke & Dervan, 1983). El 4',6-diamino-2-fenilindol (DAPI) es específico para regiones ricas en Adenina-Timina y su unión no está influenciado por la estructura de la cromatina, lo que resulta en un coeficiente de variación bajo y su fluorescencia es particularmente fácil de excitar y medir (Michaelson *et al.*, 1991). El yoduro de propidio (IP) tiene propiedades similares al EB, sin embargo, varios autores confirman que PI produce histogramas con menor variación comparado con EB (Noirot *et al.*, 2002).

Debido a que la CFM analiza la intensidad de fluorescencia relativa, el tamaño del genoma de la muestra desconocida debe de compararse con un estándar de referencia, es decir, una muestra biológica cuyo tamaño de genoma es conocido ampliamente. Las condiciones de preparación, evaluación y tinción del estándar deben de ser idénticas al de la muestra a evaluar (Praça-Fontes *et al.*, 2011).

La calidad de la suspensión nuclear se verá reflejada en los resultados obtenidos en el histograma mediante el coeficiente de variación (CV) de la fase G0/G1 del ciclo celular. El CV refleja la variación del aislamiento de los núcleos y su tinción. Mientras menor sea el CV, mayor precisión existirá en el análisis del contenido de DNA (Singh, 2016).

1.12 Ciclo celular

La célula se reproduce mediante una secuencia ordenada de etapas que se basan en duplicar su contenido y la posterior división en dos células hijas. (Alberts et. al 2013). Estas etapas son: Interfase (Fase G0, G1, S y G2) y Mitosis (profase, metafase, anafase, telofase y citocinesis) (Greilhuber & Doležel 2009). La interfase es el periodo que ocurre cuando la célula está lista para la división y es el inicio del ciclo celular. Es el periodo más largo del ciclo celular y durante él, se sintetiza constantemente el RNA, se produce la división de los centriolos y la célula produce demasiadas proteínas y aumenta su tamaño (**Figura 23**) (Darzynkiewicz et al., 2004).

La fase G0 Es una etapa de reposo ya que las células están inactivas y no se dividen, puede ser permanente o temporal. En la fase G1, la célula comienza a crecer, produce grandes cantidades de proteínas y aumenta de tamaño. Aquí se encuentra el primer punto de control ya que la célula se evalúa a sí misma y determina si está lista para la siguiente fase. Cuando se detecta demasiado daño en el DNA, se inducirá la muerte celular programada. Una vez que la célula ha salido de la fase G1, se compromete a completar el ciclo celular independientemente de las condiciones ambientales.

Durante la fase S, se lleva a cabo la replicación del DNA y cada cromosoma consta de dos cromátidas hermanas. Mientras que en la fase G2, la célula desarrolla y prepara los orgánulos para dividirlos y compartirlos durante la citocinesis al final de la mitosis. Aquí existe otro punto de control ya que, la célula no continuará por el ciclo de división hasta que el DNA se encuentre totalmente replicado (Greilhuber & Doležel 2009).

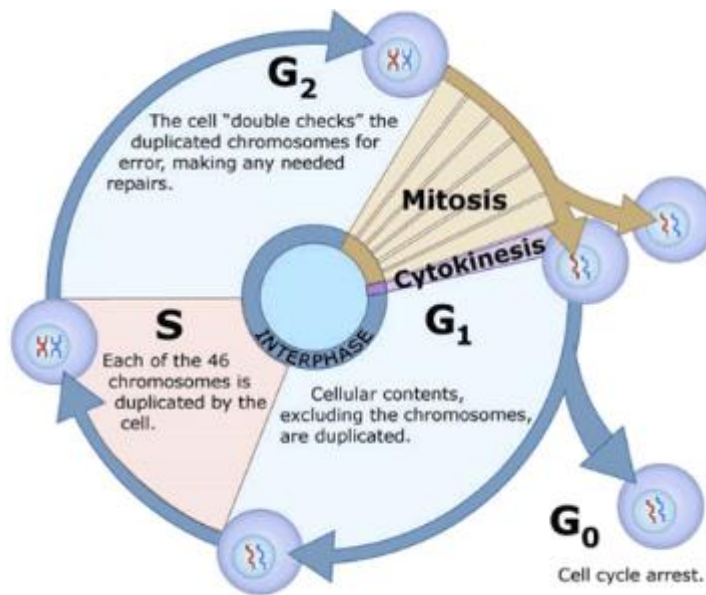


Figura 23. Etapas de división del ciclo celular. Fase G₀, G₁, S, G₂ y M.

1.12.1 El ciclo celular y el tamaño de genoma

Por medio del ciclo celular es posible conocer el tamaño de genoma de las plantas. Es importante mencionar que el tamaño del genoma es incongruente con el nivel de ploidía y el número de cromosomas básicos de un organismo (Tatum *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2013). El contenido de ADN nuclear (valor C) es un rasgo importante que revela la correlación entre el tamaño del genoma y el fenotipo (Greilhuber & Doležel 2009).

Para un genoma haploide, las abreviaturas del valor C se representan como 1C, mientras que para un genoma completo se representa como 2C. (Bennett & Leitch, 2003; Shapiro, 2005). Se han estimado hasta la fecha más de 8500 valores C de especies de plantas (Bennett & Leitch, 2012). El contenido de ADN en las plantas angiospermas varía ampliamente, desde 1C = 0.165 pg en *Arabidopsis thaliana* hasta

1C = 152.23 pg en la especie *Paris japonica* (Bennett & Leitch, 2003; Dodsworth *et al.*, 2015). Además, la variación intraespecífica en los valores de C es a veces notablemente divergente para la misma especie (Price *et al.*, 1988; Leong-Skornickova *et al.*, 2007; Grover *et al.*, 2008; Yan *et al.*, 2016).

La citometría de flujo (CMF) se ha utilizado ampliamente para la determinación del contenido de ADN (Doležel *et al.*, 1992). Diversos autores han descrito la variación intraespecífica del tamaño del genoma en especies de *Coffea* utilizando CMF (Cros *et al.*, 1995; Noirot *et al.*, 2000, 2003a; Razafinarivo *et al.*, 2012). Sin embargo, algunas de las diferencias observadas en el valor de 2C resultan de la interacción de compuestos citosólicos como la cafeína y los ácidos clorogénicos con el colorante, lo que interfiere con su accesibilidad al ADN (Noirot *et al.*, 2000, 2002, 2003b; Greilhuber *et al.*, 2005b).

Se han propuesto diferentes metodologías para reducir las variaciones no verdaderas (errores estequiométricos) y estimaciones erróneas del tamaño del genoma (Shapiro, 2005; Noirot *et al.*, 2005). Asimismo, algunas variaciones en el contenido de ADN nuclear entre especies son posiblemente causadas por la incapacidad del tinte para acceder al ADN, ya que los compuestos fluorescentes como IP y DAPI pueden producir valores significativamente diferentes para la misma muestra (Noirot *et al.*, 2002; 2003b).

2. Justificación

El cultivo del café es una actividad económica muy importante en el país, mismo que es afectado por diferentes plagas y enfermedades, entre las que destaca la roya. Actualmente, no existe ningún cultivar de *C. arabica* que tenga resistencia completa a esa enfermedad. Por lo que, la generación de nuevas variedades de café por medio de Transferencia Horizontal de Genes permitirá la obtención de plantas con mayor contenido de ADN en su genoma. El aumento de material genético en las variedades de café podría conferir resistencia a diferentes plagas y enfermedades en un futuro cercano.

3. Hipótesis experimental

Mediante la transferencia horizontal de genes, se podrán obtener nuevas variedades de café con un tamaño de genoma diferente a los cultivares comerciales.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Obtener y caracterizar por medio de citometría de flujo y técnicas de citogenética, plantas de café provenientes de eventos de Transferencia Horizontal de genes.

4.2 Objetivos particulares

- ✓ Generar variedades poliploides de café, usando parentales contrastantes.
- ✓ Conocer las principales características citogenéticas de los parentales de café.
- ✓ Analizar el tamaño del genoma y número de cromosomas de las plantas regeneradas.

5. Materiales y métodos

5.1 Generación de variedades de café por vía asexual

Se consiguieron cultivares certificados de *C. arabica* y de *C. canephora* provenientes del vivero Catimor ubicado en Coatepec Veracruz, con resistencia parcial y susceptibles a la roya del cafeto. Asimismo, se geminaron semillas certificadas de café en el invernadero de Biotecnología vegetal del CINVESTAV Zacatenco (**tabla 1**).

Tabla 1. Cultivares de café utilizados en injertos.

Cultivares de <i>C. arabica</i>	Cultivares de <i>C. canephora</i>
Typica	Robusta ⁺
Maragogype	
Pluma Hidalgo	
Villa Sarchí	
Geisha*	
Bourbon	
Caturra	
Catuai	
Mundo Novo	
Blue Mountain	
Garnica	
Pacamara	
Padang	
Garena	
Colombia*	
Sarchimor*	
IAPAR 59*	
Costa Rica*	
CR-56*	
Oro Azteca*	
ICATU*	

* Resistencia parcial a roya.

+ Resistencia completa a roya.

Los injertos se llevaron a cabo por medio de la técnica de aproximación (Wang *et al.*, 2017a). En líneas generales, se seleccionaron los parentales de café a injertar, se rasparon los tallos de cada parental horizontalmente con ayuda de una navaja estéril. Posteriormente, se pusieron en contacto la zona cambial de cada uno y se unieron los tallos de los parentales con Parafilm, se adicionó cera para injertos con el fin de evitar deshidratación o contaminación en la zona de injerto, cada uno se hizo por triplicado (figura 24).



Figura 24. Injerto por aproximación. **a)** Selección de parentales de café a injertar, **b)** Corte horizontal del tallo de cada parental, la zona cambial de cada uno se hace coincidir. **c)** Unión de los parentales con cinta parafilm. **d)** Adición cera con el fin de evitar deshidratación o contaminación en la zona de injerto.

Se injertaron cada uno de los cultivares susceptibles con los resistentes y también se hicieron injertos solo entre cultivares resistentes (**anexo 1**). Las plantas de café utilizadas en este trabajo son sembradas los caficultores en México y las que tienen mejores características organolépticas de acuerdo con López-Morgado *et al.*, (2013). Se mantuvieron algunas plantas individuales de todos los cultivares, con la finalidad de ser caracterizadas por citometría de flujo y ser utilizadas para ensayos *in vitro* de regeneración directa (organogénesis directa).

5.2 Establecimiento de cultivo *in vitro* de plantas de café

Se llevaron a cabo ensayos *in vitro* de organogénesis directa. Primero, se estudiaron las mejores concentraciones de reguladores de crecimiento, utilizando 16 cultivares sin injertar. Una vez conocidas las mejores condiciones, se regeneró el tallo fusionado de cada uno de los injertos.

5.3 Desinfección de tallos de café

Para llevar a cabo la desinfección de los tallos se siguieron los siguientes pasos: se seleccionaron plantas sanas de café, se cortó el tallo por arriba del primer nodo foliar y se desprendieron las hojas con ayuda de tijeras para podar. Luego se limpiaron los tallos cortados con papel humedecido de alcohol con la finalidad de hacer una desinfección superficial. Después se cortaron los tallos en porciones de 10 cm y se colocaron en un contenedor de plástico con tapa, donde fueron lavados con detergente y agua destilada durante 5 minutos, pasado el tiempo se enjuagó con agua destilada hasta eliminar la espuma.

Posteriormente se llevó el recipiente con los tallos a una campana de flujo laminar y se sumergieron en una solución de Tritón X-100 (Sigma-Aldrich) al 0.1%(p/v), se agitó durante 5 minutos vigorosamente. Después, se agregó hipoclorito de sodio al 15% y se dejó actuar por 5 minutos, Al término de cada fase se lavaron los tallos con agua estéril cinco veces.

5.4 Desinfección de secciones de unión en plantas injertadas

Se seleccionó una planta con el injerto cicatrizado y se cortó desde 5cm antes del inicio de la zona de unión del injerto hasta 5cm arriba del final de la zona de unión del injerto utilizando unas tijeras de podar previamente esterilizadas, posteriormente se siguió el mismo procedimiento de desinfección para tallos individuales. Por último, se pusieron los explantes en el antimicótico Nystatin 6 mL/L (Sigma-Aldrich) por 1 h en una campana de flujo laminar. Al término de esta fase se lavaron los tallos con agua estéril cinco veces.

5.5 Efecto de reguladores de crecimiento sobre la organogénesis directa de 16 cultivares de *C. arabica*

Los segmentos de tallo se cultivaron en medio MS con vitaminas (Murashige & Skoog 1962) y 30 g/L de sacarosa. Los medios fueron suplementados con reguladores de crecimiento (citocininas y auxinas) en diferentes concentraciones y combinaciones. Cada concentración fue llamada como: tratamiento alto, medio y bajo, respectivamente. Las citocininas usadas fueron las siguientes: Thidiazuron (TDZ) (9.16, 4.58 y 2.29 μM), 6-Benciladenina (BAP) (8.88, 4.44 y 2.22 μM) Cinetina (9.30, 4.65 y 2.32 μM) y Zeatina (9.12, 4.56 y 2.28 μM), en combinación con tres

concentraciones diferentes de auxinas: Ácido indol-3-acético (IAA) (2.85, 1.42 y 0.72 μM), Ácido indole-3-butírico (IBA) (2.45, 1.22 y 0.61 μM) y Ácido 1-naftaleneacético (NAA) (2.68, 1.34 y 0.67 μM) Los reguladores de crecimiento utilizados fueron adquiridos en Sigma-Aldrich. El pH del medio de cultivo se ajustó a $5,7 \pm 0,2$ y se solidificó con 2,8 g de L^{-1} Phytigel (Sigma-Aldrich).

Se probaron 12 combinaciones de reguladores de plantas y se evaluó el crecimiento celular y la regeneración de plantas. El subcultivo se realizó cada dos semanas. Todos los cultivos se incubaron a 26°C con 16/8 h de fotoperíodo bajo luz de lámparas fluorescentes de color blanco frío (iluminación fluorescente de $45 \text{ mol m}^2 \text{ s}^{-1}$) a una humedad relativa del 60-70%. Algunos de los explantes se usaron como controles, cultivados en las mismas condiciones sin reguladores de crecimiento.

El medio de cultivo que tuvo los mejores resultados se utilizó para regenerar los injertos. Las plántulas bien enraizadas se separaron del medio MS mediante lavado con agua corriente y se plantaron en macetas con una humedad relativa del 80% bajo campanas de polietileno en el invernadero.

5.6 Preparación de la muestra para Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La inducción de organogénesis directa se evaluó mediante SEM de acuerdo con lo reportado por Martínez *et al.* (2000) y Escobedo-Gracia Medrano *et al.* (2014). Se colectó tejido fresco (0.5 cm^2) de la superficie de los explantes, empleando una navaja de bisturí. Para fijar el tejido, se incubó en un buffer de Glutaraldehído (Sigma-Aldrich) al 2% disuelto en PBS por 2 h. Posteriormente se hizo un lavado con PBS por 15

minutos. Se centrifugó a 2000 rpm por 5 minutos, se descartó el sobrenadante y se hizo otra vez el mismo lavado. Después, se llevó a cabo una deshidratación en serie utilizando una solución de acetona (10 minutos por solución) al 30%, 50%, 70%, 80%, 90% y 100%. Después, se secó la muestra a 38°C por 30 minutos. La muestra fue puesta en recubrimiento por pulverización catódica para ser bañada con Oro (10m Amp por 2 minutos). Por último, se analizó en el Microscopio Electrónico de Barrido del departamento de Física de CINVESTAV Zacatenco.

5.7 Análisis estadístico del efecto de reguladores de crecimiento sobre la organogénesis directa de 16 cultivares de *C. arabica*.

Cada experimento se repitió tres veces, con diez réplicas independientes. Todas las réplicas de un experimento consisten en 15 explantes. Los resultados se representaron como el promedio \pm desviación estándar (DE). Para comparar las diferencias en los promedios entre tratamientos se usó el análisis de varianza de Kruskal-Wallis unidireccional en los rangos $P \leq 0.05$. Para los tratamientos altos y bajos se usó la prueba de suma de rango de Mann-Whitney, $P \leq 0.001$. Entre cultivares se usó el análisis de varianza de dos vías (ANOVA) y las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de Tukey, $P \leq 0.05$. Para todos los análisis se utilizó el software Sigma Plot 14.0 (Systat Software, San José, CA, EE. UU.).

5.8 Inducción y regeneración de embriones somáticos de café

Se llevó a cabo una estrategia alternativa para obtener plantas completas (con parte aérea y parte radical) por medio de embriogénesis somática. Se utilizaron explantes de hojas. Los explantes fueron obtenidos de las plantas regeneradas provenientes de injertos.

En condiciones de esterilidad se tomaron hojas cultivadas *in vitro* de una planta regenerada. Los explantes se cortaron en pedazos de 1 cm² aproximadamente, y fueron colocados (con el envés de la hoja en contacto con la superficie del medio de cultivo) en diferentes medios con vitaminas Gamborg B5 (Sigma-Aldrich) y 30 g/L de sacarosa. Los medios de inducción de embriones somáticos fueron adicionados con Citocininas (BAP 4.44 µM, Cinetina 0.5 µM y TDZ 9.08 µM) así como Auxinas (Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2-4-D) 12.05 y 9.05 µM). Los medios de regeneración contenían Citocininas (BAP 4.44, 44.4 µM y Cinetina 9.3 µM) o Auxinas (2-4-D 4.52µM) (**anexo 2**). El pH del medio de cultivo se ajustó a $5,7 \pm 0,2$ y se solidificó con 8 g/L de agar noble (Sigma-Merck).

Los explantes se incubaron a 26°C en condiciones de oscuridad por dos meses, haciendo traspases a medio fresco cada tres semanas. Durante el tiempo de experimentación se observó el crecimiento y se tomaron imágenes de las estructuras formadas con un estereoscopio Nikon SMZ 745T y también fueron analizadas por SEM, con el objeto de hacer una evaluación de cual medio induciría estructuras pre embriogénicas (callos) de mejores características y en menor tiempo. Los callos mejor evaluados se separaron del explante (hoja) y se dejaron en incubación por dos meses

más para aumentar su tamaño. Se comprobó la estabilidad genética de los callos por citometría de flujo (CMF).

Para el proceso de regeneración, los callos se segmentaron en pequeñas porciones y se pusieron en los medios de regeneración, aproximadamente 30 explantes distribuidos por caja Petri: Se mantuvieron en incubación a 26°C durante 2 meses en condiciones de oscuridad y de luz de acuerdo con lo reportado por Yasuda *et al.* (1985), Quiroz Figueroa *et al.* (2001) y Nic-Can *et al.* 2015. Se hicieron trasposos a medio nuevo cada dos semanas. Después de 60 días de incubación, se analizaron los explantes visualmente y con de SEM para buscar estructuras de tipo globular, corazón y torpedo.

5.9 Análisis de citometría de flujo

5.9.1 Material vegetal

Se recolectaron hojas de dieciséis cultivares sanos de *C. arabica* en consideración a su valor de producto, según la Organización Internacional del Café (2018) y la Organización Mundial de Investigación del Café (ICO, 2018). Hojas de *Glycine max* (soya) y *C. canephora* se usaron como estándares, ya que se conoce el peso de su genoma. Las plantas se cultivaron en invernadero en condiciones de riego completo y fotoperíodo de día largo (16/8 h). Para el análisis de las plantas derivadas de los injertos, se utilizaron 2 hojas jóvenes por cada una de las plantas regeneradas y para los embriones somáticos se utilizaron 300 mg de biomasa fresca.

5.9.2 Aislamiento de núcleos de café

El aislamiento de núcleos se llevó a cabo esencialmente como describe Noirot *et al.* (2005). Se maceraron secciones de hojas jóvenes (2 cm²) en una pequeña placa de Petri de plástico usando una cuchilla de afeitar afilada, adicionando 400 µL de buffer de extracción de núcleos (CyStain® UV Precise P, Partec, Görlitz, Alemania); se añadieron 100 µL ditioneitol 2 mM (DTT; Sigma-Aldrich) para minimizar la interferencia de compuestos fenólicos con la tinción de DNA (Ortega-Ortega *et al.*, 2019). Las muestras se incubaron durante 2 horas en la oscuridad. Posteriormente, la mezcla se pasó a través de un filtro desechable de malla de nylon de 30 µm (CellTrics®, Sysmex, Milton Keynes, Reino Unido) y se transfirió a un microtubo de 2 mL.

Para evitar estimaciones erróneas del tamaño del genoma, la mezcla se centrifugó a 200 x g durante 15 minutos y se descartó el sobrenadante. Finalmente, los núcleos se trataron con 50 µg/mL de RNasa A (Sigma-Aldrich). Para la tinción se usaron dos compuestos diferentes, IP (50 µg / mL) (longitud de onda de excitación / emisión: 480-575 / 550-740 nm) (Sigma-Aldrich), así como un buffer de tinción de núcleos que contiene DAPI (longitud de onda de excitación / emisión: 320-385 / 415-520) (Shapiro 2005) (CyStain® UV Precise P, Partec, Görlitz, Alemania). Ambos tratamientos se complementaron con 2 mM de DTT, agente reductor que también contribuye a mantener la integridad de la cromatina (Ortega-Ortega *et al.*, 2019).

5.9.3 Diseño experimental

El diseño experimental fue adoptado siguiendo las recomendaciones de Clarindo *et al.* (2012) para la extracción de núcleos de múltiples hojas, a partir de dos estándares como soya (2C = 2.30 pg) y *C. canephora* (2C = 1.29 pg). Se determinaron parámetros de CMF, como ganancia y canal. para cada medición del contenido de DNAA, basado en evaluaciones FCM de estándar y muestras (control y objetivo) según lo descrito por Clarindo *et al.* (2013). Además, la prueba de presencia de inhibidores se realizó en base a lo informado por Huang *et al.* (2013) y Choudhury *et al.* (2014).

El tamaño del genoma se determinó usando un citómetro de flujo LSR Fortessa (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). La fluorescencia IP se excitó con un láser de argón de 50 mW (Sapphire, Coherent, Santa Clara , CA) a 488 nm usando un filtro de paso de banda de 585 nm. La fluorescencia DAPI se excitó a través de un láser de argón de 65 mW (Genesis CX 355, Coherent, Santa Clara, CA) sintonizado a la excitación UV a 355 nm usando un filtro de paso de banda de 450 nm .

El análisis de datos se llevó a cabo con el software Kaluza® (Beckman Coulter, Indianápolis, IN) Se seleccionaron todos los núcleos de interés descartando las señales obtenidas pertenecientes a partículas no deseadas como restos celulares, Se realizaron tres repeticiones independientes de múltiples hojas, que representan más de 5,000 núcleos, en cada análisis. La relación del tamaño del genoma se calculó mediante la siguiente ecuación: contenido de DNA nuclear = (Canal de fluorescencia de muestra) / (Canal de fluorescencia de estándar) * Contenido de DNA del estándar en Picogramos (pg) (Doležel & Greilhuber, 2010). El promedio de los valores del

coeficiente de variación (CV) se utilizó para evaluar los resultados obtenidos. CV se define como $CV = D / M \times 100\%$, D es la desviación estándar de la distribución celular y M es el promedio de la distribución celular. (Huang *et al.*, 2013).

5.10 Composición de pares de bases

El porcentaje de pares de bases (pb%) se estimó de acuerdo con la siguiente ecuación: porcentaje de adenina timina (AT%) = $AT\% \text{ del estándar interno } [(estándar \text{ de fluorescencia media DAPI} / \text{ muestra de fluorescencia media DAPI}) / (estándar \text{ de fluorescencia media IP} / \text{ muestra de fluorescencia media IP})] (1 / \text{ longitud de unión})$ (Godelle *et al.*, 1993; Contreras & Shearer, 2018), donde AT% del estándar primario es 63.6 y la longitud de unión de DAPI es 3.5 (Meister & Barow, 2007). Los valores se calcularon como $GC\% = 100 - AT\%$.

5.11 Análisis estadístico del tamaño de genoma obtenido por CMF

Para realizar el análisis estadístico se usó el software Sigma Plot 14.0 (Systat Software, San José, CA). Para evaluar las diferencias significativas entre los valores de tamaño del genoma, se empleó la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD), se calculó $LSD_{0.05} = 0.13356$ para determinar el límite más alto permitido entre cada media de tratamiento y considerar si pertenecen a la misma población. Se realizó una prueba *t* de student para conocer la diferencia significativa de utilizar ambos estándares. Por medio de la misma prueba estadística, se compararon los valores del tamaño de genoma de los cultivares obtenidos con los dos compuestos de tinción utilizados.

5.12 Conteo de cromosomas en raíces y estructuras pre-embriogénicas de café

En condiciones asépticas, se cortaron tejidos meristemáticos apicales de raíz de aproximadamente 2mm de largo. Por cada muestra, se colocaron de 10 a 15 meristemas de raíz en microtubos de 1.5 mL. Para las estructuras pre-embriogénicas se tomaron porciones de callo embriogénicas en condiciones asépticas con ayuda de una espátula. Por cada muestra se pesaron 300 mg de callo en microtubos de 1.5 mL.

A cada una de las muestras se les agregó 1000 μ L de hidroxurea 1.75 mM, se incubaron 24 h a 28°C, en oscuridad con agitación. las muestras fueron tratadas con diferentes antimitóticos como Colchicina 2.5 mM y Oryzalin 3 μ M (Sigma-Aldrich), así como agua desionizada por 24 h, a 4°C. Las muestras se lavaron dos veces con agua desionizada y se colocaron en 1000 μ L de solución fijadora etanol:ácido acético (3:1) por 24 h a 4°C. Se lavaron las muestras con etanol al 70% tres veces y se transfirieron a 400 μ L de etanol al 70% y se guardaron a 4°C.

Para la disgregación de la pared celular se realizaron 3 lavados con agua desionizada, con KCl 75 mM y EDTA 7.5 mM (pH 4). Cada muestra se colocó en una caja Petri, con un escalpelo se fragmentó en porciones pequeñas y se traspasó a un microtubo de 1.5 mL. Posteriormente se probaron diferentes tipos de disgregación celular. En primer lugar, se hizo con cada una de las enzimas mostradas en la **tabla 2** por separado. Se colocaron 400 μ L de mezcla enzimática A, B, C o D (**tabla 2**) y se incubó la muestra por 60 min, 30°C.

Tabla 2. Componentes de las mezclas enzimáticas.

Componente	Mezcla	Mezcla	Mezcla	Mezcla
	enzimática	enzimática	enzimática	enzimática
	A	B	C	D
Pectinasa	1:30	1:30	1%	5%
Celulasa	-	1:10	0.5%	2%
Pectiolasa	-	-	0.5%	-

Posteriormente se llevó a cabo la disgregación con HCl a diferentes concentraciones. Se agregó, a cada muestra, 400 μ L de HCl 1N o HCl 5N por 1 h a temperatura ambiente. Se probó una mezcla entre la disgregación enzimática y HCl. Se agregaron 400 μ L de mezcla enzimática A, B, C o D (**tabla 2**) y se incubaron por 60 min, 30°C. Se realizaron 2 lavados con agua desionizada o con KCl 75 mM y EDTA 7.5 Mm (pH 4). A continuación, se agregaron 400 μ L de HCl 1N o HCl 5N y se incubaron por 2 h, a temperatura ambiente.

Finalmente, se probó la disgregación con el buffer de extracción de núcleos debido a que este buffer nos permite disgregar la pared celular vegetal y obtener núcleos intactos. Se agregaron 400 μ L de buffer de extracción del kit Sysmex CyStain© UV Precise P y 10 μ L de solución 1M de DTT, mecánicamente se disgregó el tejido con un escalpelo. Se agregó 50 μ g / mL de RNasa A y la muestra se incubó 1 hora en oscuridad a temperatura ambiente. Terminado el proceso de disgregación se

realizaron dos lavados con agua desionizada o con KCl 75 mM y EDTA 7.5 Mm (pH 4), se agitó con vórtex 30 segundos.

Después de la disgregación celular, cada muestra se colocó sobre un portaobjetos enfriado previamente, con un escalpelo se disgregó la muestra en partes finas. Una vez que el portaobjetos se encontró completamente seco, se llevó a cabo el proceso de tinción para microscopía óptica y confocal. Las muestras fueron fijadas en nitrógeno líquido por 10 segundos previo a su tinción. Para microscopía óptica se utilizaron tres compuestos diferentes: acetocarmín, Giemsa y reactivo de Schiff (Sigma-Aldrich). Se colocó Acetocarmín Con ayuda de un gotero hasta cubrir la muestra. Se probaron dos tiempos de tinción: 30 min y 1h. Al terminar el tiempo establecido, la muestra se lavó ligeramente con agua desionizada o ácido acético para eliminar el exceso de colorante y se secaron a temperatura ambiente.

Para Giemsa se usaron dos soluciones preparadas en PBS al 3% y al 5% (pH 7). Se cubrió la muestra con la solución Giemsa, se probaron dos tiempos de tinción: 5 min y 25 min. Terminado el tiempo establecido, se lavaron las muestras ligeramente con agua desionizada para eliminar el exceso de colorante y se secaron a temperatura ambiente. Por último, el reactivo de Schiff se utilizó como especifica el fabricante, Se cubrió la muestra con el colorante sin diluir por 12h a temperatura ambiente, posteriormente se realizó un lavado con agua desionizada. El montaje para observar las muestras en microscopia óptica y confocal, se llevó a cabo con 3 soluciones diferentes: ácido acético al 45% (sólo para microscopía óptica), glicerol al 75% y glicerol al 10% en buffer de fosfatos (pH 7). Finalmente se colocó el cubreobjetos cuidadosamente para no formar burbujas y se selló con barniz.

6. Resultados y discusión

6.1 Injertos entre cultivares de *C. arabica* y *C. canephora*

En la primera etapa del proyecto se llevaron a cabo injertos entre diferentes cultivares de *C. arabica* y un cultivar de *C. canephora*. Se utilizaron plantas certificadas de café (con calidad organoléptica) como parentales de los injertos. Se hicieron tres tipos diferentes de injertos por el método de aproximación. Los primeros fueron realizados sin quitar hojas de la planta y utilizando el tallo sin nudos (**figura 25**).

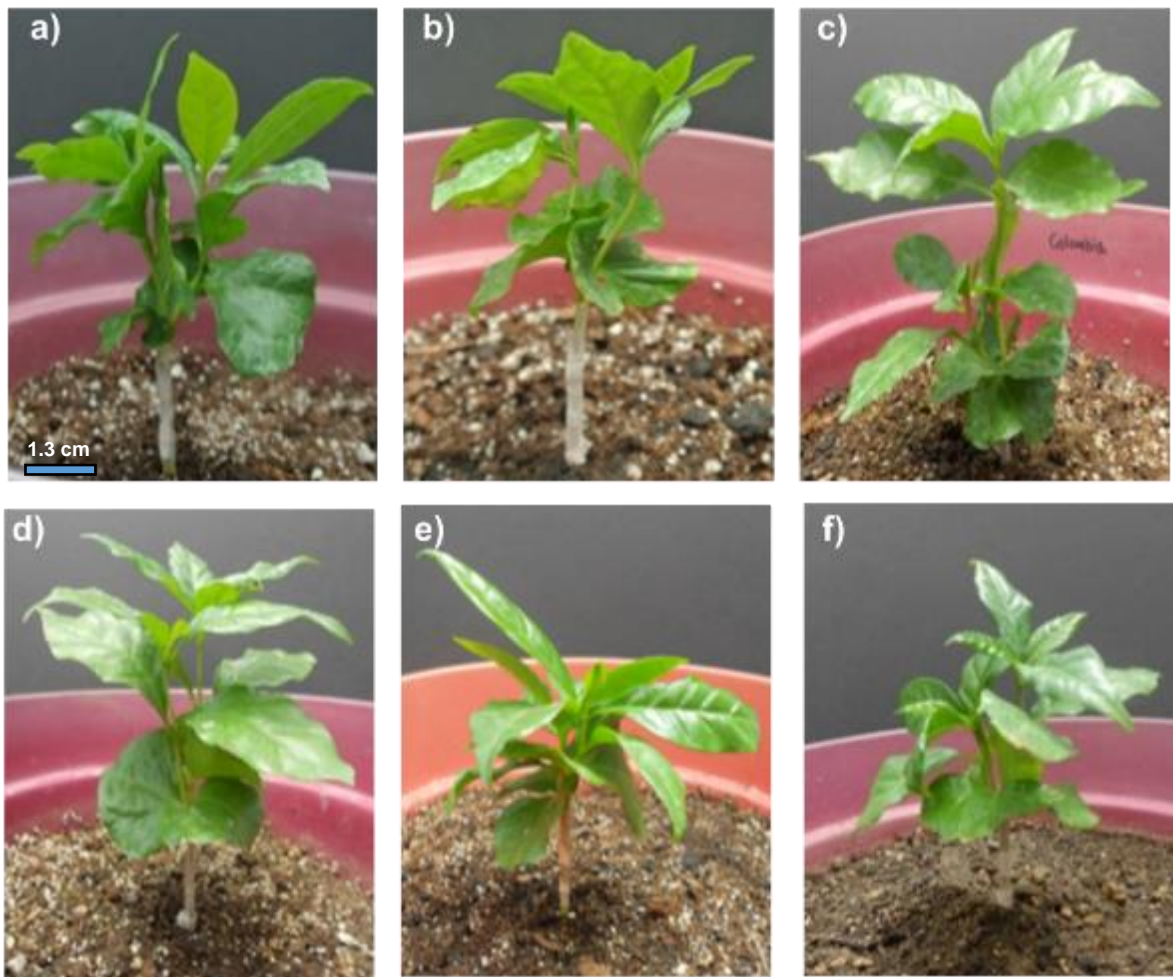


Figura 25. Injertos representativos de Cultivares de café. **a)** Oro Azteca x Robusta; **b)** ICATU x Mundo Novo; **c)** Iapar 59 x Typica; **d)** Colombia x Garena; **e)** Costa Rica x Bourbon y **f)** Oro Azteca x ICATU.

Después de tres meses de realizados los injertos, se observó que la unión de estos se llevó a cabo (**figura 26**). Se observó la generación de parénquima al rededor del xilema de los dos parentales de cada injerto. Turnbull *et al.* (2010) mencionan que en la región cambial de los parentales que conforman el injerto, las capas exteriores de células expuestas producen células de parénquima que pronto se entremezclan y enlazan, teniendo por nombre tejido de callo. Algunas de las células del callo recién formado que se encuentran en la misma línea con la capa intacta de cambium de los parentales se diferencian hasta formar nuevas células cambiales. Estas nuevas células de cambium producen tejido vascular nuevo, xilema hacia el interior y floema hacia el exterior, estableciendo así la conexión vascular del injerto (Yin *et al.*, 2012).

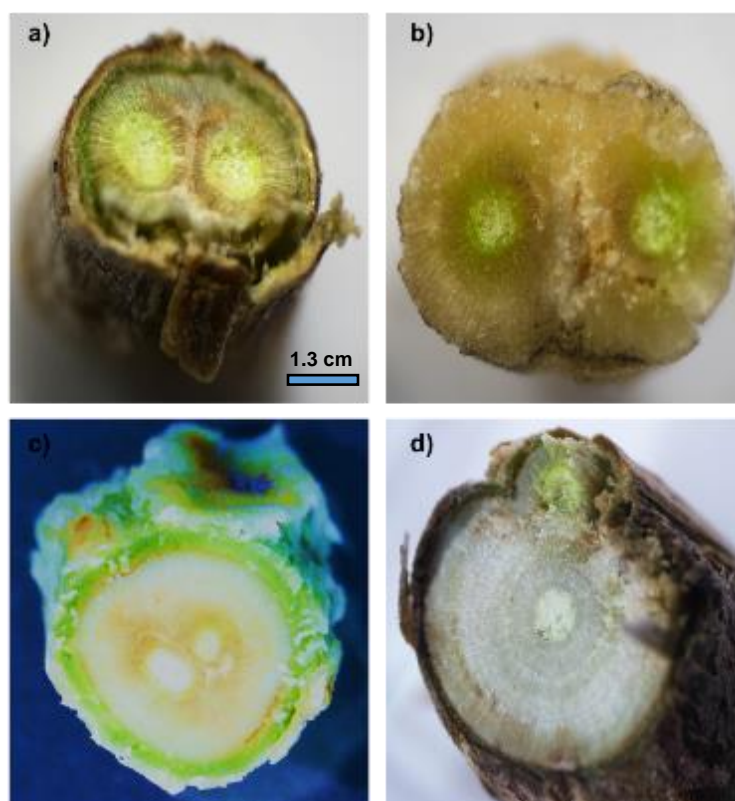


Figura 26: Corte transversal de la unión de diferentes injertos de café (magnificación 3x). **a)** IAPAR 59 x Costa Rica; **b)** ICATU x Typica; **c)** Colombia x Catuai **d)** Robusta x Garnica.

Es importante mencionar que los injertos tardaron en unirse debido a la naturaleza perenne del café o posiblemente se debió a que estos injertos se realizaron con la parte inferior del tallo, por lo que los parentales no estuvieron forzados a regenerar el área del injerto rápidamente debido a que las hojas quedaron por encima de la zona del injerto. Por consiguiente, la transferencia de nutrientes fue menor y muy probablemente la regeneración del sistema vascular se retrasó. Melnyk & Meyerowitz, (2015b) argumentan que en ciertas condiciones en que no llega a formarse la conexión vascular, puede darse suficiente translocación que permite la supervivencia a través de las células de parénquima del callo. En injertos hechos en orquídea, el injerto sobrevivió y creció durante dos años solo con la unión de parénquima (Hartmann *et al.*, 2010).

Asimismo, se germinaron semillas de café en invernadero. Cuando las plántulas de café estuvieron al inicio y posterior a la fase soldado (4 meses) se hicieron injertos por aproximación. La etapa “soldado” es aquella en la cual la semilla ha germinado, el hipocótilo se ha desarrollado pero el pericarpio no se ha desprendido, obstaculizando la salida de los cotiledones (López-Morgado *et al.*, 2013). Esos autores mencionan que a partir de la fase de crecimiento soldado es recomendable injertar plantas de café debido a que la planta ya desarrolló su primer nudo (conteniendo células cambiales) que permiten una mejor cicatrización del injerto (**figura 27**). no obstante, con el paso del tiempo los injertos fueron perdiendo viabilidad debido a que no cicatrizaron y no hubo fusión de tallos, por lo que no fue posible su regeneración por cultivo de tejidos.

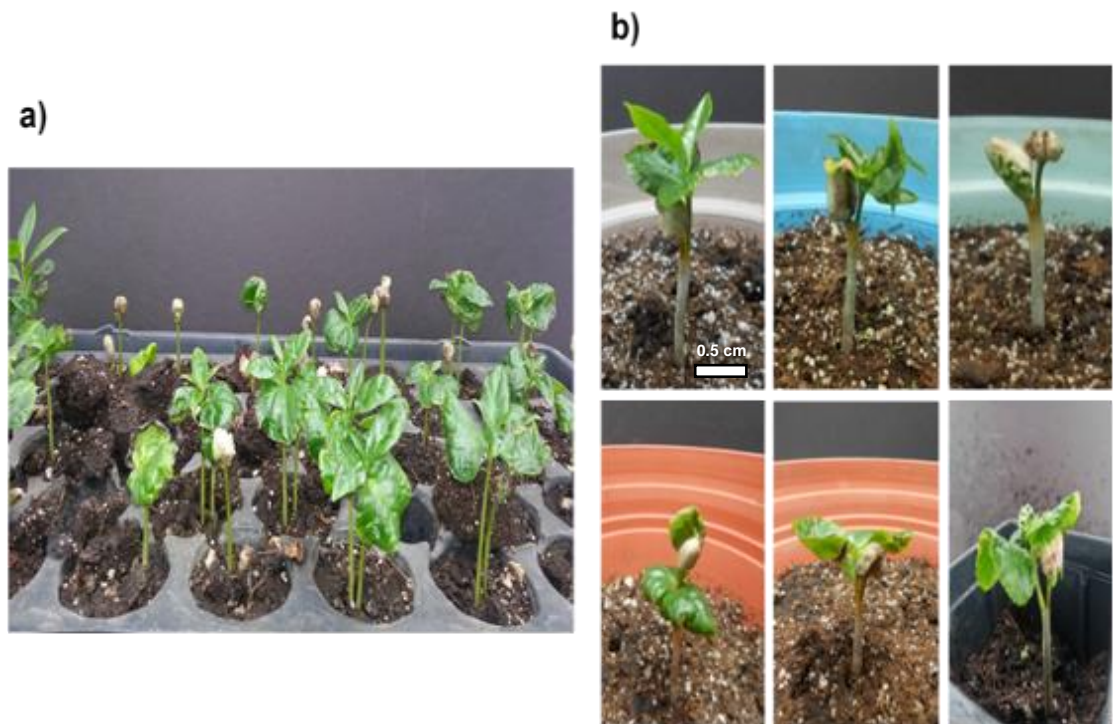


Figura 27. Germinación y elaboración de injertos a partir de semilla de café **a)** plántulas de café crecidas en el invernadero de CINVESTAV-Zacatenco; **b)** Injertos de café en etapa soldado y cotiledonar.

El tercer tipo de injerto se hizo manteniendo hojas arriba y abajo en los dos parentales. Se quitaron las hojas intermedias (localizadas en la zona de injerto), con el propósito de que el injerto dependa totalmente de los nutrientes conferidos por las hojas que se encuentran en los extremos distales y proximales de cada parental, forzando a una temprana cicatrización del injerto y regeneración del sistema vascular (**figura 28**) (Lough & Lucas, 2006).

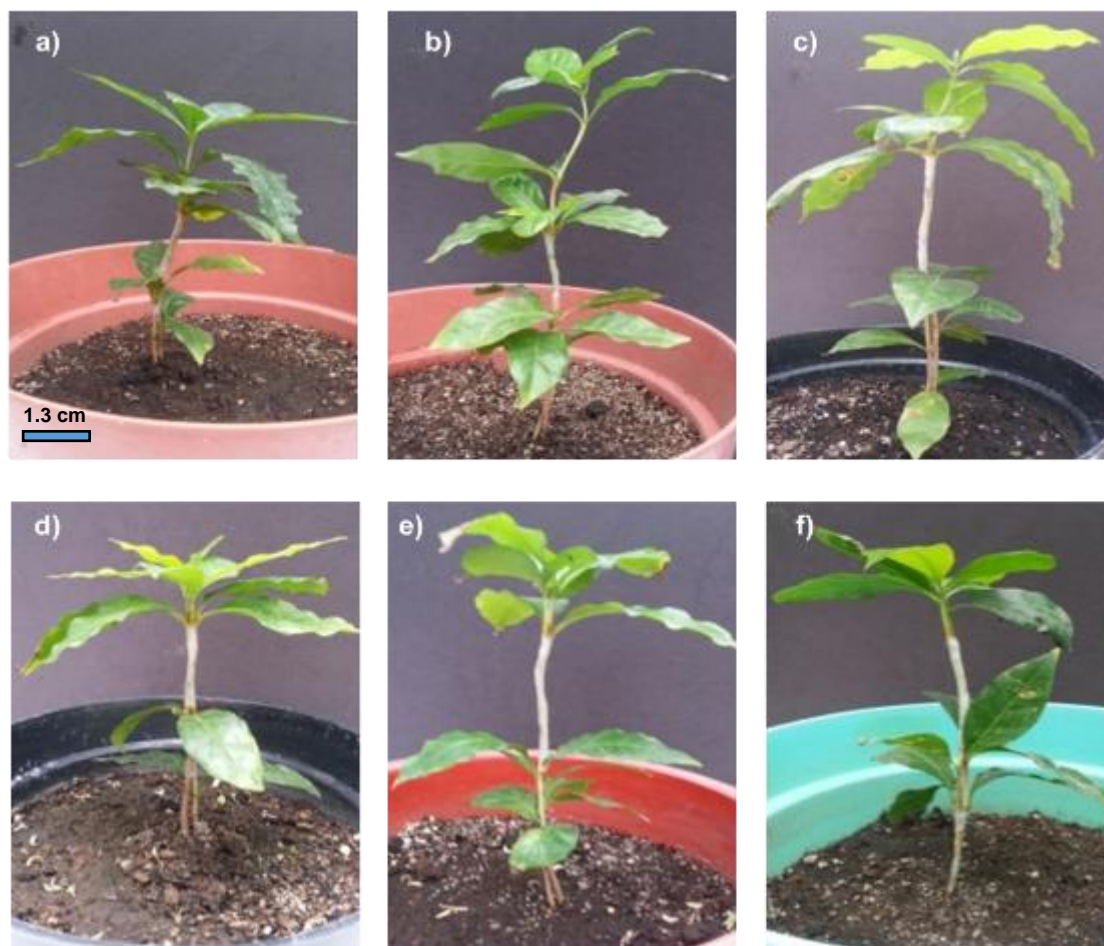


Figura 28. Injertos representativos de Cultivares de café **a)** Oro Azteca x Robusta; **b)** ICATU x Mundo Novo; **c)** Iapar 59 x Typica; **d)** Colombia x Garena; **e)** Costa Rica x Bourbon y **f)** Oro Azteca x ICATU.

Al usar el tallo intermedio de los cafetos en los injertos, los nudos de los parentales favorecen la regeneración de la zona del injerto debido a que hay presencia de células indiferenciadas con capacidad de regeneración (Melnik & Meyerowitz. 2015a). A diferencia de la primera serie de injertos, se observó una pronta cicatrización posterior a un mes de su unión, así como la formación de callo y el inicio de la regeneración del sistema vascular. En la **figura 29** se muestra el proceso general de unión del injerto.

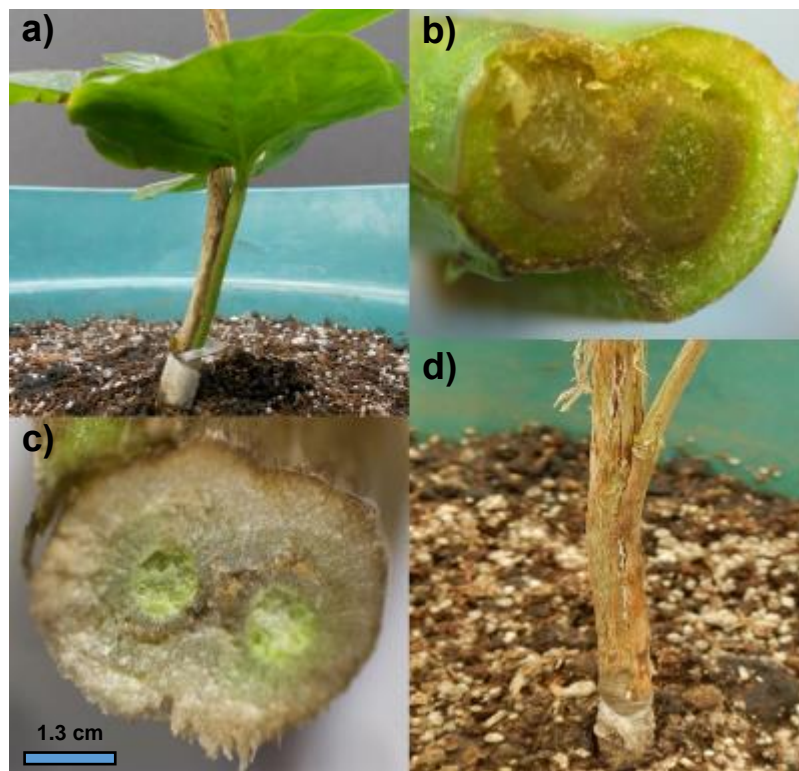


Figura 29. Esquema general del proceso de cicatrización de los injertos de café. **a)** Inicio de la unión del injerto; **b)** cicatrización del injerto posterior a un mes de su elaboración (magnificación 3x). **c)** Injerto después de dos meses de unión (magnificación 3x). **d)** fusión de tallos de los parentales y formación de callo después de tres meses. **1**= parental 1; **2**= Parental 2.

Se observó que, pasados 3 meses del inicio de la unión del injerto, los tallos de los parentales se fusionaron casi por completo. Cuando el cambium de un parental se une totalmente con el del otro, las células intactas se dividen y proliferan en callos, que eventualmente se diferencian en tejido vascular y plasmodesmos (Melnyk & Meyerowitz, 2015b). Algunos estudios han encontrado que los reguladores de crecimiento, como las Auxinas, citocininas y el Ácido giberélico (GA), desempeñan un papel fundamental en la regulación de las interacciones en el injerto (Aloni *et al.*, 2010).

Análisis histológicos y de micro-arreglos en *Arabidopsis thaliana* han identificado a Auxinas, Etileno y ácido jasmonico como moléculas importantes que participan en el desarrollo del injerto y se ha propuesto un modelo para interpretar mejor este fenómeno (Aloni *et al.*, 2010; Golan *et al.*, 2013).

Después de que las paredes celulares se fusionan en la unión del injerto, los plasmodesmos se estiran en pequeños grupos sobre los espacios de la pared celular interior, interconectado los protoplastos de células contiguas (Kollmann & Glockmann, 1985). Se ha reportado que los plasmodesmos proporcionar túneles para moléculas pequeñas e incluso permitir selectivamente el movimiento de macromoléculas, como proteínas y ácidos nucleicos. Además, la reconstrucción vascular en la unión del injerto permite el transporte de macromoléculas (Harada, 2010). En años recientes, se ha hecho un esfuerzo creciente para determinar cómo las macromoléculas se transfieren en la zona del injerto, así como los cambios inducidos por el injerto en la planta (Paultre *et al.*, 2016).

En síntesis, se hicieron más de 200 injertos por 3 métodos diferentes. El tipo de injerto que se realizó manteniendo hojas arriba y abajo, fue el que cicatrizó en menor tiempo. En virtud de los resultados obtenidos en la primera etapa, los cultivares de los que no se obtuvieron ningún injerto viable (Blue Mountain, Geisha, Sarchimor, CR-56 y Padang), fueron omitidos de los ensayos *in vitro* de regeneración directa y del análisis principal del tamaño de genoma por CMF. No Obstante, su caracterización del tamaño de genoma se puede encontrar en el **anexo 3**.

6.2 Pruebas de regeneración en explantes de café sin injertar

En la segunda etapa del proyecto, se llevaron a cabo pruebas de regeneración para conocer las mejores concentraciones de reguladores de crecimiento vegetal que permitieran regenerar de manera directa (organogénesis directa) la zona del injerto. Primero, se utilizaron tallos sin injertar de 16 cultivares de *C. arabica*. Se probaron diferentes medios de cultivo que contenían una mayor proporción de citocininas que de auxinas (**Tabla 3**).

Diferentes estudios sobre la regulación química del crecimiento y la formación *in vitro* de órganos vegetales mencionan que una proporción alta de citocininas sobre auxinas favorece la formación de brotes (Traas *et al.*, 2002; Chandler & Werr 2015; Ikeuchi *et al.*, 2016.). Moubayidin *et al.* 2009 reportan que los efectos aditivos y sinérgicos de la combinación de estos dos reguladores de crecimiento se deben principalmente a que, en la inducción del meristemo apical, las Citocininas promueven la proliferación de células meristemáticas, pero inhiben su diferenciación, mientras que las auxinas dirigen la diferenciación de las células de primordio mediante la represión de la biosíntesis de citocininas.

Por el contrario, en la inducción de meristemo de raíz, las auxinas inducen la división celular, mientras que las citocininas hacen que la célula cambie del estado meristemático al estado diferenciado mediante la inhibición de la señalización de las auxinas. Sin embargo, el mecanismo molecular de la interacción entre citocininas y auxinas en la formación *in vitro* de meristemas no ha sido elucidado por completo.

Tabla 3. Efecto de la concentración y combinación de reguladores de crecimiento en la regeneración directa de 16 cultivares de *C. arabica*.

Cultivar	Concentración	IAA				IBA				NAA			
		BAP	Cinetina	TDZ	Zeatina	BAP	Cinetina	TDZ	Zeatina	BAP	Cinetina	TDZ	Zeatina
Typica	Bajo	10.88	9.77	12.66	7.77	1.55	1.6	2.2	1.77	10.22	7.77	18.88	6.44
	Medio	21.33	20.88	21.77	18	4.88	5.77	5.55	4	19.33	11.11	35.56	11.11
	Alto	50.44	40.66	46.44	37.77	10.22	9.11	12.88	9.33	31.55	19.33	69.55	20.44
Maragogype	Bajo	11.78	9.78	12.44	6.88	1.56	1.77	2.88	2.22	9.78	8.22	17.78	6.44
	Medio	20	20.89	22.00	17.11	5.56	6.00	5.56	4.44	18.88	11.56	36.22	12.44
	Alto	50.44	39.33	45.78	38.00	10.67	8.22	13.77	9.33	31.11	20.00	70.22	20.22
Pluma Hidalgo	Bajo	9.77	9.56	12.22	7.56	1.56	1.78	3.11	2.22	10.22	7.56	18.44	6.89
	Medio	21.56	20.00	22.44	18.00	4.44	4.89	4.89	3.78	18.44	10.89	36.89	11.33
	Alto	50.67	38.67	46.44	38.00	10.67	8.89	12.44	9.78	30.44	19.78	70.00	21.56
Villa Sarchi	Bajo	10.67	10.22	12.44	6.67	1.33	2.00	2.89	1.78	10.00	7.11	17.55	5.77
	Medio	20.44	20.22	21.56	18.22	4.22	6.88	5.56	3.33	19.11	10.67	37.33	12.00
	Alto	50.00	42	46.67	39.77	10.88	8.67	13.10	9.77	30	22	68	20.44
Bourbon	Bajo	11.11	10.22	12.67	6.22	1.56	1.78	2.44	2.00	9.78	8.00	17.78	7.33
	Medio	20.44	20.00	23.11	18.89	5.11	4.44	6.22	6.44	17.78	11.33	36.22	10.89
	Alto	50.00	40.44	45.33	38.22	11.11	9.11	13.11	8.89	30.00	19.11	70.00	19.11
Caturra	Bajo	9.55	8.88	12.22	6.44	1.56	1.77	2.44	1.77	10.89	8.00	17.77	5.11

	Medio	21.77	2.44	24.22	1.78	3.78	6.89	5.56	5.11	20.22	11.78	37.55	9.33
	Alto	48.44	4.00	46.22	38	12.22	9.33	12.44	11.33	31.11	20.44	67.78	18
Catuai	Bajo	9.11	10	13.33	8.44	1.55	1.22	2.89	1.78	9.11	6.00	20.11	5.78
	Medio	21	19	22.22	16.44	5.55	5.78	5.11	5.11	22.00	10.44	36.22	9.11
	Alto	50.44	38.66	44.77	38.77	9.78	9.56	13.78	10.22	29.44	20.22	67.33	20.22
Mundo Novo	Bajo	9.78	9.11	11.11	5.33	1.56	1.78	2.44	1.56	9.56	6.89	17.11	6.67
	Medio	18.67	19.56	22.89	17.11	4.67	4.67	6.44	4.89	18.67	10.89	34.67	9.33
	Alto	48.44	39.78	44.22	36.67	10.00	8.22	11.56	7.78	29.11	18.00	68.00	19.33
Garnica	Bajo	11.56	9.33	12.22	8.22	2.22	2.67	1.33	2.67	10.22	7.56	16.00	5.56
	Medio	24.00	18.44	21.33	17.78	4.89	5.33	6.67	4.00	18.22	9.78	34.00	10.44
	Alto	47.56	39.33	45.78	37.78	9.11	8.89	12.67	7.78	30.00	18.22	67.00	19.11
Pacamara	Bajo	10.67	9.56	12.00	7.78	1.33	1.78	1.78	1.56	9.78	7.78	18.00	6.22
	Medio	20.89	20.22	21.56	18.44	4.44	5.78	5.56	4.67	19.11	11.33	35.11	10.89
	Alto	49.78	40.22	46.44	37.56	10.67	9.56	12.00	9.78	29.78	19.56	69.78	19.78
Garena	Bajo	9.11	8.00	11.11	4.44	1.33	1.33	2.89	1.33	8.67	6.22	16.00	7.11
	Medio	17.33	18.22	21.33	16.44	4.22	4.67	5.56	4.00	17.33	9.33	34.22	9.11
	Alto	47.78	38.67	43.56	34.89	9.11	7.33	12.44	7.11	28.00	17.11	68.22	18.44
Colombia	Bajo	12.00	10.44	13.78	8.22	2.67	2.44	3.56	2.67	11.56	8.44	20.00	7.78
	Medio	22.22	22.22	23.11	16.44	6.22	6.67	6.67	5.33	20.44	12.22	36.67	12.44
	Alto	51.56	41.78	47.56	38.44	11.11	10.00	14.22	10.22	32.44	20.44	70.67	21.56

IAPAR 59	Bajo	14.67	13.56	16.44	9.56	5.11	5.11	5.78	5.33	12.89	11.33	21.11	10.67
	Medio	24.00	23.33	26.44	22.22	8.44	7.78	9.56	9.78	21.11	14.67	39.56	14.22
	Alto	53.33	44.00	48.67	41.56	14.44	12.44	16.67	12.22	33.33	22.44	73.33	22.44
Costa Rica	Bajo	12.44	11.78	13.78	8.00	4.22	4.44	5.11	4.22	12.22	9.56	19.78	9.33
	Medio	21.33	22.22	25.56	20.67	7.33	7.56	9.11	7.56	21.33	13.56	37.33	12.00
	Alto	51.11	42.44	46.89	39.33	12.67	10.89	12.67	10.44	31.78	20.67	70.67	22.00
Oro Azteca	Bajo	13.11	12.00	15.11	8.44	5.11	5.56	6.89	5.56	12.67	10.22	20.00	11.11
	Medio	21.33	20.89	25.33	20.44	8.22	8.67	9.56	8.00	21.33	13.33	38.22	13.11
	Alto	51.56	42.67	47.56	38.89	12.67	11.33	17.26	11.11	32.00	21.11	72.22	22.44
ICATU	Bajo	12.22	11.11	13.11	7.56	4.22	5.11	4.44	3.33	11.56	8.67	19.11	8.67
	Medio	20.89	21.33	24.89	19.33	6.67	6.67	8.44	7.11	20.67	12.89	36.67	11.33
	Alto	50.22	42.44	46.22	38.67	12.00	10.67	13.56	9.56	31.11	20.00	70.00	21.33

Baja = IAA (0.72 μ M), BAP (2.22 μ M); IAA (0.72 μ M), Cinetina (2.32 μ M); IAA (0.72 μ M), TDZ (2.29 μ M); IAA (0.72 μ M), Zeatina (2.28 μ M); IBA (0.61 μ M), BAP (2.22 μ M); IBA (0.61 μ M), Cinetina (2.32 μ M); IBA (0.61 μ M), TDZ (2.29 μ M); IBA (0.61 μ M), Zeatina (2.28 μ M); NAA (0.67 μ M), BAP (2.22 μ M); NAA (0.67 μ M), Cinetina (2.32 μ M); NAA (0.67 μ M), TDZ (2.29 μ M); NAA (0.67 μ M), Zeatina (2.28 μ M).

Media = IAA (1.42 μ M), BAP (4.44 μ M); IAA (1.42 μ M), Cinetina (4.65 μ M); IAA (1.42 μ M), TDZ (4.58 μ M); IAA (1.42 μ M), Zeatina (4.56 μ M); IBA (1.22 μ M), BAP (4.44 μ M); IBA (1.22 μ M), Cinetina (4.65 μ M); IBA (1.22 μ M), TDZ (4.58 μ M); IBA (1.22 μ M), Zeatina (4.56 μ M); NAA (1.34 μ M), BAP (4.44 μ M); NAA (1.34 μ M), Cinetina (4.65 μ M); NAA (1.34 μ M), TDZ (4.58 μ M); NAA (1.34 μ M), Zeatina (4.56 μ M).

Alta = IAA (2.85 μ M), BAP (8.88 μ M); IAA (2.85 μ M), Cinetina (9.30 μ M); IAA (2.85 μ M), TDZ (9.16 μ M); IAA (2.85 μ M), Zeatina (9.12 μ M); IBA (2.45 μ M), BAP (8.88 μ M); IBA (2.45 μ M), Cinetina (9.30 μ M); IBA (2.45 μ M), TDZ (9.16 μ M); IBA (2.45 μ M), Zeatina (9.12 μ M); NAA (2.68 μ M), BAP (8.88 μ M); NAA (2.68 μ M), Cinetina (9.30 μ M); NAA (2.68 μ M), TDZ (9.16 μ M); NAA (2.68 μ M), Zeatina (9.12 μ M).

Los explantes fueron monitoreados periódicamente, los datos fueron obtenidos después de 8 semanas de cultivo cuando los explantes parecieron haber alcanzado su máximo nivel de regeneración de nuevos brotes. En la **figura 30** se presenta un esquema representativo de la regeneración de explantes 16 cultivares de *C. arabica*, el proceso de regeneración fue monitoreado por SEM. En la **figura 30,a-b** se muestra de manera representativa un corte transversal, así como las secciones de tallo (0.5 cm de longitud), colocadas en los diferentes medios de cultivo suplementados con diferentes combinaciones y concentraciones de citocininas y auxinas. Se observó que, al inicio de la regeneración, los explantes no han formado estructuras meristemáticas, así como callo alrededor de todo el explante (**figura 30,c**).

Posterior a dos semanas de incubación, inició la formación de aglomerados de células fotosintéticas observándose células isodiamétricas pequeñas, no diferenciadas a diferencia del control (**figura 30,d-f**). Sridevi *et al.* (2014) han reportado la presencia de estructuras similares en la organogénesis directa de explantes de hipocótilo de *C. dewevrei*, así como embriones somáticos globulares. A las cinco semanas se empezó a formar el meristemo apical, se observó en todos los cultivares el domo apical y los primordios foliares que emergen de las células corticales fotosintéticas en comparación al control (**figura 30,h-i**). lo anterior, permitió la diferenciación de los explantes para formar plantas completas después de 11 semanas de cultivo, incluyendo el desarrollo de la raíz (**figura 30j-k**). La aclimatación de estas plantas en el invernadero fue posible colocándolas bajo la sombra de otras, hasta que alcanzaron el desarrollo completo, incluyendo la ramificación y la floración (**figura 30,l**).

Los resultados son similares a los publicados por Sridevi *et al.* (2010), ellos obtuvieron un tiempo de regeneración de 12 semanas en explantes nodulares de *C. canephora*, utilizando un medio similar al reportado en este trabajo, y suplementado con BAP/ IAA, además de Nitrato de Plata (AgNO_3) como regulador de la actividad del etileno. En comparación a estos autores, en este trabajo no se utilizó ningún tipo de inhibidor de etileno, obteniendo resultados similares a ese trabajo. Se ha reportado que AgNO_3 es un compuesto que puede ser tóxico en cultivo de tejidos (Vishwakarma *et al.*, 2017).

Igualmente, Al-Azab *et al.* (2015) reportaron un método de propagación de 8 semanas en yemas axilares de diferentes cultivares de *C. arabica* como Benan, Burai y Odayni Bayat. Es importante mencionar que existen pocos reportes respecto a la regeneración directa de explantes de tallo en cultivares de *C. arabica*, debido a que se necesitan probar gran cantidad de combinaciones de reguladores de crecimiento en diferentes concentraciones, además de la naturaleza recalcitrante de esta planta (Santana-Buzzy *et al.*, 2007).

La estrategia más utilizada para la regeneración *in vitro* de *C. arabica* es por medio de embriogénesis somática. Sin embargo, el tiempo requerido para la regeneración completa varía de 1 a 2 años (Kumar *et al.*, 2006). Por lo tanto, los datos obtenidos en este trabajo pueden ser de gran ayuda en estudios de regeneración y mejoramiento genético de *C. arabica*.

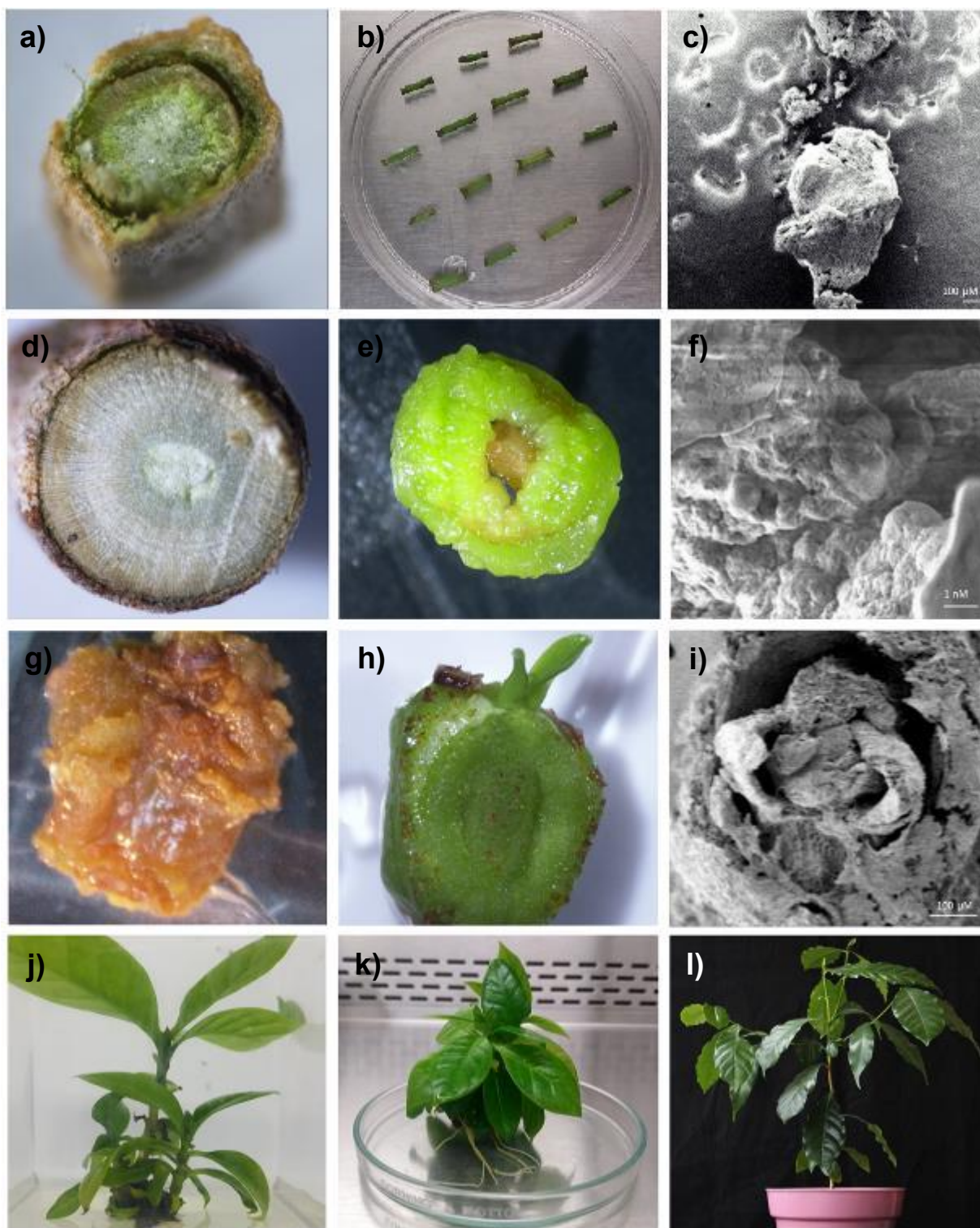


Figure 30. Organogénesis directa de explantes de tallo de cultivares de *C. arabica*. a) Un explante de tallo en el inicio del estudio. b) Experimento representativo con 15 explantes por caja Petri. c) Imagen de SEM de un explante de tallo con cero días de cultivo (bar 100 µm). d) Explante usado como control en medio sin reguladores

de crecimiento, después de dos semanas de cultivo. **e)** Aglomerado de células fotosintéticas en medio MS suplementado con 9.16 μM TDZ y 2.86 μM NAA después de 2 semanas de cultivo **f)** Imagen de SEM de aglomerados de células fotosintéticas después de 2 semanas de cultivo. **g)** Explante usado como control en medio sin reguladores de crecimiento, después de cinco semanas de cultivo. **h)** Regeneración directa de brotes después de 5 semanas de cultivo. **i)** Imagen de SEM de un meristemo vegetativo ya diferenciado después de 5 semanas de cultivo (bar100 μm). **j)** Formación y elongación de múltiples brotes después de 8 semanas de cultivo. **k)** Una planta regenerada con sistema radical bien desarrollado después de 12 semanas de cultivo. **l)** Planta aclimatada creciendo en invernadero.

La eficiencia de la regeneración de explantes por organogénesis directa se cuantificó mediante ensayos que combinaron en pares, cuatro citocininas y tres auxinas como se describe en los materiales y métodos. Cada concentración fue llamada como: tratamiento alto, medio y bajo, respectivamente. En total, se probaron 36 combinaciones para cada cultivar de *C. arabica*. Los resultados indican que la combinación de citocininas con auxinas es esencial para la inducción de brotes. Esta observación fue independiente de la citocinina utilizada.

El porcentaje de regeneración se vio afectado por una mayor concentración de citocininas y de auxinas en todos los tratamientos, con una menor regeneración en los tratamientos medio y bajo. En la **figura 31** se muestra una gráfica comparativa que contrasta las diferencias de porcentajes de regeneración entre los extremos de respuesta (tratamiento “alto” versus tratamiento “bajo”) así como la diferencia significativa entre tratamientos (**anexo 4**).

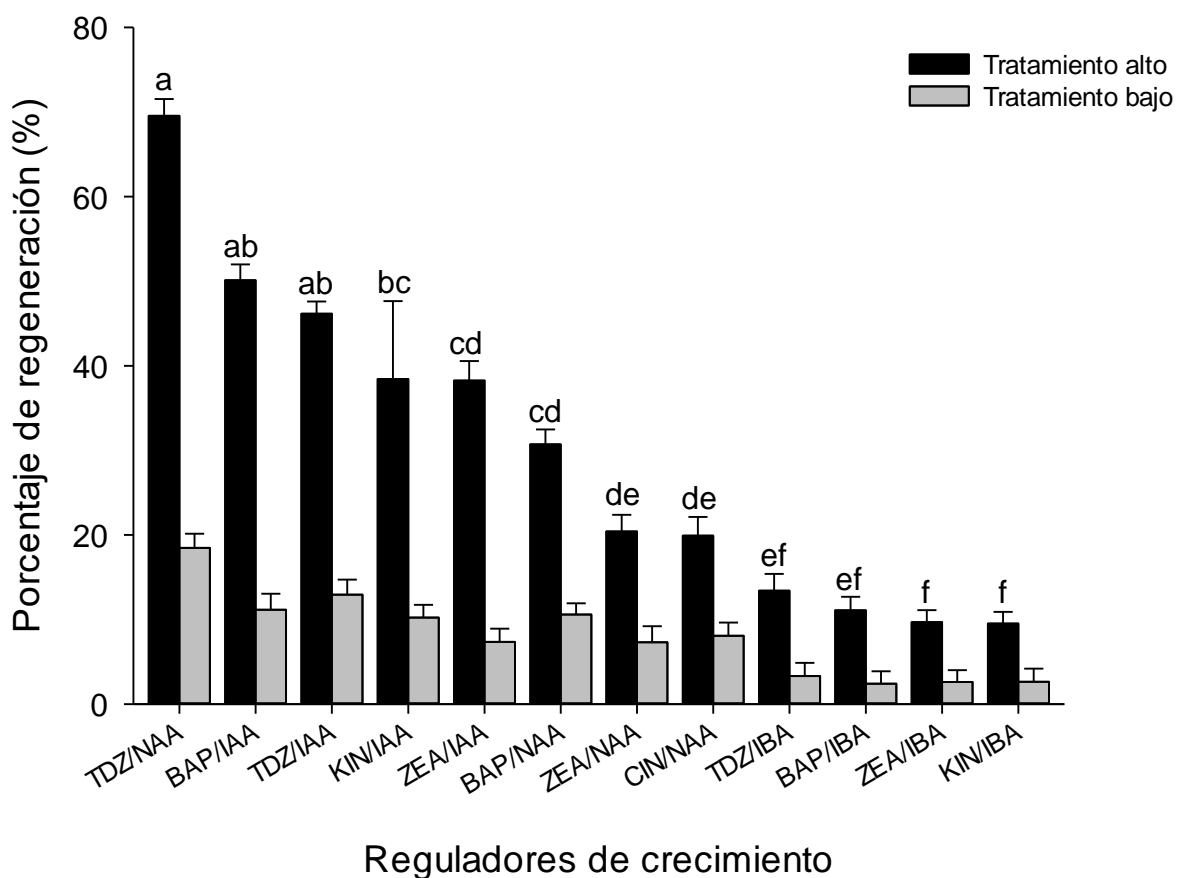


Figura 31. Extremos de respuesta de los porcentajes de regeneración de 16 cultivares de *C. arabica*. Las barras de error representan las medias de regeneración \pm DE. Los valores indicados por la misma letra dentro de las variables de respuesta no son significativamente diferentes (suma de rangos de Mann-whitney, $P \leq 0.001$). ZEA=Zeatina. CIN=Cinetina.

De las 12 posibles combinaciones de reguladores de crecimiento, en todos los cultivares se observaron diferencias significativas (análisis ANOVA de dos vías) entre los tratamientos: alto con medio, alto con bajo y medio con bajo (**anexo 5**). Cada uno de los 16 cultivares tuvieron una respuesta de regeneración similar para cada

combinación y tratamiento probado. Las ocasiones en las que se observó diferencia significativa son descritas en los siguientes párrafos.

Entre las diferentes combinaciones probadas. Los mejores resultados se obtuvieron con el tratamiento “alto” de TDZ (9.16 μM) y NAA (2.86 μM), con porcentajes de regeneración de 73.33% para IAPAR 59 y 72.22% para Oro Azteca, respectivamente. En presencia del mismo medio, se observó una respuesta similar en todos los cultivares de *C. arabica*, con valores entre 67% y 70.66%. No hubo diferencia significativa del porcentaje de regeneración entre cultivares (**anexo 5**). Se han reportado resultados similares en diferentes especies de plantas al usar esta combinación de reguladores de crecimiento a las mismas concentraciones (Cogbill *et al.*, 2010; Ghimire *et al.*, 2012; Guo *et al.*, 2012; Aremu *et al.*, 2016).

Se ha reportado que TDZ, es una citocinina sintética, que estimula la inducción de la regeneración de brotes y embriogénesis somática en algunas especies de plantas (Akasaka *et al.*, 2000; Shan *et al.*, 2000; Ouma *et al.*, 2004). Concentraciones muy bajas de TDZ pueden no proporcionar un estímulo suficiente para generar una respuesta óptima en el explante (Ahmed *et al.*, 2012).

Mientras que la exposición prolongada a este compuesto tiene efectos adversos como la inhibición del crecimiento y multiplicación de los brotes (Ahmad & Anis, 2007). Tanto la concentración como la duración de la exposición a TDZ influye directamente en la frecuencia de regeneración y alargamiento del brote (Ahmad & Anis., 2007; Liu *et al.*, 2016). En algunas especies, se ha demostrado que la actividad de TDZ es aproximadamente 30 veces mayor que la de BAP, zeatina, y Cinetina (Murch *et al.*, 1997).

Se observó que el tratamiento “medio” y “bajo” de la combinación TDZ/NAA tuvieron mejores porcentajes de regeneración (tratamiento “medio”: de 34% a 39.56% y tratamiento “bajo”: de 16% a 21.11%) en comparación a los tratamientos altos de BAP/IBA (de 9.11% a 14.44%), Cinetina/IBA (de 8.22% a 12.44%), TDZ/IBA (de 11.56% a 17.26%) y Zeatina/IBA (de 7.78% a 12.22%), observándose diferencias significativas (**anexo 5**) (**tabla 3**). Conjuntamente, el tratamiento “medio” de TDZ/NAA fue mejor que el tratamiento “alto” de BAP/NAA (28% a 33.33%), Cinetina/NAA (de 17.11% a 22.44%) y Zeatina/NAA (de 18% a 22.44%), en donde también se observaron diferencias significativas.

Diversos autores han mencionado que NAA es la única auxina que tiene la ventaja de penetrar fácilmente la membrana plasmática sin la necesidad de una absorción activa, asegurando así un rápido aumento del nivel de auxinas dentro de la célula (Nordström *et al.*, 2004). Por lo que esto podría ser una explicación a los resultados obtenidos al utilizar esa auxina (Aremu *et al.*, 2016).

Respecto a las demás combinaciones en donde se utilizó NAA, los porcentajes de regeneración no fueron tan prometedores como los obtenidos con la combinación TDZ/NAA (**tabla 3**). La sinergia entre la citocinina y auxina usada tiene un efecto significativo en el porcentaje de regeneración de los explantes, el tratamiento que obtuvo mejores resultados (NAA/TDZ), combina a la auxina que más fácilmente penetra a la célula (Nordström *et al.*, 2004), con la citocinina con mejor respuesta para inducir organogénesis directa (Murch *et al.*, 1997). Sin embargo, faltan investigaciones al respecto que permitan corroborar la asociación entre estos dos reguladores de crecimiento.

Al analizar los porcentajes de regeneración de las demás combinaciones de reguladores de crecimiento, encontramos que la segunda mejor fue la de BAP/IAA con porcentajes entre 7.78% y 53.33% para los 16 cultivares. El tratamiento “alto” (53.33%) es similar al reportado por Sridevi *et al.* (2014), quienes obtuvieron un porcentaje de regeneración del 60% en *C. deweri*, utilizando la misma combinación y concentración de reguladores de crecimiento (8.87 μ M, BAP/ IAA, 2.85 μ M).

El tratamiento “medio” de BAP/IAA presentó valores de 17.33% a 24% y el “bajo” de 9.11% a 14.67%. Los valores de estos dos tratamientos fueron mejores a los tratamientos “altos” de las combinaciones BAP/IBA (de 9.11% a 14.44%), IBA/Cinetina (de 8.22% a 12.44%) e IBA/Zeatina (de 7.78% a 12.22%). Se corroboró que estas diferencias fueran significativas mediante el análisis estadístico correspondiente (**anexo 5**). Conjuntamente, el tratamiento “medio” de IBA/BAP fue significativamente mejor al compararlo con los tratamientos “medio” de todas las combinaciones en las que se usó IBA, así como en la combinación NAA/Cinetina (de 10.22% a 14.67%) y NAA/Zeatina (de 9.33% a 14.22%).

En relación con las otras combinaciones donde se utilizó IAA, se observaron porcentajes de regeneración en los tres tratamientos que oscilaban entre el 2.44% y 41.56% para la combinación IAA/Cinetina, la combinación IAA/TDZ mostro porcentajes de 11.11% a 48.67% y para IAA/Zeatina la respuesta de regeneración osciló entre el 1.78% y 41.56%.

Las combinaciones que tuvieron los resultados menos favorecedores en los tres tratamientos fueron aquellas en las que estuvo presente IBA, el tratamiento IBA/BAP tuvo porcentajes del 1.33% al 14.44%, IBA/Cinetina de 1.22% a 12.44%, IBA/Zeatina de 1.33% a 12.22% e IBA/TDZ de 1.33% a 17.26%. A pesar de que en este último tratamiento estuvo presente TDZ, el porcentaje de regeneración fue menor en comparación a cuando se utilizó en combinación con NAA (tratamiento “alto”, de 67% a 73.33%, “medio”, 34% a 39.56% y “bajo”, de 16% a 21.11%) o IAA (tratamiento “alto”, de 43.56% a 46.67%, “medio”, 21.33% a 26.44% y “bajo”, de 11.11% a 16.44%).

Lo anterior indica que la auxina utilizada en cada combinación tuvo un papel fundamental en la respuesta de la organogénesis directa en tallos de café, la mejor combinación fue la de NAA/TDZ. Sin embargo, el mejor grupo de combinaciones fue aquel en el que se utilizó IAA, Omitiendo a la combinación NAA/TDZ, las combinaciones de los cuatro citocininas con IAA, presentaron los porcentajes más altos de regeneración. En la **figura 32** se muestran juntos los porcentajes de regeneración de los 16 cultivares usados en este estudio.

Por último, Se observó que los cultivares que tienen un origen híbrido (Costa Rica, Colombia, IAPAR 59, Oro Azteca e ICATU) tuvieron en general, mejor respuesta de regeneración en comparación a los demás cultivares. El vigor híbrido es una fuente de variación genética y fenotípica en poliploides (Feldman & Levy, 2005).

Se ha reportado que, en diferentes especies de plantas, los híbridos poseen características diferentes en comparación a sus parentales (Osborn *et al.*, 2003, Chen, 2007). Generalmente, apunta a aumentos en la biomasa, el crecimiento, la estatura, la tasa de regeneración de brotes, los niveles de fertilidad tolerancia a estrés biótico/abiótico y se ha considerado uno de los aspectos más importantes para la mejora de los cultivos (Chen, 2010).

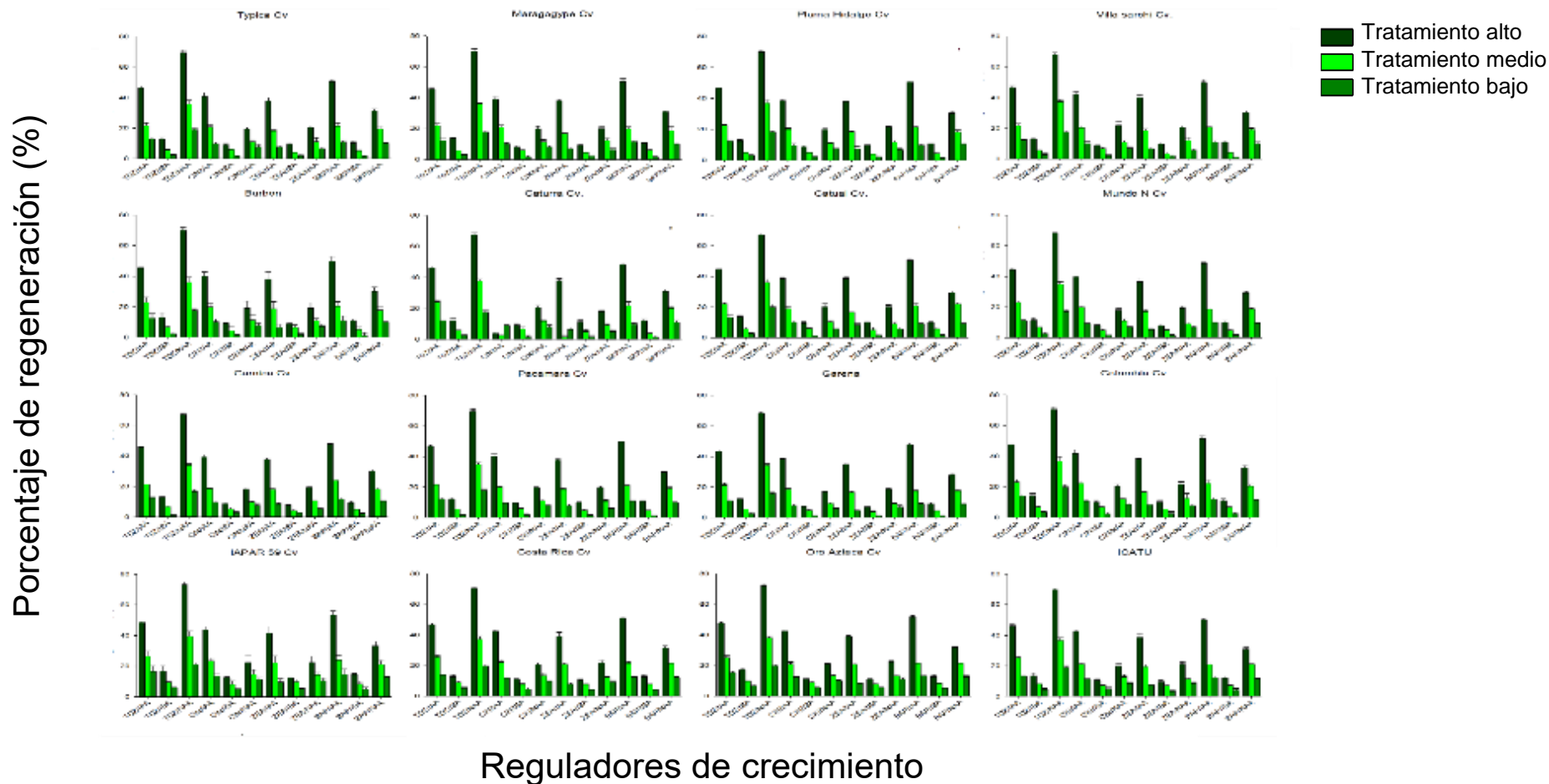


Figura 32. Efecto de 12 combinaciones y tres diferentes tratamientos de Auxinas/Citocininas, en la regeneración de brotes a partir de explantes de tallo de 16 cultivares de *C. arabica*. La organogénesis es favorecida a concentraciones altas de reguladores de crecimiento. Concentraciones bajas muestran un menor porcentaje de regeneración en todos los cultivares.

6.3 Regeneración de injertos de café por medio de organogénesis directa

Una vez que se conoció el mejor medio de regeneración, se procedió a regenerar cada uno de los injertos que cicatrizaron y crecieron satisfactoriamente. El experimento consistió en dos cajas Petri por injerto, con 15 explantes de aproximadamente 0.5 cm², el medio de regeneración contenía medio MS suplementado con TDZ (9.16 µM) y NAA (2.86 µM). se detectaron 443 brotes provenientes de los segmentos de injerto, en total se obtuvieron 28 plantas *in vitro*, de las cuales seis fueron pasadas a tierra (**tabla 4**).

Tabla 4. injertos regenerados en medio MS suplementado con TDZ (9.16 µM) y NAA (2.86 µM).

Injerto regenerado	Explantes para regenerar	Explantes con brotes regenerados	Brotes por explante
Iapar 59 x Typica	30	8	2
Costa Rica x Typica	30	7	3
Oro Azteca x Pluma Hidalgo	30	6	2
IAPAR 59 x Bourbon	30	7	2
Robusta x Caturra	30	8	2
Robusta x ICATU	30	7	3
Robusta x Mundo N	30	7	2
Robusta x Catuaí	30	6	2
Costa Rica x Villa sarchí	30	7	2
Oro Azteca x Caturra	30	8	3

Colombia x Bourbon	30	6	2
Oro Azteca x Bourbon	30	6	2
Robusta x Garena	30	8	3
Robusta x Oro Azteca	30	8	2
ICATU x Pacamara	30	8	2
Robusta x Oro Azteca	30	6	3
Costa Rica x Colombia	30	7	2
Robusta x Typica	30	6	2
Robusta x IAPAR 59	30	6	3
Oro Azteca x Garena	30	8	2
ICATU x Garnica	30	6	2
IAPAR 59 x Villa sarchí	30	5	3
IAPAR 59 x Garena	30	6	3
Oro Azteca x Maragogype	30	6	2
Oro Azteca x Pacamara	30	7	2
Robusta x Colombia	30	6	3
IAPAR 59 x Oro Azteca	30	7	2
ICATU x Garena	30	6	3

(Continuación)

Cabe mencionar que con el paso del tiempo algunos de los brotes fueron perdiendo viabilidad, a pesar de que tuvieron las condiciones necesarias para su crecimiento como temperatura (26 °C), luz (16/8 h de fotoperíodo) y medio fresco (el traspase se hizo cada dos semanas para evitar oxidación del medio de cultivo y proporcionar

nutrientes frescos, así como reguladores de crecimiento necesarios). Se ha reportado ampliamente en hibridación somática de protoplastos, que cuando se fusionan dos genomas completos, puede surgir un fenómeno llamado "conflicto genético", este fenómeno puede ocasionar que ciertos cromosomas se repelen entre sí, debido a que se introduce una cantidad significativa de material genético no deseado por la célula (Schluter, 2009; Sobel *et al.*, 2010).

Estas limitaciones resultan en: crecimiento anormal (Sherraf *et al.*, 1994), regeneración de híbridos con baja fertilidad (Spangenberg *et al.*, 1994; Kisaka *et al.*, 1998; Hu *et al.*, 2002), brotes no enraizados (Wakita *et al.*, 2005 ; Sonntag *et al.*, 2009), callos recalcitrantes (Liu *et al.*, 2005; Pati *et al.*, 2008; Han *et al.*, 2009) y crecimiento híbrido lento (Zhou *et al.* 2006; Wang *et al.* 2011c). Posiblemente, un fenómeno similar podría estar ocurriendo en las plantas provenientes de la zona de injerto.

En otro orden de ideas, después de cuatro semanas de incubación, se observó el inicio de la formación de aglomerados de células fotosintéticas observándose células isodiamétricas pequeñas (**Figura 33,c-d**). En los tallos de café no injertados, este proceso se llevó a cabo en dos semanas. A las 12 semanas se observó la formación de meristemas apicales y subsecuentemente la formación de hojas (**33, e-g**).

Las plántulas regeneradas presentaron diferentes patrones de crecimiento, se observaron plántulas que crecieron de en medio del explante, otras que crecieron solo en donde había nudos y otras que crecieron solo de la parte lateral del explante (**33, h**). Se encontró que en cada explante había de 2 a 3 brotes regenerados (**33, i-j**).

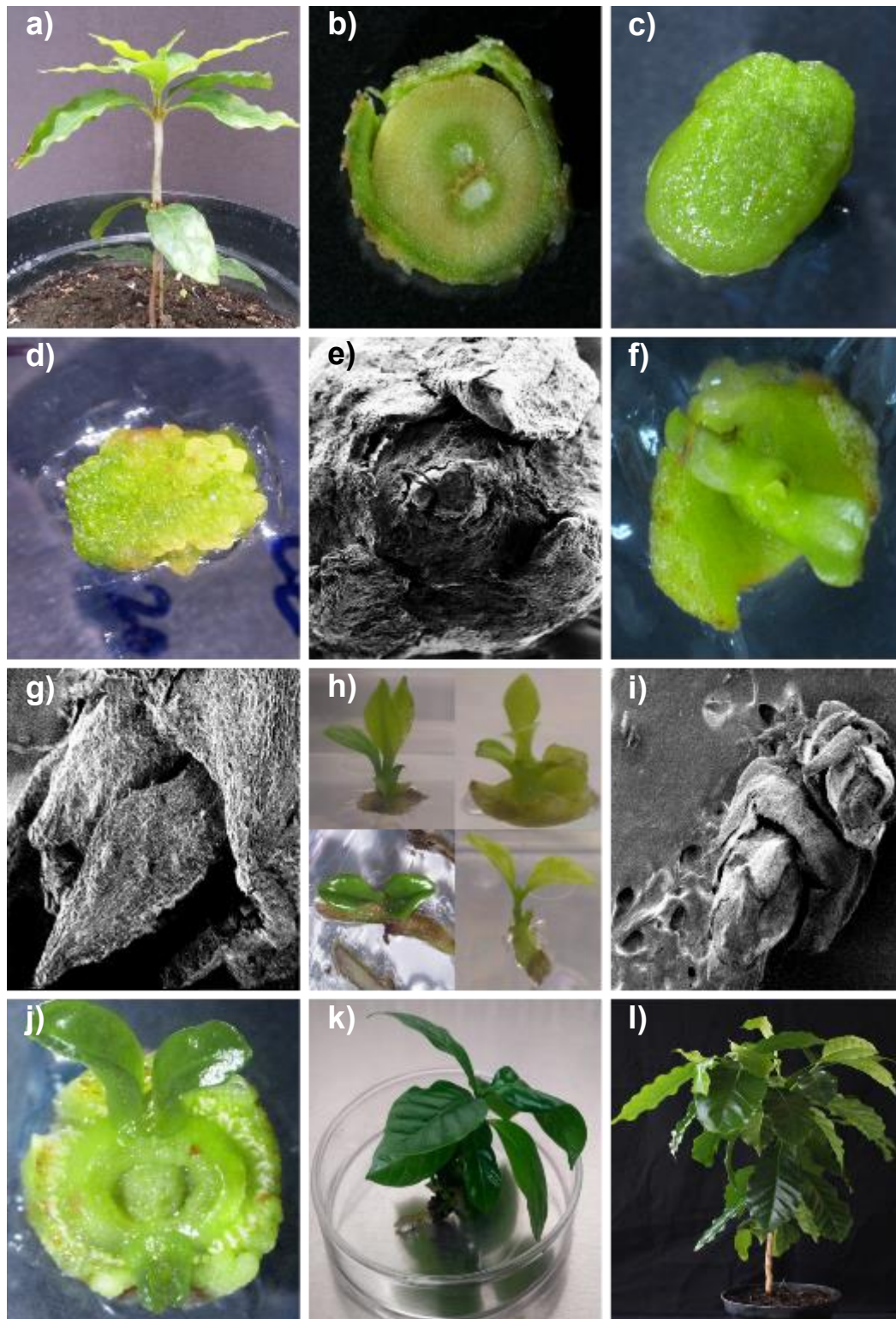


Figure 33. Organogénesis directa de injertos de café. a) Injerto de café previo al proceso de regeneración. b) Explante representativo de un corte transversal del injerto al inicio del ensayo. c) Explante en medio MS suplementado con $9.16 \mu\text{M}$ TDZ y 2.86

μ M NAA, después de dos semanas de cultivo. **d)** Aglomerado de células isodiamétricas no diferenciadas después de cuatro semanas de cultivo. **e)** Imagen de SEM de un meristemo vegetativo y primordios de hoja ya diferenciados, posterior a 12 semanas de cultivo (bar 100 μ m). **f)** Regeneración directa de un brote proveniente de la zona del injerto, posterior a 13 semanas de cultivo. **g)** Imagen de SEM del inicio del desarrollo de las primeras hojas (bar 100 μ m). **h)** Elongación de brotes creciendo de diferentes maneras. **i)** Imagen de SEM de dos brotes creciendo en un explante, posterior a 15 semanas de cultivo (bar 100 μ m). **j)** Imagen representativa de dos brotes creciendo en un explante, posterior a 15 semanas de cultivo **k)** Planta regenerada con sistema radical, posterior a 20 semanas de cultivo. **l)** Planta aclimatada creciendo en invernadero.

El proceso de organogénesis para formar plantas completas (con parte aérea y de raíz) tardó 20 semanas de cultivo (**33, k**). A diferencia de las plantas provenientes de los injertos, las plantas sin injertar tardaron 11 semanas en regenerar la parte aérea y el sistema radical. La diferencia en el tiempo de regeneración posiblemente se deba a que al fusionarse los dos parentales en el injerto, las células de la zona del injerto adquirieron un aumento de ploidía debido a la THG y por lo tanto, tuvo una respuesta de regeneración diferente a las plantas sin injertar.

Se ha reportado que en la zona del injerto existen células con diferente nivel de ploidía (mixoploides), resultado de la fusión de protoplastos durante el proceso de cicatrización y de la unión del injerto (Yin *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2017a). Nilanthi *et al.* (2009) mencionan que los organismos mixoploides pueden llegar a retrasar su crecimiento debido a que diferentes tipos de células tienen un desarrollo asincrónico

basado en el ciclo celular de la planta. No obstante, a pesar del prolongado periodo de regeneración, las plantas se desarrollaron gradualmente (33,I) En la **figura 34** se muestran algunas plantas regeneradas provenientes de la zona del injerto.

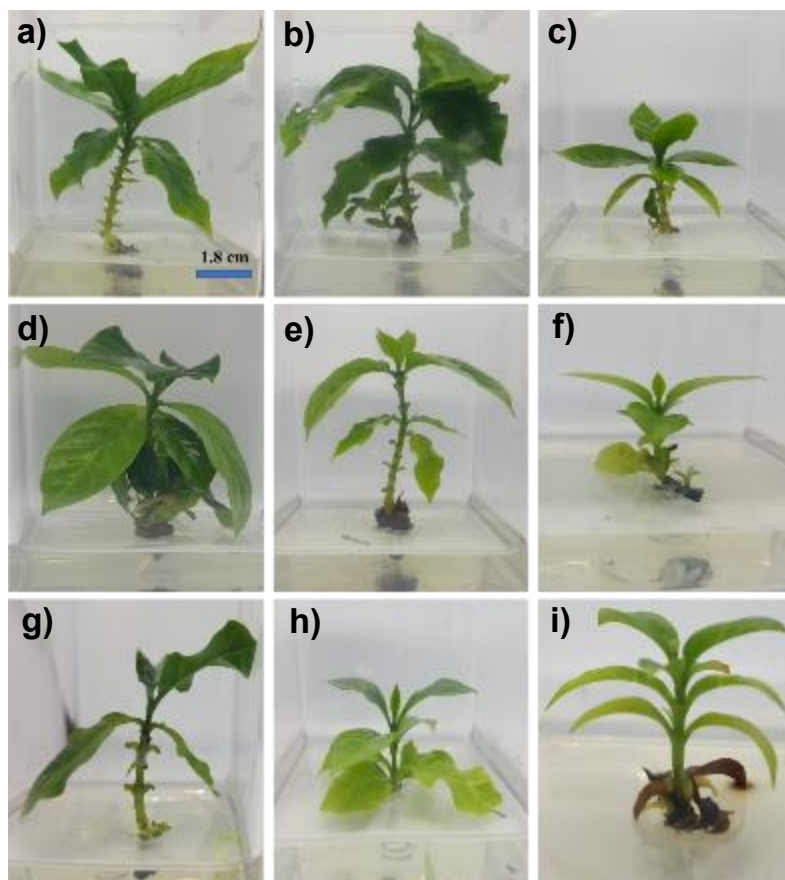


Figura 34. Plantas regeneradas de la zona del injerto. a) *C. canephora* cv. Robusta x *C. arabica* cv. Oro Azteca. b) *C. arabica* cv. Costa Rica x *C. arabica* cv. Colombia. c) *C. canephora* cv. Robusta x *C. arabica* cv. Garena. d) *C. arabica* cv. IAPAR 59 x *C. arabica* cv. Typica. e) *C. arabica* cv. ICATU x *C. arabica* cv. Garnica. f) *C. arabica* cv. IAPAR 59 x *C. arabica* cv. Bourbon. g) *C. canephora* cv. Robusta x *C. arabica* cv. Caturra h) *C. canephora* cv. Robusta x *C. arabica* cv. IAPAR 59 i) *C. canephora* cv. Robusta x *C. arabica* cv. Catuai.

6.4 Análisis del tamaño de genoma de plantas de café por Citometría de Flujo

Para conocer el contenido genético de los parentales usados en los injertos, así como de las plantas regeneradas, se necesita hacer una comparación con el tamaño de genoma de alguna planta de la cual se conozca su contenido genético, ésta planta es conocida como estándar. En este trabajo se realizó una comparación con dos estándares de tamaño de genoma reportado previamente.

6.4.1 Contenido de ADN nuclear de los estándares utilizados

El primer paso en el análisis FCM, fue definir los valores 2C de los estándares para posteriormente llevar a cabo la cuantificación del contenido de ADN de los cultivares de *C. arabica*. Cuando se usó IP como compuesto de tinción, los núcleos pertenecientes a la fase G0/G1 de soya fueron localizados en la gráfica de dispersión (dot plot), con un valor de fluorescencia de 163 y de 70.48 con DAPI (**figura 35**). El tamaño del genoma de soya fue de $2C = 2.30 \pm 0,030$ pg. Estos valores son similares a los reportados por Arumuganathan *et al.* (1991) ($2C = 2,31$ pg) y Vilhar *et al.* (2001) ($2C = 2.34$ pg).

Doležel & Greilhuber (2010) sugieren que, para utilizar una planta como estándar esta debe poseer diversas características entre las que destacan: un tamaño del genoma similar pero no idéntico a la planta de estudio, el pico G0/G1 del estándar no debe solaparse con el pico G0/G1 de la muestra. Además, el estándar debe ser genéticamente estable, los núcleos deben obtenerse en cantidades suficientes para el análisis y el tamaño de genoma del estándar debe ser ampliamente reportado en literatura con un AT% similar al de la planta a analizar. La soya tiene todas estas

características y es uno de los ocho mejores estándares primarios según Praça-Fontes *et al.* (2011).

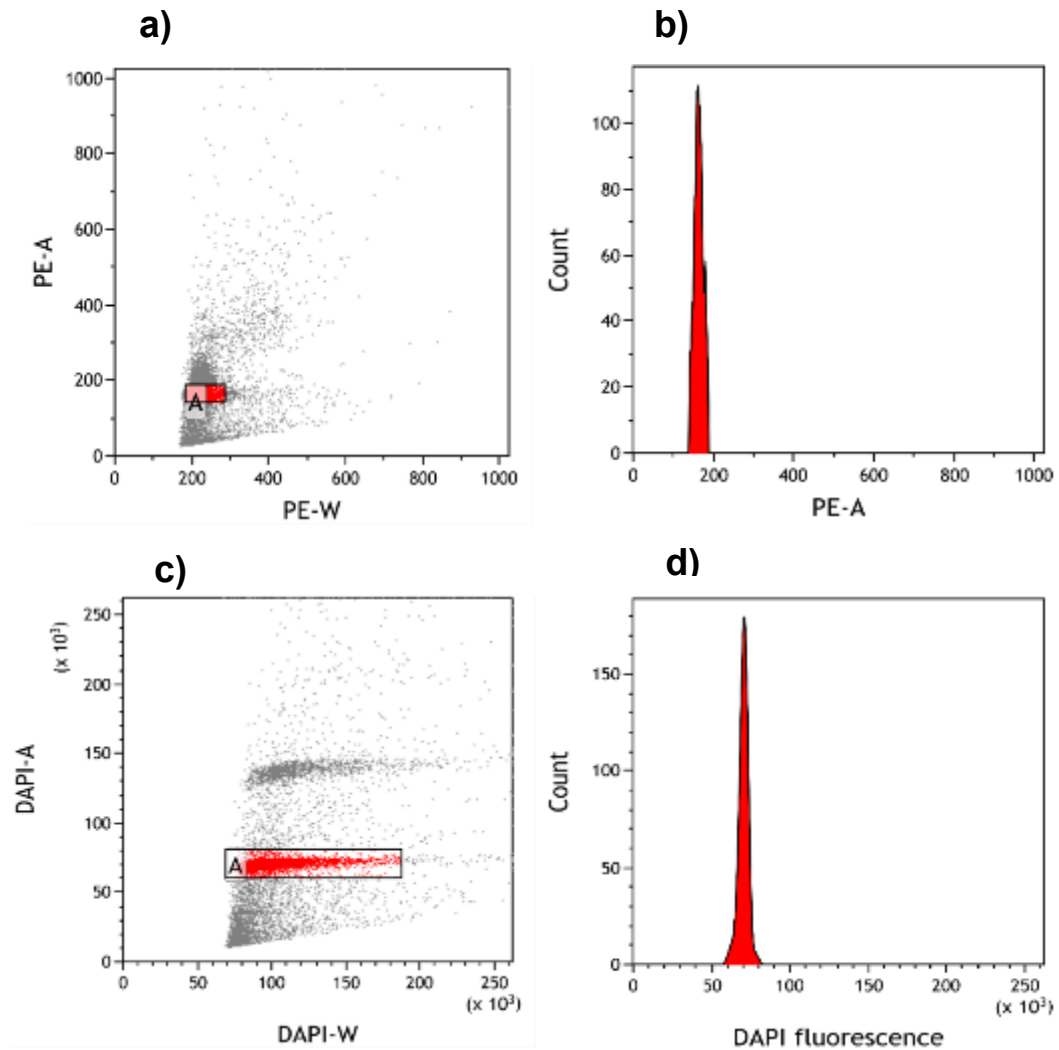


Figura 35. Análisis del tamaño de genoma de soja. a) Gráfica dot plot, núcleos teñidos con IP. **b)** citograma, núcleos teñidos con IP. **c)** Gráfica dot plot, núcleos teñidos con DAPI. **d)** citograma, núcleos teñidos con DAPI.

En la figura anterior se muestran los citogramas y graficas dot plot de soya, con un total de 3162 núcleos teñidos con IP y 4888 con DAPI, el CV tuvo valores de 4.09 y 6.82% respectivamente. Doležel & Bartos (2005) mencionan que un CV menor a 5% es el adecuado para poder considerar una muestra de buena calidad.

El coeficiente de variación puede verse afectado por la centrifugación de los núcleos y la correcta eliminación del sobrenadante, la adición de antioxidantes, las condiciones ambientales de crecimiento entre las muestras, las repeticiones en diferentes periodos, y la presencia de metabolitos secundarios como lo son los compuestos fenólicos (Clarindo *et al.*, 2011).

En ese mismo contexto, Clarindo *et al.* (2013) mencionan que es necesario utilizar un estándar secundario para evitar pseudo-variaciones así como consecuentes estimaciones imprecisas del tamaño de genoma en *C. arabica*. En este trabajo, *C. canephora* fue utilizado como segundo estándar debido a la cercana relación con *C. arabica*. Cuando se utilizó IP, El pico G0/G1 de *C. canephora* se observó en el canal de fluorescencia 92 al usar IP y al usar DAPI en el canal de fluorescencia 49 (**Figura 36**), se obtuvo un valor de $2C = 1.29 \pm 0.051$ pg. Se ha reportado que el contenido del genoma de *C. canephora* se encuentra en el intervalo de 1.20 a 1.40 pg (Cros *et al.*, 1995; Noirot *et al.*, 2003a, 2003b).

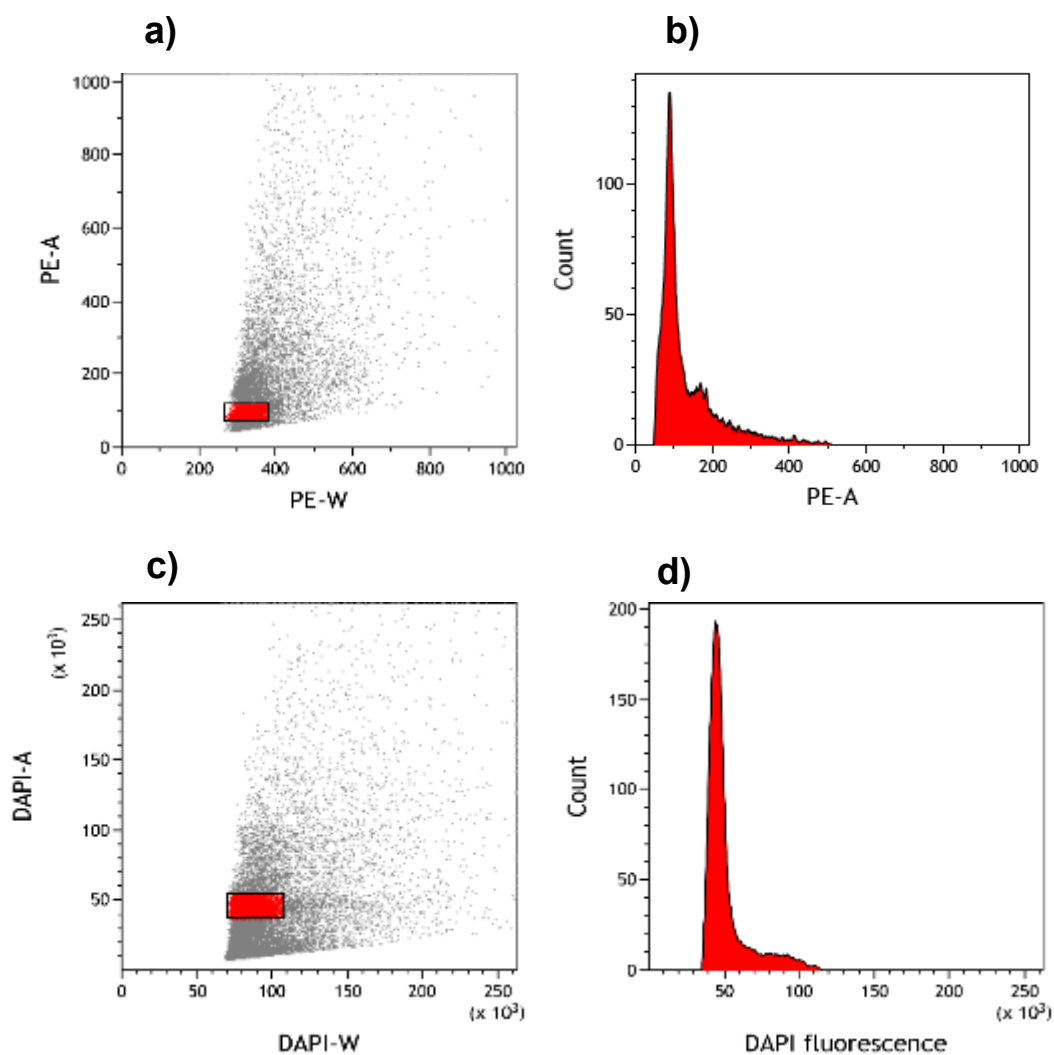


Figura 36. Análisis del tamaño de genoma de *C. arabica*. **a)** Grafica dot plot de núcleos teñidos con IP; **b)** citograma de núcleos teñidos con IP; **c)** Grafica dot plot de núcleos teñidos con DAPI; **d)** citograma de núcleos teñidos con DAPI.

En otros estudios han seleccionado a *C. canephora* como estándar para determinar el contenido nuclear de ADN en diferentes especies de *Coffea* (Clarindo *et al.*, 2009, 2013). De acuerdo con los datos obtenidos, se corroboró que el contenido de ADN de *C. canephora* es menor en comparación a la especie *C. arabica*. Esto se debe a que *C. canephora* es una especie diploide mientras que *C. arabica* es la única especie de *Coffea* con $2n = 44$ cromosomas, se ha considerado un alotetraploide segmentado

natural que contiene dos sub-genomas, originados de un cruce entre dos especies diploides, $2n = 22$ (Lashermes *et al.*, 1993; Orozco-Castillo *et al.*, 1996; Baruah *et al.*, 2003). Se ha considerado que algunas especies de *Coffea* diploides son los posibles progenitores, como *C. eugenioides* (Orozco-Castillo *et al.*, 1996; Raina *et al.*, 1998; Lashermes *et al.*, 1997) y *C. canephora* (Lashermes *et al.*, 1997, 2000; Ruas *et al.*, 2003).

Es importante mencionar que además de utilizar los dos estándares previamente descritos, se utilizaron otras plantas modelo como *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum*, *Solanum lycopersicum* y *Zea mays*. pero el tamaño de su genoma no es similar al de los cultivares de *C. arabica* y se tuvieron dificultades para el cálculo del contenido de ADN, Incluso el tamaño de genoma de *Solanum lycopersicum* resultó idéntico al de algunos cultivares analizados en este trabajo. No obstante, los datos obtenidos de esas plantas modelo pueden servir en futuros estudios relacionados con el ciclo celular, nivel de ploidía y tamaño de genoma de plantas (**anexo 6**).

6.4.2 Histogramas de fluorescencia de cultivares de *C. arabica*

Se analizó el ciclo celular de 16 cultivares de *C. arabica*. Se localizó el pico G0/G1 de cada cultivar en las gráficas de dispersión celular (dotplot) (**anexo 7 y 8**). Se obtuvieron valores de fluorescencia en un intervalo de 181.7 a 216.91 con IP y de 90.83 a 104.96 con DAPI (**tabla 5**).

Tabla 5. Valores de fluorescencia pertenecientes a 16 cultivares de *C. arabica*. Como estándar primario se utilizó soya, *C. canephora* fue usado como estándar secundario.

Cultivares	Media de fluorescencia		Número de núcleos		Coeficiente de variación (%)	
	DAPI	IP	DAPI	IP	DAPI	IP
Typica	90.83	181.7	2173	3549	5.85	5.23
Maragogype	93.79	185.49	6118	5580	5.85	5.65
Pluma Hidalgo	93.86	188.91	9193	2924	5.55	5.43
Villa Sarchí	94.19	196.07	7570	3072	6.22	4.21
Bourbon	94.35	202.97	5910	4504	5.88	5.66
Caturra	95.49	204.37	7357	4738	5.44	6.13
Catuai	95.61	204.83	9121	5505	5.44	4.44
Mundo Novo	95.72	205.67	7229	3213	5.48	4.29
Garnica	95.95	208.11	4834	4474	5.65	5.65
Pacamara	97.5	212.63	6267	3246	5.64	6.32
Garena	97.77	214.95	5950	3606	5.55	4.97
Colombia	98.15	216.6	6908	3354	4.87	5.15
IAPAR 59	98.42	216.91	3628	2716	5.09	4.96
Costa Rica	99.12	221.9	8102	3700	5.42	5.73
Oro Azteca	104.26	224.04	5237	2833	5.4	5.22
ICATU	104.96	224.35	6404	4896	5.09	6.02

Se obtuvo un conteo de núcleos entre 3500 y 5500 con IP, al usar DAPI se obtuvo un conteo de núcleos entre 2000 y 9000 núcleos, Así como un CV del 4 al 6%. Clarindo *et al.* (2012) describieron que en algunos cultivares de *C. arabica* es difícil obtener valores de CV menores al 5% (nivel recomendado por Doležel & Bartos 2005).

En el presente trabajo se realizaron pruebas de presencia de inhibidores (Huang *et al.*, 2013; Choudhury *et al.*, 2014) y se desarrolló un protocolo para el aislamiento de núcleos para evitar estimaciones erróneas del tamaño del genoma. Los resultados anteriores sugieren que los datos obtenidos de los histogramas fueron apropiados para el análisis del tamaño del genoma, se observaron señales de fluorescencia bien definidas pertenecientes a la fase G0/G1 del ciclo celular. De manera representativa en la **figura 37** se muestran 16 citogramas de los cultivares de *C. arabica*.

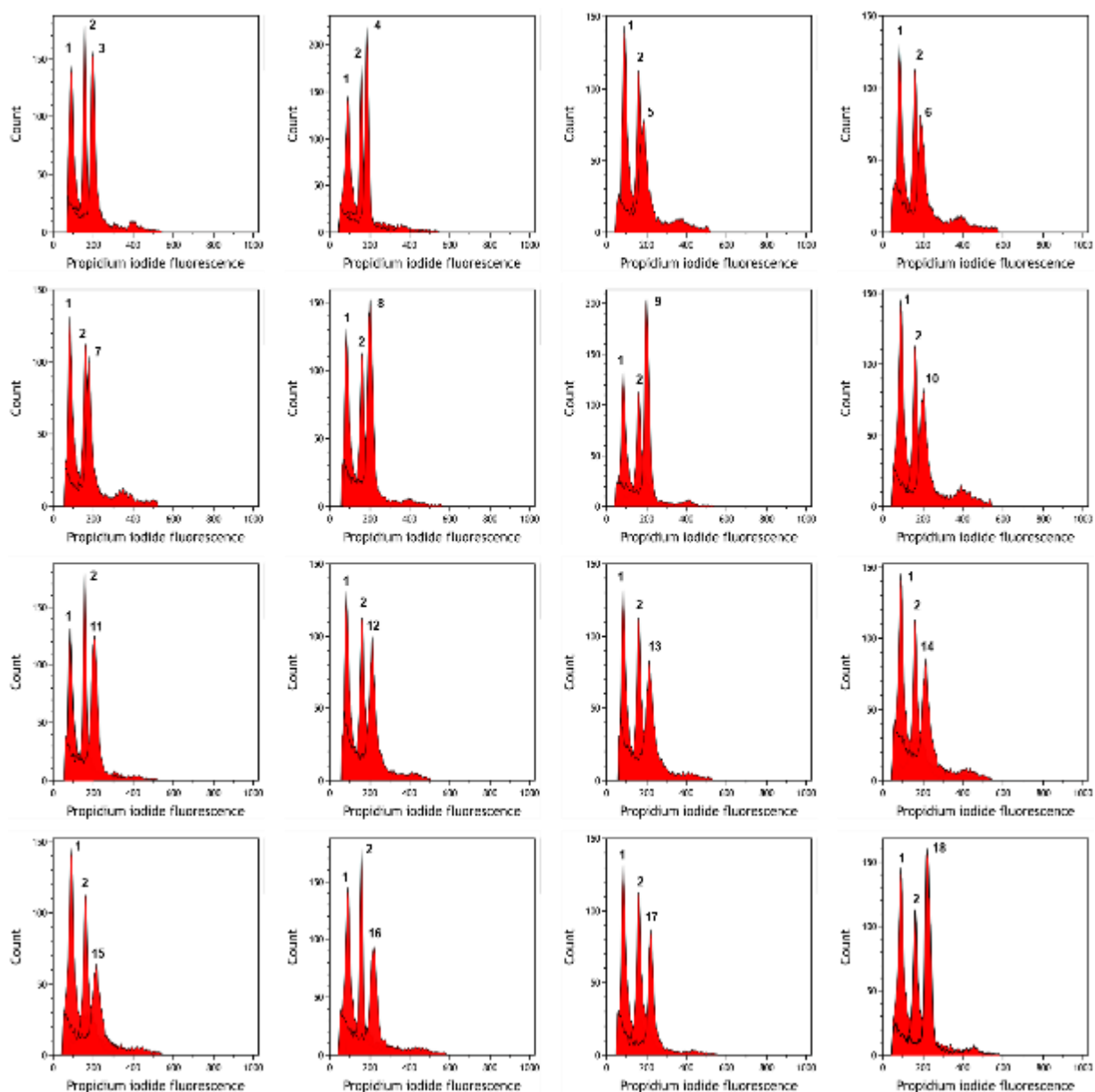


Figura 37. Citogramas representativos de la intensidad de fluorescencia de núcleos de cultivares de *C. arabica* y estándares. 1) Soya (canal 163.6) y 2) *C. canephora* (canal 92.85). 16 cultivares representativos son mostrados: 3) Typica; 4) Maragogype; 5) Pluma Hidalgo; 6) Villa sarchi; 7) Bourbon; 8) Caturra; 9) Catuai; 10) Mundo Novo; 11) Garnica; 12) Pacamara; 13) Garena; 14) Colombia; 15) IAPAR 59; 16) Costa Rica; 17) Oro Azteca; 18). ICATU.

Es importante mencionar que los valores de fluorescencia obtenidos con DAPI fueron utilizados para conocer el %AT y GC% presente en el genoma de los cultivares de *C. arabica* y para llevar a cabo una comparación indirecta con los valores 2C obtenidos con IP como compuesto de tinción. los valores obtenidos con DAPI solo pueden considerarse como relativos debido a que este compuesto se une preferencialmente a regiones De ADN ricas en A-T. Por lo tanto, se generan estimaciones incorrectas de las cantidades absolutas de ADN (Doležel & Bartos 2005). Debido a lo anterior, los resultados obtenidos con IP fueron usados para calcular el contenido de ADN absoluto, debido a que este compuesto se intercala en el surco menor de la doble hélice del ADN evitando la interacción con pares de bases específicas como en el caso de DAPI.

En términos de fluorescencia, Los cultivares de *C. arabica* analizados se clasificaron en dos grupos que están de acuerdo con otros trabajos en donde utilizaron técnicas como amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD), polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP) y polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) (Anthony *et al.*, 2002; Steiger *et al.*, 2002; Machado *et al.*, 2017). En el primer grupo se encuentran aquellos que provienen de los cultivares Bourbon y Typica y fue nombrado “typica related”, mientras que el segundo grupo es llamado “Introgression” e incluye aquellos que poseen algunos rasgos genéticos de otro cultivar como cruces artificiales o híbridos, así como de otras especies, principalmente *C. canephora* y *C. liberica* (**figura 38**).

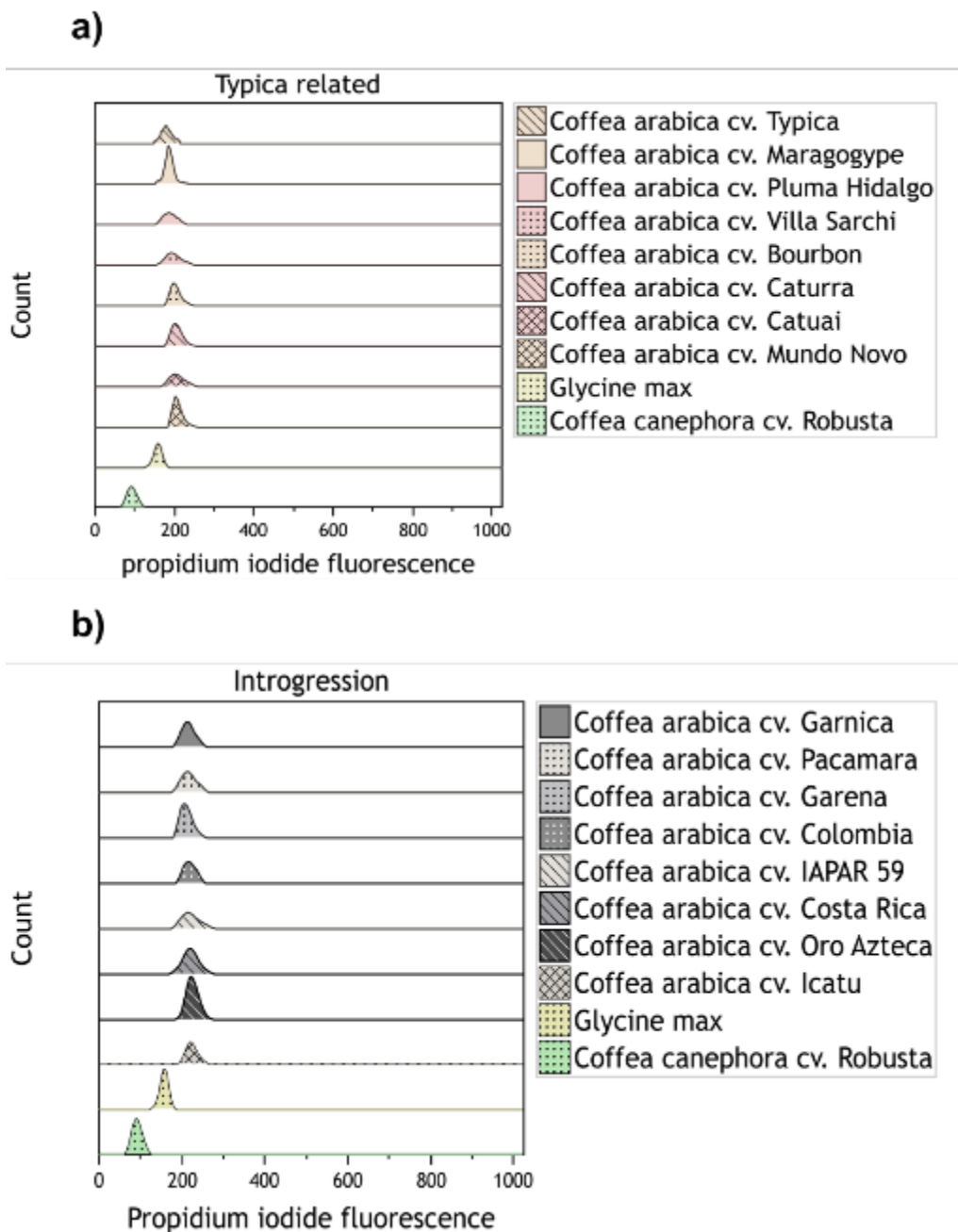


Figura 38. Citogramas del contenido de ADN relativo de núcleos de 16 cultivares de *C. arabica* teñidos con IP. a) Familia de cultivares relacionados con Typica. Soya y *C. canephora* fueron usados como controles. **b)** Familia de cultivares relacionados con cultivares provenientes de cruza artificiales o híbridos. Los controles fueron similares a los empleados en panel a).

Los cultivares más importantes del primer grupo son Pluma Hidalgo y Maragogype, que son mutaciones naturales de Typica. Villa Sarchi y Caturra son mutaciones naturales de Borbón, además de híbridos como Mundo Novo (Typica x Bourbon) y Catuai (Mundo Novo x Caturra). Estos cultivares están asociados con una alta calidad de la taza, pero son susceptibles a las principales enfermedades del café, como la roya del café. Debido a la presencia de esta enfermedad, se han introducido cultivares que muestran cierto grado de resistencia. El segundo grupo incluye cruces artificiales entre diferentes cultivares de *C. arabica*, por ejemplo, Garnica (Mundo Novo x Caturra) y su mutación natural Garena. Este grupo también incluye híbridos, como IAPAR 59 (Villa Sarchi x Timor Hybrid 832/2), Colombia (Caturra x Timor Hybrid 1343), Costa Rica (Timor Hybrid 832/1 x Caturra), Oro Azteca (Timor Hybrid 832/1 x Caturra) e ICATU, cultivar generado entre el híbrido Bourbon x *C. canephora* y Caturra. En la **figura 39** se muestra la genealogía de cultivares de *C. arabica* previamente descritos. Se distinguen diferentes linajes que dan origen a los cultivares más utilizados en el mundo.

Estos cultivares son importantes a nivel mundial debido a su resistencia parcial a las razas de roya que afectan a los árboles de *C. arabica* en todo el mundo. Sin embargo, actualmente no hay cultivares que alberguen todos los genes de resistencia identificados hasta la fecha (Anthony *et al.*, 2001) (Diola *et al.*, 2013); por lo tanto, las técnicas que aumentan la diversidad genética serán muy importantes para el control o la mitigación de la roya del café, entre otras enfermedades de este cultivo fundamental.

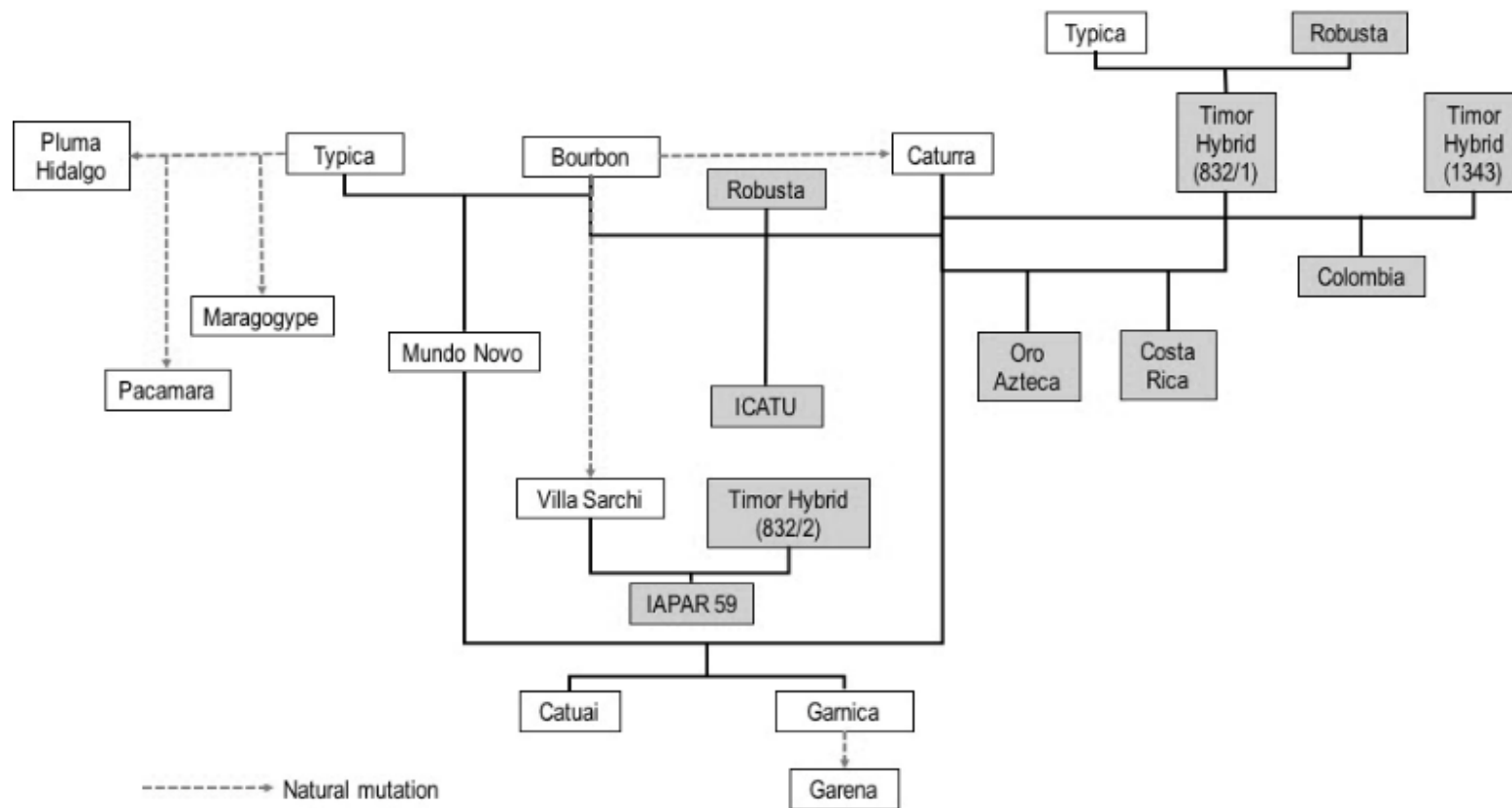


Figura 39. Genealogía de cultivares de *C. arabica* analizados en este trabajo. Se distinguen diferentes linajes que dan origen a los cultivares más utilizados en el mundo. Los cultivares indicados con una flecha punteada se originaron como mutaciones naturales. Del cruce genético Typica y Robusta, se generaron diferentes híbridos. Los cultivares que muestran resistencia parcial a la roya del café se resaltan en cuadros sombreados. El código internacional para las accesiones de cultivares de Timor se indica entre paréntesis.

6.4.3 Análisis del tamaño de genoma en cultivares de *C. arabica*

A partir de los datos de fluorescencia obtenidos, se calculó, tal y como se indica en materiales y métodos, el contenido de ADN de los 16 cultivares de *C. arabica* usando a soya como estándar primario. Se observó un contenido de ADN nuclear entre $2,56 \pm 0,016$ y $3,16 \pm 0,033$ pg. Typica tuvo el tamaño de genoma más pequeño, mientras que ICATU tuvo el tamaño de genoma más grande. Los valores de contenido de ADN nuclear de Bourbon ($2C = 2.86 \pm 0.010$), Maragogype ($2C = 2.61 \pm 0.049$ pg), Pluma Hidalgo ($2C = 2.66 \pm 0.007$ pg), Villa Sarchi ($2C = 2.76 \pm 0.065$ pg) y Caturra ($2C = 2.88 \pm 0.040$ pg) (la familia genética típica) son congruentes con la genealogía de los cultivares de café analizados en este estudio como se mostró en la **figura 39**.

El tamaño de genoma de Catuai y Mundo Novo ($2C = 2.88 \pm 0.053$ y 2.90 ± 0.031 pg respectivamente) fueron similares a los cultivares brasileños Catuai Vermelho IAC 15 (UFV 2237 cova 148 EL7), así como a Mundo Novo IAC 376-4-32 (UFV 2150) Cova 39 (Bourbon Vermelho x Sumatra) reportados por Clarindo *et al.* (2009, 2013) y Fontes (2003). Garnica ($2C = 2.93 \pm 0.021$ pg) y Garena ($2C = 3.03 \pm 0.035$ pg) mostraron valores similares, mientras que Colombia ($2C = 3.05 \pm 0.022$), IAPAR 59 ($2C = 3.05 \pm 0.080$ pg) Costa Rica ($2C = 3.12 \pm 0.125$) y Oro Azteca ($2C = 3.15 \pm 0.021$ pg) mostraron valores 2C mayores en comparación a los demás cultivares, posiblemente debido a su naturaleza híbrida (**tabla 6**).

Tabla 6. Contenido de ADN nuclear de cultivares de *C. arabica* teñidos con DAPI y IP como estándares.

Cultivares	2C Contenido de ADN (pg)			
	Soya		<i>C. canephora</i>	
	DAPI	IP	DAPI	IP
Typica	3.03±0.042	2.56 ± 0.016	2.85±0.031	2.52±0.026
Maragogype	3.13±0.049	2.61 ± 0.049	2.94±0.012	2.58±0.019
Pluma Hidalgo	3.13±0.05	2.66 ± 0.007	2.94±0.056	2.62±0.034
Villa Sarchí	3.14±0.33	2.76 ± 0.065	2.95±0.073	2.72±0.004
Bourbon	3.15±0.027	2.86 ± 0.010	2.96±0.040	2.82±0.029
Caturra	3.18±0.031	2.88 ± 0.040	2.99±0.066	2.84±0.016
Catuai	3.19±0.029	2.88 ± 0.053	3.00±0.25	2.85±0.055
Mundo Novo	3.19±0.032	2.90 ± 0.031	3.00±0.015	2.86±0.064
Garnica	3.20±0.027	2.93 ± 0.021	3.01±0.084	2.89±0.042
Pacamara	3.25±0.025	2.99 ± 0.025	3.06±0.035	2.95±0.028
Garena	3.26±0.026	3.03 ± 0.035	3.06±0.041	2.99±0.010
Colombia	3.27±0.019	3.05 ± 0.022	3.08±0.097	3.01±0.031
IAPAR 59	3.28±0.022	3.05 ± 0.080	3.08±0.026	3.01±0.086
Costa Rica	3.30±0.015	3.12 ± 0.125	3.11±0.038	3.08±0.050
Oro Azteca	3.48±0.033	3.15 ± 0.021	3.27±0.075	3.11±0.062
ICATU	3.50±0.030	3.16 ± 0.033	3.45±0.043	3.12±0.037

Cuando se utilizó *C. canephora* como estándar, los valores 2C fueron ligeramente menores a los obtenidos con soya. Se llevó a cabo una prueba t para comparar ambos conjuntos de valores, no se encontró diferencia significativa en la mayoría de cultivares. (anexo 9). La figura 40 muestra una comparación lineal de los valores 2C obtenidos con soya y con *C. canephora*. Se observó una pendiente similar en todos los cultivares con un valor de $R^2 = 0.98$. este parámetro reproducible nos permitió estimar que el contenido de ADN nuclear es muy similar, independientemente de cual estándar se utilizó. la variación es consistente, lo que nos permite confiar en las estimaciones obtenidas.

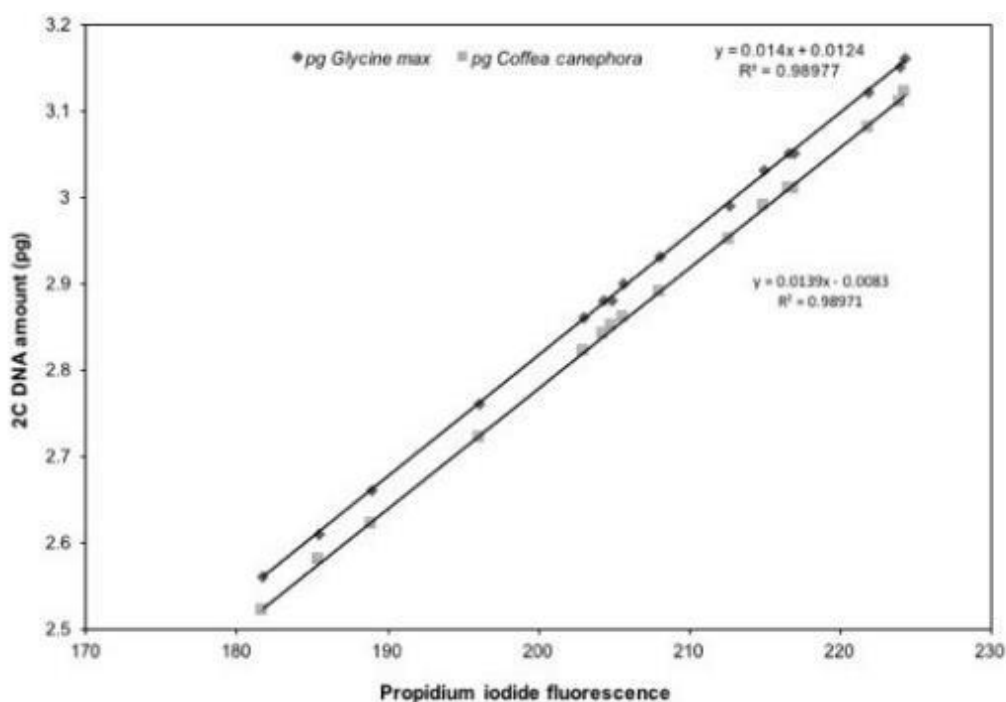


Figura 40. Comparación lineal del contenido nuclear de ADN de cultivares de *C. arabica*, utilizando dos estándares. Se encontró una pendiente similar ($R^2 = 0.98$) en todos los cultivares evaluados, los núcleos se tiñeron con IP.

Se puede considerar que los valores 2C son similares utilizando dos estándares. Sin embargo, la soya es una planta considerada como uno de los mejores ocho estándares para CMF, debido a su bajo contenido de compuestos citosólicos, así como otras propiedades inherentes que tienen un efecto significativo en el momento del procesamiento y tinción de la muestra. Praça-Fontes *et al.* (2011). De igual manera, el tamaño de genoma de soya ha sido ampliamente reportado en literatura (Arumuganathan *et al.*, 1991; Vilhar *et al.*, 2001; Bennett & Leitch 2012).

En contraste, se ha reportado que *C. canephora* contiene metabolitos secundarios como ácidos clorogénicos y cafeína que interaccionan con el compuesto de tinción, disminuyendo la accesibilidad al ADN, generando estimaciones erróneas del tamaño de genoma (Noirot *et al.*, 2000, 2002, 2003a, 2005; Greilhuber *et al.*, 2005b; Doležel *et al.*, 2007). Además, el tamaño de genoma de *C. canephora* está reportado en un intervalo de 1.20 a 1.40 pg (Cros *et al.*, 1995; Noirot *et al.*, 2003a, 2003b), lo que podría ocasionar una variación al momento de calcular los valores 2C. Atendiendo a estas consideraciones, en este trabajo se propone que las mejores estimaciones del contenido de ADN nuclear fueron las obtenidas al usar soya como estándar y IP como compuesto de tinción.

6.4.4 Análisis estadístico del tamaño de genoma de 16 cultivares de *C. arabica*

Se realizó un análisis estadístico ($LSD_{0.05} = 0.13356$) con los valores 2C obtenidos con soya como estándar y IP como compuesto de tinción (**anexo 10**). El análisis LSD es una herramienta es particularmente útil para el estudio de rasgos agrónomicamente importantes. En el caso de *C. arabica*, es importante determinar la variabilidad genética entre diferentes cultivares (incluido el tamaño del genoma), ya que la mayoría de ellos no son especies biológicamente definidas, sino el resultado de mutaciones somáticas e hibridación artificial.

Esto ha generado plantas con incompatibilidad sexual, una fase juvenil prolongada, alta homocigosidad, patrones de hibridación complejos y baja tasa de germinación de semillas. Por lo tanto, el análisis de citometría de flujo aplicado para estimar el contenido total de ADN nuclear puede ayudar a identificar aquellos cultivares con mayores posibilidades de tener compatibilidad sexual y, por lo tanto, la hibridación a través de la mejora convencional. El análisis de LSD que se muestra aquí nos permitió distinguir variaciones de 0.133 pg en el contenido de ADN nuclear. El cultivar con menor contenido de ADN fue *Typica* con 2.56 pg, en el cual 0.133 pg corresponde a 5% de sensibilidad. Sin embargo, en algunos cultivares, la diferencia detectable es menor de lo que permite el análisis estadístico.

Aunque algunos de estos cultivares surgieron como resultado de mutaciones naturales, las plantas que resultaron de estas mutaciones tienen un contenido de ADN diferente en relación con sus parentales (como es el caso de Pacamara y Maragogype). Otros cultivares tienen un origen genético diferente, pero poseen un contenido de ADN similar, como Pacamara y Garena. En general, los cultivares resultantes de mutaciones espontáneas tienen un mayor contenido de ADN que los cultivares de los que se originaron. Este es el caso del cultivar Typica que dio origen a Maragogype, Pacamara y Pluma Hidalgo. Una situación similar se encuentra en el caso del cultivar Caturra con un mayor contenido de ADN que su parental Bourbon. La estimación del genoma con IP utilizando el estándar primario muestra dos grupos, que son significativamente diferentes ($LSD_{0.05} = 0.13356$).

El primero grupo representa cultivares relacionados con Typica, con menor contenido del genoma (Maragogype, Pluma Hidalgo, Villa Sarchi, Bourbon, Caturra, Catuai y Mundo Novo), mientras que el segundo incluye los cultivares Colombia, IAPAR 59, Costa Rica, Oro Azteca e ICATU. No se encontraron diferencias significativas ($LSD_{0.05} = 0.13356$) entre los híbridos naturales (Garnica, Pacamara, Garena) y los híbridos sintéticos (Colombia, IAPAR 59, Costa Rica, Oro Azteca e ICATU).

Marques *et al.* (2011) mencionaron que una posible explicación para esto es que los individuos estudiados de las poblaciones híbridas representan generaciones tardías, que habrían experimentado cambios sustanciales en el tamaño del genoma en comparación con la F1, o posiblemente son una mezcla de genotipos híbridos, no necesariamente de las últimas generaciones.

Se sabe que las variaciones en el tamaño del genoma se ven afectadas principalmente por retrotransposones, reordenamientos estructurales, deleciones en el nivel cromosómico y recombinación ilegítima (Williams *et al.*, 2002, Bennetzen *et al.*, 2005 y Grover *et al.*, 2010). Los mecanismos subyacentes a la variación del tamaño del genoma intraespecífico e interespecífico en plantas, particularmente a nivel evolutivo, no se conocen bien; por lo tanto, se requiere más investigación al respecto.

6.4.5 Comparación del tamaño de genoma utilizando DAPI y IP como compuestos de tinción

Se observó que en todos los cultivares, los núcleos teñidos con IP tuvieron menor tamaño de genoma, difiriendo significativamente ($P < 0.001$) (**anexo 11**) en comparación a cuando fueron teñidos con DAPI (**figura 41**).

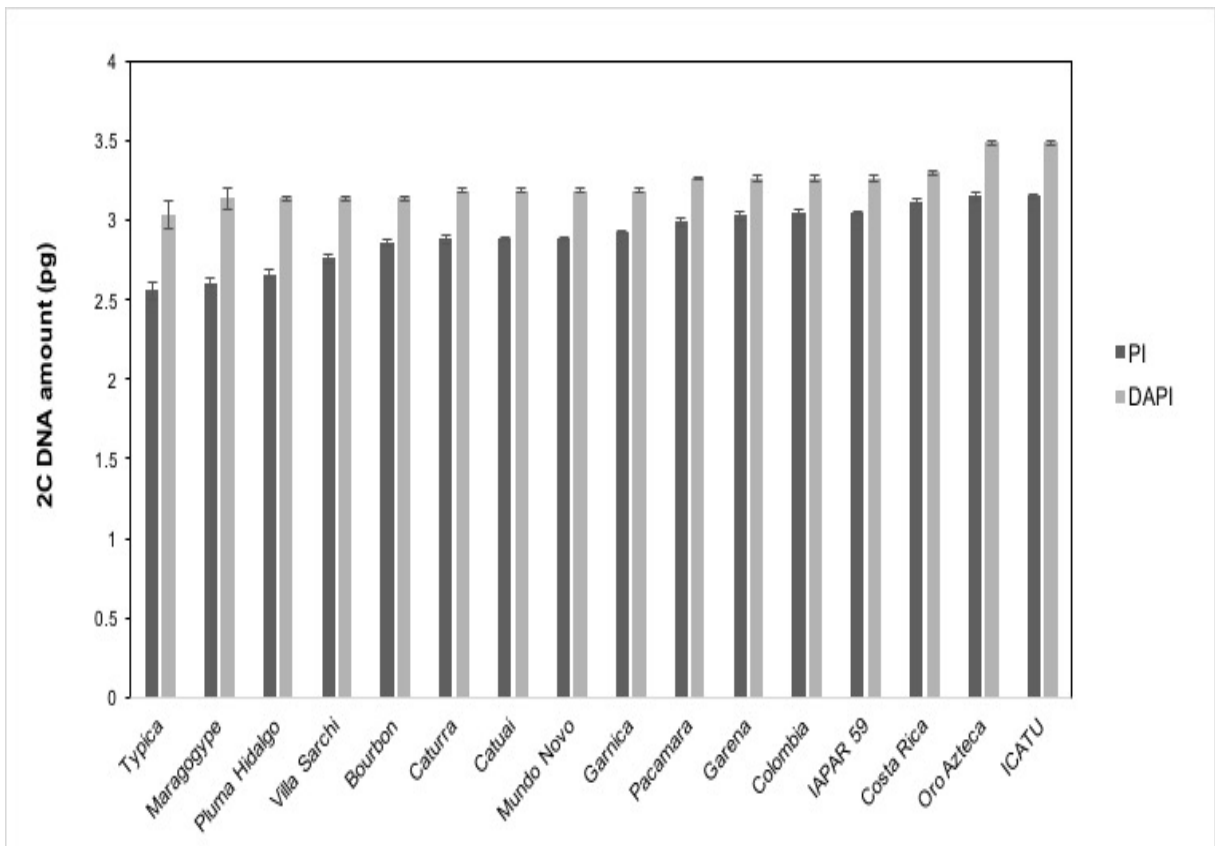


Figura 41. Tamaño de genoma de 16 cultivares de *C. arabica*. Valores 2C (pg) ordenados de manera ascendente cuando los núcleos se tiñeron con IP y DAPI. Soya fue usado como estándar. IP= Yoduro de propidio. DAPI= 4', 6'-diamino-2-fenilindol dihidrocloruro de hidrato.

La menor diferencia se encontró en el cultivar de Costa Rica (0.18), mientras que la mayor diferencia se observó en el cultivar Maragogype (0.52) (**tabla 7**). Clarindo *et al.* (2012). Han reportado discrepancias en el tamaño de genoma de *C. canephora* y *C. arabica* usando IP y DAPI. Šiško *et al.* (2003) encontraron una correlación ($R^2 = 0,82$) entre los valores obtenidos con IP y DAPI en especies del género *Cucurbita*.

En géneros como *Magnolia*, *Narcissus*, *Cotoneaster* y *Acer* (Parris *et al.*, 2010; Marques *et al.*, 2011; Rothleutner *et al.*, 2016; Contreras & Shearer 2018), se han reportado valores 2C mayores con DAPI en comparación a cuando se usó IP. Noirot *et al.* (2002) y Doležel *et al.* (1992) encontraron en diferentes plantas una sobreestimación de los valores 2C al utilizar DAPI. Factores como la diferencia de AT% entre la muestra y el estándar, así como las propiedades de unión del compuesto de tinción, contribuyen a afectar la sobreestimación del tamaño de genoma al usar DAPI. Sin embargo, es un compuesto práctico para estimar la relación de AT/GC al usarlo junto con un compuesto de tinción intercalante como IP (Contreras & Shearer 2018).

Tabla 7. Comparación del tamaño de genoma y porcentaje de pb de 16 cultivares de *C. arabica* teñidos con DAPI, así como IP. Soya fue utilizado como estándar.

Cultivares	2C Contenido de ADN (pg)		DAPI-IP	yGC%	yAT%
	DAPI	IP			
Typica	3.03±0.042	2.56 ± 0.016	0.47*	39.02	60.98
Maragogype	3.13±0.049	2.61 ± 0.049	0.52*	39.22	60.78
Pluma Hidalgo	3.13±0.05	2.66 ± 0.007	0.47*	38.91	61.09
Villa Sarchí	3.14±0.33	2.76 ± 0.065	0.38*	38.32	61.68
Bourbon	3.15±0.027	2.86 ± 0.010	0.29*	37.74	62.26
Caturra	3.18±0.031	2.88 ± 0.040	0.30*	37.83	62.17
Catuai	3.19±0.029	2.88 ± 0.053	0.31*	37.81	62.19
Mundo Novo	3.19±0.032	2.90 ± 0.031	0.29*	37.76	62.24
Garnica	3.20±0.027	2.93 ± 0.021	0.27*	37.59	62.41
Pacamara	3.25±0.025	2.99 ± 0.025	0.26*	37.5	62.5
Garena	3.26±0.026	3.03 ± 0.035	0.23*	37.35	62.65
Colombia	3.27±0.019	3.05 ± 0.022	0.22*	37.29	62.71
IAPAR 59	3.28±0.022	3.05 ± 0.080	0.23*	37.31	62.69
Costa Rica	3.30±0.015	3.12 ± 0.125	0.18*	37.03	62.97
Oro Azteca	3.48±0.033	3.15 ± 0.021	0.33*	37.76	62.24
ICATU	3.50±0.030	3.16 ± 0.033	0.34*	37.85	62.15

*Diferencia significativa ($P < 0.001$) basada en la prueba t de student comparando los valores 2C estimados con DAPI y IP.

$yGC\% = 100 - \{AT\% \text{ del estándar} \cdot [(media \text{ de fluorescencia del estándar DAPI} / media \text{ de fluorescencia de la muestra DAPI}) / (media \text{ de fluorescencia del estándar IP} / media \text{ de fluorescencia de la muestra IP})] (1 / binding \text{ length})\}$ (Godelle *et al.*, 1993; Contreras & shearer *et al.*, 2018), donde AT% del estándar = 63.6 y el binding length de DAPI = 3.5 (Meister & Barow 2007).

El AT% y GC% se determinó de acuerdo con la ecuación descrita en materiales y métodos, los cálculos completos son mostrados en el **anexo 12**. El AT% en los cultivares evaluados en un intervalo de 60.78% a 62.97%. El contenido de GC% fluctuó de 37.03% a 39.22% (**tabla 7**). Clarindo *et al.* (2013) han reportado AT% = 63.84, en el cultivar de *C. arabica* Catuai vermelho.

El GC% obtenido en este trabajo es similar al reportado por Clarindo *et al.* (2012). Barow & Meister (2002) argumentan que no existe una correlación general entre el tamaño del genoma y la relación AT/GC en plantas superiores y que la fluorescencia de los compuestos de tinción específicos de bases nitrogenadas está influenciada por la distribución no aleatoria de las pares de bases en la molécula de ADN. Por lo tanto, puede existir una sobre o subestimación de los valores experimentales.

6.5 Análisis del tamaño de genoma de plantas regeneradas de injertos de café

Se llevó a cabo el análisis del tamaño del genoma de 28 plantas regeneradas provenientes de injertos de café. El objetivo de esta etapa fue conocer si las plantas analizadas contienen mayor contenido de DNA en comparación al tamaño de genoma de los parentales (cada una de las diferentes plantas usadas para hacer los injertos).

Se establecieron los ajustes necesarios en el citómetro de flujo BD LSR Fortessa utilizando el láser de Argón para leer yoduro de propidio: FSC 308, SSC 236, Espectro de emisión 587 y Threshold 10,000, de acuerdo con lo reportado por Clarindo *et al.* (2012).

Para conocer el contenido genético de las plantas regeneradas, se necesita hacer una comparación con el tamaño de genoma de alguna planta de la cual se conozca su contenido genético, esta planta es conocida como estándar. En este trabajo se realizó una comparación con dos estándares de tamaño de genoma reportado previamente.

Como estándar primario se utilizó a la especie *Glicine max* (soya). La gráfica de dispersión celular (dot plot) de este estándar, mostró el agrupamiento de poblaciones característico de esta planta, de acuerdo con lo reportado por Vilhar *et al.* (2001), Doležel & Greilhuber (2010) y Bennet & Leitch, 2012 (**figura 42**). Mientras que el pico G0/G1 de soya fue observado en el canal de fluorescencia 163 (**figura 42**), el tamaño del genoma se obtuvo siguiendo las fórmulas previamente reportadas en la sección de material y métodos, obteniendo un contenido de DNA de $2C = 2.30 \pm 0.030$ picogramos (pg). Soya fue elegido como estándar primario debido a que cumple con las

características requeridas de un estándar. De acuerdo con Doležel & Bartos, (2005) y Praça-Fontes *et al.* (2011), el estándar de referencia ideal debe ser genéticamente estable con un tamaño de genoma constante y disponible en suficiente cantidad. Es importante también que los citogramas del estándar y la muestra a analizar no se superpongan.

Para dar mayor robustez al análisis por CMF, se utilizó a *C. canephora* ($2C = 1.29 \pm 0.051$ pg) como estándar secundario. Clarindo *et al.* (2012) mencionan que es necesario comparar las plantas de estudio con dos o más estándares diferentes para evitar falsos positivos en cuanto al análisis de tamaño de genoma y evitar problemas de variación específica en plantas de café. Además, *C. canephora* ha sido caracterizada ampliamente por el equipo de trabajo, por lo cual representa un estándar confiable. En la **figura 42** se puede observar la gráfica de dispersión celular y citogramas correspondientes a *C. canephora*. Se eligió la zona de la población celular en G₀/G₁.

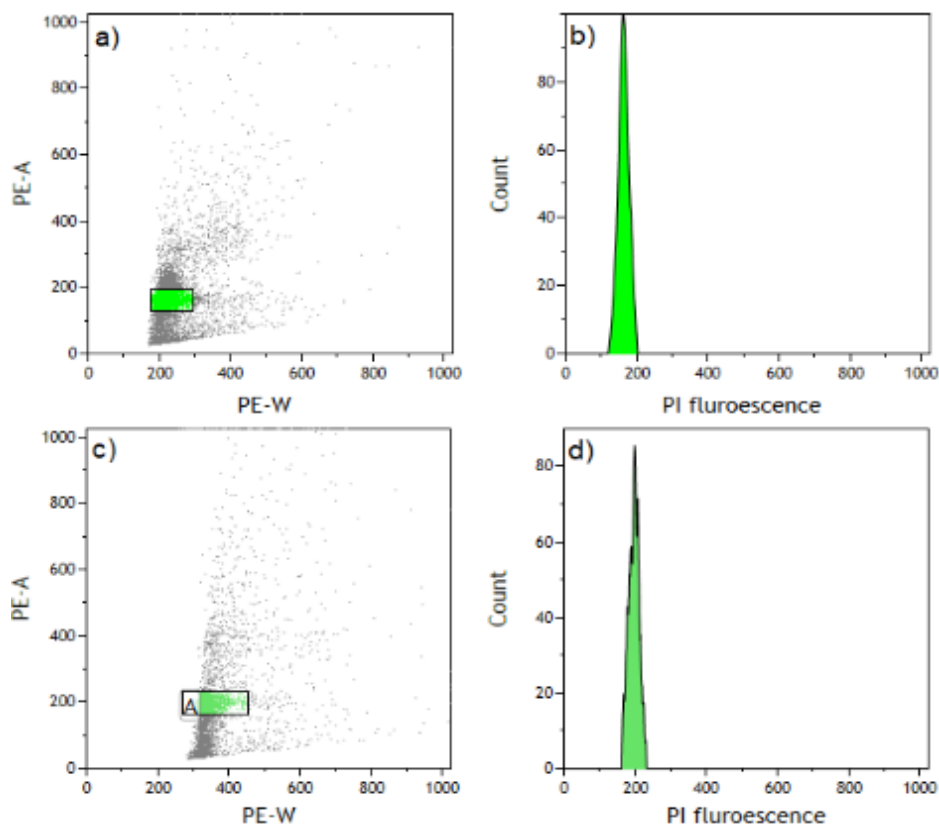


Figura 42. Análisis por CMF de los estándares utilizados. **a)** Gráfica dot plot (dispersión celular) de núcleos de soja. **b)** Citograma representativo de la distribución de núcleos de soja en fase G0/G1. Canal de fluorescencia 163 ($2C= 2.30 \pm 0.030$ pg). **c)** Gráfica dot plot de núcleos de *C. canephora*. **d)** Citograma representativo de la distribución de núcleos de *C. canephora* en fase G0/G1. Canal de fluorescencia 92 ($2C= 1.29 \pm 0.051$ pg).

Una vez analizado el tamaño del genoma de los dos estándares, se realizó la caracterización de las 28 plantas regeneradas con el fin de conocer el tamaño de su genoma y verificar la THG. Cada planta fue analizada por triplicado, los datos de fluorescencia se analizaron con el programa Kaluza versión 2.1 para obtener graficas dot plot y citogramas de cada una de las 28 líneas de estudio.

El canal de fluorescencia en donde se observan los núcleos pertenecientes a los parentales varió de 181.70 a 224.35 para los cultivares de *C. arabica* y de 92 para *C. canephora*. Por lo que, los valores de fluorescencia superiores a 100 (en los injertos entre *C. canephora* cv robusta y *C. arabica*) y a 225 (para los injertos entre dos cultivares de *C. arabica*) se deban posiblemente al intercambio de material genético presente entre organelos celulares como mitocondrias (Gurdon *et al.*, 2017), cloroplastos (Thyseen *et al.*, 2012) y genes ribosomales (Mahelka *et al.*, 2017).

La **tabla 8** muestra la caracterización por CMF de las 28 plantas regeneradas, es importante mencionar que cada una es denotada por números del 1 al 28. Se observó una dispersión celular característica para todas las plantas regeneradas, se seleccionó a la población celular más uniforme y compacta (**figura 43**), esta población pertenece a los núcleos que se encuentran en la fase G0/G1 del ciclo de división celular ya que, en esa fase, el material genético se encuentra más estable (Doležel & Greilhuber, 2010).

Tabla 8. Contenido genético de 28 plantas regeneradas de café, usando IP como compuesto de tinción. Soya (**A**) y *C. canephora* (**B**) fueron utilizados como estándares.

Ciclo celular (G0/G1) IP					
Injerto	Canal de fluorescencia	Número de núcleos	Coefficiente de variación (%)	Estándares	
				A	B
				Contenido de DNA (pg)	
(1) Iapar 59 x Typica	190.89	2547	7.27	2.69	2.65
(2) Costa Rica x Typica	180.15	3605	9.28	2.54	2.50
(3) Oro Azteca x Pluma Hidalgo	188.58	3869	7.60	2.66	2.62
(4) IAPAR 59 x Bourbon	182.87	2927	11.52	2.57	2.54
(5) Robusta x Caturra	167.81	2567	10.59	2.36	2.33
(6) Robusta x ICATU	160.67	3824	11.01	2.26	2.23
(7) Robusta x Mundo N	178.41	3809	8.70	2.51	2.48
(8) Robusta x Catuaí	168.46	3157	10.39	2.37	2.34
(9) Costa Rica x Villa sarchí	195.75	3967	9.04	2.76	2.72
(10) Oro Azteca x Caturra	205.60	3524	7.32	2.89	2.86
(11) Colombia x Bourbon	201.59	2872	7.79	2.84	2.80
(12) Oro Azteca x Bourbon	201.28	813	9.26	2.83	2.80
(13) Robusta x Garena	222.86	2202	7.40	3.14	3.10
(14) Robusta x Garnica	222.05	3203	5.64	3.13	3.09
(15) ICATU x Pacamara	212.51	2255	5.37	2.99	2.95
(16) Robusta x Oro Azteca	261.00	2188	6.33	3.67	3.63
(17) Costa Rica x Mundo Novo	221.65	2303	7.53	3.12	3.08

(18) Robusta x Typica	241.85	3166	5.99	3.41	3.36
(19) Robusta x IAPAR 59	238.99	1413	5.80	3.36	3.32
(20) Oro Azteca x Garena	217.29	2612	6.83	3.06	3.02
(21) ICATU x Garnica	211.50	2463	7.66	2.98	2.94
(22) IAPAR 59 x Villa sarchí	195.16	4822	10.45	2.75	2.71
(23) IAPAR 59 x Garena	187.70	2958	9.04	2.64	2.61
(24) Oro Azteca x Maragogype	186.38	2253	7.94	2.62	2.59
(25) Oro Azteca x pacamara	186.50	2385	10.75	2.63	2.59
(26) Robusta x Colombia	172.19	3024	10.01	2.42	2.39
(27) IAPAR 59 x Oro Azteca	403.81	2048	8.58	5.69	5.61
(28) ICATU x Garena	231.70	1970	7.02	3.26	3.22

(continuación)

Se obtuvieron valores de fluorescencia en un intervalo de 160.67 a 403.81 para las 28 plantas regeneradas. En los 10 injertos entre robusta y *C. arabica* los valores de fluorescencia fueron de 160.67 a 261. Mientras que en los 18 injertos entre cultivares de *C. arabica* los valores de fluorescencia fluctuaron entre 180.15 y 403.81 (**figura 44**).

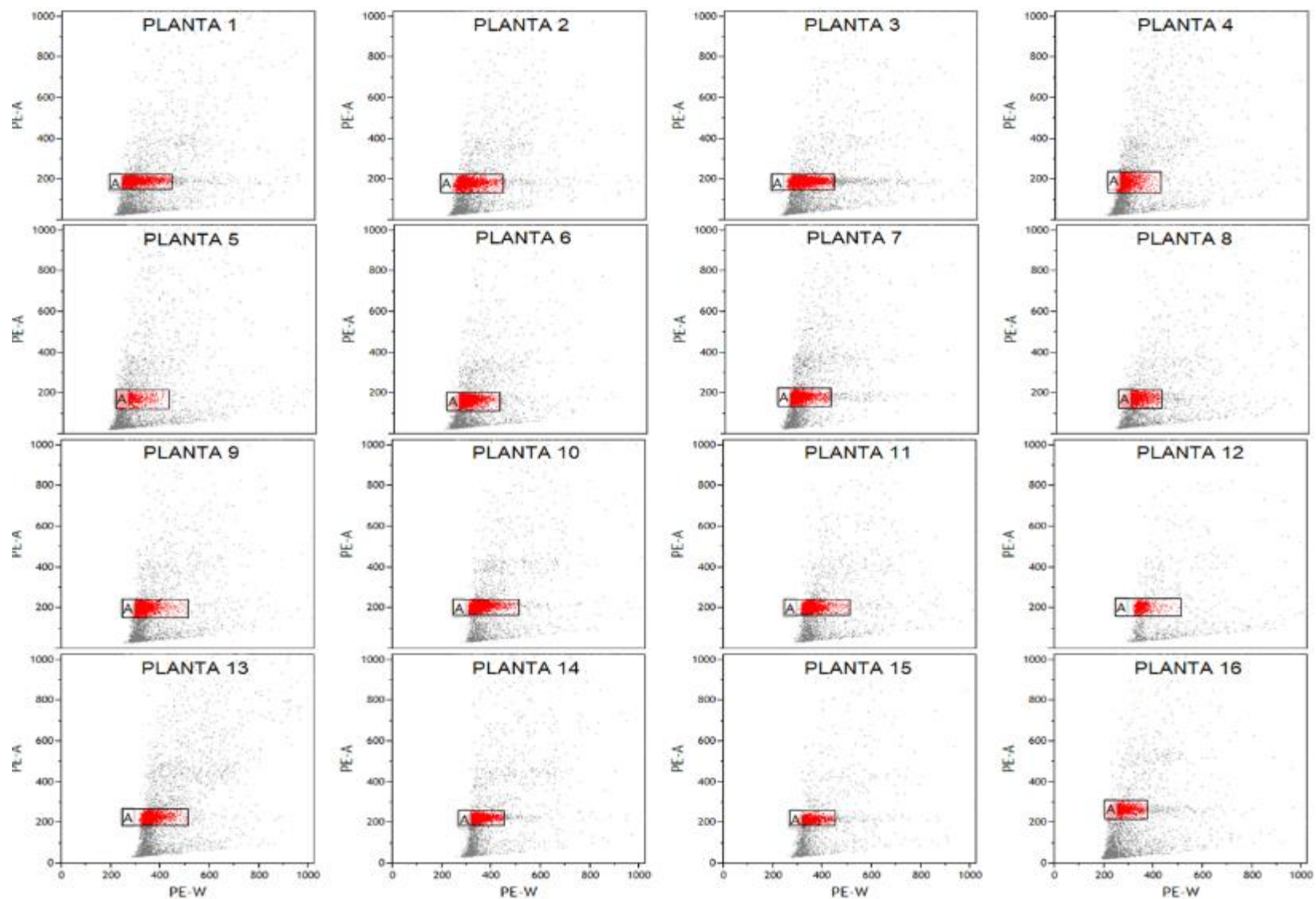
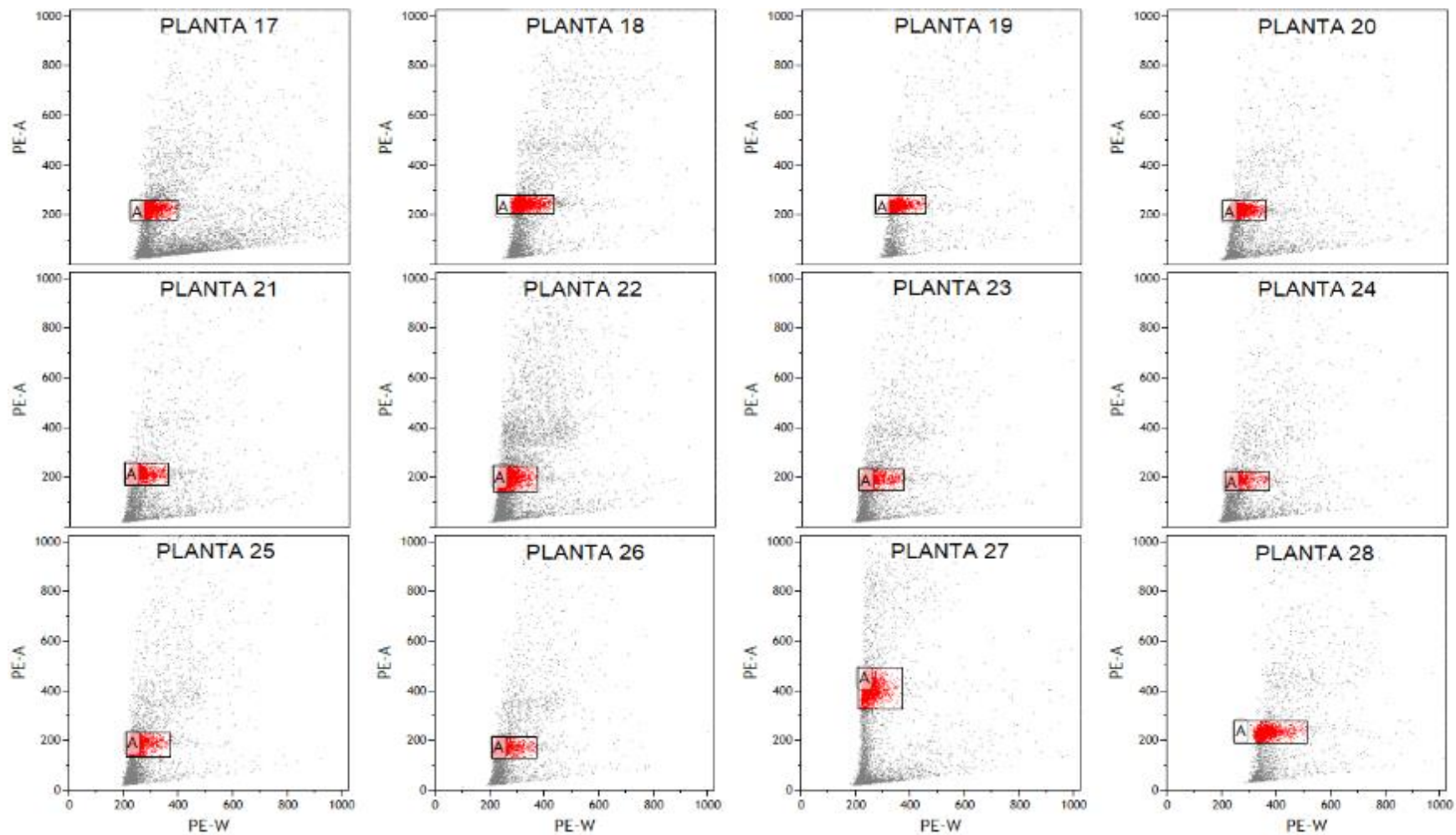


Figura 43. Dot plot de núcleos teñidos con IP, correspondiente a 28 plantas regeneradas de café.



(continuación)

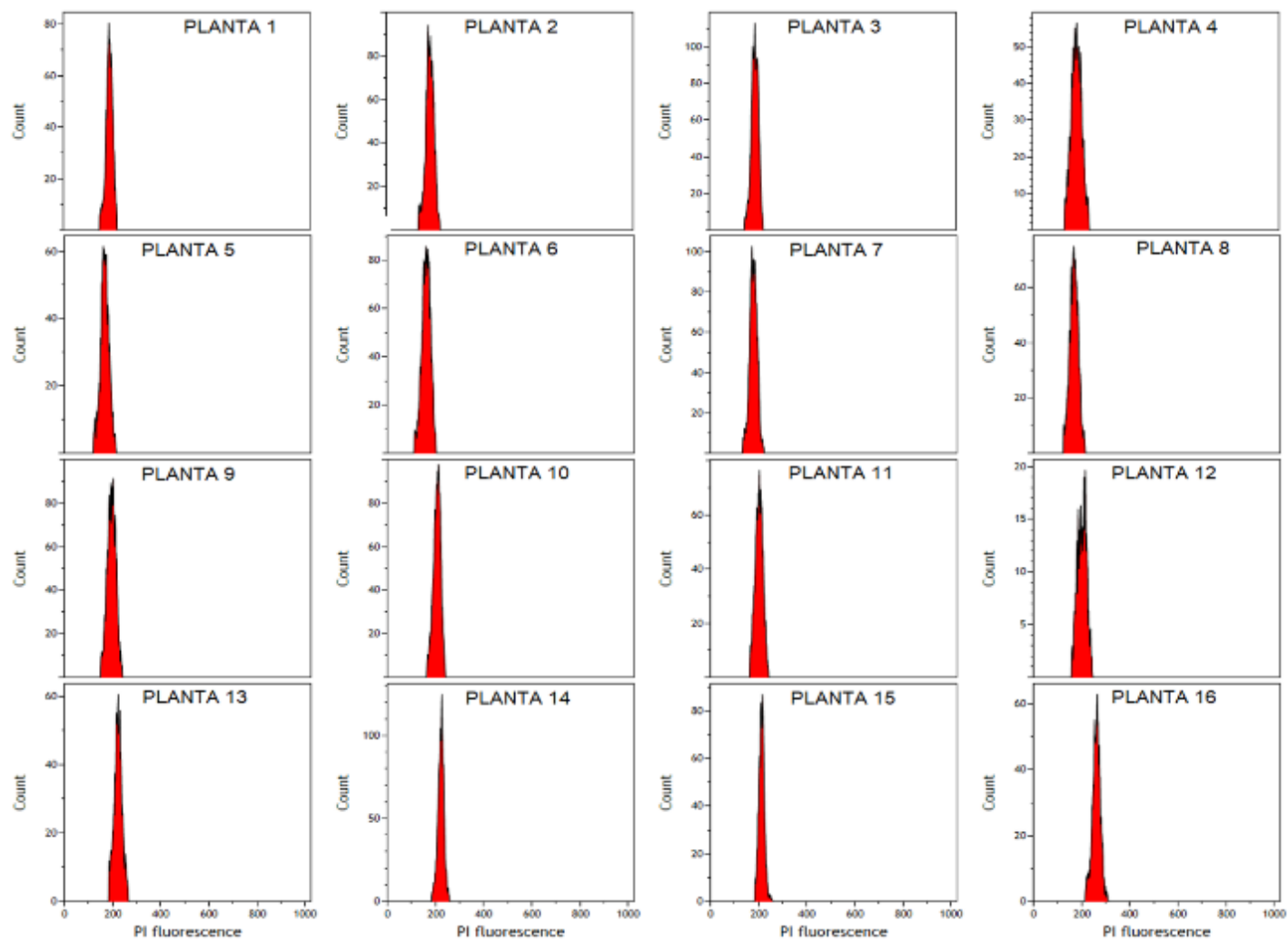
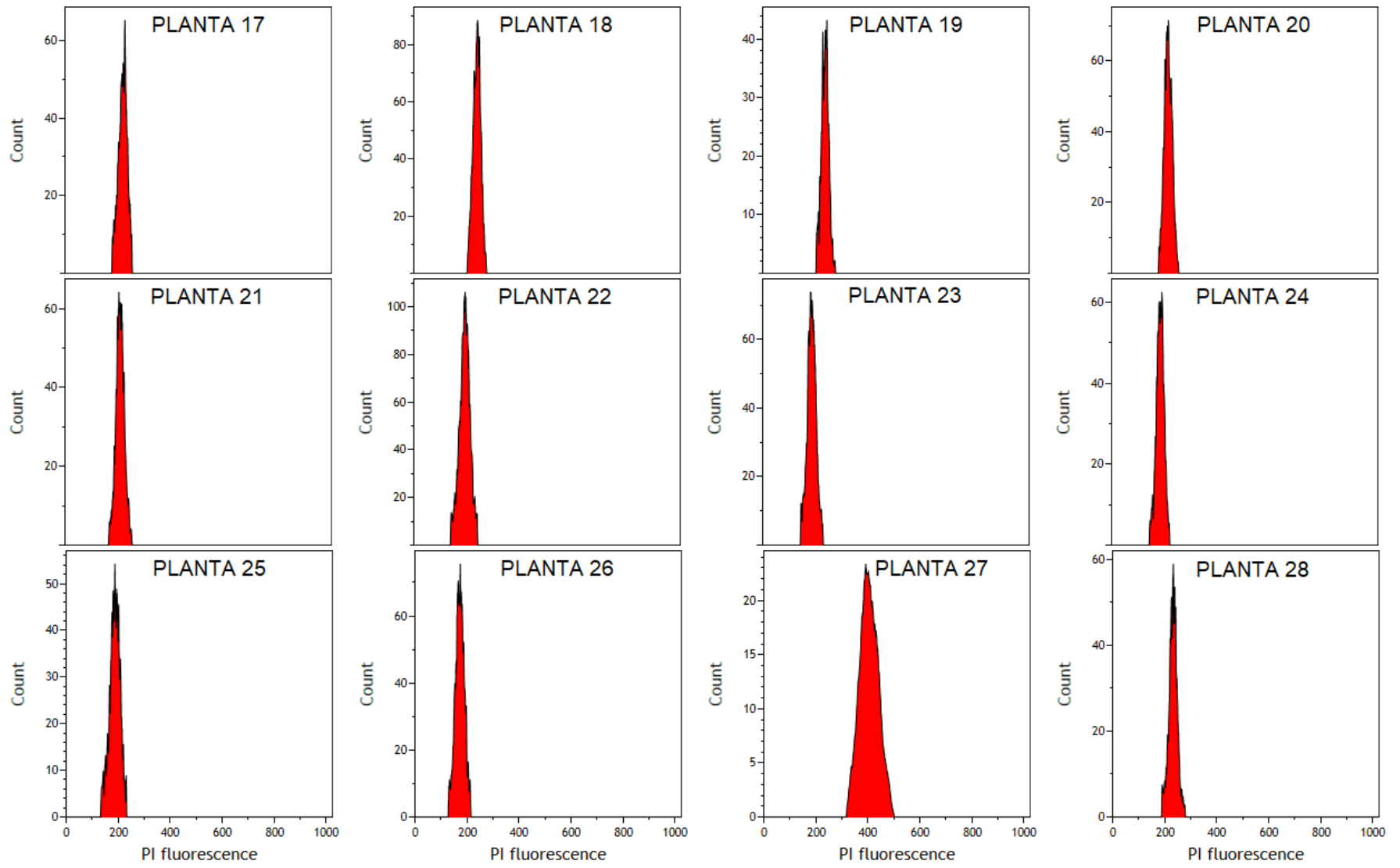


Figura 44. Citogramas representativos de la distribución de núcleos en fase G0/G1 de 128 plantas regeneradas de café, núcleos teñidos con IP. Canal de fluorescencia de 160.67 a 403.81.



(Continuación)

La planta con el mayor valor de fluorescencia, entre injertos de cultivares de *C. arabica* fue la número 27 (canal de fluorescencia 403.81). Asimismo, entre injertos de *C. canephora* cv. Robusta con *C. arabica* La planta con el mayor valor de fluorescencia fue la número 16. Lo anterior puede indicar que hubo THG entre los núcleos de los dos diferentes parentales con los que se realizó el injerto. Fuentes *et al.* (2014) encontraron que en plantas regeneradas entre diferentes especies de *Nicotiana*, se llevó a cabo transferencia de genomas nucleares completos, creando plantas con mayor ploidía y generaciones fértiles.

Haciendo uso de las ecuaciones descritas en materiales y métodos, se consiguieron los tamaños genómicos en pg de cada una de las plantas regeneradas, destacando, como previamente se describió, la planta 27 con un tamaño genómico de 5.61 pg utilizando soya como estándar primario y 5.69 pg con *C. canephora* como estándar secundario (**tabla 8**).

Con el objetivo de conocer si existió una diferencia significativa entre el uso del estándar primario y secundario, se realizó una regresión lineal (**figura 45**) entre el número de núcleos en función del canal de fluorescencia de ambos estándares en donde los coeficientes de determinación (R^2) se encontraron muy cercanos a 1. Soya= 0.98971 y para *C. canephora*= 0.98977. Con ayuda del programa Sigma Plot se elaboró una prueba de *t* de Student compuesta de una prueba de normalidad y otro de varianzas los cuales fueron aprobados, demostrando que no existe diferencia significativa entre un estándar y otro (**figura 46**).

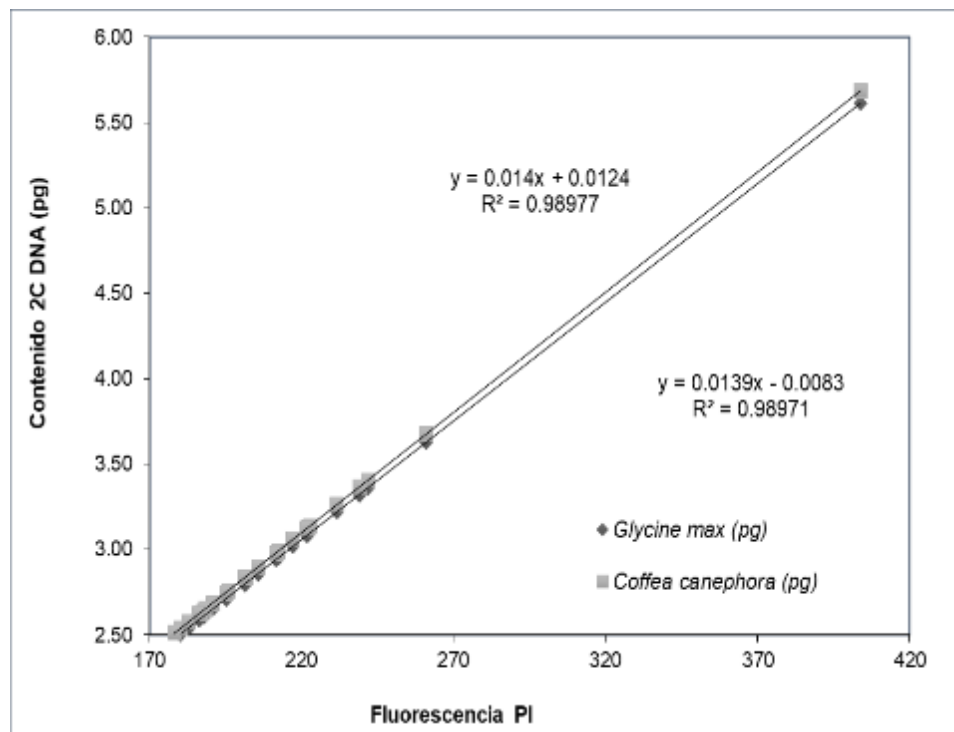


Figura 45. Regresión lineal del canal de fluorescencia con respecto al contenido de DNA (pg) obtenido con *G. max* (estándar primario) y *C. canephora* (estándar secundario).

```

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.106)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.949)

Group Name  N  Missing  Mean  Std Dev  SEM
Col 1      30  3        2.795  0.348    0.0670
Col 2      30  3        2.832  0.353    0.0679

Difference  -0.0374

t = -0.392 with 52 degrees of freedom. (P = 0.697)

95 percent confidence interval for difference of means: -0.229 to 0.154

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability. There is not a statistically significant difference between the input groups (P = 0.697).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.050

The power of the performed test (0.050) is below the desired power of 0.800.
Less than desired power indicates you are less likely to detect a difference when one actually exists. Negative results should be interpreted cautiously.

```

Figura 46. Prueba de t de Student compuesta por una prueba de normalidad y una prueba de varianza aprobados por los tamaños genómicos obtenidos con el estándar primario y secundario que comprueba que no hay varianza significativa entre ellos.

Posteriormente se realizó una gráfica overlay (figura 47) en donde se puede observar los citogramas del parental 1 y parental 2, seguido por el pico G0/G1 de la planta regenerada 27. De manera teórica, el sumatorio total del tamaño de genoma de ambos parentales es de 6.20 pg, mientras que experimentalmente, el valor correspondió a 5.61 pg.

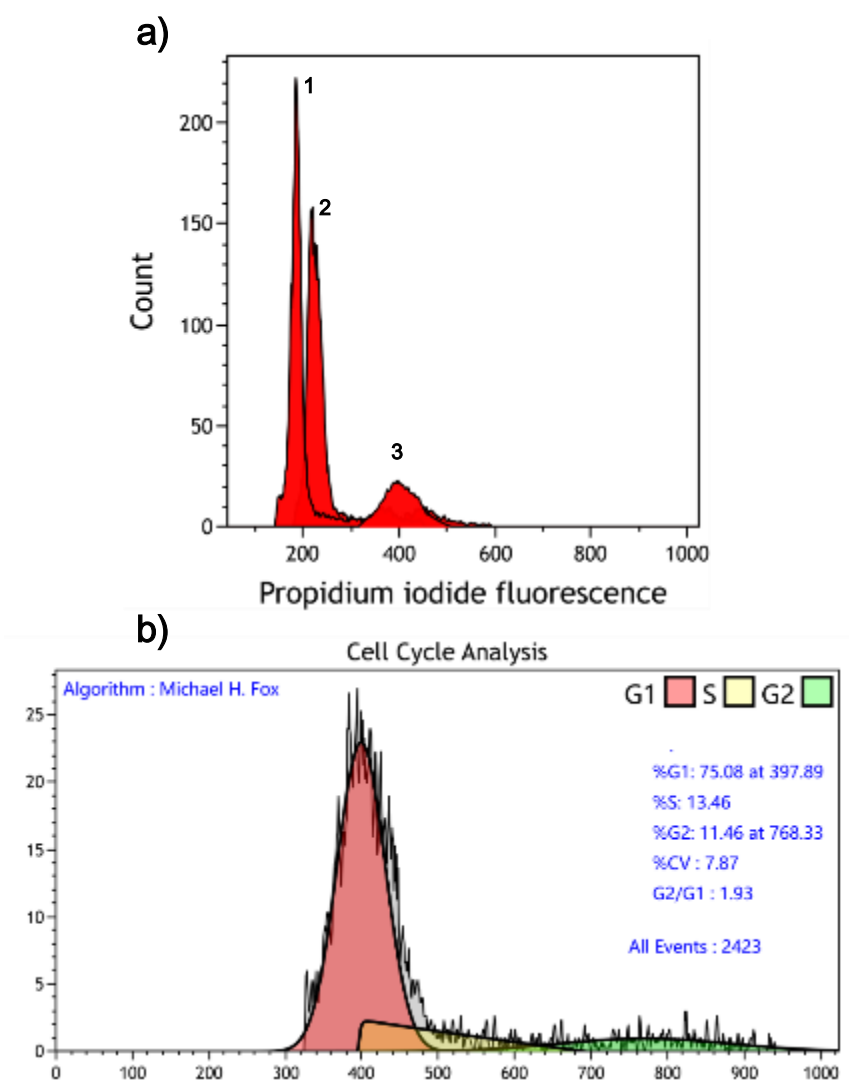


Figura 47. Gráfica overlay de la planta 27. a) citogramas representativos de los núcleos en fase G0/G1 de los parentales injertados: IAPAR 59 =3.05 pg (1), Oro Azteca =3.15 pg (2) y la planta 27= 5.61 pg (3). b) Análisis del ciclo celular de la planta 27 por medio del algoritmo Michel H. Fox.

Se analizó el ciclo celular de la planta 27, con el fin de corroborar que el pico utilizado para calcular el contenido de ADN pertenecía a la fase G0/G1 y que el cálculo del tamaño de genoma no fue erróneo.

La distribución del contenido de ADN de una población celular típica se compone de dos picos (células en las fases G1/G0 y G2/M) y un valle de células en la fase S. Las células de fase G2/M tienen el doble de cantidad de ADN que las células de fase G1/G0, y las células de fase S contienen cantidades variables de ADN entre las que se encuentran en las células G1 y G2 (Freeling *et al.*, 2015).

La mayoría de los métodos de citometría de flujo del análisis del ciclo celular no pueden distinguir entre las células G1 y G0 o las células G2 y M, por lo que se agrupan como G1/G0 y G2/M. Sin embargo, existen métodos de citometría de flujo que pueden distinguir cuatro o incluso las cinco subpoblaciones del ciclo celular: G0, G1, S, G2 y Fox (1980) propuso un modelo para obtener las distribuciones de células en el ciclo celular mediante análisis informático de datos de citometría de flujo. El modelo puede analizar distribuciones de poblaciones celulares asíncronas y sincrónicas.

El análisis demostró que el 75.08% de los núcleos analizados de la planta 27 estaban en la fase G0/G1 con una media de fluorescencia de 397.89, mientras que solo había 13.46% de núcleos en fase S y 11.46% en fase G2 con una media de fluorescencia de 768.33 con un CV de 7.87% y un conteo de núcleos de 2423.

6.6 Embriogénesis somática de plantas regeneradas de café

6.6.1 inducción de callo

Debido a la baja inducción de raíz de las plantas regeneradas provenientes de los injertos, Se estableció un sistema de embriogénesis somática con el fin de obtener plantas completas (con parte aérea y parte de raíz), a partir de hojas de la planta regenerada del injerto *C. arabica* cv. IAPAR 59 x *C. arabica* cv. Oro Azteca (planta 27), que fue la que tuvo mayor contenido de ADN en comparación a las demás plantas estudiadas.

Se hicieron pruebas de inducción de callo utilizando 4 medios con diferentes reguladores de crecimiento a diferentes concentraciones. (previamente descritos en materiales y métodos) y posteriormente se hicieron pruebas de regeneración con medios que contenían mayor proporción de citocininas.

Se hizo una valoración óptica de la inducción de estructuras pre-embriogénicas (callo) en los cuatro medios de inducción. Se tomaron imágenes a los 15, 30 y 60 días de la incubación. Los resultados obtenidos se registran en orden cronológico en la **figura 48**.

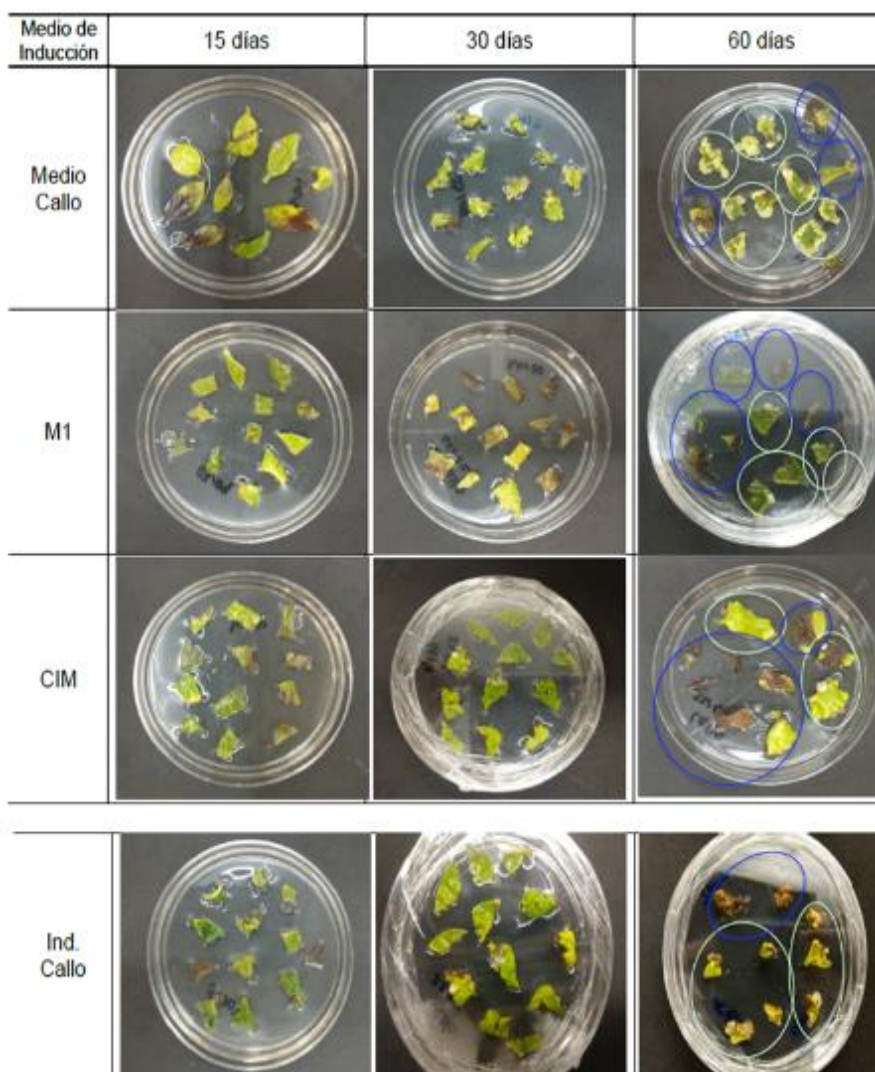


Figura 48. Inducción de embriones somáticos de hojas de café en diferentes medios de cultivo.

A los 60 días se obtuvieron resultados diferentes para cada medio, redondeados en color azul se muestran aquellos explantes que no indujeron ningún tipo de callo, mientras que en color verde claro se visualizan aquellos que si lograron inducir la formación de callo. A primera vista se observa que hubo mayor inducción para “Inducción Callo” y “Medio Callo” respectivamente.

Posteriormente se tomaron fotografías con ayuda de un estereoscopio para hacer un análisis más detallado y poder tener una visualización óptima de las características de los callos que se formaron para cada uno de los medios de inducción.

De acuerdo a Ibrahim (2013) para inducir un callo de mejores características y en menor tiempo es necesario el empleo de una mayor concentración de auxinas en comparación con la de las citocininas, dicha condición se cumple en “medio Callo” (2,4-D 2.75 mg/L, Cinetina (KIN) 0.1 mg/L) y en “CIM” (2,4-D 2 mg/L, BAP 1 mg/L).

Sin embargo, para el caso particular de “CIM”, el callo que se formó fue en un periodo de aproximadamente de 20 a 30 días, esta estructura ya no crecía en tamaño ocasionando que eventualmente el callo muriera, era un callo compacto y dependiente del tejido del explante (**figura 49**).

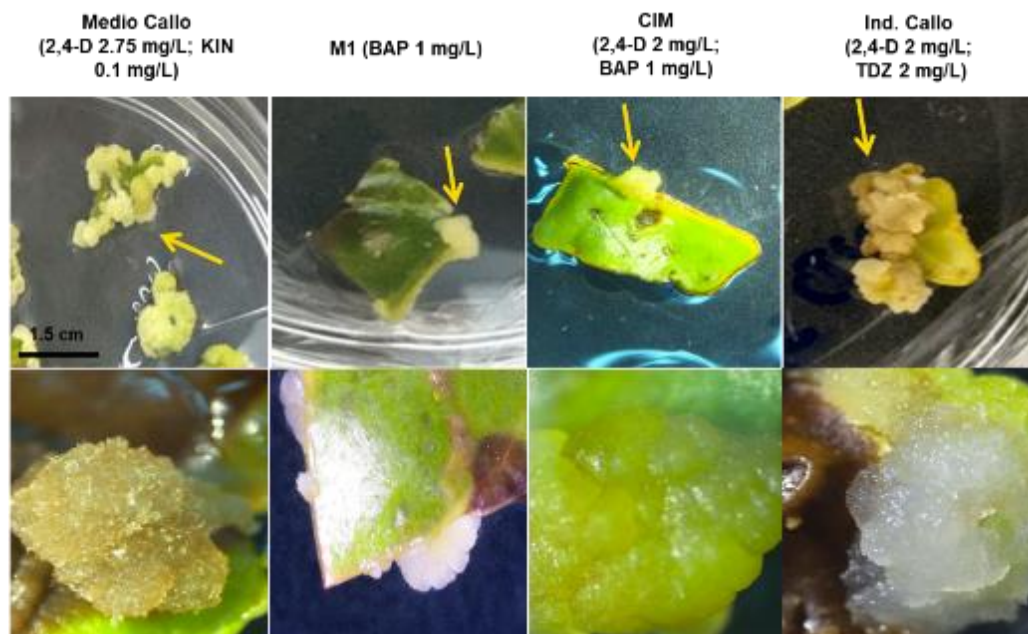


Figura 49. Efecto de reguladores de crecimiento en la inducción de callo de diferentes características a 60 días.

De acuerdo con Momoko *et al.* (2016) un callo de buenas características debe ser aquel que sea friable, que presente células independientes del tejido y de color amarillo brillante, dichas características se cumplen con el callo formado en “medio callo”, y obteniendo este tipo de resultados en periodos de 60 días.

La concentración de TDZ (2 mg/L) junto el 2,4-D (2 mg/L) tuvieron como resultado la formación de un callo de un buen tamaño y en poco tiempo de experimentación, a pesar de ello, las células del callo comenzaron a presentar un color verduzco, como se muestra en la **figura 49**, lo que indica que dichas células comienzan a fotosintetizar, sugiriendo una posible re-diferenciación celular, tal efecto se atribuye a la combinación del TDZ con el 2,4-D (Rojas-Martínez *et al.*, 2010).

Los callos en “M1” demoraron casi 60 días en formarse y por lo tanto el tamaño de este era considerablemente menor en comparación con los antes mencionados, este hecho se atribuye a la única concentración de BAP (1 mg/L) incluida en el medio de cultivo (Ibrahim, 2013).

Para identificar al medio de cultivo que promoviera la mejor formación de callo embriogénico, se procedió a calcular el porcentaje de inducción en diferentes medios de cultivo. Los resultados se presentan en la **figura 50**.

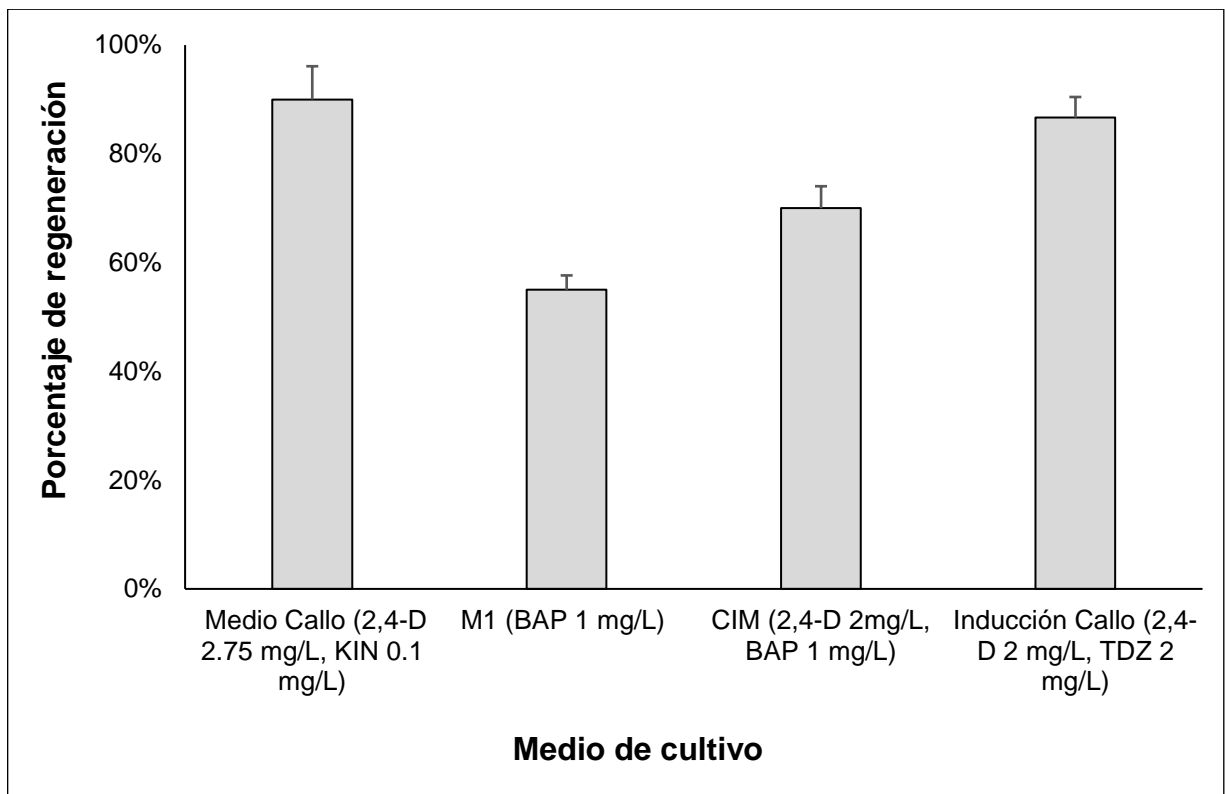


Figura 50. Efecto de reguladores de crecimiento en el porcentaje de producción de estructuras pre-embriogénicas (callo). Total de explantes por medio de cultivo= 60, Número de explantes con callo: **Medio Callo**= 54; **M1**= 33, **CIM**= 42, **Inducción Callo**= 52. Porcentaje de formación de callo : **Medio callo**= 90%, **M1**= 55%, **CIM**= 70%, **Inducción Callo**= 87%.

Con los datos presentados, y tomando en consideración el porcentaje de producción junto las características de los callos obtenidos en “Medio Callo”, este último fue el seleccionado para continuar con la experimentación y se volvieron a sembrar en este medio, con la finalidad de que los callos aumentaran su tamaño. Después de 120 días de incubación, se obtuvieron estructuras como las que se muestran en la **figura 51**.

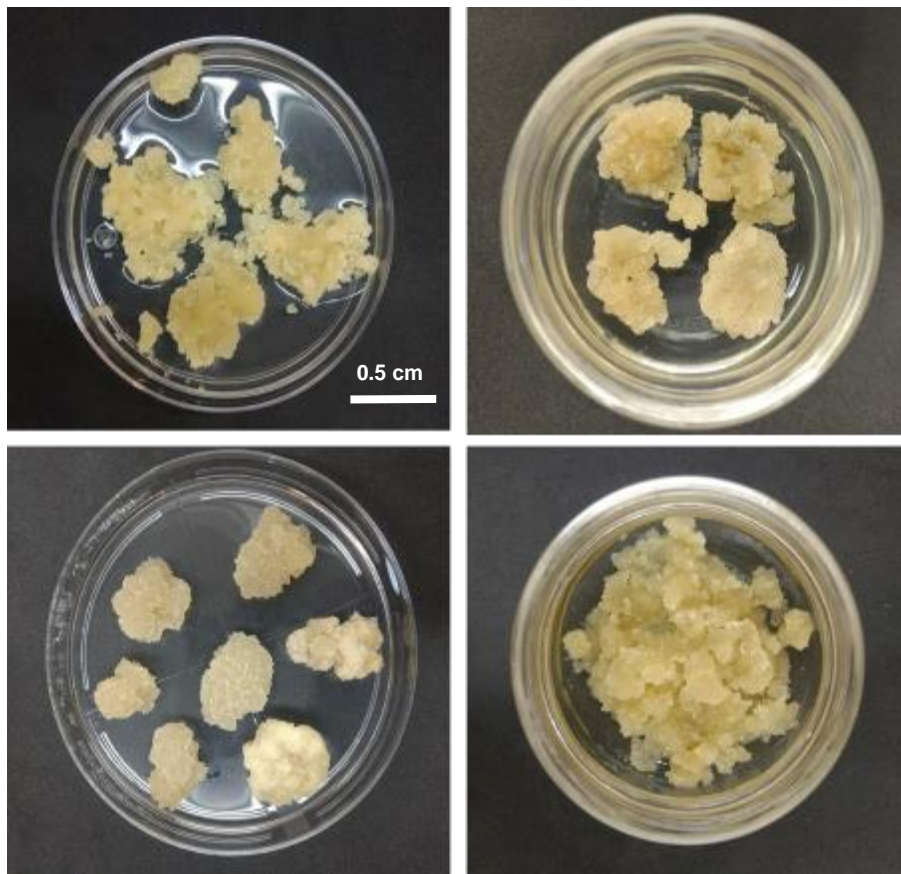


Figura 51. Estructuras pre-embriogénicas en medio de Callo a 120 días.

6.6.2. Regeneración de estructuras pre-embriogénicas de café

Después de mantener los callos en medio de inducción, se procedió a transferirlos a medios de regeneración. Se tomaron imágenes para hacer el registro visual de su evolución a lo largo de 30 y 60 días de incubación, respectivamente. Los resultados se presentan en la **figura 52**.

A los 60 días, los callos en medio de regeneración se segmentaron en callos más pequeños para ser colocados nuevamente en medio de regeneración. Al ser ya callos friables, las células se van a encontrar compitiendo por los nutrientes del medio. Por lo tanto, el flujo de nutrientes entre ellas no es similar por lo que los callos más grandes deben segmentarse en pedazos más pequeños y ser distribuidos a lo largo de la caja Petri.

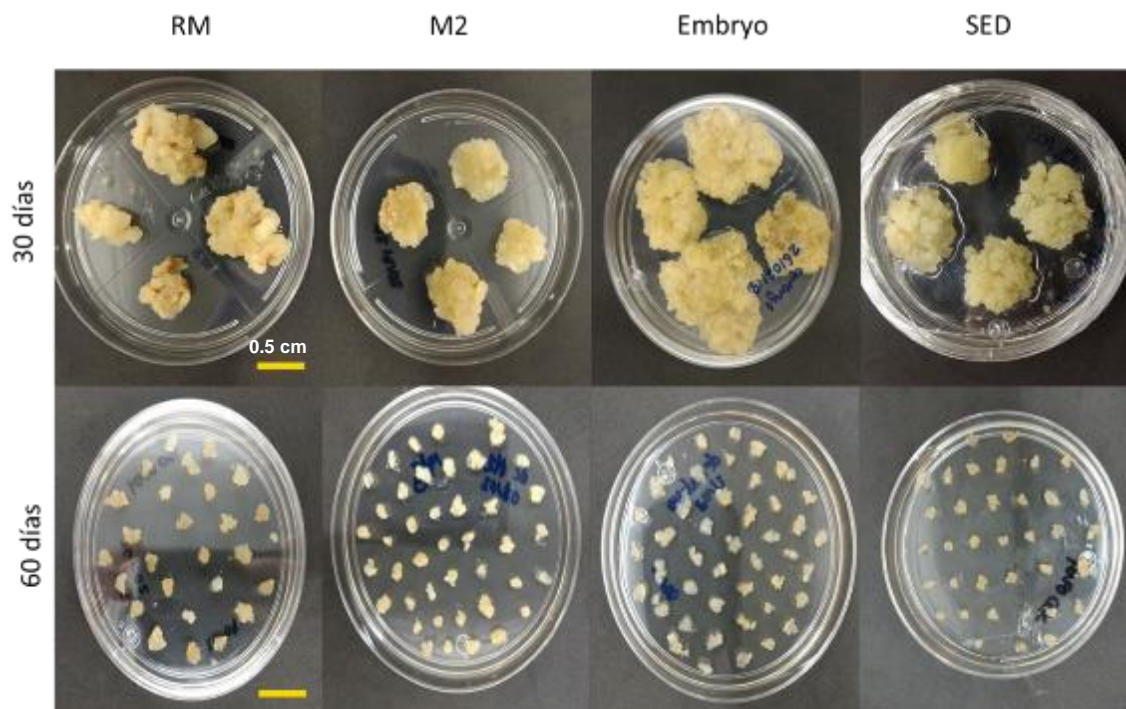


Figura 52. Estructuras pre-embriogénicas a 30 y 60 días de incubación en distintos medios de regeneración (RM, M2 Embryo y SED).

Se tomaron imágenes al estereoscopio para hacer el análisis de una posible formación de estructuras embriogénicas, con el fin de observar el inicio de la etapa regenerativa de los callos en los cuatro medios distintos de regeneración. Los resultados obtenidos para estos análisis se presentan en la **figura 53**.

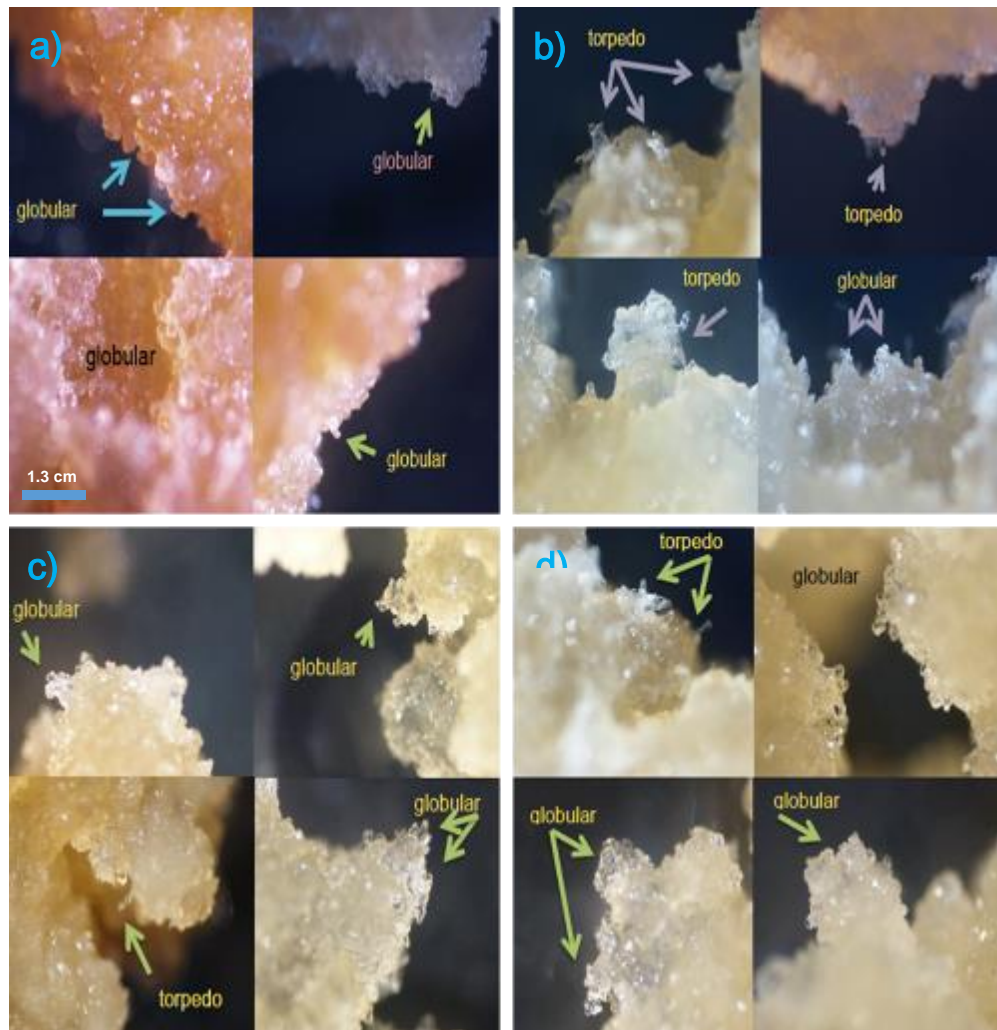


Figura 53. Diferentes etapas de la embriogénesis somática en callos de café después de 60 días de cultivo. **a)** Formación de estructuras globulares en medio RM. **b)** Formación de estructuras globulares y torpedo en medio M2. **c)** Formación de estructuras globulares y torpedo en medio embryo. **d)** Formación de estructuras globulares y torpedo en medio SED.

De acuerdo con Loyola-Vargas *et al.* (2016), la inducción de las etapas regenerativas en la embriogénesis somática debe limitarse por la eliminación o reducción de la concentración de auxinas, mientras que, por el contrario, la concentración de citocininas debe aumentarse o debe mantenerse en la misma concentración. “RM”, “Embryo” y “SED” cumplen con lo anteriormente expuesto.

No obstante, en el medio “RM” no se logró localizar alguna estructura del tipo torpedo, que indicará una etapa regenerativa más avanzada. Es posible que la baja concentración de BAP (1 mg/L) haya contribuido a tal hecho. Mientras que, en “Embryo” y “SED” se lograron observar estructuras globulares y de torpedo en la superficie de todos los explantes observados, el uso de citocininas en mayor concentración, puede que haya sido la causa de este resultado.

En algunos callos no se observó ningún tipo de estructura relacionada con la regeneración del embrión somático. Fehér (2019) describe que esto se debe a la hiperhidricidad, fenómeno fisiológico que se presenta en los cultivos *in vitro* de plantas y se refiere al exceso de agua que adquieren algunos tejidos. En el caso particular de este trabajo, el callo adquirió una forma redonda de color brillante con superficie lisa, por lo que se complicó encontrar estructuras regenerativas.

El porcentaje de regeneración que presentaron los callos cultivados en los diferentes medios de regeneración se calcularon después de 60 días de incubación (**figura 54**). Siendo “SED” el que obtuvo un mayor porcentaje de regeneración con un 95%.

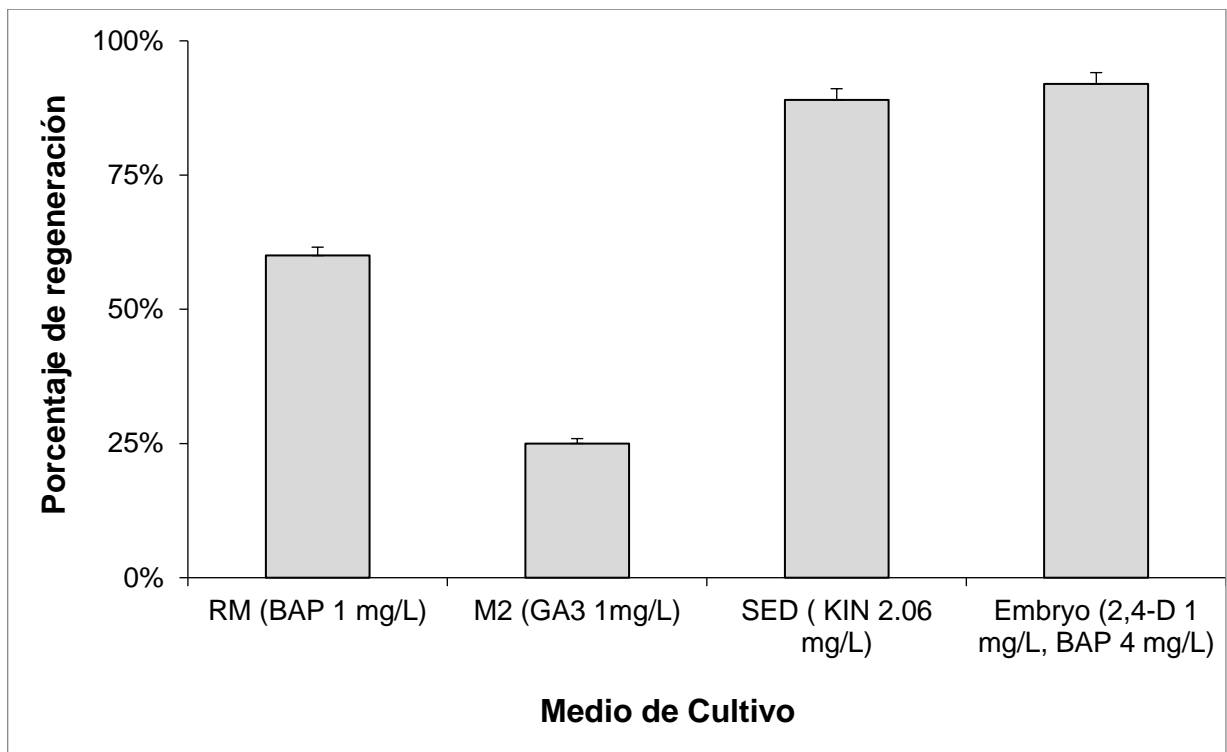


Figura 54. Porcentaje de regeneración en diferentes medios de cultivo después de 60 días de incubación. Total de explantes analizados por medio de cultivo= 20. Número de callos con estructuras globular/ torpedo: **RM= 10, M2= 13, Embryo= 17, SED= 19.** Porcentaje de regeneración: **RM= 50%, M2= 65%, Embryo= 85%, SED 95%.**

6.6.3 Embriogénesis somática directa

Después de 60 días también se observó la formación de estructuras que sugirieron la inducción de embriogénesis somática directa. A diferencia de la vía indirecta (formación de callo), la planta se va a regenerar a partir del propio explante (hoja) sin la necesidad de utilizar diferentes medios de cultivo para la regeneración. Se tomaron imágenes a los 60 días de incubación de las estructuras formadas, dichos resultados se exponen en la **figura 55.**

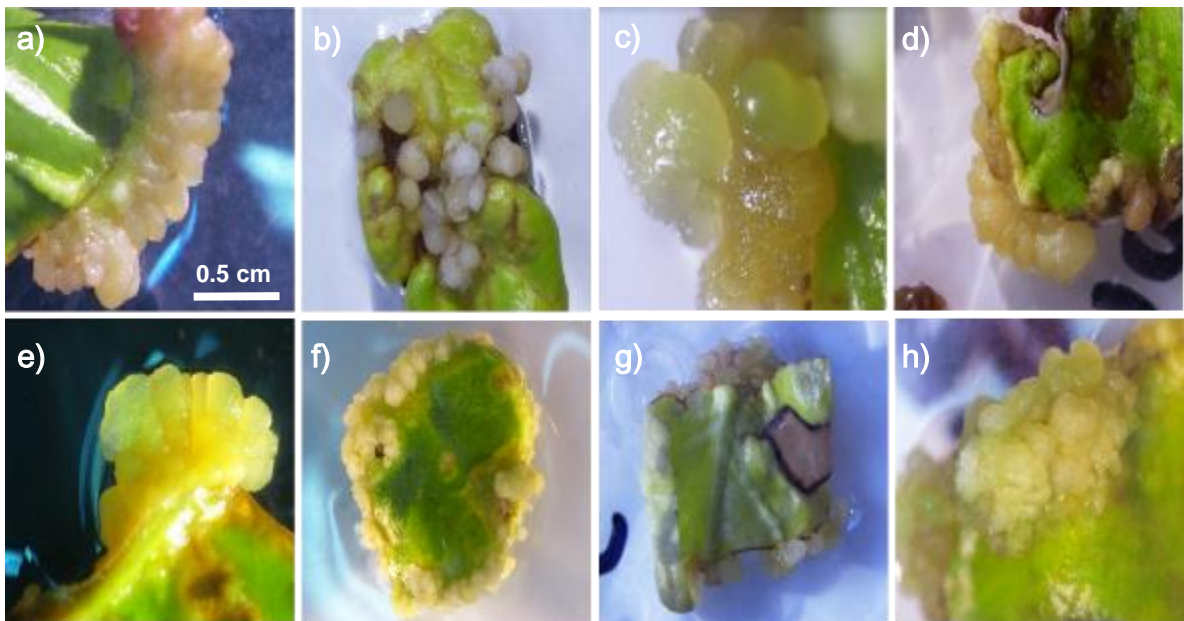


Figura 55. Imágenes representativas de la Inducción de embriogénesis somática directa en los 3 medios de inducción de callo. **a)** Estructuras corazón en medio de callo. **b)** Estructuras globulares en medio de callo. **c)** Estructura globular y corazón en medio de callo. **d)** Estructuras globulares y de corazón en medio CIM. **e)** Estructuras globulares y de corazón en medio M1. **f)** Inicio de la formación de estructuras globulares en medio M1. **g)** Estructuras globulares en medio CIM. **h)** Estructuras corazón en medio de callo.

Los explantes en “medio de Callo” presentaron estructuras de tipo globular y corazón a los 60 días de incubación, como se observan en las imágenes de la **figura 55**. Mientras que en los explantes en “CIM”, se observó la formación igualmente de este tipo de estructuras. Asimismo, en “M1” se presentaron estas mismas etapas en el mismo explante.

La vía directa es menos común en el género *Coffea*, y está regulada por medios suplementados únicamente con citocininas (Campos *et al.*, 2017). “M1” suplementado únicamente con BAP como el único regulador de crecimiento, fue fundamental para inducir embriogénesis somática directa.

No obstante, no queda claro la respuesta de los explantes en “medio Callo” y en “CIM” para inducir la vía directa, ya que estos dos medios contienen distintas concentraciones de auxinas. Atta *et al.* (2009) y Sugimoto *et al.* (2011) han reportado que las auxinas pueden presentar un efecto inhibitorio en la inducción de la embriogénesis somática directa, mientras que las citocininas son el factor esencial para la formación de embriones.

6.7 Conteo de cromosomas en raíces y estructuras pre-embriogénicas de café

Una vez obtenidos los histogramas de las 28 plantas regeneradas se utilizó la técnica de conteo de cromosomas utilizando raíces y estructuras pre-embriogénicas de café, con el fin de conocer su nivel de ploidía.

La visualización correcta de los cromosomas en prometafase requiere la estandarización de un protocolo específico para cada especie debido a que los componentes presentes en la pared celular y en el citoplasma pueden variar entre cada especie vegetal (Pierozzi *et al.*, 2001). Por lo que se probaron diferentes protocolos y concentraciones de compuestos que promovieran la interrupción de mitosis, degradación de la pared celular y tinción del material genético, reportadas en literatura, las cuales se presentan en la **tabla 9**.

En los primeros ensayos se probaron únicamente los antimitóticos colchicina, orizalin y agua a 4°C por 24 h en tejidos meristemáticos de raíz y en estructuras pre-embriogénicas sin realizar una degradación de pared celular, pero aplicando gran presión al colocar el cubreobjetos sobre las placas (técnica de squash) y posteriormente se tiñeron las células con acetocarmín por 2 h. Esto dio como resultado tejidos meristemáticos completos y células con pared celular como se observa en la **figura 56, a-b**.

En cambio, al incubar las muestras con enzimas a 30°C por 2h, se logró la disgregación del tejido como se observa en la **figura 56,c**, ya que las enzimas logran romper los enlaces de la pectina que conforman la laminilla media que mantiene unidas a las células, con ello se pudieron observar protoplastos presentados en la **figura 56,d**. Con el uso de este tratamiento fue posible ver diferentes fases de la mitosis, presentadas en la **figura 56,e** apreciando células en prometáfase, telofase y metafase.

Tabla 9. Metodología utilizada para establecer el protocolo de conteo de cromosomas en raíces y estructuras pre-embriogénicas de café.

Metodología					
1	Recolección	Meristemos apicales de raíz	6	Hidrólisis	Con hidrólisis (HCl 1N)
	de tejidos	Estructuras pre-embriogénicas		Con hidrólisis (HCl 5M)	
2	Sincronización celular	Colchicina	7	Tinción	Acetocarmín
		Orizalin			Reactivo de Schiff's
		Agua fría			Giemsa
		Hidroxiurea			DAPI
		Hidroxiurea-Colchicina			IP
		Hidroxiurea-Orizalin			
3	Protocolo de extracción de núcleos		8	Disgregación mecánica	Sin disgregación
					Con disgregación

4	Fijación	Ácido acético/Etanol 4°C
		Ácido acético/Etanol -20°C

9	Lavado final	Sin lavado
		Ácido acético 45%
		Agua

5	Digestión enzimática	Sin digestión
		Pectinasa 1:30
		Pectinasa-Celulasa (5%-2%)
		Pectinasa-Celulasa-Pectiolasa (1%-0.5%-0.5%)

10	Montaje	Ácido acético 45%
		Glicerol 75%
		Glicerol 10% en PBS
		Fijación con nitrógeno

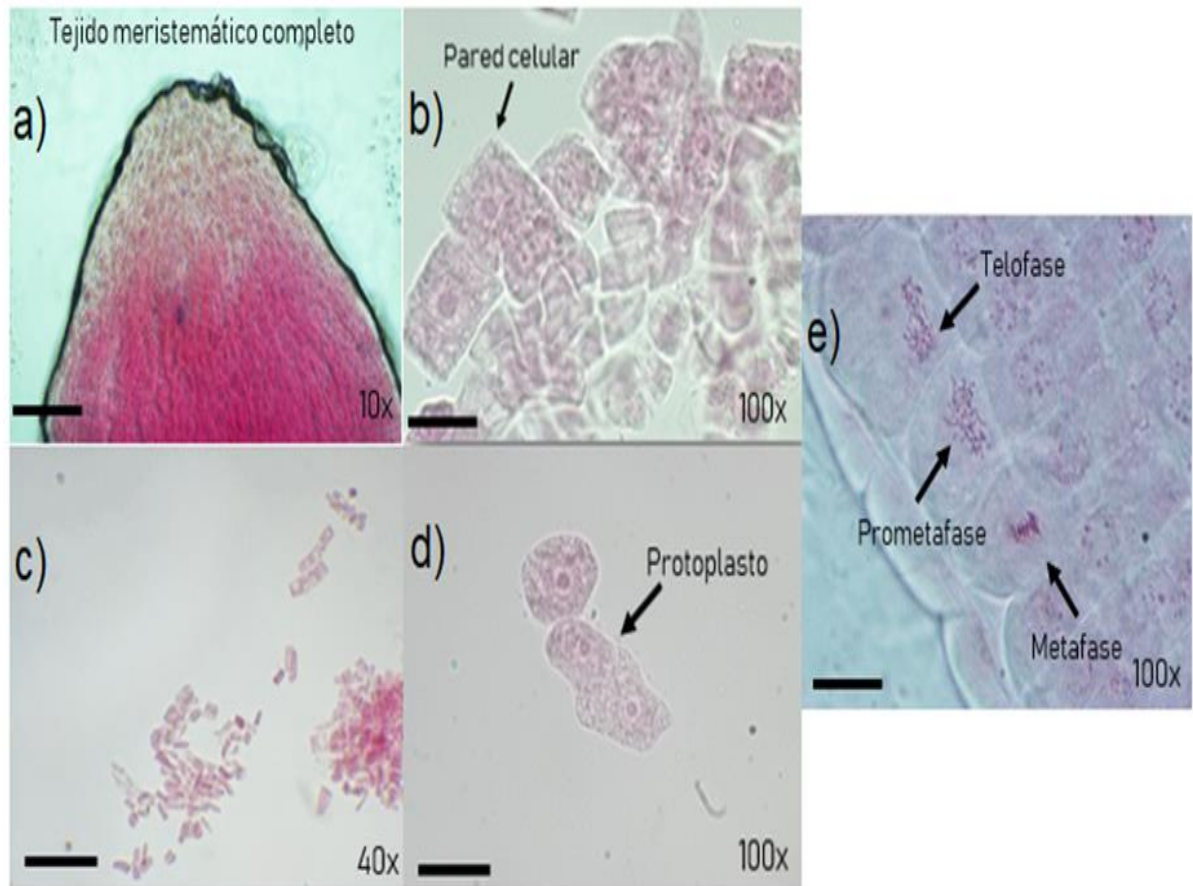


Figura 56. Tejido meristemático de raíz con un pretratamiento de colchicina a 4°C por 24h y teñido con acetocarmín por 2h. **a)** y **b)** Sin disgregación enzimática. **c)** y **d)** Con disgregación enzimática pectinasa 5%-celulasa 2% a 30°C por 1h. **e)** Células en diferentes etapas de mitosis.

Se realizó el mismo procedimiento utilizando Agente de Schiff obteniendo núcleos teñidos sin el uso de enzimas (**figura 57,a**) y con el uso de la mezcla enzimática (**figura 57,b**). Sin embargo, la nitidez de las imágenes es menor que las presentadas con acetocarmín, esto puede deberse a la interacción del compuesto de tinción con otros compuestos celulares. El uso de reactivo de Schiff en raíz de café no fue eficiente para observar los núcleos debido a los compuestos presentes en la pared celular. El uso de raíz de café no fue eficiente para realizar el conteo de cromosomas debido a los

compuestos presentes en la pared celular, por lo cual, se procedió a usar tejidos pre-embriogénicos que poseen un alto índice de mitosis al ser células no diferenciadas.

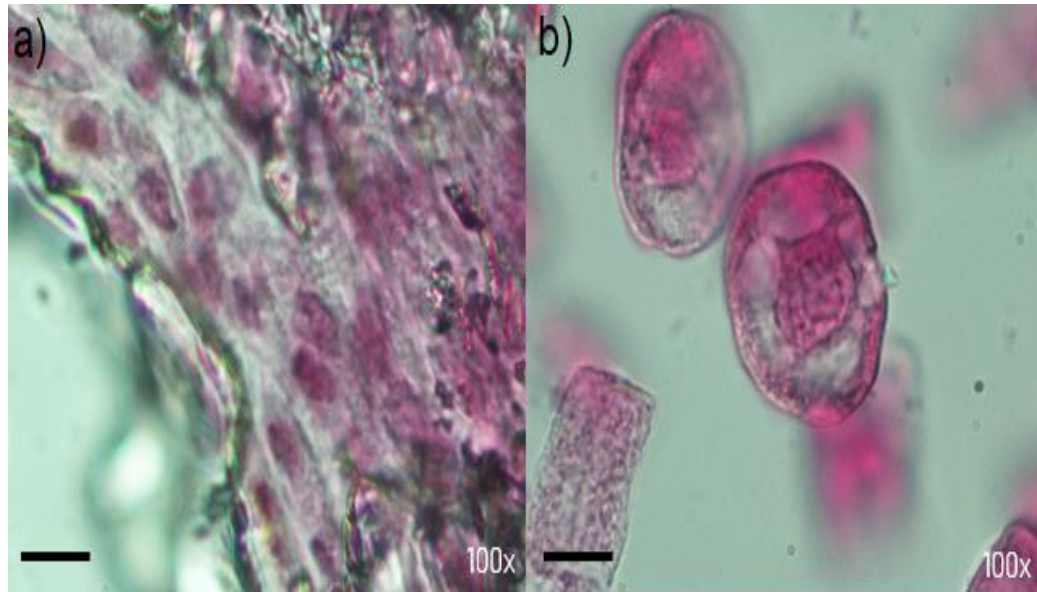


Figura 57. Tejido meristemático de raíz de café con un pretratamiento de colchicina a 4°C por 24h y teñido con Agente de Schiff por 12h. **a)** Sin disagregación enzimática. **b)** Con disagregación enzimática pectinasa 5%-celulasa 2% a 30°C por 1h.

El mejor tratamiento de tinción para microscopía óptica se obtuvo con Giemsa al 3% en PBS. Al utilizar solo colchicina como inhibidor de mitosis y se pudieron observar núcleos como el que se presenta en la **figura 58,a**. Posteriormente se cambió el protocolo añadiendo hidroxurea 1.75mM como sincronizador celular, colchicina como antimitótico y pectinasa 5%-celulasa 2% para degradar la pared celular y promover la dispersión celular en las placas, esto obtuvo los mejores resultados (**figura 58, b**).

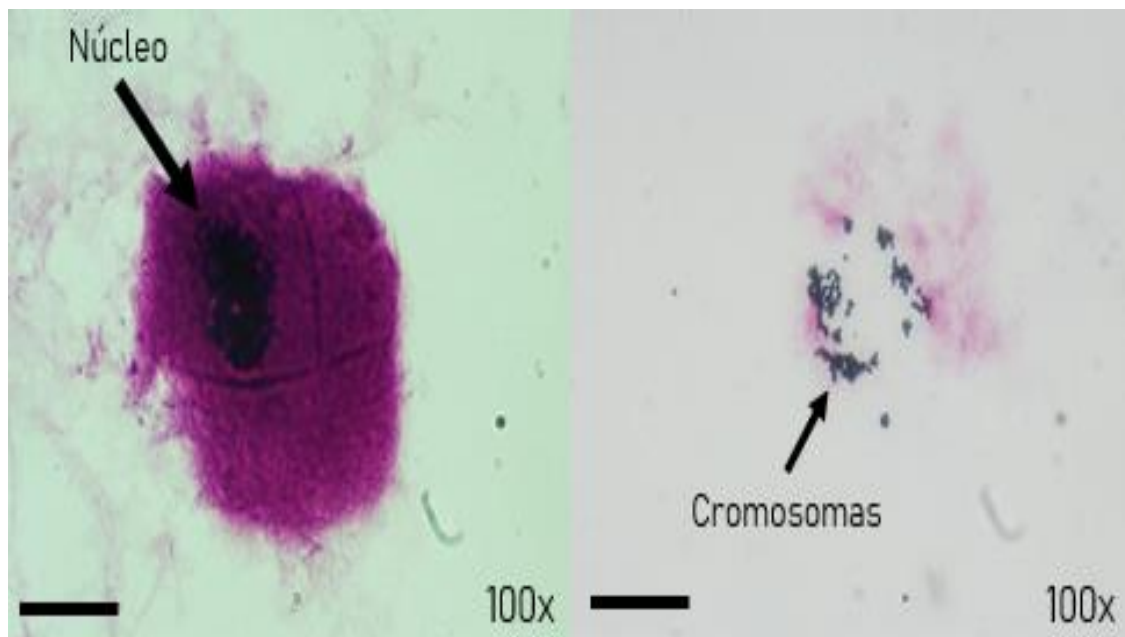


Figura 58. Estructuras pre-embriogénicas de café, disgregadas con pectinasa 5%-celulasa 2% a 30°C por 1h y teñido con Giemsa (3% en PBS) por 25 min. a) Pretratamiento con colchicina a 4°C por 24h. b) Con un pretratamiento de hidroxiurea 28°C por 24h y colchicina a 4°C por 24h.

En contraste con los resultados anteriores, Fuentes *et al.* (2014), realizaron la caracterización genética de plantas regeneradas a partir de injertos de diferentes especies de *Nicotiana*, de esta manera se comprobó el aumento de ploidía y la visualización de cromosomas en prometafase siendo posible su cuantificación. Debido a la interacción de los compuestos de tinción con diferentes estructuras celulares se propuso utilizar microscopía confocal para obtener imágenes de alta resolución y facilitar el conteo de los cromosomas. Para ello, se puso en práctica la mejor metodología antes descrita (hidroxiurea y colchicina como pretratamiento y pectinasa-celulasa para la disgregación de pared celular). En este protocolo se probaron dos compuestos de tinción, DAPI y IP. El yoduro de propidio posee una naturaleza intercalante en el material genético, por lo cual, las muestras se observaron

sobresaturadas del compuesto y se optó por utilizar DAPI, con el cual se logró ver cromosomas teñidos como los que se presentan en la **figura 59**.

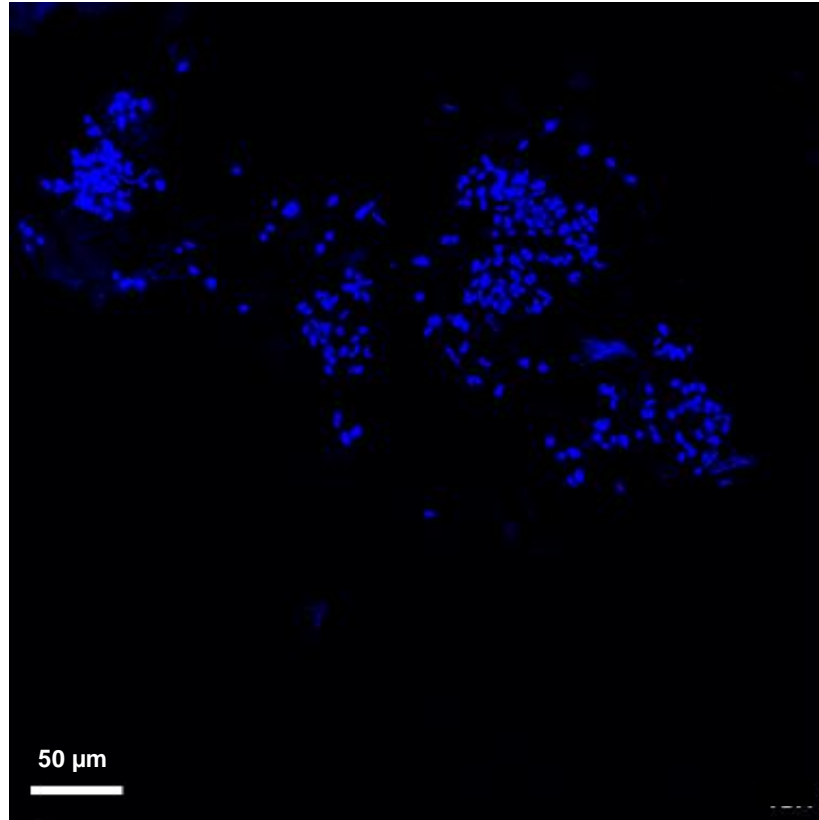


Figura 59. Cromosomas deestructuras pre-embriogénicas de café, con pretratamiento de hidroxiiurea y colchicina, disgregadas con pectinasa-celulasa y teñido con DAPI.

Para evitar falsos positivos por interferencia de otros tejidos celulares y verificar que realmente se tiñera el material genético, se realizó una proyección 3D de la muestra en la cual se aprecia la imagen de un cromosoma (**figura 60**).

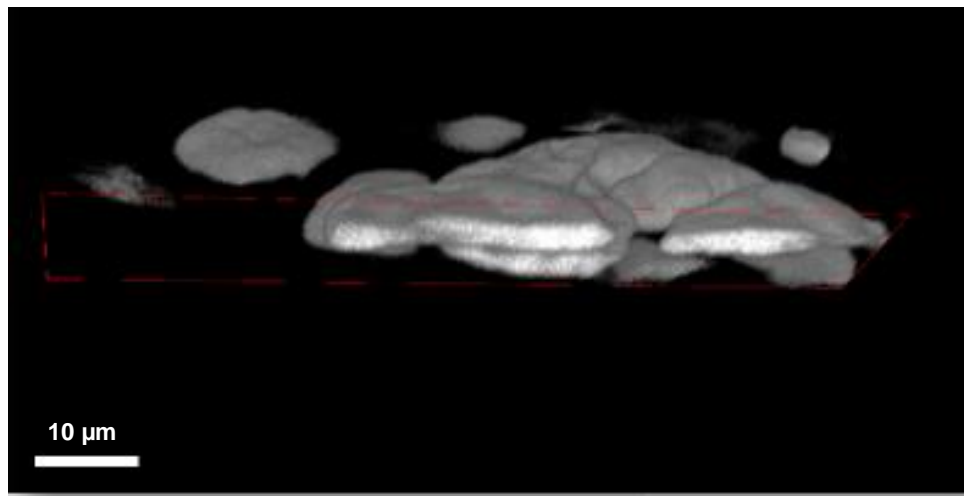


Figura 60. Proyección 3D de un cromosoma de café mediante microscopía confocal.

Una vez asegurada la correcta tinción de los cromosomas, se aplicó esa metodología a estructuras pre-embriogénicas de la planta 27 y se obtuvieron las imágenes que fueron procesadas por el programa Leica ASF e Image J para mejorar la calidad de esta (**figura 61**). Posteriormente se realizó su conteo, obteniendo alrededor de 88 cromosomas, siendo la suma total de los cromosomas de sus parentales que formaron el injerto. Estos resultados verifican la transferencia de material genético nuclear de los dos parentales y refleja que el nivel de ploidía del tejido de donde fue obtenida la muestra es octaploide.

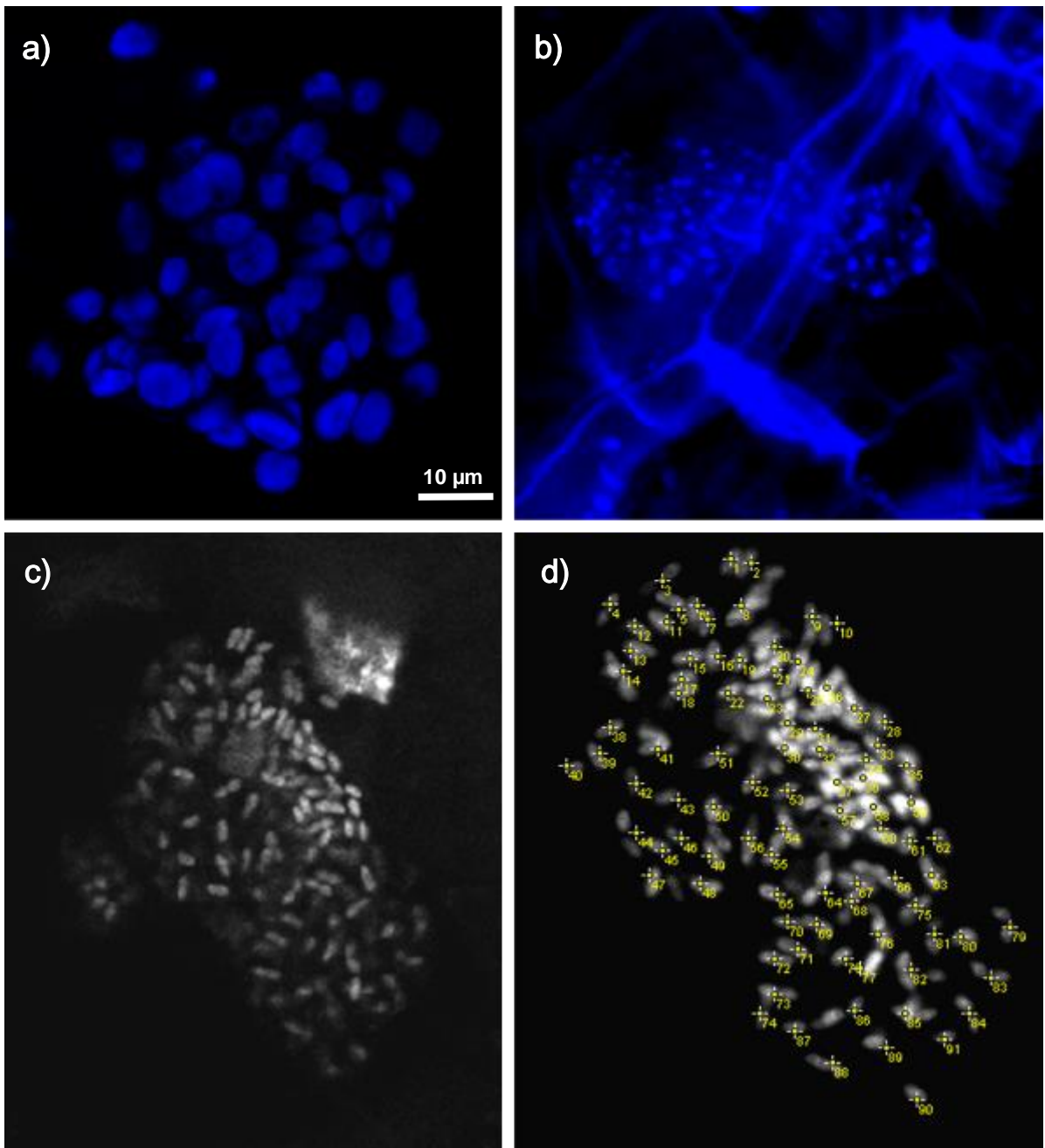


Figura 61. Conteo de cromosomas de la planta regenerada 27 (88 cromosomas). **a)** Imagen de cromosomas de *C. arabica* cv. IAPAR 59. **b)** Imagen de cromosomas de *C. arabica* cv. Oro Azteca. **c)** Imagen de cromosomas de la planta regenerada 27. **d)** Conteo de los cromosomas de la planta 27, el conteo se realizó a través del programa Image J.

Sanglard *et al.* (2017) utilizaron colchicina para promover la generación de plantas hexaploides a partir de embriones somáticos de café. Sin embargo, con el paso de las generaciones el nivel de ploidía de las plantas regeneradas se fue perdiendo.

Estudios recientes han demostrado que la THG (movimiento de material genético entre dos o más organismos sexualmente incompatibles) favorece la formación de nuevas especies con mayor variabilidad genética (Fuentes *et al.*, 2014). Las plantas obtenidas por medio de THG se producen mediante injertos, en donde existe el contacto íntimo célula a célula entre dos o más diferentes plantas, que, con el paso del tiempo, se fusionan y forman una nueva planta con mayor contenido de ADN.

Por último, las nuevas plantas podrían tener importantes características agronómicas como: vigor híbrido y nuevos genes de resistencia. No obstante, se necesitan más estudios de THG en plantas de café para conocer si el aumento del contenido genético es estable. De mantenerse la estabilidad genética, la THG es una alternativa viable para la obtención de plantas poliploides de importancia agrícola.

7. Conclusiones

En el presente trabajo se obtuvieron y caracterizaron plantas de café con mayor contenido de ADN mediante transferencia horizontal de genes.

La generación de variedades de café utilizando injertos con progenitores contrastantes, fue factible mediante organogénesis directa, utilizando diferentes concentraciones de citocininas y auxinas.

Fue posible la inducción y desarrollo de la etapa regenerativa de embriogénesis somática en plantas regeneradas de café, utilizando Auxinas en mayor concentración en comparación al uso de Citocininas. Se observó la inducción de embriogénesis somática por ambas vías, directa e indirecta.

Se logró la estimación del tamaño del genoma y el contenido de AT% y GC% en los parentales de café utilizados en los injertos, permitió hacer una comparación directa del contenido de ADN con las plantas regeneradas de café, así como la identificación de diferentes grupos. Esta información podría ser útil para los programas de mejoramiento de *C. arabica*, dada la escasez de estudios del tamaño de genoma en diferentes cultivares importantes de *C. arabica*. Además, estos resultados pueden ser relevantes para el análisis genómico, así como para una mejor comprensión de las relaciones evolutivas, la diversificación, la hibridación y la poliploidía de *C. arabica*.

Finalmente, el análisis del tamaño de genoma y conteo de cromosomas en las plantas regeneradas de café indican que la transferencia horizontal podría ser una posible herramienta para generar plantas con mayor contenido de ADN y nivel de ploidía. Sin embargo, se necesitan más estudios para poder concluirlo.

8. Perspectivas

Asegurarse de utilizar como explante solo la zona del injerto que se fusionó durante el proceso de unión del injerto.

Establecer un protocolo para la fácil regeneración de plántulas de café utilizando únicamente el tejido vegetal fusionado en la zona del injerto. Con el propósito de limitar la regeneración de las células con mayor contenido de ADN y así tratar de evitar la obtención de plantas mixoploides.

Evaluar la regeneración de la zona del injerto mediante embriogénesis somática. Para conocer si el aumento del contenido de ADN en la planta regenerada es estable en el desarrollo de la embriogénesis somática.

Llevar a cabo estudios con marcadores moleculares para buscar secuencias blanco e identificar genes de interés en las plantas regeneradas.

9. Bibliografía

- Ahmad, N., & Anis, M. (2007). Rapid clonal multiplication of a woody tree, *Vitex negundo* L. through axillary shoots proliferation. *Agroforestry systems*, 71(3), 195-200.
- Ahmed, M. R., & Anis, M. (2012). Role of TDZ in the quick regeneration of multiple shoots from nodal explant of *Vitex trifolia* L. An important medicinal plant. *Applied biochemistry and biotechnology*, 168(5), 957-966.
- Akasaka, Y., Daimon, H., & Mii, M. (2000). Improved plant regeneration from cultured leaf segments in peanut (*Arachis hypogaea* L.) by limited exposure to thidiazuron. *Plant Science*, 156(2), 169-175.
- AL-Azab, A., Habib, S., Hussein, M., & El-Sherif, F. (2018). Micropropagation of Four Coffee Cultivars (*Coffea arabica* L.) from Yemen through Shoot Tip Culture. *Hortscience Journal of Suez Canal University*, 4(1), 25–31.
- Aloni, B., Cohen, R., Karni, L., Aktas, H., & Edelstein, M. (2010). Hormonal signaling in rootstock–scion interactions. *Scientia Horticulturae*, 127(2), 119-126.
- Anthony, F., Bertrand, B., Quiros, O., Wilches, A., Lashermes, P., Berthaud, J., & Charrier, A. (2001). Genetic diversity of wild coffee (*Coffea arabica* L.) using molecular markers. *Euphytica*, 118(1), 53-65.
- Anthony, F., Combes, M. C., Astorga, C., Bertrand, B., Graziosi, G., & Lashermes, P. (2002). The origin of cultivated *Coffea arabica* L. varieties revealed by AFLP and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(5), 894-900.
- Aremu, A. O., Plačková, L., Pěňčík, A., Novák, O., Doležal, K., & Van Staden, J. (2016). Auxin-cytokinin interaction and variations in their metabolic products in the regulation of organogenesis in two *Eucomis* species. *New biotechnology*, 33(6), 883-890.
- Arumuganathan, K., & Earle, E. D. (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant molecular biology reporter*, 9(3), 208-218.
- Atta, R., Laurens, L., Boucheron-Dubuisson, E., Guivarc'h, A., Carnero, E., Giraudat-Pautot, V., & Chriqui, D. (2009). Pluripotency of *Arabidopsis* xylem pericycle underlies

shoot regeneration from root and hypocotyl explants grown in vitro. *The Plant Journal*, 57(4), 626-644.

Bainbridge, K., Sorefan, K., Ward, S., & Leyser, O. (2005). Hormonally controlled expression of the *Arabidopsis* MAX4 shoot branching regulatory gene. *The Plant Journal*, 44(4), 569-580.

Barow, M., & Meister, A. (2002). Lack of correlation between AT frequency and genome size in higher plants and the effect of nonrandomness of base sequences on dye binding. *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 47(1), 1-7.

Barrera F., Gómez J., Castillo A., López E, Herrera J., y González G. (2008). Broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). En: Arredondo-Bernal, H. C. & L. A. Rodríguez-del-Bosque (eds.). *Casos de Control Biológico en México* (pp. 101-120). México, D. F.

Baruah, A., Naik, V., Hendre, P. S., Rajkumar, R., Rajendrakumar, P., & Aggarwal, R. K. (2003). Isolation and characterization of nine microsatellite markers from *Coffea arabica* L., showing wide cross-species amplifications. *Molecular Ecology Notes*, 3(4), 647-650.

Bennett, M. D., Leitch, I. J., Price, H. J., & Johnston, J. S. (2003). Comparisons with *Caenorhabditis* (approximately 100 Mb) and *Drosophila* (approximately 175 Mb) using flow cytometry show genome size in *Arabidopsis* to be approximately 157 Mb and thus approximately 25% larger than the *Arabidopsis* genome initiative estimate of approximately 125 Mb. *Annals of botany*, 91(5), 547-557.

Bennett, M.D. and I.J. Leitch. (2012). Plant DNA C-values database. (release 8.0, Dec. 2012) 11 January 2018. <http://www.kew.org/cvalues/> (revisado el 16 de diciembre de 2018).

Bennetzen, J. L., Ma, J., & Devos, K. M. (2005). Mechanisms of recent genome size variation in flowering plants. *Annals of botany*, 95(1), 127-132.

Bertrand, B., Alpizar, E., Lara, L., Santacreo, R., Hidalgo, M., Quijano, J. M., & Etienne, H. (2011). Performance of *Coffea arabica* F1 hybrids in agroforestry and full-sun

cropping systems in comparison with American pure line cultivars. *Euphytica*, 181(2), 147-158.

Bertrand, B., Etienne, H., Cilas, C., Charrier, A., & Baradat, P. (2005). *Coffea arabica* hybrid performance for yield, fertility and bean weight. *Euphytica*, 141(3), 255-262.

Bock, R. (2010). The give-and-take of DNA: horizontal gene transfer in plants. *Trends in plant science*, 15(1), 11-22.

Braszewska-Zalewska, A., Bernas, T., & Maluszynska, J. (2010). Epigenetic chromatin modifications in Brassica genomes. *Genome*, 53(3), 203-210.

Bremer, B., & Eriksson, T. (2009). Time tree of Rubiaceae: phylogeny and dating the family, subfamilies, and tribes. *International Journal of Plant Sciences*, 170(6), 766-793.

Brosnan, C. A., Mitter, N., Christie, M., Smith, N. A., Waterhouse, P. M., & Carroll, B. J. (2007). Nuclear gene silencing directs reception of long-distance mRNA silencing in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(37), 14741-14746.

Bryant, G. (2006). *Plant propagation A to Z: Growing plants for free*. Estados Unidos. Firefly Books.

Buhtz, A., Pieritz, J., Springer, F., & Kehr, J. (2010). Phloem small RNAs, nutrient stress responses, and systemic mobility. *BMC plant biology*, 10(1), 64.

Cabral, P. G. C., Zambolim, E. M., Zambolim, L., Lelis, T. P., Capucho, A. S., & Caixeta, E. T. (2009). Identification of a new race of *Hemileia vastatrix* in Brazil. *Australasian Plant Disease Notes*, 4(1), 129-130.

Campos, N. A., Panis, B., & Carpentier, S. C. (2017). Somatic embryogenesis in coffee: the evolution of biotechnology and the integration of omics technologies offer great opportunities. *Frontiers in plant science*, 8, 1460.

Capucho, A. S., Zambolim, E. M., Freitas, R. L., Haddad, F., Caixeta, E. T., & Zambolim, L. (2012). Identification of race XXXIII of *Hemileia vastatrix* on *Coffea arabica* Catimor derivatives in Brazil. *Australasian plant disease notes*, 7(1), 189-191.

CENICAFÉ. (2015). Condiciones Climáticas y edafológicas adecuadas para el café. http://www.cenicafe.org/modules.php?name=Sistemas_Produccion&file=condcli (revisado el 21 de Noviembre de 2018).

Chandler, J. W., & Werr, W. (2015). Cytokinin–auxin crosstalk in cell type specification. *Trends in plant science*, 20(5), 291-300.

Chen, Z. J. (2007). Genetic and epigenetic mechanisms for gene expression and phenotypic variation in plant polyploids. *Annual. Review of Plant Biology*, 58, 377-406.

Chen, Z. J. (2010). Molecular mechanisms of polyploidy and hybrid vigor. *Trends in plant science*, 15(2), 57-71.

Choudhury, R. R., Basak, S., Ramesh, A. M., & Rangan, L. (2014). Nuclear DNA content of *Pongamia pinnata* L. and genome size stability of in vitro-regenerated plantlets. *Protoplasma*, 251(3), 703-709.

Clarindo, W. R., & Carvalho, C. R. (2009). Comparison of the *Coffea canephora* and *C. arabica* karyotype based on chromosomal DNA content. *Plant Cell Reports*, 28(1), 73.

Clarindo, W. R., & Carvalho, C. R. (2011). Flow cytometric analysis using SYBR Green I for genome size estimation in coffee. *Acta histochemica*, 113(2), 221-225.

Clarindo, W. R., Carvalho, C. R., & Mendonça, M. A. C. (2012). Cytogenetic and flow cytometry data expand knowledge of genome evolution in three *Coffea* species. *Plant systematics and evolution*, 298(4), 835-844.

Clarindo, W. R., Carvalho, C. R., Caixeta, E. T., & Koehler, A. D. (2013). Following the track of “Híbrido de Timor” origin by cytogenetic and flow cytometry approaches. *Genetic resources and crop evolution*, 60(8), 2253-2259.

Cogbill, S., Faulcon, T., Jones, G., McDaniel, M., Harmon, G., Blackmon, R., & Young, M. (2010). Adventitious shoot regeneration from cotyledonary explants of rapid-cycling fast plants of *Brassica rapa* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 101(2), 127-133.

Contreras, R. N., & Shearer, K. (2018). Genome size, ploidy, and base composition of wild and cultivated *Acer*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 143(6), 470-485.

Corbesier, L., Vincent, C., Jang, S., Fornara, F., Fan, Q., Searle, I., & Coupland, G. (2007). FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *science*, 316(5827), 1030-1033.

Cros, J., Combes, M. C., Chabrilange, N., Hamon, S., Duperray, C., & des Angles, A. M. (1995). Nuclear DNA content in the subgenus *Coffea* (*Rubiaceae*): inter-and intra-specific variation in African species. *Canadian Journal of Botany*, 73(1), 14-20.

Darzynkiewicz, Z., Crissman, H., & Jacobberger, J. W. (2004). Cytometry of the cell cycle: cycling through history. *Cytometry Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 58(1), 21-32.

Davis, A. P., Bridson, D., & Rakotonasolo, F. (2005). A reexamination of *Coffea* subgenus *Baracoffea* and comments on the morphology and classification of *Coffea* and *Psilanthus* (*Rubiaceae-Coffeae*). *Monographs in Systematic Botany*, 104, 399-412.

Davis, A. P., Govaerts, R., Bridson, D. M., & Stoffelen, P. (2006). An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (*Rubiaceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 152(4), 465-512.

Dewitte, A., Eeckhaut, T., Van Huylenbroeck, J., & Van Bockstaele, E. (2009). Occurrence of viable unreduced pollen in a *Begonia* collection. *Euphytica*, 168(1), 81-94.

Dhooghe, E., Van Laere, K., Eeckhaut, T., Leus, L., & Van Huylenbroeck, J. (2011). Mitotic chromosome doubling of plant tissues in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 104(3), 359-373.

Diola, V., Brito, G. G., Caixeta, E. T., Pereira, L. F., & Loureiro, M. E. (2013). A new set of differentially expressed signaling genes is early expressed in coffee leaf rust race II incompatible interaction. *Functional & integrative genomics*, 13(3), 379-389.

- Diola, V., de Brito, G. G., Caixeta, E. T., Maciel-Zambolim, E., Sakiyama, N. S., & Loureiro, M. E. (2011). High-density genetic mapping for coffee leaf rust resistance. *Tree genetics & genomes*, 7(6), 1199-1208.
- Dodsworth, S., Leitch, A. R., & Leitch, I. J. (2015). Genome size diversity in angiosperms and its influence on gene space. *Current opinion in genetics & development*, 35, 73-78.
- Doležel, J., Sgorbati, S., & Lucretti, S. (1992). Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiologia plantarum*, 85(4), 625-631.
- Doležel, J., & Bartoš, J. A. N. (2005). Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of botany*, 95(1), 99-110.
- Doležel, J., & Greilhuber, J. (2010). Nuclear genome size: are we getting closer?. *Cytometry Part A*, 77(7), 635-642.
- Dolezel, J., Greilhuber, J., & Suda, J. (Eds.). (2007). *Flow cytometry with plant cells: analysis of genes, chromosomes and genomes*. Weinheim, Germany. Wiley-VCH.
- Eckardt, N.A. (2006). Identification of rust fungi avirulence elicitors. *The Plant Cell* 18,1–3.
- Eilam, T., Anikster, Y., Millet, E., Manisterski, J., & Feldman, M. (2009). Genome size in natural and synthetic autopolyploids and in a natural segmental allopolyploid of several Triticeae species. *Genome*, 52(3), 275-285.
- Escobedo-GraciaMedrano, R. M., Maldonado-Borges, J. I., Burgos-Tan, M. J., Valadez-González, N., & Ku-Cauich, J. R. (2014). Using flow cytometry and cytological analyses to assess the genetic stability of somatic embryo-derived plantlets from embryogenic *Musa acuminata Colla* (AA) ssp. *malaccensis* cell suspension cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 116(2), 175-185.
- Eskes, A. B., & Leroy, T. (2004). Coffee selection and breeding. *Coffee: growing, processing, sustainable production. A guidebook for growers, processors, traders and researchers*, 61-90.

- Eskes, A. B., Hoogstraten, J. G. J., Toma-Braghini, M., & Carvalho, A. (1990). Race-specificity and inheritance of incomplete resistance to coffee leaf rust in some Icatu coffee progenies and derivatives of Híbrido de Timor. *Euphytica*, 47(1), 11-19.
- Farah, A., & dos Santos, T. F. (2015). The coffee plant and beans: An introduction. En *Coffee in health and disease prevention* (pp. 5-10). Academic Press,
- Fehér, A. (2019). Callus, Dedifferentiation, Totipotency, Somatic Embryogenesis: What These Terms Mean in the Era of Molecular Plant Biology?. *Frontiers in plant science*, 10, 536.
- Feldman, M., & Levy, A. A. (2005). Allopolyploidy—a shaping force in the evolution of wheat genomes. *Cytogenetic and genome research*, 109(1-3), 250-258.
- Fernandes, R. D. C., Evans, H. C., & Barreto, R. W. (2009). Confirmation of the occurrence of teliospores of *Hemileia vastatrix* in Brazil with observations on their mode of germination. *Tropical Plant Pathology*, 34(2), 108-113.
- Fischersworing, B., & Robkamp, R. (2001). *Guía para la caficultura ecológica*. Tercera Edición Actualizada. GTZ. Edición Lopez Colombia, 153.
- Flaishman, M. A., Loginovsky, K., Golobowich, S., & Lev-Yadun, S. (2008). *Arabidopsis thaliana* as a model system for graft union development in homografts and heterografts. *Journal of plant growth regulation*, 27(3), 231.
- Fontes, B. P. D. (2003). *Citogenética, citometria de fluxo e citometria de imagem em Coffea spp.* PhD Thesis, Univ. of Viçosa, Brazil.
- Fox, M. H. (1980). A model for the computer analysis of synchronous DNA distributions obtained by flow cytometry. *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 1(1), 71-77.
- Freeling, M., Xu, J., Woodhouse, M., & Lisch, D. (2015). A solution to the C-value paradox and the function of junk DNA: the genome balance hypothesis. *Molecular plant*, 8(6), 899-910.

Fuentes, I., Stegemann, S., Golczyk, H., Karcher, D., & Bock, R. (2014). Horizontal genome transfer as an asexual path to the formation of new species. *Nature*, 511(7508), 232.

Garner, R. J. (2013). *The grafter's handbook*. Chelsea Green Publishing.

Ghimire, B. K., Yu, C. Y., & Chung, I. M. (2012). Direct shoot organogenesis and assessment of genetic stability in regenerants of *Solanum aculeatissimum* Jacq. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 108(3), 455-464.

Godelle, B., Cartier, D., Marie, D., Brown, S. C., & Siljak-Yakovlev, S. (1993). Heterochromatin study demonstrating the non-linearity of fluorometry useful for calculating genomic base composition. *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 14(6), 618-626.

Golan, G., Betzer, R., & Wolf, S. (2013). Phloem-specific expression of a melon Aux/IAA in tomato plants alters auxin sensitivity and plant development. *Frontiers in plant science*, 4, 329.

Goldschmidt, E. E. (2014). Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. *Frontiers in Plant Science*, 5, 727.

Golecki, B., Schulz, A., Carstens-Behrens, U., & Kollmann, R. (1998). Evidence for graft transmission of structural phloem proteins or their precursors in heterografts of Cucurbitaceae. *Planta*, 206(4), 630-640.

González, G. R., & Ramírez, del Á. M. (2013). Manual técnico para el manejo preventivo de la roya del cafeto. *Guía Práctica Para Iniciativas Agroindustriales*, 1–29. http://www.musalac.org/proyectos/fontagro_plat/guiasTecnicasFONTAGRO/ManualTecnicoManejoPoscosechaPlatano.pdf (revisado el 06 de agosto de 2019).

Greilhuber, J. (2005a). Intraspecific variation in genome size in angiosperms: identifying its existence. *Annals of Botany*, 95(1), 91-98.

Greilhuber, J., Doležel, J., Lysak, M. A., & Bennett, M. D. (2005b). The origin, evolution and proposed stabilization of the terms 'genome size' and 'C-value' to describe nuclear DNA contents. *Annals of botany*, 95(1), 255-260.

- Greilhuber, J., & Doležel, J. (2009). 2C or not 2C: a closer look at cell nuclei and their DNA content. *Chromosoma*, 118(3), 391-400.
- Grover, C. E., & Wendel, J. F. (2010). Recent insights into mechanisms of genome size change in plants. *Journal of Botany*, 2010.
- Grover, C. E., Yu, Y., Wing, R. A., Paterson, A. H., & Wendel, J. F. (2008). A phylogenetic analysis of indel dynamics in the cotton genus. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7), 1415-1428.
- Gu, X., & Zhang, S. (2006). The screening of cucumber rootstocks resistant to southern root-knot nematode. *China Vegetables*, (2), 4-8.
- Guo, B., Stiles, A. R., & Liu, C. Z. (2012). Thidiazuron enhances shoot organogenesis from leaf explants of *Saussurea involucreta* Kar. et Kir. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 48(6), 609-612.
- Gurdon, C., Svab, Z., Feng, Y., Kumar, D., & Maliga, P. (2016). Cell-to-cell movement of mitochondria in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(12), 3395-3400.
- Guzzo, S. D., Harakava, R., & Tsai, S. M. (2009). Identification of coffee genes expressed during systemic acquired resistance and incompatible interaction with *Hemileia vastatrix*. *Journal of Phytopathology*, 157(10), 625–638.
- Han, L., Zhou, C., Shi, J., Zhi, D., & Xia, G. (2009). Ginsenoside Rb 1 in asymmetric somatic hybrid calli of *Daucus carota* with *Panax quinquefolius*. *Plant cell reports*, 28(4), 627-638.
- Harada, T. (2010). Grafting and RNA transport via phloem tissue in horticultural plants. *Scientia Horticulturae*, 125(4), 545-550.
- Hare, P. (2014). New plant species through grafting. *Nature biotechnology*, 32(9), 887.
- Hartmann, H. ., Kester, D. E., Davies, F. T., & Geneve, R. L. (2010). *Plant Propagation. Principles and Practices*. In: *Principles of grafting and budding* (pp. 415–463). Estados Unidos. Prentice-Hall.

- Hernández Martínez, G., & Córdova Santamaria, S. (2011). México, café y productores historia de la cultura cafetalera que transformó nuestras regiones. Universidad Autónoma Chapingo. Xalapa, Ver., México.
- Hu, Q., Hansen, L., Laursen, J., Dixelius, C., & Andersen, S. (2002). Intergeneric hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus* containing traits of agronomic importance for oilseed rape breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 105(6-7), 834-840.
- Huang, H., Tong, Y., Zhang, Q. J., & Gao, L. Z. (2013). Genome size variation among and within *Camellia* species by using flow cytometric analysis. *PLoS One*, 8(5), e64981.
- Ibrahim, M. S. D., Hartati, R. S., Rubiyono, R., Purwito, A., & Sudarsono, S. (2013). Direct and indirect somatic embryogenesis on Arabica coffee (*Coffea arabica*). *Indonesian Journal of agricultural science*, 14, 79-86.
- ICO (2018). http://www.ico.org/new_historical.asp?section=Statistics (Revisado el 13 de mayo de 2019).
- Ikeuchi, M., Ogawa, Y., Iwase, A., & Sugimoto, K. (2016). Plant regeneration: cellular origins and molecular mechanisms. *Development*, 143(9), 1442-1451.
- Ioannou, N. (2001). Integrating soil solarization with grafting on resistant rootstocks for management of soil-borne pathogens of eggplant. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76(4), 396-401.
- Jang, Y., Yang, E., Cho, M., Um, Y., Ko, K., & Chun, C. (2012). Effect of grafting on growth and incidence of Phytophthora blight and bacterial wilt of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 53(1), 9-19.
- Jones, J. D., & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *nature*, 444, 323-329.
- Kalantidis, K., Schumacher, H. T., Alexiadis, T., & Helm, J. M. (2008). RNA silencing movement in plants. *Biology of the Cell*, 100(1), 13-26.
- Kehr, J., & Buhtz, A. (2013). Endogenous RNA constituents of the phloem and their possible roles in long-distance signalling. *Phloem. Molecular Cell Biology, Systemic Communication, Biotic Interactions*, 186-208.

- Kilambo, D. L., Reuben, S. O., & Mamiro, D. (2013). Races of *Hemileia vastatrix* and variation in pathogenicity of *Colletotrichum kahawae* isolates to compact coffee genotypes in Tanzania. *Journal of Plant Studies*; Vol. 2, 15-21.
- Kisaka, H., Kisaka, M., Kanno, A., & Kameya, T. (1998). Intergeneric somatic hybridization of rice (*Oryza sativa* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.) by protoplast fusion. *Plant cell reports*, 17(5), 362-367.
- Kollmann, R., & Glockmann, C. (1985). Studies on graft unions. I. Plasmodesmata between cells of plants belonging to different unrelated taxa. *Protoplasma*, 124(3), 224-235.
- Konan, O. N., D'Hont, A., Baudoin, J. P., & Mergeai, G. (2007). Cytogenetics of a new trispecies hybrid in cotton: [(*Gossypium hirsutum* L. x *G. thurberi* Tod.) 2x *G. longicalyx* Hutch. & Lee]. *Plant Breeding*, 126(2), 176-181.
- Kumar, V., Naidu, M. M., & Ravishankar, G. A. (2006). Developments in coffee biotechnology—in vitro plant propagation and crop improvement. *Plant cell, Tissue and organ culture*, 87(1), 49-65.
- Lashermes, P., Andrzejewski, S., Bertrand, B., Combes, M. C., Dussert, S., Graziosi, G., & Anthony, F. (2000). Molecular analysis of introgressive breeding in coffee (*Coffea arabica* L.). *Theoretical and applied genetics*, 100(1), 139-146.
- Lashermes, P., Combes, M. C., Hueber, Y., Severac, D., & Dereeper, A. (2014). Genome rearrangements derived from homoeologous recombination following allopolyploidy speciation in coffee. *The Plant Journal*, 78(4), 674-685.
- Lashermes, P., Combes, M. C., Robert, J., Trouslot, P., D'Hont, A., Anthony, F., & Charrier, A. (1999). Molecular characterisation and origin of the *Coffea arabica* L. genome. *Molecular and General Genetics*, 261(2), 259-266.
- Lashermes, P., Combes, M. C., Trouslot, P., & Charrier, A. (1997). Phylogenetic relationships of coffee-tree species (*Coffea* L.) as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Theoretical and Applied Genetics*, 94(6-7), 947-955.

- Lashermes, P., Cros, J., Marmey, P., & Charrier, A. (1993). Use of random amplified DNA markers to analyse genetic variability and relationships of *Coffea* species. *Genetic resources and crop evolution*, 40(2), 91-99.
- Leitch, I. J., Hanson, L., Lim, K. Y., Kovarik, A., Chase, M. W., Clarkson, J. J., & Leitch, A. R. (2008). The ups and downs of genome size evolution in polyploid species of *Nicotiana* (*Solanaceae*). *Annals of Botany*, 101(6), 805-814.
- Leong-Škorničková, J., Šída, O., Jarolímová, V., Sabu, M., Fér, T., Trávníček, P., & Suda, J. (2007). Chromosome numbers and genome size variation in Indian species of *Curcuma* (*Zingiberaceae*). *Annals of Botany*, 100(3), 505-526.
- Liberato, J. R. & Silva, M. C. (2006). Coffee Rust (*Hemileia vastatrix*) Pest and Diseases Image Library. <http://www.padil.gov.au> (revisado el 15 de septiembre de 2019).
- Liu, J., Xu, X., & Deng, X. (2005). Intergeneric somatic hybridization and its application to crop genetic improvement. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 82(1), 19-44.
- Liu, Y., Lu, J., Zhu, H., Li, L., Shi, Y., & Yin, X. (2016). Efficient culture protocol for plant regeneration from cotyledonary petiole explants of *Jatropha curcas* L. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(5), 907-914.
- López-Morgado, R., Díaz-Padilla, G., Zamarripa-Colmenero, A. (2013). El sistema producto café en México: problemática y tecnología de producción. Medellín de Bravo, Veracruz, México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional Golfo, Centro Campo Experimental Cotaxtla.
- Lopez-Perez, J. A., Le Strange, M., Kaloshian, I., & Ploeg, A. T. (2006). Differential response of Mi gene-resistant tomato rootstocks to root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*). *Crop Protection*, 25(4), 382-388.
- Lough, T. J., & Lucas, W. J. (2006). Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, 203-232.

- Loyola-Vargas, V. M., & Ochoa-Alejo, N. (2016). Somatic embryogenesis. An overview. En: Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications (pp. 1-8). Springer, Cham.
- Lysak, M. A., Koch, M. A., Beaulieu, J. M., Meister, A., & Leitch, I. J. (2008). The dynamic ups and downs of genome size evolution in *Brassicaceae*. *Molecular Biology and Evolution*, 26(1), 85-98.
- Mable, B. K. (2004). 'Why polyploidy is rarer in animals than in plants': myths and mechanisms. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82(4), 453-466.
- Machado, C. M. S., Pimentel, N. S., Golynsk, A., Ferreira, A., Vieira, H. D., & Partelli, F. L. (2017). Genetic diversity among 16 genotypes of *Coffea arabica* in the Brazilian cerrado. *Genetics and molecular research: GMR*, 16(3).
- Macías T., (2001). Principales enfermedades del cultivo del cafeto. En: Arnold, J. Manual de caficultura. 3ª ed .(págs. 176-191). Tegucigalpa, Honduras.
- Mahelka, V., Krak, K., Kopecký, D., Fehrer, J., Šafář, J., Bartoš, J., & Blattner, F. R. (2017). Multiple horizontal transfers of nuclear ribosomal genes between phylogenetically distinct grass lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(7), 1726-1731.
- Marques, I., Nieto Feliner, G., Martins-Loução, M. A., & Fuertes Aguilar, J. (2011). Genome size and base composition variation in natural and experimental *Narcissus* (*Amaryllidaceae*) hybrids. *Annals of botany*, 109(1), 257-264.
- Martinez, C., Jauneau, A., Roux, C., Savy, C., & Dargent, R. (2000). Early infection of maize roots by *Sporisorium reilianum* f. sp. zea. *Protoplasma*, 213(1-2), 83-92.
- Mason, A. S., & Batley, J. (2015). Creating new interspecific hybrid and polyploid crops. *Trends in biotechnology*, 33(8), 436-441.
- Meister, A. and M. Barow. 2007. Nuclear DNA content measurement. En: J. Doležel, J. Greilhuber, and J. Suda (eds.). *Flow cytometry with plant cells: Analysis of genes, chromosomes and genomes* (pp. 67–101). Weinheim, Germany. Wiley-VCH.

- Melnyk, C. W. (2017). Plant grafting: insights into tissue regeneration. *Regeneration*, 4(1), 3-14.
- Melnyk, C. W., & Meyerowitz, E. M. (2015a). Plant grafting. *Current Biology*, 25(5), 183-188.
- Melnyk, C. W., Schuster, C., Leyser, O., & Meyerowitz, E. M. (2015b). A developmental framework for graft formation and vascular reconnection in *Arabidopsis thaliana*. *Current Biology*, 25(10), 1306-1318.
- Mestiri, I., Chagué, V., Tanguy, A. M., Huneau, C., Huteau, V., Belcram, H., & Jahier, J. (2010). Newly synthesized wheat allohexaploids display progenitor-dependent meiotic stability and aneuploidy but structural genomic additivity. *New Phytologist*, 186(1), 86-101.
- Michaelson, M. J., Price, H. J., Ellison, J. R., & Johnston, J. S. (1991). Comparison of plant DNA contents determined by Feulgen microspectrophotometry and laser flow cytometry. *American journal of botany*, 78(2), 183-188.
- Moghe, G. D., & Shiu, S. H. (2014). The causes and molecular consequences of polyploidy in flowering plants. *Ann NY Acad Sci*, 1320(1), 16-34.
- Molnar, A., Melnyk, C. W., Bassett, A., Hardcastle, T. J., Dunn, R., & Baulcombe, D. C. (2010). Small silencing RNAs in plants are mobile and direct epigenetic modification in recipient cells. *science*, 328(5980), 872-875.
- Moore, G. (2002). Meiosis in allopolyploids—the importance of ‘Teflon’chromosomes. *Trends in genetics*, 18(9), 456-463.
- Moubayidin, L., Di Mambro, R., & Sabatini, S. (2009). Cytokinin–auxin crosstalk. *Trends in plant science*, 14(10), 557-562.
- Mudge, K., Janick, J., Scofield, S., & Goldschmidt, E. E. (2009). 9 A History of Grafting. *Horticultural reviews*, 35(9), 437–493.
- Muniswamy, B., & Sreenath, H. L. (1999). Embryo culture in coffee: technique and applications. *Indian Coffee (India)* v. 63 (4) p. 7-9.

- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Murch, S. J., KrishnaRaj, S., & Saxena, P. K. (1997). Thidiazuron-induced morphogenesis of *Regal geranium (Pelargonium domesticum)*: A potential stress response. *Physiologia Plantarum*, 101(1), 183-191.
- Nic-Can, G. I., Galaz-Ávalos, R. M., De-la-Peña, C., Alcazar-Magaña, A., Wrobel, K., & Loyola-Vargas, V. M. (2015). Somatic embryogenesis: Identified factors that lead to embryogenic repression. A case of species of the same genus. *PLoS One*, 10(6), e0126414.
- Nilanthi, D., Chen, X. L., Zhao, F. C., Yang, Y. S., & Wu, H. (2009). Induction of tetraploids from petiole explants through colchicine treatments in *Echinacea purpurea* L. *BioMed Research International*, 2009,343-485.
- Noirot, M., Barre, P., Louarn, J., Duperray, C., & Hamon, S. (2000). Nucleus–cytosol interactions—a source of stoichiometric error in flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Annals of Botany*, 86(2), 309-316.
- Noirot, M., Barre, P., Louarn, J., Duperray, C., & Hamon, S. (2002). Consequences of stoichiometric error on nuclear DNA content evaluation in *Coffea liberica* var. *dewevrei* using DAPI and propidium iodide. *Annals of Botany*, 89(4), 385-389.
- Noirot, M., Poncet, V., Barre, P., Hamon, P., Hamon, S., & De Kochko, A. (2003a). Genome size variations in diploid African *Coffea* species. *Annals of botany*, 92(5), 709-714.
- Noirot, M., Barre, P., Duperray, C., Louarn, J., & Hamon, S. (2003b). Effects of caffeine and chlorogenic acid on propidium iodide accessibility to DNA: consequences on genome size evaluation in coffee tree. *Annals of Botany*, 92(2), 259-264.
- Noirot, M., Barre, P., Duperray, C., Hamon, S., & De Kochko, A. (2005). Investigation on the causes of stoichiometric error in genome size estimation using heat experiments: consequences on data interpretation. *Annals of Botany*, 95(1), 111-118.

- Nordström, A., Tarkowski, P., Tarkowska, D., Norbaek, R., Åstot, C., Dolezal, K., & Sandberg, G. (2004). Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: a factor of potential importance for auxin–cytokinin-regulated development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(21), 8039-8044.
- Ochatt, S. J. (2008). Flow cytometry in plant breeding. *Cytometry Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 73(7), 581-598.
- Ohta, Y. (1991). Graft-transformation, the mechanism for graft-induced genetic changes in higher plants. *Euphytica*, 55(1), 91-99.
- Oka, Y., Offenbach, R., & Pivonia, S. (2004). Pepper rootstock graft compatibility and response to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. *Journal of nematology*, 36(2), 137.
- Omid, A., Keilin, T., Glass, A., Leshkowitz, D., & Wolf, S. (2007). Characterization of phloem-sap transcription profile in melon plants. *Journal of experimental botany*, 58(13), 3645-3656.
- Orozco-Castillo, C., Chalmers, K. J., Powell, W., & Waugh, R. (1996). RAPD and organelle specific PCR re-affirms taxonomic relationships within the genus *Coffea*. *Plant Cell Reports*, 15(5), 337-341.
- Ortega-Ortega, J., Ramírez-Ortega, F. A., Ruiz-Medrano, R., & Xoconostle-Cázares, B. (2019). Analysis of Genome Size of Sixteen *Coffea arabica* Cultivars Using Flow Cytometry. *HortScience*, 54(6), 998-1004.
- Osborn, T. C., Pires, J. C., Birchler, J. A., Auger, D. L., Chen, Z. J., Lee, H. S., & Martienssen, R. A. (2003). Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. *Trends in genetics*, 19(3), 141-147.
- Ouma, J. P., Young, M. M., & Reichert, N. A. (2004). Optimization of in vitro regeneration of multiple shoots from hypocotyl sections of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *African Journal of Biotechnology*, 3(3), 169-173.
- Ozkan, H., Levy, A. A., & Feldman, M. (2001). Allopolyploidy-induced rapid genome evolution in the wheat (*Aegilops Triticum*) group. *The Plant Cell*, 13(8), 1735-1747.

- Ozkan, H., Tuna, M., & Galbraith, D. W. (2006). No DNA loss in autotetraploids of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Breeding*, 125(3), 288-291.
- Pandey, K. K. (1976). Genetic transformation and “graft-hybridization” in flowering plants. *Theoretical and Applied Genetics*, 47(6), 299-302.
- Papadakis, I. E., Dimassi, K. N., Bosabalidis, A. M., Therios, I. N., Patakas, A., & Giannakoula, A. (2004). Boron toxicity in ‘Clementine’ mandarin plants grafted on two rootstocks. *Plant Science*, 166(2), 539-547.
- Parris, J. K., Ranney, T. G., Knap, H. T., & Baird, W. V. (2010). Ploidy levels, relative genome sizes, and base pair composition in *Magnolia*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 135(6), 533-547.
- Pati, P. K., Sharma, M., & Ahuja, P. S. (2008). Rose protoplast isolation and culture and heterokaryon selection by immobilization in extra thin alginate film. *Protoplasma*, 233(1-2), 165-171.
- Paultre, D. S. G., Gustin, M. P., Molnar, A., & Oparka, K. J. (2016). Lost in transit: long-distance trafficking and phloem unloading of protein signals in *Arabidopsis* homografts. *The Plant Cell*, 28(9).
- Pereira, A. A., Oliveira, A. C. B., & Sakiyama, N. S. (2008). Híbrido de Timor como fonte de resistência a doenças e de qualidade da bebida do cafeeiro. Manejo fitossanitário da cultura do cafeeiro. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 13-24.
- Pierozzi, N. I., Pinto-Maglio, C. A., & Cruz, N. D. (1999). Characterization of somatic chromosomes of two diploid species of *Coffea* L. with acetic orcein and C-band techniques. *Caryologia*, 52(1-2), 1-8.
- Praça-Fontes, M. M., Carvalho, C. R., Clarindo, W. R., & Cruz, C. D. (2011). Revisiting the DNA C-values of the genome size-standards used in plant flow cytometry to choose the “best primary standards”. *Plant Cell Reports*, 30(7), 1183-1191.
- Prakash, N. S., Marques, D. V., Varzea, V. M. P., Silva, M. C., Combes, M. C., & Lashermes, P. (2004). Introgression molecular analysis of a leaf rust resistance gene

from *Coffea liberica* into *C. arabica* L. Theoretical and Applied Genetics, 109(6), 1311-1317.

Predieri, S. (2001). Mutation induction and tissue culture in improving fruits. Plant cell, tissue and organ culture, 64(2-3), 185-210.

Price, H. J. (1988). DNA content variation among higher plants. Annals of the Missouri Botanical Garden, 1248-1257.

Quiroz-Figueroa, F. R., Rojas-Herrera, R., Galaz-Avalos, R. M., & Loyola-Vargas, V. M. (2006). Embryo production through somatic embryogenesis can be used to study cell differentiation in plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 86(3), 285.

Raina, S. N., Mukai, Y., & Yamamoto, M. (1998). In situ hybridization identifies the diploid progenitor species of *Coffea arabica* (*Rubiaceae*). Theoretical and Applied Genetics, 97(8), 1204-1209.

Ramírez, B. V. (2014). La fenología del café una herramienta para apoyar la toma de decisiones. <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/489/1/avt0441.pdf> (revisado el 09 de abril de 2019).

Ramsey, J., & Schemske, D. W. (2002). Neopolyploidy in flowering plants. Annual review of ecology and systematics, 33(1), 589-639.

Razafinarivo, N. J., Rakotomalala, J. J., Brown, S. C., Bourge, M., Hamon, S., de Kochko, A., & Hamon, P. (2012). Geographical gradients in the genome size variation of wild coffee trees (*Coffea*) native to Africa and Indian Ocean islands. Tree genetics & genomes, 8(6), 1345-1358.

Rojas-Martínez, L., Visser, R. G., & De Klerk, G. J. (2010). The hyperhydricity syndrome: waterlogging of plant tissues as a major cause. Propag Ornament Plants, 10(4), 169-175.

Rothleitner, J. J., Friddle, M. W., & Contreras, R. N. (2016). Ploidy levels, relative genome sizes, and base pair composition in *Cotoneaster*. Journal of the American Society for Horticultural Science, 141(5), 457-466.

- Ruas, P. M., Ruas, C. F., Rampim, L., Carvalho, V. P., Ruas, E. A., & Sera, T. (2003). Genetic relationship in *Coffea* species and parentage determination of interspecific hybrids using ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) markers. *Genetics and molecular biology*, 26(3), 319-327.
- Ruiz-Medrano, R., Xoconostle-Cázares, B., & Lucas, W. J. (1999). Phloem long-distance transport of CmNACP mRNA: implications for supracellular regulation in plants. *Development*, 126(20), 4405-4419.
- Salmon, A., Ainouche, M. L., & Wendel, J. F. (2005). Genetic and epigenetic consequences of recent hybridization and polyploidy in *Spartina* (Poaceae). *Molecular ecology*, 14(4), 1163-1175.
- Sánchez-Rodríguez, E., Leyva, R., Constán-Aguilar, C., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2012). Grafting under water stress in tomato cherry: improving the fruit yield and quality. *Annals of Applied Biology*, 161(3), 302-312.
- Sanglard, N. A., Amaral-Silva, P. M., Sattler, M. C., de Oliveira, S. C., Nunes, A. C. P., Soares, T. C. B., & Clarindo, W. R. (2017). From chromosome doubling to DNA sequence changes: outcomes of an improved in vitro procedure developed for allotriploid "Híbrido de Timor" (*Coffea arabica* L. x *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 131(2), 223-231.
- Santana-Buzzy, N., Rojas-Herrera, R., Galaz-Ávalos, R. M., Ku-Cauich, J. R., Mijangos-Cortés, J., Gutiérrez-Pacheco, L. C., & Loyola-Vargas, V. M. (2007). Advances in coffee tissue culture and its practical applications. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 43(6), 507-520.
- Schluter, D. (2009). Evidence for ecological speciation and its alternative. *Science*, 323(5915), 737-741.
- Shan, X., Li, D., & Qu, R. (2000). Thidiazuron promotes in vitro regeneration of wheat and barley. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 36(3), 207-210.
- Shapiro, H. M. (2005). *Practical flow cytometry*. John Wiley & Sons.

- Silva, M. C., Nicole, M., Rijo, L., Geiger, J. P., & Rodrigues, Jr, C. J. (1999). Cytochemical aspects of the plant–rust fungus interface during the compatible interaction *Coffea arabica* (cv. Caturra)–*Hemileia vastatrix* (race III). *International Journal of Plant Sciences*, 160(1), 79-91.
- Silva, R. A., Zambolim, L., Castro, I. S. L., Rodrigues, H. S., Cruz, C. D., & Caixeta, E. T. (2018). The Híbrido de Timor germplasm: identification of molecular diversity and resistance sources to coffee berry disease and leaf rust. *Euphytica*, 214(9), 1-16.
- Singh, R. J. (2016). *Plant cytogenetics*. CRC press.
- Šiško, M., Ivančič, A., & Bohanec, B. (2003). Genome size analysis in the genus *Cucurbita* and its use for determination of interspecific hybrids obtained using the embryo-rescue technique. *Plant Science*, 165(3), 663-669.
- Sliwinska, E. (2018). Flow cytometry—a modern method for exploring genome size and nuclear DNA synthesis in horticultural and medicinal plant species. *Folia Horticulturae*, 30(1), 103-128.
- Sobel, J. M., Chen, G. F., Watt, L. R., & Schemske, D. W. (2010). The biology of speciation. *Evolution: International Journal of organic evolution*, 64(2), 295-315.
- Soltis, D. E., & Soltis, P. S. (1999). Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 14(9), 348-352.
- Sonntag, K., Ruge-Wehling, B., & Wehling, P. (2009). Protoplast isolation and culture for somatic hybridization of *Lupinus angustifolius* and *L. subcarnosus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 96(3), 297-305.
- Spangenberg, G., Valles, M. P., Wang, Z. Y., Montavon, P., Nagel, J., & Potrykus, I. (1994). Asymmetric somatic hybridization between tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) and irradiated Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) protoplasts. *Theoretical and applied genetics*, 88(5), 509-519.
- Spiegelman, Z., Golan, G., & Wolf, S. (2013). Don't kill the messenger: Long-distance trafficking of mRNA molecules. *Plant Science*, 213, 1-8.

- Spiegelman, Z., Ham, B. K., Zhang, Z., Toal, T. W., Brady, S. M., Zheng, Y., & Wolf, S. (2015). A tomato phloem-mobile protein regulates the shoot-to-root ratio by mediating the auxin response in distant organs. *The Plant Journal*, 83(5), 853-863.
- Sridevi, V., & Giridhar, P. (2014). In vitro shoot growth, direct organogenesis and somatic embryogenesis promoted by silver nitrate in *Coffea dewevrei*. *Journal of plant biochemistry and biotechnology*, 23(1), 112-118.
- Sridevi, V., Giridhar, P., Simmi, P. S., & Ravishankar, G. A. (2010). Direct shoot organogenesis on hypocotyl explants with collar region from in vitro seedlings of *Coffea canephora* Pierre ex. Frohner cv. Cx R and *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 101(3), 339-347.
- Staples, R. C. (2000). Research on the rust fungi during the twentieth century. *Annual review of phytopathology*, 38(1), 49-69.
- Stegemann, S., & Bock, R. (2009). Exchange of genetic material between cells in plant tissue grafts. *science*, 324(5927), 649-651.
- Stegemann, S., Keuthe, M., Greiner, S., & Bock, R. (2012). Horizontal transfer of chloroplast genomes between plant species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(7), 2434-2438.
- Steiger, D., Nagai, C., Moore, P., Morden, C., Osgood, R., & Ming, R. (2002). AFLP analysis of genetic diversity within and among *Coffea arabica* cultivars. *Theoretical and applied genetics*, 105(2-3), 209-215.
- Sugimoto, K., Gordon, S. P., & Meyerowitz, E. M. (2011). Regeneration in plants and animals: dedifferentiation, transdifferentiation, or just differentiation?. *Trends in cell biology*, 21(4), 212-218.
- Taller, J., Hirata, Y., Yagishita, N., Kita, M., & Ogata, S. (1998). Graft-induced genetic changes and the inheritance of several characteristics in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 97(5-6), 705-713.
- Tatum, T. C., Nunez, L., Kushad, M. M., & Rayburn, A. L. (2006). Genome size variation in pumpkin (*Cucurbita* sp.). *Annals of applied biology*, 149(2), 145-151.

Tayalé, A., & Parisod, C. (2013). Natural pathways to polyploidy in plants and consequences for genome reorganization. *Cytogenetic and Genome Research*, 140(2-4), 79-96.

Thatcher, L. F., Manners, J. M., & Kazan, K. (2009). *Fusarium oxysporum* hijacks COI1-mediated jasmonate signaling to promote disease development in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 58(6), 927-939.

The American Phytopathological Society (APS). 2011. Coffee rust (*Hemileia vastatrix*). <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Basidiomycetes/Pages/CoffeeRust.aspx> (revisado el 22 de Agosto 2019).

Thyssen, G., Svab, Z., & Maliga, P. (2012). Cell-to-cell movement of plastids in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(7), 2439-2443.

Toogood, A. (1999). AHS-Plant propagation: The fully illustrated plant-by-plant manual of practical techniques. Estados Unidos. DK publishing

Toscano-Morales, R., Xoconostle-Cázares, B., Martínez-Navarro, A. C., & Ruiz-Medrano, R. (2014). Long distance movement of an *Arabidopsis* Translationally Controlled Tumor Protein (AtTCTP2) mRNA and protein in tobacco. *Frontiers in plant science*, 5, 705.

Traas, J., & Vernoux, T. (2002). The shoot apical meristem: the dynamics of a stable structure. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 357(1422), 737-747.

Tsaballa, A., Athanasiadis, C., Pasentsis, K., Ganopoulos, I., Nianiou-Obeidat, I., & Tsaftaris, A. (2013). Molecular studies of inheritable grafting induced changes in pepper (*Capsicum annuum*) fruit shape. *Scientia Horticulturae*, 149, 2-8.

Turnbull, C. G. (2010). Grafting as a research tool. En: *Plant Developmental Biology* (pp. 11-26). Estados Unidos. Humana Press,

Turnbull, C. G., Booker, J. P., & Leyser, H. O. (2002). Micrografting techniques for testing long-distance signalling in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 32(2), 255-262.

- Van Dyke, M. W., & Dervan, P. B. (1983). Chromomycin, mithramycin, and olivomycin binding sites on heterogeneous DNA. Footprinting with methidiumpropyl-EDTA. iron (II). *Biochemistry*, 22(10), 2373-2377.
- Vilhar, B., Greilhuber, J., Koce, J. D., Tensch, E. M., & Dermastia, M. (2001). Plant genome size measurement with DNA image cytometry. *Annals of Botany*, 87(6), 719-728.
- Vishwakarma, K., Upadhyay, N., Singh, J., Liu, S., Singh, V. P., Prasad, S. M., & Sharma, S. (2017). Differential phytotoxic impact of plant mediated silver nanoparticles (AgNPs) and silver nitrate (AgNO₃) on *Brassica* sp. *Frontiers in plant science*, 8, 1501.
- Wakita, Y., Yokota, S., Yoshizawa, N., Katsuki, T., Nishiyama, Y., Yokoyama, T., & Sasamoto, H. (2005). Interfamilial cell fusion among leaf protoplasts of *Populus alba*, *Betula platyphylla* and *Alnus firma*: assessment of electric treatment and invitro culture conditions. *Plant cell, tissue and organ culture*, 83(3), 319-326.
- Wang, J., Jiang, L., & Wu, R. (2017a). Plant grafting: how genetic exchange promotes vascular reconnection. *New Phytologist*, 214(1), 56–65.
- Wang, M., Peng, Z., Wang, L., Zhao, J., Che, J., & Xia, G. (2011b). Different rates of chromosome elimination in symmetric and asymmetric somatic hybridization between *Festuca arundinacea* and *Bupleurum scorzonerifolium*. *Russian journal of plant physiology*, 58(1), 133-141.
- Wang, Y. (2011c). Plant grafting and its application in biological research. *Chinese science bulletin*, 56(33), 3511-3517.
- Warschefsky, E. J., Klein, L. L., Frank, M. H., Chitwood, D. H., Londo, J. P., von Wettberg, E. J., & Miller, A. J. (2016). Rootstocks: diversity, domestication, and impacts on shoot phenotypes. *Trends in plant science*, 21(5), 418-437.
- Washburn, J. D., & Birchler, J. A. (2014). Polyploids as a “model system” for the study of heterosis. *Plant reproduction*, 27(1), 1-5.

- Williams, R. R., Broad, S., Sheer, D., & Ragoussis, J. (2002). Subchromosomal positioning of the epidermal differentiation complex (EDC) in keratinocyte and lymphoblast interphase nuclei. *Experimental cell research*, 272(2), 163-175.
- Willingham, S. L., Pegg, K. G., Cooke, A. W., Coates, L. M., Langdon, P. W. B., & Dean, J. R. (2001). Rootstock influences postharvest anthracnose development. in: 'Hass' avocado. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52(10), 1017-1022.
- Wintgens, J. N. (2004). Coffee: growing, processing, sustainable production. A guidebook for growers, processors, traders, and researchers. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Wu, R., Wang, X., Lin, Y., Ma, Y., Liu, G., Yu, X., & Liu, B. (2013). Inter-species grafting caused extensive and heritable alterations of DNA methylation in *Solanaceae* plants. *PLoS One*, 8(4), e61995.
- Xia, Y., Suzuki, H., Borevitz, J., Blount, J., Guo, Z., Patel, K., & Lamb, C. (2004). An extracellular aspartic protease functions in *Arabidopsis* disease resistance signaling. *The EMBO journal*, 23(4), 980-988.
- Xoconostle-Cázares, B., Xiang, Y., Ruiz-Medrano, R., Wang, H. L., Monzer, J., Yoo, B. C., McFarland, K.C., Franceschi, V.R., & Lucas, W. J. (1999). Plant paralog to viral movement protein that potentiates transport of mRNA into the phloem. *Science*, 283(5398), 94-98.
- Yan, J., Zhang, J., Sun, K., Chang, D., Bai, S., Shen, Y., ... & Dong, Y. (2016). Ploidy level and DNA content of *Erianthus arundinaceus* as determined by flow cytometry and the association with biological characteristics. *Plos one*, 11(3), e0151948.
- Yang, C. C., Kawahara, Y., Mizuno, H., Wu, J., Matsumoto, T., & Itoh, T. (2011). Independent domestication of Asian rice followed by gene flow from japonica to indica. *Molecular Biology and Evolution*, 29(5), 1471-1479.
- Yasuda, T., Fujii, Y., & Yamaguchi, T. (1985). Embryogenic callus induction from *Coffea arabica* leaf explants by benzyladenine. *Plant and cell physiology*, 26(3), 595-597.

- Yin, H., Yan, B., Sun, J., Jia, P., Zhang, Z., Yan, X., & Liu, H. (2012). Graft-union development: a delicate process that involves cell–cell communication between scion and stock for local auxin accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 63(11), 4219-4232.
- Zhang, Q., Luo, F., Liu, L., & Guo, F. (2010). In vitro induction of tetraploids in crape myrtle (*Lagerstroemia indica* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 101(1), 41-47.
- Zhao, X. X., Chai, Y., Wang, H. Y., Zhao, N., & Liu, B. (2010). Rapid genomic alteration in an 'incompatible' pair of maize reciprocal F1 hybrids—a possible cause for the accumulation of inter-strain genetic diversity. *Hereditas*, 147(1), 1-9.
- Zhou, C., Xia, G., Zhi, D., & Chen, Y. (2006). Genetic characterization of asymmetric somatic hybrids between *Bupleurum scorzonerifolium* Willd and *Triticum aestivum* L.: potential application to the study of the wheat genome. *Planta*, 223(4), 714-724.
- Zlesak, D. C., Thill, C. A., & Anderson, N. O. (2005). Trifluralin-mediated polyploidization of *Rosa chinensis minima* (Sims) Voss seedlings. *Euphytica*, 141(3), 281-290.

10. Anexos

Anexo 1. Injertos entre 19 cultivares de *C. arabica* y uno de *C. canephora*

ORO AZTECA
Oro Azteca x Typica
Oro azteca x Pluma Hidalgo
Oro Azteca x Bourbón
Oro Azteca x Mundo Novo
Oro Azteca x Caturra
Oro Azteca x Catuai
Oro Azteca x Garnica
Oro Azteca x Garena
Oro Azteca x Padang
Oro Azteca x Robusta
Oro Azteca x Marago
Oro Azteca x Villa Sarchi
Oro Azteca x Pacamara
Oro Azteca x Blue Mountain

COSTA RICA
Costa Rica x Typica
Costa Rica x Pluma Hidalgo
Costa Rica x Bourbón
Costa Rica x Mundo Novo
Costa Rica x Caturra
Costa Rica x Catuai
Costa Rica x Garnica
Costa Rica x Garena
Costa Rica x Padang
Costa Rica x Robusta
Costa Rica x Marago
Costa Rica x Villa Sarchi
Costa Rica x Pacamara

COLOMBIA
Colombia x Typica
Colombia x Pluma Hidalgo
Colombia x Bourbón
Colombia x Mundo Novo
Colombia x Caturra
Colombia x Catuai
Colombia x Garnica
Colombia x Garena
Colombia x Padang
Colombia x Robusta
Colombia x Marago
Colombia x Villa Sarchi
Colombia x Paacamara
Colombia x Blue Mountain

SARCHIMOR
Sarchimor x Typica
Sarchimor x Pluma Hidalgo
Sarchimor x Bourbón
Sarchimor x Mundo Novo
Sarchimor x Caturra
Sarchimor x Catuai
Sarchimor x Garnica
Sarchimor x Garena
Sarchimor x Padang
Sarchimor x Robusta
Sarchimor x Marago
Sarchimor x Pacamara
Sarchimor x Blue Mountain
Sarchimor x Villa Sarchi

ICATU
ICATU x Typica
ICATU x Pluma Hidalgo
ICATU x Bourbón
ICATU x Mundo Novo
ICATU x Caturra
ICATU x Catuai
ICATU x Garnica
ICATU x Garena
ICATU x Padang
ICATU x Robusta
ICATU x Marago
ICATU x Villa Sarchi
ICATU x Pacamara
ICATU x Blue Mountain

ROBUSTA
Robusta x Typica
Robusta x Pluma Hidalgo
Robusta x Bourbón
Robusta x Mundo Novo
Robusta x Caturra
Robusta x Catuai
Robusta x Garnica
Robusta x Garena
Robusta x Padang
Robusta x Marago
Robusta x Villa Sarchi
Robusta x Pacamara
Robusta x Blue Mountain

CR 56
CR 56 x Typica
CR 56 x Pluma Hidalgo
CR 56 x Bourbón
CR 56 x Mundo Novo
CR 56 x Caturra
CR 56 x Catuai
CR 56 x Garnica
CR 56 x Garena
CR 56 x Padang
CR 56 x Robusta
CR 56 x Marago
CR 56 x Villa Sarchi
CR 56 x Pacamara
CR 56 x Blue Mountain

Colombia x Iapar 59	Iapar 59 x Colombia
Colombia x Costa Rica	Iapar 59 x Costa Rica
Colombia x Oro Azteca	Iapar 59 x Oro Azteca
Colombia x Icatu	Iapar 59 x Icatu
Colombia x Geisha	Iapar 59 x Geisha
Colombia x Sarchimor	Iapar 59 x Sarchimor
Colombia x CR 56	Iapar 59 x CR 56
Colombia x Robusta	Iapar 59 x Robusta

Robusta x Colombia
Robusta x Iapar 59
Robusta x Costa Rica
Robusta x Oro Azteca
Robusta x Icatu
Robusta x Geisha
Robusta x Sarchimor
Robusta x CR 56

Costa Rica x Colombia	Oro Azteca x Colombia	Icatu x Colombia	Geisha x Colombia
Costa Rica x Iapar 59	Oro Azteca x Iapar 59	Icatu x Iapar 59	Geisha x Iapar 59
Costa Rica x Oro Azteca	Oro Azteca x Costa Rica	Icatu x Costa Rica	Geisha x Costa Rica
Costa Rica x Icatu	Oro Azteca x Icatu	Icatu x Oro Azteca	Geisha x Oro Azteca
Costa Rica x Geisha	Oro Azteca x Geisha	Icatu x Geisha	Geisha x Icatu
Costa Rica x Sarchimor	Oro Azteca x Sarchimor	Icatu x Sarchimor	Geisha x Sarchimor
Costa Rica x CR 56	Oro Azteca x CR 56	Icatu x CR 56	Geisha x CR 56
Costa Rica x Robusta	Oro Azteca x Robusta	Icatu x Robusta	Geisha x Robusta

Sarchimor x Colombia	CR 56 x Colombia	CR 56	IAPAR 59
Sarchimor x Iapar 59	CR 56 x Iapar 59	CR 56 x Typica	Iapar 59 x Typica
Sarchimor x Costa Rica	CR 56 x Costa Rica	CR 56 x Pluma Hidalgo	Iapar 59 x Pluma Hidalgo
Sarchimora x Oro azteca	CR 56 x Oro Azteca	CR 56 x Bourbón	Iapar 59 x Borubón
Sarchimor x Icatu	CR 56 x Icatu	CR 56 x Mundo Novo	Iapar 59 x Mundo Novo
Sarchimor x Geisha	CR 56 x Geisha	CR 56 x Caturra	Iapar 59 x Caturra
Sarchimor x CR 56	CR 56 x Sarchimor	CR 56 x Catuai	Iapar 59 x Catuai
Sarchimor x Robusta	CR 56 x Robusta	CR 56 x Garnica	Iapar 59 x Garnica
		CR 56 x Garena	Iapar 59 x Garena
		CR 56 x Padang	Iapar 59 x Padang
		CR 56 x Robusta	Iapar 59 x Robusta
		CR 56 x Marago	Iapar 59 x Marago
		CR 56 x Villa Sarchi	Iapar 59 x Villa Sarchi
		CR 56 x Pacamara	Iapar 59 x Pacamara
		CR 56 x Blue Mountain	Iapar 59 x Blue Mountain

Anexo 2. Medio basal Murashige & Stock (MS) y medios de cultivo para la embriogénesis somática de café

Solución stock I de macronutrientes 20x	g/L
NH ₄ NO ₃	33
KNO ₃	38
CaCl ₂ . 2H ₂ O	8.8
MgSO ₄ . 7H ₂ O	7.4
KH ₂ PO ₄	3.4
Solución stock II de micronutrientes 200x	Vol. Final 1L
KI	166mg
H ₃ BO ₃	1.24g
MnSO ₄ . 4H ₂ O	4.46g
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	1.72g
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	50mg
CuSO ₄ . 5H ₂ O	5mg
CoCl ₄ . 6H ₂ O	

Colocar el FeSO₄ . 7H₂O y el Na₂EDTA. 2H₂O de forma separada en 450mL de agua destilada cada uno y disolver por calentamiento y agitación constante. Mezclar ambas soluciones y ajustar a pH 5.5, posteriormente agregar agua un volumen final de 1L.

Solución stock III de hierro 200x	g/L
FeSO ₄ . 7H ₂ O	5.56
Na ₂ EDTA . 2H ₂ O	7.46
Solución stock IV de nutrientes orgánicos 200x	Vol. Final 1L
Inositol	20g
Ácido nicotínico	100mg
Piridoxina HCl	100mg
Tiamina HCl	20mg
Glicina	400mg

- Estilizar por filtración.

Volumen de las soluciones stock para preparar medio Ms

Solución stock	1 L	500mL
I	50mL	25mL
II	5mL	2.5mL
III	5mL	2.5mL
IV	5mL	2.5mL
Phytigel	3.75g	1.875g

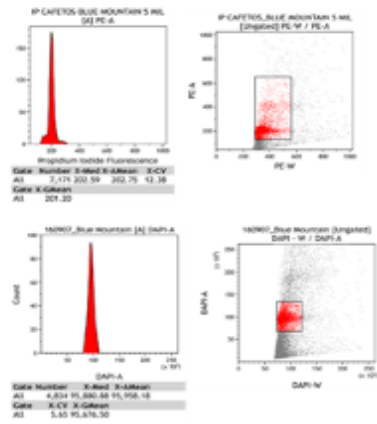
Medios de cultivo para embriogénesis somática de café

Medio de Cultivo				
Componentes	RM ¹	M2 ²	SED ³	Embryo ³
Vitaminas B5 Gamborg	3.3 g/L	3.3 g/L	3.3 g/L	3.3 g/L
Caseína	0.2 g/L	-----	400 mg/L	200 mg/L
L-Cisteína	0.04 g/L	0.08 g/L	10 mg/L	40 mg/L
GA ₃	----	1 mg/L	----	----
2,4-D	----	-----	-----	1 mg/L
BAP	1 mg/L	-----	-----	4 mg/L
KIN	----	----	2.06 mg/L	----
Sulfato de Adenina	----	----	40 mg/L	60 mg/L
Extracto de malta	0.8 g/L	-----	400 mg/L	800 mg/L
Sacarosa	30 g/L	30 g/L	30 g/L	30 g/L
Phytigel	3.75 g/L	3.75 g/L	3.75 g/L	3.75 g/L
pH	5.6	5.6	5.6	5.6

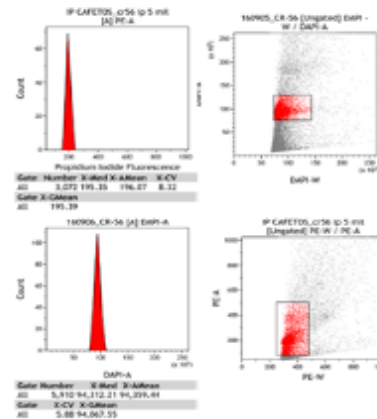
Medio de Cultivo				
Componentes	Callo ¹	M1 ²	CIM ³	Ind. Callo ⁴
Vitaminas B5 Gamborg	3.3 g/L	3.3 g/L	3.3 g/L	3.3 g/L
Caseína	-----	-----	0.1 g/L	-----
L-Cisteína	-----	0.08 g/L	0.08 g/L	-----
BAP	-----	1 mg/L	1 mg/L	-----
2,4-D	2.75 mg/L	-----	2 mg/L	2 mg/L
KIN	0.1 mg/L	-----	-----	-----
Thidiazurón	-----	-----	-----	2 mg/L
Extracto de malta	-----	-----	0.4 g/L	----
Polivinilpirrolidona (PVPP)	-----	-----	-----	250 mg/L
Sacarosa	30 g/L	30 g/L	30 g/L	30 g/L
Phytigel	3.75 g/L	3.75 g/L	3.75 g/L	3.75 g/L
pH	5.6	5.6	5.6	5.6

Anexo 3. Análisis del ciclo celular de cinco cultivares de *C. arabica*: Blue Mountain, CR-56, Geisha, Padang y Sarchimor

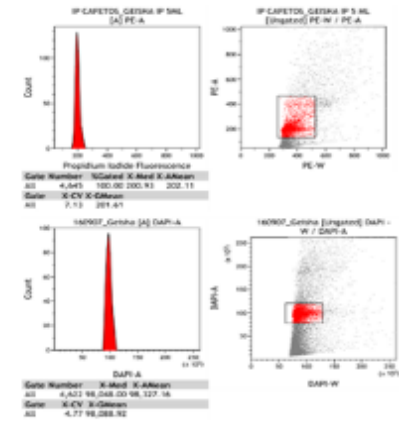
C. arabica cv. Blue Mountain



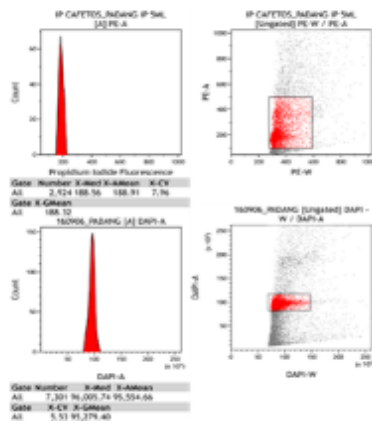
C. arabica cv. CR-56



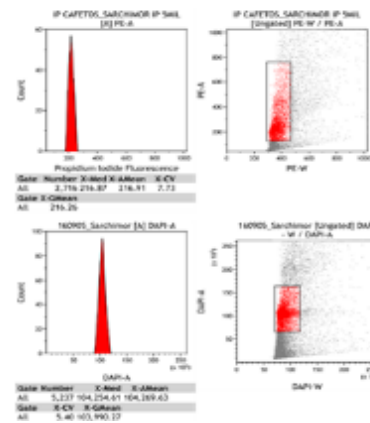
C. arabica cv. Geisha



C. arabica cv. Padang



C. arabica cv. Sarchimor



Anexo 4. Comparación estadística del porcentaje de regeneración entre tratamientos altos y bajos. Análisis. *t* de Student.

Tratamiento BAP/IAA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: Data 1 in BAP-IAA

Group	N	Missing	Median	25%	75%
-------	---	---------	--------	-----	-----

High	48	0	50.000	48.670	51.330
------	----	---	--------	--------	--------

Low	48	0	11.330	9.330	12.503
-----	----	---	--------	-------	--------

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

Yates continuity correction option applied to calculations.

T = 3480.000 n(small)= 48 n(big)= 48 (P = <0.001)

The difference in the median values between the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0.001)

Tratamiento BAP/IBA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: Data 1 in Notebook12

Dependent Variable: Col 3

Group	N	Missing	Median	25%	75%
-------	---	---------	--------	-----	-----

High	48	0	10.670	10.000	12.000
------	----	---	--------	--------	--------

Low	48	0	2.000	1.330	3.330
-----	----	---	-------	-------	-------

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

Yates continuity correction option applied to calculations.

T = 3480.000 n(small)= 48 n(big)= 48 (P = <0.001)

The difference in the median values between the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0.001)

Tratamiento BAP/NAA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.321)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.227)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from

populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
High	48	0	30.701	1.762	0.254
Low	48	0	10.569	1.341	0.194

Difference of means 20.132

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 63.004 with 94 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 19.497 to 20.766

Two-tailed P-value = 1.092E-078

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 63.004 with 87.766 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 19.497 to 20.767

Two-tailed P-value = 7.457E-075

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Tratamiento Cinetina/IAA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test martes,

Data source: Data 1 in Notebook5

Dependent Variable: Col 3

Group	N	Missing	Median	25%	75%
-------	---	---------	--------	-----	-----

High	48	0	40.670	38.670	42.502
------	----	---	--------	--------	--------

Low	48	0	10.000	9.330	11.330
-----	----	---	--------	-------	--------

Mann-Whitney U Statistic= 144.000

Yates continuity correction option applied to calculations.

T = 3336.000 n(small)= 48 n(big)= 48 (P = <0.001)

The difference in the median values between the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0.001)

Tratamiento Cinetina/IBA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: Data 1 in Notebook6

Dependent Variable: Col 3

Group	N	Missing	Median	25%	75%
High	48	0	9.330	8.670	10.503
Low	48	0	2.000	1.330	3.833

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

Yates continuity correction option applied to calculations.

T = 3480.000 n(small)= 48 n(big)= 48 (P = <0.001)

The difference in the median values between the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0.001)

Tratamiento Cinetina/NAA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: Data 1 in Notebook7

Dependent Variable: Col 3

Group	N	Missing	Median	25%	75%
High	48	0	19.330	18.670	21.330
Low	48	0	8.000	6.670	9.330

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

Yates continuity correction option applied to calculations.

T = 3480.000 n(small)= 48 n(big)= 48 (P = <0.001)

The difference in the median values between the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0.001)

Tratamiento TDZ/IBA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: Data 1 in Notebook3

Dependent Variable: Col 3

Group	N	Missing	Median	25%	75%
High	48	0	13.330	12.165	14.000

Low 48 0 3.330 2.000 4.000

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

Yates continuity correction option applied to calculations.

T = 3480.000 n(small)= 48 n(big)= 48 (P = <0.001)

The difference in the median values between the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0.001)

Tratamiento Zeatina/NAA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test martes,

Data source: Data 1 in Notebook10

Dependent Variable: Col 3

Group	N	Missing	Median	25%	75%
High	48	0	20.000	19.330	22.000
Low	48	0	7.000	6.000	8.670

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

Yates continuity correction option applied to calculations.

T = 3480.000 n(small)= 48 n(big)= 48 (P = <0.001)

The difference in the median values between the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0.001)

Tratamiento TDZ/NAA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.089)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.175)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
High	48	0	69.549	2.001	0.289

Low 48 0 18.465 1.656 0.239

Difference of means 51.083

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 136.289 with 94 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 50.339 to 51.828

Two-tailed P-value = 8.128E-110

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

$t = 136.289$ with 90.823 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 50.339 to 51.828

Two-tailed P-value = 7.817E-107

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

Tratamiento TDZ/IAA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed ($P < 0.050$)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: Data 1 in TDZIAA

Group	N	Missing	Median	25%	75%
High	48	0	46.000	45.333	47.333
Low	48	0	12.667	11.333	13.833

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

Yates continuity correction option applied to calculations.

$T = 3480.000$ $n(\text{small}) = 48$ $n(\text{big}) = 48$ ($P = <0.001$)

The difference in the median values between the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = <0.001$)

Tratamiento Zeatina/IAA

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed ($P < 0.050$)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: Data 1 in ZEAI AA

Group	N	Missing	Median	25%	75%
High	48	0	38.000	36.667	39.333
Low	48	0	7.333	6.167	8.667

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

Yates continuity correction option applied to calculations.

$T = 3480.000$ $n(\text{small}) = 48$ $n(\text{big}) = 48$ ($P = <0.001$)

The difference in the median values between the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = <0.001$)

Anexo 5. Comparación estadística de los porcentajes de regeneración entre los diferentes tratamientos estudiados en 16 cultivares de *C. arbica*. Análisis ANOVA de dos vías.

Coffea arabica cv. Typica

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Typica
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.168)
 Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.393)
 Source of Variation DF SS MS F P

Phytohormones 11 12788.556
 1162.596 647.961 <0.001
 Dose 2 9201.802 4600.901
 2564.264 <0.001
 Phytohormones x Dose 22
 3691.531 167.797 93.520
 <0.001
 Residual 72 129.185 1.794
 Total 107 25811.074 241.225
 Main effects cannot be properly interpreted if significant interaction is determined. This is because the size of a factor's effect depends upon the level of the other factor.
 The effect of different levels of Phytohormones depends on what level of Dose is present. There is a statistically significant interaction between Phytohormones and Dose. (P = <0.001)
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones x Dose : 1.000
 Least square means for Phytohormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 26.963
 TDZ/IBA 6.889
 TDZ/NAA 41.333
 CIN/IAA 23.778
 CIN/IBA 5.481
 CIN/NAA 12.741

ZEA/IAA 21.185
 ZEA/IBA 5.037
 ZEA/NAA 12.667
 BAP/IAA 27.556
 BAP/IBA 5.556
 BAP/NAA 20.370
 Std Err of LS Mean = 0.446
 Least square means for Dose :
 Group Mean
 High 29.815
 Medium 14.944
 Low 7.630
 Std Err of LS Mean = 0.223
 Least square means for Phytohormones x Dose :
 Group Mean
 TDZ/IAA x High 46.444
 TDZ/IAA x Medium 21.778
 TDZ/IAA x Low 12.667
 TDZ/IBA x High 12.889
 TDZ/IBA x Medium 5.556
 TDZ/IBA x Low 2.222
 TDZ/NAA x High 69.556
 TDZ/NAA x Medium 35.556
 TDZ/NAA x Low 18.889
 CIN/IAA x High 40.667
 CIN/IAA x Medium 20.889
 CIN/IAA x Low 9.778
 CIN/IBA x High 9.111
 CIN/IBA x Medium 5.778
 CIN/IBA x Low 1.556
 CIN/NAA x High 19.333
 CIN/NAA x Medium 11.111
 CIN/NAA x Low 7.778
 ZEA/IAA x High 37.778
 ZEA/IAA x Medium 18.000
 ZEA/IAA x Low 7.778
 ZEA/IBA x High 9.333
 ZEA/IBA x Medium 4.000
 ZEA/IBA x Low 1.778
 ZEA/NAA x High 20.444
 ZEA/NAA x Medium 11.111
 ZEA/NAA x Low 6.444
 BAP/IAA x High 50.444
 BAP/IAA x Medium 21.333
 BAP/IAA x Low 10.889
 BAP/IBA x High 10.222
 BAP/IBA x Medium 4.889
 BAP/IBA x Low 1.556
 BAP/NAA x High 31.556
 BAP/NAA x Medium 19.333
 BAP/NAA x Low 10.222
 Std Err of LS Mean = 0.773
 All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: Dose within TDZ/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 33.778 3 43.677
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 24.667 3
 31.896 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 9.111 3 11.781
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 10.667 3 13.793
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 7.333 3 9.482
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.333 3 4.310
 0.009 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 50.667 3 65.515
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 34.000 3
 43.964 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 16.667 3
 21.551 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 30.889 3 39.941
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 19.778 3
 25.574 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 11.111 3
 14.367 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 7.556 3 9.770
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 3.333 3 4.310
 0.009 Yes
 Medium vs. Low 4.222 3 5.460
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 11.556 3 14.942
 <0.001 Yes

High vs. Medium 8.222 3 10.632 <0.001 Yes	Comparisons for factor: Phytohormones within High	CIN/IAA vs. CIN/IBA 31.556 12 40.803 <0.001 Yes
Medium vs. Low 3.333 3 4.310 0.009 Yes	Comparison Diff of Means p q P P<0.050	CIN/IAA vs. ZEA/IBA 31.333 12 40.516 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within ZEA/IAA	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 60.444 12 78.159 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. BAP/IBA 30.444 12 39.367 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 60.222 12 77.871 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. TDZ/IBA 27.778 12 35.918 <0.001 Yes
High vs. Low 30.000 3 38.792 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 59.333 12 76.722 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. CIN/NAA 21.333 12 27.585 <0.001 Yes
High vs. Medium 19.778 3 25.574 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 56.667 12 73.274 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. ZEA/NAA 20.222 12 26.149 <0.001 Yes
Medium vs. Low 10.222 3 13.218 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 50.222 12 64.941 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. BAP/NAA 9.111 12 11.781 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within ZEA/IBA	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 49.111 12 63.504 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.889 12 3.736 0.277 No
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 38.000 12 49.136 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. CIN/IBA 28.667 12 37.068 <0.001 Yes
High vs. Low 7.556 3 9.770 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 31.778 12 41.091 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 28.444 12 36.781 <0.001 Yes
High vs. Medium 5.333 3 6.896 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 28.889 12 37.355 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. BAP/IBA 27.556 12 35.631 <0.001 Yes
Medium vs. Low 2.222 3 2.873 0.112 No	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 23.111 12 29.884 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 24.889 12 32.183 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within ZEA/NAA	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 19.111 12 24.712 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. CIN/NAA 18.444 12 23.850 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	BAP/IAA vs. CIN/IBA 41.333 12 53.447 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 17.333 12 22.413 <0.001 Yes
High vs. Low 14.000 3 18.103 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. ZEA/IBA 41.111 12 53.159 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. BAP/NAA 6.222 12 8.046 <0.001 Yes
High vs. Medium 9.333 3 12.069 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. BAP/IBA 40.222 12 52.010 <0.001 Yes	8.046 <0.001 Yes BAP/NAA vs. CIN/IBA 22.444 12 29.022 <0.001 Yes
Medium vs. Low 4.667 3 6.034 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. TDZ/IBA 37.556 12 48.562 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. ZEA/IBA 22.222 12 28.735 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within BAP/IAA	BAP/IAA vs. CIN/NAA 31.111 12 40.229 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. BAP/IBA 21.333 12 27.585 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	BAP/IAA vs. ZEA/NAA 30.000 12 38.792 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. TDZ/IBA 18.667 12 24.137 <0.001 Yes
High vs. Low 39.556 3 51.148 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. BAP/NAA 18.889 12 24.425 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. CIN/NAA 12.222 12 15.804 <0.001 Yes
High vs. Medium 29.111 3 37.643 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. ZEA/IAA 12.667 12 16.379 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. ZEA/NAA 11.111 12 14.367 <0.001 Yes
Medium vs. Low 10.444 3 13.505 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. CIN/IAA 9.778 12 12.643 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. CIN/IBA 11.333 12 14.655 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within BAP/IBA	BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.000 12 5.172 0.023 Yes	ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 11.111 12 14.367 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	TDZ/IAA vs. CIN/IBA 37.333 12 48.274 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. BAP/IBA 10.222 12 13.218 <0.001 Yes
High vs. Low 8.667 3 11.207 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 37.111 12 47.987 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 7.556 12 9.770 <0.001 Yes
High vs. Medium 5.333 3 6.896 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. BAP/IBA 36.222 12 46.838 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. CIN/NAA 1.111 12 1.437 0.997 No
Medium vs. Low 3.333 3 4.310 0.009 Yes	TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 33.556 12 43.390 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. CIN/IBA 10.222 12 13.218 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within BAP/NAA	TDZ/IAA vs. CIN/NAA 27.111 12 35.056 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.000 12 12.931 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 26.000 12 33.620 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. BAP/IBA 9.111 12 11.781 <0.001 Yes
High vs. Low 21.333 3 27.585 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. BAP/NAA 14.889 12 19.252 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.444 12 8.333 <0.001 Yes
High vs. Medium 12.222 3 15.804 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 8.667 12 11.207 <0.001 Yes	TDZ/IBA vs. CIN/IBA 3.778 12 4.885 0.041 Yes
Medium vs. Low 9.111 3 11.781 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. CIN/IAA 5.778 12 7.471 <0.001 Yes	TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 3.556 12 4.598 0.070 No

TDZ/IBA vs. BAP/IBA 2.667 12
 3.448 0.395 Do Not Test
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 1.111 12
 1.437 0.997 No
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
 1.149 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.222 12
 0.287 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Medium
 Comparison Diff of Means **p q P**
P<0.050
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 31.556
 12 40.803 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 30.667
 12 39.654 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 30.000
 12 38.792 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 29.778
 12 38.505 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 24.444
 12 31.608 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 24.444
 12 31.608 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 17.556
 12 22.700 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 16.222
 12 20.976 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 14.667
 12 18.965 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 14.222
 12 18.390 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 13.778
 12 17.816 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 17.778 12
 22.988 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 16.889
 12 21.838 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.222 12
 20.976 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 16.000 12
 20.689 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 10.667
 12 13.793 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 10.667
 12 13.793 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 3.778 12
 4.885 0.041 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.444 12
 3.161 0.531 No
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 0.889 12
 1.149 1.000 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 0.444 12
 0.575 1.000 Do Not Test
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 17.333
 12 22.413 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 16.444
 12 21.264 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 15.778
 12 20.402 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 15.556 12
 20.114 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 10.222
 12 13.218 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. ZEA/NAA 10.222
 12 13.218 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 3.333 12
 4.310 0.116 No
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 2.000 12
 2.586 0.797 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.444 12
 0.575 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 16.889 12
 21.838 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 16.000 12
 20.689 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 15.333 12
 19.827 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 15.111 12
 19.540 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 9.778 12
 12.643 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 9.778 12
 12.643 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.889 12
 3.736 0.277 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 1.556 12
 2.011 0.955 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 15.333
 12 19.827 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 14.444
 12 18.678 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 13.778
 12 17.816 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 13.556
 12 17.528 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 8.222
 12 10.632 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 8.222
 12 10.632 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 1.333 12
 1.724 0.986 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 14.000 12
 18.103 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 13.111
 12 16.954 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 12.444 12
 16.091 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 12.222 12
 15.804 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 6.889 12
 8.908 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 6.889 12
 8.908 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 7.111 12
 9.195 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 6.222 12
 8.046 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 5.556 12
 7.184 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 5.333 12
 6.896 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA
 0.00000001000 12
 0.0000000129 1.000 No
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 7.111 12
 9.195 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.222 12
 8.046 <0.001 Yes

CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.556 12
 7.184 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 5.333 12
 6.896 <0.001 Yes
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 1.778 12
 2.299 0.894 No
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.889 12
 1.149 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. TDZ/IBA 0.222 12
 0.287 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.556 12
 2.011 0.955 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.667 12
 0.862 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
 1.149 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Low
 Comparison Diff of Means **p q**
P P<0.050
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 17.333
 12 22.413 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 17.333
 12 22.413 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 17.111
 12 22.126 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 16.667
 12 21.551 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 12.444
 12 16.091 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 11.111
 12 14.367 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.111
 12 14.367 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 9.111 12
 11.781 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 8.667
 12 11.207 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 8.000 12
 10.345 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 6.222 12
 8.046 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 11.111
 12 14.367 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 11.111 12
 14.367 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 10.889 12
 14.080 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 10.444 12
 13.505 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 6.222 12
 8.046 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.889 12
 6.322 0.002 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.889 12
 6.322 0.002 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.889 12
 3.736 0.277 No
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.444 12
 3.161 0.531 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 1.778 12
 2.299 0.894 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 9.333 12
 12.069 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. CIN/IBA 9.333 12
 12.069 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 9.111 12
 11.781 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 8.667 12
 11.207 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 4.444 12
 5.747 0.006 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 3.111 12
 4.023 0.184 No
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 3.111 12
 4.023 0.184 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 1.111 12
 1.437 0.997 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.667 12
 0.862 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 8.667 12
 11.207 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 8.667 12
 11.207 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 8.444 12
 10.919 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 8.000 12
 10.345 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 3.778
 12 4.885 0.041 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 2.444
 12 3.161 0.531 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 2.444 12
 3.161 0.531 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 0.444 12
 0.575 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 8.222 12
 10.632 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 8.222 12
 10.632 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 8.000 12
 10.345 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 7.556 12
 9.770 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 3.333 12
 4.310 0.116 No
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 2.000 12
 2.586 0.797 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.000 12
 2.586 0.797 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 6.222 12
 8.046 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 6.222 12
 8.046 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 6.000 12
 7.758 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 5.556 12
 7.184 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 1.333 12
 1.724 0.986 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.222 12
 8.046 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.222 12
 8.046 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.000 12
 7.758 <0.001 Yes

CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.556 12
 7.184 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 1.333
 12 1.724 0.986 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.889 12
 6.322 0.002 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.889 12
 6.322 0.002 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.667 12
 6.034 0.003 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.222 12
 5.460 0.012 Yes
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.667 12
 0.862 1.000 No
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 0.667 12
 0.862 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.444 12
 0.575 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.287 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.222 12
 0.287 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed means is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the means, even though one may appear to exist.

***Coffea arabica* cv. Maragogype**

Two Way Analysis of Variance
 Dependent variable:
 Maragogype
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.165)
 Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.274)
 Source of Variation DF SS MS F
 P
 Phythormones 11 12373.432
 1124.857 997.593 <0.001
 Dose 2 9132.765 4566.383
 4049.748 <0.001

Phythormones x Dose 22
 3874.247 176.102 156.178
 <0.001
 Residual 72 81.185 1.128
 Total 107 25461.630 237.959
 Main effects cannot be properly interpreted if significant interaction is determined. This is because the size of a factor's effect depends upon the level of the other factor. The effect of different levels of Phythormones depends on what level of Dose is present. There is a statistically significant interaction between Phythormones and Dose. (P = <0.001)
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phythormones : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phythormones x Dose : 1.000
 Least square means for Phythormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 26.741
 TDZ/IBA 7.407
 TDZ/NAA 41.407
 CIN/IAA 23.333
 CIN/IBA 5.333
 CIN/NAA 13.259
 ZEA/IAA 20.667
 ZEA/IBA 5.333
 ZEA/NAA 13.037
 BAP/IAA 27.407
 BAP/IBA 5.926
 BAP/NAA 19.926
 Std Err of LS Mean = 0.354
 Least square means for Dose :
 Group Mean
 High 29.759
 Medium 15.056
 Low 7.630
 Std Err of LS Mean = 0.177
 Least square means for Phythormones x Dose :
 Group Mean
 TDZ/IAA x High 45.778
 TDZ/IAA x Medium 22.000
 TDZ/IAA x Low 12.444
 TDZ/IBA x High 13.778
 TDZ/IBA x Medium 5.556
 TDZ/IBA x Low 2.889
 TDZ/NAA x High 70.222
 TDZ/NAA x Medium 36.222
 TDZ/NAA x Low 17.778
 CIN/IAA x High 39.333
 CIN/IAA x Medium 20.889
 CIN/IAA x Low 9.778
 CIN/IBA x High 8.222

CIN/IBA x Medium 6.000	Medium vs. Low 11.111 3	Comparison Diff of Means p q P
CIN/IBA x Low 1.778	18.124 <0.001 Yes	P<0.050
CIN/NAA x High 20.000	Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 9.111 3 14.861
CIN/NAA x Medium 11.556	within CIN/IBA	<0.001 Yes
CIN/NAA x Low 8.222	Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 5.111 3 8.337
ZEA/IAA x High 38.000	P<0.050	<0.001 Yes
ZEA/IAA x Medium 17.111	High vs. Low 6.444 3 10.512	Medium vs. Low 4.000 3 6.525
ZEA/IAA x Low 6.889	<0.001 Yes	<0.001 Yes
ZEA/IBA x High 9.333	High vs. Medium 2.222 3 3.625	Comparisons for factor: Dose
ZEA/IBA x Medium 4.444	0.033 Yes	within BAP/NAA
ZEA/IBA x Low 2.222	Medium vs. Low 4.222 3 6.887	Comparison Diff of Means p q P
ZEA/NAA x High 20.222	<0.001 Yes	P<0.050
ZEA/NAA x Medium 12.444	Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 21.333 3 34.797
ZEA/NAA x Low 6.444	within CIN/NAA	<0.001 Yes
BAP/IAA x High 50.444	Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 12.222 3
BAP/IAA x Medium 20.000	P<0.050	19.936 <0.001 Yes
BAP/IAA x Low 11.778	High vs. Low 11.778 3 19.211	Medium vs. Low 9.111 3 14.861
BAP/IBA x High 10.667	<0.001 Yes	<0.001 Yes
BAP/IBA x Medium 5.556	High vs. Medium 8.444 3 13.774	Comparisons for factor:
BAP/IBA x Low 1.556	<0.001 Yes	Phytohormones within High
BAP/NAA x High 31.111	Medium vs. Low 3.333 3 5.437	Comparison Diff of Means p q P
BAP/NAA x Medium 18.889	<0.001 Yes	P<0.050
BAP/NAA x Low 9.778	Comparisons for factor: Dose	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 62.000 12
Std Err of LS Mean = 0.613	within ZEA/IAA	101.130 <0.001 Yes
All Pairwise Multiple	Comparison Diff of Means p q P	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 60.889
Comparison Procedures (Tukey	P<0.050	12 99.318 <0.001 Yes
Test):	High vs. Low 31.111 3 50.746	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 59.556
Comparisons for factor: Dose	<0.001 Yes	12 97.143 <0.001 Yes
within TDZ/IAA	High vs. Medium 20.889 3	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 56.444
Comparison Diff of Means p q P	34.072 <0.001 Yes	12 92.068 <0.001 Yes
P<0.050	Medium vs. Low 10.222 3	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 50.222
High vs. Low 33.333 3 54.371	16.674 <0.001 Yes	12 81.919 <0.001 Yes
<0.001 Yes	Comparisons for factor: Dose	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 50.000
High vs. Medium 23.778 3	within ZEA/IBA	12 81.556 <0.001 Yes
38.785 <0.001 Yes	Comparison Diff of Means p q P	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 39.111
Medium vs. Low 9.556 3 15.586	P<0.050	12 63.795 <0.001 Yes
<0.001 Yes	High vs. Low 7.111 3 11.599	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 32.222
Comparisons for factor: Dose	<0.001 Yes	12 52.559 <0.001 Yes
within TDZ/IBA	High vs. Medium 4.889 3 7.974	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 30.889 12
Comparison Diff of Means p q P	<0.001 Yes	50.384 <0.001 Yes
P<0.050	Medium vs. Low 2.222 3 3.625	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 24.444
High vs. Low 10.889 3 17.761	0.033 Yes	12 39.872 <0.001 Yes
<0.001 Yes	Comparisons for factor: Dose	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 19.778
High vs. Medium 8.222 3 13.412	within ZEA/NAA	12 32.260 <0.001 Yes
<0.001 Yes	Comparison Diff of Means p q P	BAP/IAA vs. CIN/IBA 42.222 12
Medium vs. Low 2.667 3 4.350	P<0.050	68.870 <0.001 Yes
0.008 Yes	High vs. Low 13.778 3 22.473	BAP/IAA vs. ZEA/IBA 41.111 12
Comparisons for factor: Dose	<0.001 Yes	67.058 <0.001 Yes
within TDZ/NAA	High vs. Medium 7.778 3 12.687	BAP/IAA vs. BAP/IBA 39.778 12
Comparison Diff of Means p q P	<0.001 Yes	64.883 <0.001 Yes
P<0.050	Medium vs. Low 6.000 3 9.787	BAP/IAA vs. TDZ/IBA 36.667 12
High vs. Low 52.444 3 85.544	<0.001 Yes	59.808 <0.001 Yes
<0.001 Yes	Comparisons for factor: Dose	BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.444 12
High vs. Medium 34.000 3	within BAP/IAA	49.659 <0.001 Yes
55.458 <0.001 Yes	Comparison Diff of Means p q P	BAP/IAA vs. ZEA/NAA 30.222
Medium vs. Low 18.444 3	P<0.050	12 49.296 <0.001 Yes
30.085 <0.001 Yes	High vs. Low 38.667 3 63.070	BAP/IAA vs. BAP/NAA 19.333
Comparisons for factor: Dose	<0.001 Yes	12 31.535 <0.001 Yes
within CIN/IAA	High vs. Medium 30.444 3	BAP/IAA vs. ZEA/IAA 12.444 12
Comparison Diff of Means p q P	49.659 <0.001 Yes	20.299 <0.001 Yes
P<0.050	Medium vs. Low 8.222 3 13.412	BAP/IAA vs. CIN/IAA 11.111 12
High vs. Low 29.556 3 48.209	<0.001 Yes	18.124 <0.001 Yes
<0.001 Yes	Comparisons for factor: Dose	BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.667 12
High vs. Medium 18.444 3	within BAP/IBA	7.612 <0.001 Yes
30.085 <0.001 Yes		

TDZ/IAA vs. CIN/IBA 37.556 12
 61.258 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.444 12
 59.446 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 35.111 12
 57.271 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 32.000 12
 52.196 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 25.778 12
 42.047 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 25.556
 12 41.684 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 14.667
 12 23.923 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 7.778 12
 12.687 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 6.444 12
 10.512 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 31.111 12
 50.746 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 30.000 12
 48.934 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 28.667 12
 46.759 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 25.556 12
 41.684 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 19.333 12
 31.535 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 19.111 12
 31.173 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 8.222 12
 13.412 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 1.333 12
 2.175 0.925 No
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 29.778 12
 48.571 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 28.667 12
 46.759 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 27.333 12
 44.584 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 24.222 12
 39.510 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 18.000 12
 29.360 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 17.778
 12 28.998 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/NAA 6.889 12
 11.237 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 22.889 12
 37.335 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 21.778
 12 35.522 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 20.444
 12 33.348 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 17.333
 12 28.273 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 11.111
 12 18.124 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 10.889
 12 17.761 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 12.000 12
 19.574 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 10.889
 12 17.761 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 9.556 12
 15.586 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 6.444 12
 10.512 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.222 12
 0.362 1.000 No
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 11.778 12
 19.211 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.667 12
 17.399 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 9.333 12
 15.224 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.222 12
 10.149 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 5.556 12
 9.062 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 4.444 12
 7.249 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 3.111 12
 5.075 0.028 Yes
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 2.444 12
 3.987 0.194 No
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 1.333 12
 2.175 0.925 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 1.111 12
 1.812 0.979 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Medium
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 31.778
 12 51.834 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 30.667
 12 50.021 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 30.667
 12 50.021 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 30.222 12
 49.296 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 24.667
 12 40.235 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 23.778
 12 38.785 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 19.111
 12 31.173 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 17.333
 12 28.273 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 16.222
 12 26.461 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 15.333 12
 25.011 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 14.222
 12 23.198 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 17.556 12
 28.635 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.444 12
 26.823 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 16.444 12
 26.823 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 16.000 12
 26.098 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 10.444 12
 17.036 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 9.556 12
 15.586 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.889 12
 7.974 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 3.111 12
 5.075 0.028 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 2.000 12
 3.262 0.482 No
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 1.111 12
 1.812 0.979 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 16.444 12
 26.823 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 15.333 12
 25.011 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 15.333 12
 25.011 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 14.889 12
 24.286 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 9.333 12
 15.224 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 8.444 12
 13.774 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.778 12
 6.162 0.002 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 2.000 12
 3.262 0.482 No
 CIN/IAA vs. BAP/IAA 0.889 12
 1.450 0.997 Do Not Test
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 15.556 12
 25.373 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 14.444 12
 23.561 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 14.444 12
 23.561 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 14.000 12
 22.836 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 8.444 12
 13.774 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 7.556 12
 12.324 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 2.889 12
 4.712 0.057 No
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 1.111 12
 1.812 0.979 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 14.444
 12 23.561 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 13.333
 12 21.748 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 13.333
 12 21.748 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 12.889 12
 21.023 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 7.333 12
 11.962 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 6.444
 12 10.512 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 1.778 12
 2.900 0.658 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 12.667 12
 20.661 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 11.556 12
 18.849 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 11.556 12
 18.849 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 11.111 12
 18.124 <0.001 Yes

ZEA/IAA vs. CIN/NAA 5.556 12
 9.062 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 4.667 12
 7.612 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 8.000 12
 13.049 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 6.889 12
 11.237 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 6.889 12
 11.237 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 6.444 12
 10.512 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.889 12
 1.450 0.997 No
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 7.111 12
 11.599 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.000 12
 9.787 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.000 12
 9.787 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 5.556 12
 9.062 <0.001 Yes
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 1.556 12
 2.537 0.816 No
 CIN/IBA vs. TDZ/IBA 0.444 12
 0.725 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 0.725 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 1.111 12
 1.812 0.979 Do Not Test
 BAP/IBA vs. TDZ/IBA
 0.00000000333 12
 0.00000000544 1.000 Do Not
 Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.111 12
 1.812 0.979 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Low
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 16.222
 12 26.461 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 16.000 12
 26.098 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 15.556
 12 25.373 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 14.889
 12 24.286 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 11.333
 12 18.486 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 10.889
 12 17.761 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 9.556 12
 15.586 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 8.000
 12 13.049 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 8.000 12
 13.049 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 6.000 12
 9.787 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 5.333 12
 8.699 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 10.889 12
 17.761 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 10.667 12
 17.399 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 10.222 12
 16.674 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 9.556 12
 15.586 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 6.000 12
 9.787 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 5.556 12
 9.062 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.222 12
 6.887 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.667 12
 4.350 0.109 No
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.667 12
 4.350 0.109 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 0.667 12
 1.087 1.000 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 10.222 12
 16.674 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 10.000 12
 16.311 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 9.556 12
 15.586 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 8.889 12
 14.499 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 5.333 12
 8.699 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 4.889 12
 7.974 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 3.556 12
 5.800 0.006 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 2.000 12
 3.262 0.482 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 2.000 12
 3.262 0.482 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 8.222 12
 13.412 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 8.000 12
 13.049 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 7.556 12
 12.324 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 6.889 12
 11.237 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 3.333 12
 5.437 0.013 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.889 12
 4.712 0.057 No
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 1.556 12
 2.537 0.816 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/NAA
 0.0000000133 12
 0.0000000217 1.000 Do Not
 Test
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 8.222 12
 13.412 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 8.000 12
 13.049 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 7.556 12
 12.324 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 6.889 12
 11.237 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 3.333
 12 5.437 0.013 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 2.889 12
 4.712 0.057 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 1.556 12
 2.537 0.816 Do Not Test
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 6.667 12
 10.874 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.444 12
 10.512 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.000 12
 9.787 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.333 12
 8.699 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 1.778 12
 2.900 0.658 No
 CIN/NAA vs. ZEA/IAA 1.333 12
 2.175 0.925 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 5.333 12
 8.699 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 5.111 12
 8.337 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 4.667 12
 7.612 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 4.000 12
 6.525 0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 0.444 12
 0.725 1.000 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.889 12
 7.974 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.667 12
 7.612 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.222 12
 6.887 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 3.556 12
 5.800 0.006 Yes
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.333 12
 2.175 0.925 No
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.111 12
 1.812 0.979 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.667 12
 1.087 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.667 12
 1.087 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.444 12
 0.725 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.362 1.000 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs
 for a comparison when no
 significant difference is found
 between two
 means that enclose that
 comparison. For example, if you
 had four means sorted in order,
 and found no
 difference between means 4 vs.
 2, then you would not test 4 vs.
 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1
 and 3 vs. 1
 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed
 by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not
 testing the enclosed means is a
 procedural rule, and a result of
 Do Not Test should be treated as
 if there is no significant
 difference between

the means, even though one may appear to exist.

Coffea arabica cv. Pluma Hidalgo

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Pluma H
 Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.157)
 Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.056)
 Source of Variation DF SS MS F P

Phytohormones 11 12795.885 1163.262 1702.848 <0.001
 Dose 2 9235.317 4617.658 6759.584 <0.001
 Phytohormones x Dose 22 3758.461 170.839 250.084 <0.001

Residual 72 49.185 0.683
 Total 107 25838.848 241.485

Main effects cannot be properly interpreted if significant interaction is determined. This is because the size of a factor's effect depends upon the level of the other factor.

The effect of different levels of Phytohormones depends on what level of Dose is present. There is a

statistically significant interaction between Phytohormones and Dose. (P = <0.001)

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones : 1.000

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dose : 1.000

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones x Dose : 1.000

Least square means for Phytohormones :

Group Mean

TDZ/IAA 27.037

TDZ/IBA 6.815

TDZ/NAA 41.778

CIN/IAA 22.741

CIN/IBA 5.185

CIN/NAA 12.741

ZEA/IAA 21.185

ZEA/IBA 5.259

ZEA/NAA 13.259

BAP/IAA 27.333

BAP/IBA 5.556

BAP/NAA 19.704

Std Err of LS Mean = 0.276

Least square means for Dose :

Group Mean

High 29.778

Medium 14.796

Low 7.574

Std Err of LS Mean = 0.138
 Least square means for Phytohormones x Dose :
 Group Mean

TDZ/IAA x High 46.444

TDZ/IAA x Medium 22.444

TDZ/IAA x Low 12.222

TDZ/IBA x High 12.444

TDZ/IBA x Medium 4.889

TDZ/IBA x Low 3.111

TDZ/NAA x High 70.000

TDZ/NAA x Medium 36.889

TDZ/NAA x Low 18.444

CIN/IAA x High 38.667

CIN/IAA x Medium 20.000

CIN/IAA x Low 9.556

CIN/IBA x High 8.889

CIN/IBA x Medium 4.889

CIN/IBA x Low 1.778

CIN/NAA x High 19.778

CIN/NAA x Medium 10.889

CIN/NAA x Low 7.556

ZEA/IAA x High 38.000

ZEA/IAA x Medium 18.000

ZEA/IAA x Low 7.556

ZEA/IBA x High 9.778

ZEA/IBA x Medium 3.778

ZEA/IBA x Low 2.222

ZEA/NAA x High 21.556

ZEA/NAA x Medium 11.333

ZEA/NAA x Low 6.889

BAP/IAA x High 50.667

BAP/IAA x Medium 21.556

BAP/IAA x Low 9.778

BAP/IBA x High 10.667

BAP/IBA x Medium 4.444

BAP/IBA x Low 1.556

BAP/NAA x High 30.444

BAP/NAA x Medium 18.444

BAP/NAA x Low 10.222

Std Err of LS Mean = 0.477

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: Dose within TDZ/IAA

Comparison Diff of Means p q P <0.050

High vs. Low 34.222 3 71.716 <0.001 Yes

High vs. Medium 24.000 3 50.295 <0.001 Yes

Medium vs. Low 10.222 3 21.422 <0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within TDZ/IBA

Comparison Diff of Means p q P <0.050

High vs. Low 9.333 3 19.559 <0.001 Yes

High vs. Medium 7.556 3 15.833 <0.001 Yes

Medium vs. Low 1.778 3 3.726 0.028 Yes

Comparisons for factor: Dose within TDZ/NAA

Comparison Diff of Means p q P <0.050

High vs. Low 51.556 3 108.040 <0.001 Yes

High vs. Medium 33.111 3 69.388 <0.001 Yes

Medium vs. Low 18.444 3 38.652 <0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within CIN/IAA

Comparison Diff of Means p q P <0.050

High vs. Low 29.111 3 61.005 <0.001 Yes

High vs. Medium 18.667 3 39.118 <0.001 Yes

Medium vs. Low 10.444 3 21.887 <0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within CIN/IBA

Comparison Diff of Means p q P <0.050

High vs. Low 7.111 3 14.902 <0.001 Yes

High vs. Medium 4.000 3 8.382 <0.001 Yes

Medium vs. Low 3.111 3 6.520 <0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within CIN/NAA

Comparison Diff of Means p q P <0.050

High vs. Low 12.222 3 25.613 <0.001 Yes

High vs. Medium 8.889 3 18.628 <0.001 Yes

Medium vs. Low 3.333 3 6.985 <0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within ZEA/IAA

Comparison Diff of Means p q P <0.050

High vs. Low 30.444 3 63.800 <0.001 Yes

High vs. Medium 20.000 3 41.912 <0.001 Yes

Medium vs. Low 10.444 3 21.887 <0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within ZEA/IBA

Comparison Diff of Means p q P <0.050

High vs. Low 7.556 3 15.833 <0.001 Yes

High vs. Medium 6.000 3 12.574 <0.001 Yes

Medium vs. Low 1.556 3 3.260 0.062 No

Comparisons for factor: Dose within ZEA/NAA

Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 14.667 3 30.736
<0.001 Yes
High vs. Medium 10.222 3
21.422 <0.001 Yes
Medium vs. Low 4.444 3 9.314
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within BAP/IAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 40.889 3 85.687
<0.001 Yes
High vs. Medium 29.111 3
61.005 <0.001 Yes
Medium vs. Low 11.778 3
24.682 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within BAP/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 9.111 3 19.093
<0.001 Yes
High vs. Medium 6.222 3 13.039
<0.001 Yes
Medium vs. Low 2.889 3 6.054
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within BAP/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 20.222 3 42.378
<0.001 Yes
High vs. Medium 12.000 3
25.147 <0.001 Yes
Medium vs. Low 8.222 3 17.231
<0.001 Yes
Comparisons for factor:
Phytohormones within High
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
TDZ/NAA vs. CIN/IBA 61.111 12
128.065 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 60.222
12 126.202 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IBA 59.333
12 124.339 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 57.556
12 120.614 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/NAA 50.222
12 105.246 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 48.444
12 101.520 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/NAA 39.556
12 82.893 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 32.000
12 67.059 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IAA 31.333 12
65.662 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 23.556
12 49.363 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IAA 19.333
12 40.515 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IBA 41.778 12
87.550 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IBA 40.889 12
85.687 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/IBA 40.000 12
83.824 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IBA 38.222 12
80.099 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.889 12
64.731 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/NAA 29.111
12 61.005 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/NAA 20.222
12 42.378 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 12.667 12
26.544 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IAA 12.000 12
25.147 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.222 12
8.848 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IBA 37.556 12
78.702 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.667 12
76.839 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IBA 35.778 12
74.976 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 34.000 12
71.251 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/NAA 26.667 12
55.883 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 24.889
12 52.157 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/NAA 16.000
12 33.530 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 8.444 12
17.696 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IAA 7.778 12
16.299 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. CIN/IBA 29.778 12
62.403 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IBA 28.889 12
60.540 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. BAP/IBA 28.000 12
58.677 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. TDZ/IBA 26.222 12
54.951 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. CIN/NAA 18.889 12
39.584 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/NAA 17.111 12
35.858 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. BAP/NAA 8.222 12
17.231 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IAA 0.667 12
1.397 0.998 No
ZEA/IAA vs. CIN/IBA 29.111 12
61.005 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 28.222 12
59.143 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/IBA 27.333 12
57.280 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 25.556 12
53.554 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/NAA 18.222 12
38.187 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 16.444
12 34.461 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/NAA 7.556 12
15.833 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. CIN/IBA 21.556 12
45.172 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/IBA 20.667
12 43.309 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. BAP/IBA 19.778
12 41.446 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. TDZ/IBA 18.000
12 37.721 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. CIN/NAA 10.667
12 22.353 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/NAA 8.889
12 18.628 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. CIN/IBA 12.667 12
26.544 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 11.778
12 24.682 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. BAP/IBA 10.889
12 22.819 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 9.111 12
19.093 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. CIN/NAA 1.778 12
3.726 0.281 No
CIN/NAA vs. CIN/IBA 10.889 12
22.819 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.000 12
20.956 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. BAP/IBA 9.111 12
19.093 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. TDZ/IBA 7.333 12
15.368 <0.001 Yes
TDZ/IBA vs. CIN/IBA 3.556 12
7.451 <0.001 Yes
TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 2.667 12
5.588 0.009 Yes
TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.778 12
3.726 0.281 No
BAP/IBA vs. CIN/IBA 1.778 12
3.726 0.281 No
BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
1.863 0.974 Do Not Test
ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.889 12
1.863 0.974 Do Not Test
Comparisons for factor:
Phytohormones within Medium
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 33.111
12 69.388 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IBA 32.444
12 67.991 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 32.000
12 67.059 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IBA 32.000 12
67.059 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/NAA 26.000
12 54.486 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 25.556
12 53.554 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 18.889
12 39.584 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. BAP/NAA 18.444 12 38.652 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. BAP/IBA 14.000 12 29.338 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 15.333 12 32.133 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IAA 16.889 12 35.392 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. TDZ/IBA 13.556 12 28.407 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 11.556 12 24.216 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IAA 15.333 12 32.133 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. CIN/IBA 13.556 12 28.407 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 10.889 12 22.819 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 14.444 12 30.270 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. CIN/NAA 7.556 12 15.833 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 10.889 12 22.819 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 18.667 12 39.118 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. ZEA/NAA 7.111 12 14.902 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 8.889 12 18.628 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IBA 18.000 12 37.721 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. ZEA/IAA 0.444 12 0.931 1.000 Do Not Test	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 8.667 12 18.162 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 17.556 12 36.790 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 14.222 12 29.804 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 8.222 12 17.231 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IBA 17.556 12 36.790 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. BAP/IBA 13.556 12 28.407 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 6.222 12 13.039 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/NAA 11.556 12 24.216 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 13.111 12 27.476 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. BAP/IBA 10.667 12 22.353 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 11.111 12 23.285 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. CIN/IBA 13.111 12 27.476 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. CIN/IBA 10.444 12 21.887 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.444 12 9.314 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. CIN/NAA 7.111 12 14.902 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 10.000 12 20.956 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/NAA 4.000 12 8.382 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 6.667 12 13.971 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 9.111 12 19.093 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.444 12 5.123 0.025 Yes	ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 7.556 12 15.833 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 5.333 12 11.177 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IAA 0.889 12 1.863 0.974 No	ZEA/NAA vs. BAP/IBA 6.889 12 14.436 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.667 12 9.779 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IBA 17.778 12 37.255 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 6.444 12 13.505 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.667 12 9.779 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/IBA 17.111 12 35.858 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. CIN/IBA 6.444 12 13.505 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.667 12 5.588 0.009 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IBA 16.667 12 34.927 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.444 12 0.931 1.000 No	TDZ/IAA vs. BAP/IAA 2.444 12 5.123 0.025 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IBA 16.667 12 34.927 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. ZEA/IBA 7.111 12 14.902 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.000 12 4.191 0.141 No
BAP/IAA vs. CIN/NAA 10.667 12 22.353 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.444 12 13.505 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. BAP/IBA 8.667 12 18.162 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/NAA 10.222 12 21.422 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.000 12 12.574 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. CIN/IBA 8.444 12 17.696 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 3.556 12 7.451 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.000 12 12.574 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. ZEA/IBA 8.000 12 16.765 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/NAA 3.111 12 6.520 0.001 Yes	CIN/IBA vs. ZEA/IBA 1.111 12 2.328 0.885 No	BAP/NAA vs. TDZ/IBA 7.111 12 14.902 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IAA 1.556 12 3.260 0.483 No	CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12 0.931 1.000 Do Not Test	BAP/NAA vs. ZEA/NAA 3.333 12 6.985 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IBA 16.222 12 33.995 <0.001 Yes	CIN/IBA vs. TDZ/IBA 0.000 12 0.000 1.000 Do Not Test	BAP/NAA vs. CIN/NAA 2.667 12 5.588 0.009 Yes
CIN/IAA vs. BAP/IBA 15.556 12 32.598 <0.001 Yes	TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.111 12 2.328 0.885 Do Not Test	BAP/NAA vs. ZEA/IAA 2.667 12 5.588 0.009 Yes
CIN/IAA vs. TDZ/IBA 15.111 12 31.667 <0.001 Yes	TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12 0.931 1.000 Do Not Test	BAP/NAA vs. CIN/IAA 0.667 12 1.397 0.998 No
CIN/IAA vs. CIN/IBA 15.111 12 31.667 <0.001 Yes	BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.667 12 1.397 0.998 Do Not Test	BAP/NAA vs. BAP/IAA 0.444 12 0.931 1.000 Do Not Test
CIN/IAA vs. CIN/NAA 9.111 12 19.093 <0.001 Yes	Comparisons for factor: Phytohormones within Low	BAP/IAA vs. BAP/IBA 8.222 12 17.231 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/NAA 8.667 12 18.162 <0.001 Yes	Comparison Diff of Means p q P P<0.050	BAP/IAA vs. CIN/IBA 8.000 12 16.765 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.000 12 4.191 0.141 No	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 16.889 12 35.392 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. ZEA/IBA 7.556 12 15.833 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. BAP/NAA 1.556 12 3.260 0.483 Do Not Test	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 16.667 12 34.927 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. TDZ/IBA 6.667 12 13.971 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/IBA 14.667 12 30.736 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 16.222 12 33.995 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. ZEA/NAA 2.889 12 6.054 0.003 Yes

BAP/IAA vs. CIN/NAA 2.222 12
4.657 0.063 No
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 2.222 12
4.657 0.063 Do Not Test
BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.222 12
0.466 1.000 Do Not Test
CIN/IAA vs. BAP/IBA 8.000 12
16.765 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. CIN/IBA 7.778 12
16.299 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IBA 7.333 12
15.368 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. TDZ/IBA 6.444 12
13.505 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/NAA 2.667 12
5.588 0.009 Yes
CIN/IAA vs. CIN/NAA 2.000 12
4.191 0.141 Do Not Test
CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.000 12
4.191 0.141 Do Not Test
ZEA/IAA vs. BAP/IBA 6.000 12
12.574 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/IBA 5.778 12
12.108 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
11.177 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 4.444 12
9.314 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 0.667 12
1.397 0.998 No
ZEA/IAA vs. CIN/NAA
0.00000000333 12
0.00000000699 1.000 Do Not
Test
CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.000 12
12.574 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. CIN/IBA 5.778 12
12.108 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
11.177 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.444 12
9.314 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.667 12
1.397 0.998 Do Not Test
ZEA/NAA vs. BAP/IBA 5.333 12
11.177 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. CIN/IBA 5.111 12
10.711 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.667 12
9.779 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 3.778 12
7.917 <0.001 Yes
TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.556 12
3.260 0.483 No
TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.333 12
2.794 0.708 Do Not Test
TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
1.863 0.974 Do Not Test
ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.667 12
1.397 0.998 Do Not Test
ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.444 12
0.931 1.000 Do Not Test
CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
0.466 1.000 Do Not Test

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed means is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the means, even though one may appear to exist.

Coffea arabica cv. Villa Sarchi

Two Way Analysis of Variance
Dependent Variable: Villa sarchi
Normality Test (Shapiro-Wilk):
Passed (P = 0.408)
Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.476)
Source of Variation DF SS MS F P
Phytohormones 11 12415.150
1128.650 757.588 <0.001
Dose 2 9650.893 4825.447
3239.001 <0.001
Phytohormones x Dose 22
3686.608 167.573 112.481
<0.001
Residual 72 107.265 1.490
Total 107 25859.916 241.681
Main effects cannot be properly interpreted if significant interaction is determined. This is because the size of a factor's effect depends upon the level of the other factor. The effect of different levels of Phytohormones depends on what level of Dose is present. There is a statistically significant interaction between Phytohormones and Dose. (P = <0.001)
Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones : 1.000
Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones x Dose : 1.000

Least square means for
Phytohormones :
Group Mean
TDZ/IAA 26.889
TDZ/IBA 7.184
TDZ/NAA 40.963
CIN/IAA 24.148
CIN/IBA 5.852
CIN/NAA 13.259
ZEA/IAA 21.556
ZEA/IBA 4.963
ZEA/NAA 12.741
BAP/IAA 27.037
BAP/IBA 5.481
BAP/NAA 19.704
Std Err of LS Mean = 0.407
Least square means for Dose :
Group Mean
High 30.111
Medium 14.963
Low 7.370
Std Err of LS Mean = 0.203
Least square means for
Phytohormones x Dose :
Group Mean
TDZ/IAA x High 46.667
TDZ/IAA x Medium 21.556
TDZ/IAA x Low 12.444
TDZ/IBA x High 13.109
TDZ/IBA x Medium 5.556
TDZ/IBA x Low 2.889
TDZ/NAA x High 68.000
TDZ/NAA x Medium 37.333
TDZ/NAA x Low 17.556
CIN/IAA x High 42.000
CIN/IAA x Medium 20.222
CIN/IAA x Low 10.222
CIN/IBA x High 8.667
CIN/IBA x Medium 6.889
CIN/IBA x Low 2.000
CIN/NAA x High 22.000
CIN/NAA x Medium 10.667
CIN/NAA x Low 7.111
ZEA/IAA x High 39.778
ZEA/IAA x Medium 18.222
ZEA/IAA x Low 6.667
ZEA/IBA x High 9.778
ZEA/IBA x Medium 3.333
ZEA/IBA x Low 1.778
ZEA/NAA x High 20.444
ZEA/NAA x Medium 12.000
ZEA/NAA x Low 5.778
BAP/IAA x High 50.000
BAP/IAA x Medium 20.444
BAP/IAA x Low 10.667
BAP/IBA x High 10.889
BAP/IBA x Medium 4.222
BAP/IBA x Low 1.333
BAP/NAA x High 30.000
BAP/NAA x Medium 19.111
BAP/NAA x Low 10.000
Std Err of LS Mean = 0.705
All Pairwise Multiple
Comparison Procedures (Tukey
Test):

Comparisons for factor: Dose within TDZ/IAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 34.222 3 48.563 <0.001 Yes
 High vs. Medium 25.111 3 35.634 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 9.111 3 12.929 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/IBA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 10.220 3 14.503 <0.001 Yes
 High vs. Medium 7.553 3 10.719 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 2.667 3 3.784 0.025 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/NAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 50.444 3 71.583 <0.001 Yes
 High vs. Medium 30.667 3 43.518 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 19.778 3 28.066 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 31.778 3 45.094 <0.001 Yes
 High vs. Medium 21.778 3 30.904 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 10.000 3 14.190 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IBA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 6.667 3 9.460 <0.001 Yes
 High vs. Medium 1.778 3 2.523 0.182 No
 Medium vs. Low 4.889 3 6.938 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/NAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 14.889 3 21.128 <0.001 Yes
 High vs. Medium 11.333 3 16.083 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.556 3 5.046 0.002 Yes
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/IAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 33.111 3 46.986 <0.001 Yes
 High vs. Medium 21.556 3 30.588 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 11.556 3 16.398 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/IBA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 8.000 3 11.352 <0.001 Yes
 High vs. Medium 6.444 3 9.145 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 1.556 3 2.207 0.269 No
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/NAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 14.667 3 20.813 <0.001 Yes
 High vs. Medium 8.444 3 11.983 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 6.222 3 8.830 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within BAP/IAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 39.333 3 55.816 <0.001 Yes
 High vs. Medium 29.556 3 41.941 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 9.778 3 13.875 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within BAP/IBA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 9.556 3 13.560 <0.001 Yes
 High vs. Medium 6.667 3 9.460 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 2.889 3 4.099 0.014 Yes
 Comparisons for factor: Dose within BAP/NAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 20.000 3 28.381 <0.001 Yes
 High vs. Medium 10.889 3 15.452 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 9.111 3 12.929 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Phytohormones within High
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 59.333 12 84.197 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 58.222 12 82.620 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 57.111 12 81.043 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 54.891 12 77.893 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 47.556 12 67.484 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 46.000 12 65.276 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 38.000 12 53.924 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 28.222 12 40.049 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 26.000 12 36.895 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 21.333 12 30.273 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 18.000 12 25.543 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 41.333 12 58.654 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 40.222 12 57.077 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 39.111 12 55.501 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 36.891 12 52.350 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 29.556 12 41.941 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 28.000 12 39.733 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 20.000 12 28.381 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 10.222 12 14.506 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 8.000 12 11.352 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IAA 3.333 12 4.730 0.055 No
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 38.000 12 53.924 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.889 12 52.347 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 35.778 12 50.770 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 33.558 12 47.620 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 26.222 12 37.211 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 24.667 12 35.003 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 16.667 12 23.651 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 6.889 12 9.776 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 4.667 12 6.622 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 33.333 12 47.302 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 32.222 12 45.725 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 31.111 12 44.148 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 28.891 12 40.998 <0.001 Yes

CIN/IAA vs. ZEA/NAA 21.556 12
 30.588 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 20.000 12
 28.381 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 12.000 12
 17.029 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.222 12
 3.153 0.534 No
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 31.111 12
 44.148 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 30.000 12
 42.571 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 28.889 12
 40.995 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 26.669 12
 37.844 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 19.333
 12 27.435 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 17.778 12
 25.228 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/NAA 9.778 12
 13.875 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 21.333 12
 30.273 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 20.222
 12 28.696 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 19.111
 12 27.120 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 16.891
 12 23.969 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 9.556
 12 13.560 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 8.000 12
 11.352 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 13.333 12
 18.921 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 12.222 12
 17.344 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 11.111 12
 15.767 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 8.891 12
 12.617 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 1.556 12
 2.207 0.917 No
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 11.778 12
 16.713 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 10.667
 12 15.137 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 9.556 12
 13.560 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 7.336 12
 10.410 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 4.442 12
 6.304 0.002 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 3.331 12
 4.727 0.055 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 2.220 12
 3.150 0.536 Do Not Test
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 2.222 12
 3.153 0.534 No
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 1.111 12
 1.577 0.993 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 1.111 12
 1.577 0.993 Do Not Test

Comparisons for factor:
 Phytohormones within Medium
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 34.000
 12 48.248 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 33.111
 12 46.986 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 31.778
 12 45.094 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 30.444 12
 43.202 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 26.667
 12 37.841 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 25.333
 12 35.949 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 19.111
 12 27.120 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 18.222
 12 25.858 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 17.111 12
 24.282 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 16.889
 12 23.966 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 15.778
 12 22.389 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 18.222 12
 25.858 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 17.333 12
 24.597 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.000 12
 22.705 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 14.667 12
 20.813 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 10.889 12
 15.452 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 9.556 12
 13.560 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 3.333 12
 4.730 0.055 No
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.444 12
 3.469 0.386 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 1.333 12
 1.892 0.971 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 1.111 12
 1.577 0.993 Do Not Test
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 17.111 12
 24.282 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 16.222 12
 23.020 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 14.889 12
 21.128 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 13.556 12
 19.236 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 9.778 12
 13.875 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 8.444 12
 11.983 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 2.222 12
 3.153 0.534 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 1.333 12
 1.892 0.971 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.222 12
 0.315 1.000 Do Not Test

CIN/IAA vs. ZEA/IBA 16.889 12
 23.966 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 16.000 12
 22.705 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 14.667 12
 20.813 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 13.333 12
 18.921 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 9.556 12
 13.560 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 8.222 12
 11.668 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.000 12
 2.838 0.687 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 1.111 12
 1.577 0.993 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 15.778
 12 22.389 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 14.889
 12 21.128 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 13.556
 12 19.236 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 12.222 12
 17.344 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 8.444 12
 11.983 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 7.111
 12 10.091 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 0.889 12
 1.261 0.999 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 14.889 12
 21.128 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 14.000 12
 19.867 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 12.667 12
 17.975 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 11.333 12
 16.083 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 7.556 12
 10.722 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 6.222 12
 8.830 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 8.667 12
 12.298 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 7.778 12
 11.037 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 6.444 12
 9.145 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 5.111 12
 7.253 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 1.333 12
 1.892 0.971 No
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 7.333 12
 10.406 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.444 12
 9.145 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.111 12
 7.253 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 3.778 12
 5.361 0.015 Yes
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 3.556 12
 5.046 0.029 Yes
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 2.667 12
 3.784 0.260 No

CIN/IBA vs. TDZ/IBA 1.333 12
 1.892 0.971 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 2.222 12
 3.153 0.534 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.333 12
 1.892 0.971 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
 1.261 0.999 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Low
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 16.222
 12 23.020 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 15.778
 12 22.389 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 15.556 12
 22.074 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 14.667
 12 20.813 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 11.778
 12 16.713 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 10.889
 12 15.452 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 10.444
 12 14.821 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 7.556
 12 10.722 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 7.333 12
 10.406 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 6.889 12
 9.776 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 5.111 12
 7.253 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 11.111 12
 15.767 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 10.667 12
 15.137 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 10.444 12
 14.821 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 9.556 12
 13.560 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 6.667 12
 9.460 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 5.778 12
 8.199 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 5.333 12
 7.568 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.444 12
 3.469 0.386 No
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.222 12
 3.153 0.534 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 1.778 12
 2.523 0.821 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 9.333 12
 13.244 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 8.889 12
 12.614 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 8.667 12
 12.298 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 7.778 12
 11.037 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 4.889 12
 6.938 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. ZEA/IAA 4.000 12
 5.676 0.008 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 3.556 12
 5.046 0.029 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.667 12
 0.946 1.000 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.444 12
 0.631 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 8.889 12
 12.614 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 8.444 12
 11.983 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 8.222 12
 11.668 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 7.333 12
 10.406 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 4.444 12
 6.307 0.002 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.556 12
 5.046 0.029 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 3.111 12
 4.415 0.097 No
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 0.222 12
 0.315 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 8.667 12
 12.298 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 8.222 12
 11.668 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 8.000 12
 11.352 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 7.111 12
 10.091 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 4.222
 12 5.992 0.004 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 3.333 12
 4.730 0.055 No
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 2.889 12
 4.099 0.164 Do Not Test
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 5.778 12
 8.199 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
 7.568 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 5.111 12
 7.253 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.222 12
 5.992 0.004 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 1.333 12
 1.892 0.971 No
 CIN/NAA vs. ZEA/IAA 0.444 12
 0.631 1.000 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 5.333 12
 7.568 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 4.889 12
 6.938 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 4.667 12
 6.622 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 3.778 12
 5.361 0.015 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 0.889 12
 1.261 0.999 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.444 12
 6.307 0.002 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.000 12
 5.676 0.008 Yes

ZEA/NAA vs. CIN/IBA 3.778 12
 5.361 0.015 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 2.889 12
 4.099 0.164 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.556 12
 2.207 0.917 No
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.111 12
 1.577 0.993 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 0.889 12
 1.261 0.999 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.667 12
 0.946 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
 0.315 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 0.631 1.000 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs
 for a comparison when no
 significant difference is found
 between two
 means that enclose that
 comparison. For example, if you
 had four means sorted in order,
 and found no
 difference between means 4 vs.
 2, then you would not test 4 vs.
 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1
 and 3 vs. 1
 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed
 by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not
 testing the enclosed means is a
 procedural rule, and a result of
 Do Not Test should be treated as
 if there is no significant
 difference between
 the means, even though one
 may appear to exist.

Coffea arabica cv. Bourbon

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Bourbon
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.696)
 Equal Variance Test (Brown-
 Forsythe): Passed (P = 0.901)
 Source of Variation DF SS MS F
 P
 Phytohormones 11 12441.959
 1131.087 191.403 <0.001
 Dose 2 8973.588 4486.794
 759.256 <0.001
 Phytohormones x Dose 22
 3870.560 175.935 29.772
 <0.001
 Residual 72 425.481 5.909
 Total 107 25711.588 240.295
 Main effects cannot be properly
 interpreted if significant
 interaction is determined. This is
 because the size
 of a factor's effect depends upon
 the level of the other factor.

The effect of different levels of Phytohormones depends on what level of Dose is present. There is a statistically significant interaction between Phytohormones and Dose. ($P < 0.001$)

Power of performed test with $\alpha = 0.0500$: for Phytohormones : 1.000

Power of performed test with $\alpha = 0.0500$: for Dose : 1.000

Power of performed test with $\alpha = 0.0500$: for Phytohormones x Dose : 1.000

Least square means for Phytohormones :

Group Mean
 TDZ/IAA 27.037
 TDZ/IBA 7.259
 TDZ/NAA 41.333
 CIN/IAA 23.556
 CIN/IBA 5.111
 CIN/NAA 12.815
 ZEA/IAA 21.111
 ZEA/IBA 5.778
 ZEA/NAA 12.444
 BAP/IAA 27.185
 BAP/IBA 5.926
 BAP/NAA 19.185

Std Err of LS Mean = 0.810

Least square means for Dose :

Group Mean
 High 29.537
 Medium 15.074
 Low 7.574

Std Err of LS Mean = 0.405

Least square means for Phytohormones x Dose :

Group Mean
 TDZ/IAA x High 45.333
 TDZ/IAA x Medium 23.111
 TDZ/IAA x Low 12.667
 TDZ/IBA x High 13.111
 TDZ/IBA x Medium 6.222
 TDZ/IBA x Low 2.444
 TDZ/NAA x High 70.000
 TDZ/NAA x Medium 36.222
 TDZ/NAA x Low 17.778
 CIN/IAA x High 40.444
 CIN/IAA x Medium 20.000
 CIN/IAA x Low 10.222
 CIN/IBA x High 9.111
 CIN/IBA x Medium 4.444
 CIN/IBA x Low 1.778
 CIN/NAA x High 19.111
 CIN/NAA x Medium 11.333
 CIN/NAA x Low 8.000
 ZEA/IAA x High 38.222
 ZEA/IAA x Medium 18.889
 ZEA/IAA x Low 6.222
 ZEA/IBA x High 8.889
 ZEA/IBA x Medium 6.444
 ZEA/IBA x Low 2.000

ZEA/NAA x High 19.111
 ZEA/NAA x Medium 10.889
 ZEA/NAA x Low 7.333
 BAP/IAA x High 50.000
 BAP/IAA x Medium 20.444
 BAP/IAA x Low 11.111
 BAP/IBA x High 11.111
 BAP/IBA x Medium 5.111
 BAP/IBA x Low 1.556
 BAP/NAA x High 30.000
 BAP/NAA x Medium 17.778
 BAP/NAA x Low 9.778

Std Err of LS Mean = 1.404

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: Dose within TDZ/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 32.667 3 23.275
 < 0.001 Yes
 High vs. Medium 22.222 3 15.833
 < 0.001 Yes
 Medium vs. Low 10.444 3 7.442
 < 0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within TDZ/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 10.667 3 7.600
 < 0.001 Yes
 High vs. Medium 6.889 3 4.908
 0.003 Yes
 Medium vs. Low 3.778 3 2.692
 0.145 No

Comparisons for factor: Dose within TDZ/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 52.222 3 37.208
 < 0.001 Yes
 High vs. Medium 33.778 3 24.067
 < 0.001 Yes
 Medium vs. Low 18.444 3 13.142
 < 0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within CIN/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 30.222 3 21.533
 < 0.001 Yes
 High vs. Medium 20.444 3 14.567
 < 0.001 Yes
 Medium vs. Low 9.778 3 6.967
 < 0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within CIN/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 7.333 3 5.225
 0.001 Yes
 High vs. Medium 4.667 3 3.325
 0.055 No

Medium vs. Low 2.667 3 1.900
 0.376 No

Comparisons for factor: Dose within CIN/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 11.111 3 7.917
 < 0.001 Yes
 High vs. Medium 7.778 3 5.542
 < 0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.333 3 2.375
 0.220 No

Comparisons for factor: Dose within ZEA/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 32.000 3 22.800
 < 0.001 Yes
 High vs. Medium 19.333 3 13.775
 < 0.001 Yes
 Medium vs. Low 12.667 3 9.025
 < 0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within ZEA/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 6.889 3 4.908
 0.003 Yes
 High vs. Medium 2.444 3 1.742
 0.439 No
 Medium vs. Low 4.444 3 3.167
 0.072 No

Comparisons for factor: Dose within ZEA/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 11.778 3 8.392
 < 0.001 Yes
 High vs. Medium 8.222 3 5.858
 < 0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.556 3 2.533
 0.180 No

Comparisons for factor: Dose within BAP/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 38.889 3 27.708
 < 0.001 Yes
 High vs. Medium 29.556 3 21.058
 < 0.001 Yes
 Medium vs. Low 9.333 3 6.650
 < 0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within BAP/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 $P < 0.050$
 High vs. Low 9.556 3 6.808
 < 0.001 Yes
 High vs. Medium 6.000 3 4.275
 0.010 Yes
 Medium vs. Low 3.556 3 2.533
 0.180 No

Comparisons for factor: Dose within BAP/NAA

Comparison Diff of Means p q P		
P<0.050		
High vs. Low 20.222 3 14.408		
<0.001 Yes		
High vs. Medium 12.222 3 8.708		
<0.001 Yes		
Medium vs. Low 8.000 3 5.700		
<0.001 Yes		
Comparisons for factor:		
Phytohormones within High		
Comparison Diff of Means p q P		
P<0.050		
TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 61.111	TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 26.222	CIN/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12
12 43.542 <0.001 Yes	12 18.683 <0.001 Yes	5.700 0.007 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IBA 60.889 12	TDZ/IAA vs. BAP/NAA 15.333	CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.000 12
43.384 <0.001 Yes	12 10.925 <0.001 Yes	4.275 0.123 Do Not Test
TDZ/NAA vs. BAP/IBA 58.889	TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 7.111 12	TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 4.222 12
12 41.958 <0.001 Yes	5.067 0.028 Yes	3.008 0.606 No
TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 56.889	TDZ/IAA vs. CIN/IAA 4.889 12	TDZ/IBA vs. CIN/IBA 4.000 12
12 40.533 <0.001 Yes	3.483 0.379 No	2.850 0.682 Do Not Test
TDZ/NAA vs. CIN/NAA 50.889	CIN/IAA vs. ZEA/IBA 31.556 12	TDZ/IBA vs. BAP/IBA 2.000 12
12 36.258 <0.001 Yes	22.483 <0.001 Yes	1.425 0.997 Do Not Test
TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 50.889	CIN/IAA vs. CIN/IBA 31.333 12	BAP/IBA vs. ZEA/IBA 2.222 12
12 36.258 <0.001 Yes	22.325 <0.001 Yes	1.583 0.993 Do Not Test
TDZ/NAA vs. BAP/NAA 40.000	CIN/IAA vs. BAP/IBA 29.333 12	BAP/IBA vs. CIN/IBA 2.000 12
12 28.500 <0.001 Yes	20.900 <0.001 Yes	1.425 0.997 Do Not Test
TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 31.778	CIN/IAA vs. TDZ/IBA 27.333 12	CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
12 22.642 <0.001 Yes	19.475 <0.001 Yes	0.158 1.000 Do Not Test
TDZ/NAA vs. CIN/IAA 29.556 12	CIN/IAA vs. CIN/NAA 21.333 12	Comparisons for factor:
21.058 <0.001 Yes	15.200 <0.001 Yes	Phytohormones within Medium
TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 24.667	CIN/IAA vs. ZEA/NAA 21.333 12	Comparison Diff of Means p q P
12 17.575 <0.001 Yes	15.200 <0.001 Yes	P<0.050
TDZ/NAA vs. BAP/IAA 20.000	CIN/IAA vs. BAP/NAA 10.444 12	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 31.778 12
12 14.250 <0.001 Yes	7.442 <0.001 Yes	22.642 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IBA 41.111 12	CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.222 12	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 31.111
29.292 <0.001 Yes	1.583 0.993 No	12 22.167 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IBA 40.889 12	ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 29.333 12	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 30.000
29.133 <0.001 Yes	20.900 <0.001 Yes	12 21.375 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/IBA 38.889 12	ZEA/IAA vs. CIN/IBA 29.111 12	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 29.778
27.708 <0.001 Yes	20.742 <0.001 Yes	12 21.217 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IBA 36.889 12	ZEA/IAA vs. BAP/IBA 27.111 12	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 25.333
26.283 <0.001 Yes	19.317 <0.001 Yes	12 18.050 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.889 12	ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 25.111 12	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 24.889
22.008 <0.001 Yes	17.892 <0.001 Yes	12 17.733 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/NAA 30.889	ZEA/IAA vs. CIN/NAA 19.111 12	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 18.444
12 22.008 <0.001 Yes	13.617 <0.001 Yes	12 13.142 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/NAA 20.000	ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 19.111	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 17.333
12 14.250 <0.001 Yes	12 13.617 <0.001 Yes	12 12.350 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 11.778 12	ZEA/IAA vs. BAP/NAA 8.222 12	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 16.222 12
8.392 <0.001 Yes	5.858 0.005 Yes	11.558 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IAA 9.556 12	BAP/NAA vs. ZEA/IBA 21.111	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 15.778
6.808 <0.001 Yes	12 15.042 <0.001 Yes	12 11.242 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.667 12	BAP/NAA vs. CIN/IBA 20.889 12	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 13.111
3.325 0.452 No	14.883 <0.001 Yes	12 9.342 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.444 12	BAP/NAA vs. BAP/IBA 18.889	TDZ/IAA vs. CIN/IBA 18.667 12
25.967 <0.001 Yes	12 13.458 <0.001 Yes	13.300 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IBA 36.222 12	BAP/NAA vs. TDZ/IBA 16.889	TDZ/IAA vs. BAP/IBA 18.000 12
25.808 <0.001 Yes	12 12.033 <0.001 Yes	12.825 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IBA 34.222 12	BAP/NAA vs. CIN/NAA 10.889	TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.889 12
24.383 <0.001 Yes	12 7.758 <0.001 Yes	12.033 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 32.222 12	BAP/NAA vs. ZEA/NAA 10.889	TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 16.667 12
22.958 <0.001 Yes	12 7.758 <0.001 Yes	11.875 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/NAA 26.222 12	ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 10.222	TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 12.222
18.683 <0.001 Yes	12 7.283 <0.001 Yes	12 8.708 <0.001 Yes
	ZEA/NAA vs. CIN/IBA 10.000 12	TDZ/IAA vs. CIN/NAA 11.778 12
	7.125 <0.001 Yes	8.392 <0.001 Yes
	ZEA/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12	TDZ/IAA vs. BAP/NAA 5.333 12
	5.700 0.007 Yes	3.800 0.254 No
	ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 6.000 12	TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.222 12
	4.275 0.123 No	3.008 0.606 Do Not Test
	ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.000 12	TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.111 12
	0.000 1.000 Do Not Test	2.217 0.915 Do Not Test
	CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.222 12	TDZ/IAA vs. BAP/IAA 2.667 12
	7.283 <0.001 Yes	1.900 0.970 Do Not Test
	CIN/NAA vs. CIN/IBA 10.000 12	BAP/IAA vs. CIN/IBA 16.000 12
	7.125 <0.001 Yes	11.400 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. BAP/IBA 15.333 12 10.925 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. ZEA/IBA 4.889 12 3.483 0.379 Do Not Test	TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.889 12 2.058 0.948 Do Not Test
BAP/IAA vs. TDZ/IBA 14.222 12 10.133 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.444 12 0.317 1.000 Do Not Test	TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.444 12 1.742 0.985 Do Not Test
BAP/IAA vs. ZEA/IBA 14.000 12 9.975 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. CIN/IBA 6.444 12 4.592 0.071 No	TDZ/IAA vs. BAP/IAA 1.556 12 1.108 1.000 Do Not Test
BAP/IAA vs. ZEA/NAA 9.556 12 6.808 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. BAP/IBA 5.778 12 4.117 0.159 Do Not Test	BAP/IAA vs. BAP/IBA 9.556 12 6.808 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/NAA 9.111 12 6.492 0.001 Yes	ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.667 12 3.325 0.452 Do Not Test	BAP/IAA vs. CIN/IBA 9.333 12 6.650 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/NAA 2.667 12 1.900 0.970 Do Not Test	ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.444 12 3.167 0.528 Do Not Test	BAP/IAA vs. ZEA/IBA 9.111 12 6.492 0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 1.556 12 1.108 1.000 Do Not Test	ZEA/IBA vs. CIN/IBA 2.000 12 1.425 0.997 Do Not Test	BAP/IAA vs. TDZ/IBA 8.667 12 6.175 0.002 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.444 12 0.317 1.000 Do Not Test	ZEA/IBA vs. BAP/IBA 1.333 12 0.950 1.000 Do Not Test	BAP/IAA vs. ZEA/IAA 4.889 12 3.483 0.379 Do Not Test
CIN/IAA vs. CIN/IBA 15.556 12 11.083 <0.001 Yes	ZEA/IBA vs. TDZ/IBA 0.222 12 0.158 1.000 Do Not Test	BAP/IAA vs. ZEA/NAA 3.778 12 2.692 0.753 Do Not Test
CIN/IAA vs. BAP/IBA 14.889 12 10.608 <0.001 Yes	TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.778 12 1.267 0.999 Do Not Test	BAP/IAA vs. CIN/NAA 3.111 12 2.217 0.915 Do Not Test
CIN/IAA vs. TDZ/IBA 13.778 12 9.817 <0.001 Yes	TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.111 12 0.792 1.000 Do Not Test	BAP/IAA vs. BAP/NAA 1.333 12 0.950 1.000 Do Not Test
CIN/IAA vs. ZEA/IBA 13.556 12 9.658 <0.001 Yes	BAP/IBA vs. CIN/IBA 0.667 12 0.475 1.000 Do Not Test	BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.889 12 0.633 1.000 Do Not Test
CIN/IAA vs. ZEA/NAA 9.111 12 6.492 0.001 Yes	Comparisons for factor: Phytohormones within Low	CIN/IAA vs. BAP/IBA 8.667 12 6.175 0.002 Yes
CIN/IAA vs. CIN/NAA 8.667 12 6.175 0.002 Yes	Comparison Diff of Means p q P P<0.050	CIN/IAA vs. CIN/IBA 8.444 12 6.017 0.003 Yes
CIN/IAA vs. BAP/NAA 2.222 12 1.583 0.993 Do Not Test	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 16.222 12 11.558 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. ZEA/IBA 8.222 12 5.858 0.005 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IAA 1.111 12 0.792 1.000 Do Not Test	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 16.000 12 11.400 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. TDZ/IBA 7.778 12 5.542 0.010 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/IBA 14.444 12 10.292 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 15.778 12 11.242 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. ZEA/IAA 4.000 12 2.850 0.682 Do Not Test
ZEA/IAA vs. BAP/IBA 13.778 12 9.817 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 15.333 12 10.925 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. ZEA/NAA 2.889 12 2.058 0.948 Do Not Test
ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 12.667 12 9.025 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.556 12 8.233 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. CIN/NAA 2.222 12 1.583 0.993 Do Not Test
ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 12.444 12 8.867 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 10.444 12 7.442 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. BAP/NAA 0.444 12 0.317 1.000 Do Not Test
ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 8.000 12 5.700 0.007 Yes	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 9.778 12 6.967 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. BAP/IBA 8.222 12 5.858 0.005 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/NAA 7.556 12 5.383 0.014 Yes	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 8.000 12 5.700 0.007 Yes	BAP/NAA vs. CIN/IBA 8.000 12 5.700 0.007 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/NAA 1.111 12 0.792 1.000 Do Not Test	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 7.556 12 5.383 0.014 Yes	BAP/NAA vs. ZEA/IBA 7.778 12 5.542 0.010 Yes
BAP/NAA vs. CIN/IBA 13.333 12 9.500 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 6.667 12 4.750 0.053 No	BAP/NAA vs. TDZ/IBA 7.333 12 5.225 0.020 Yes
BAP/NAA vs. BAP/IBA 12.667 12 9.025 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 5.111 12 3.642 0.313 Do Not Test	BAP/NAA vs. ZEA/IAA 3.556 12 2.533 0.817 Do Not Test
BAP/NAA vs. TDZ/IBA 11.556 12 8.233 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. BAP/IBA 11.111 12 7.917 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. ZEA/NAA 2.444 12 1.742 0.985 Do Not Test
BAP/NAA vs. ZEA/IBA 11.333 12 8.075 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. CIN/IBA 10.889 12 7.758 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. CIN/NAA 1.778 12 1.267 0.999 Do Not Test
BAP/NAA vs. ZEA/NAA 6.889 12 4.908 0.039 Yes	TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 10.667 12 7.600 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.444 12 4.592 0.071 No
BAP/NAA vs. CIN/NAA 6.444 12 4.592 0.071 No	TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 10.222 12 7.283 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.222 12 4.433 0.094 Do Not Test
CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.889 12 4.908 0.039 Yes	TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 6.444 12 4.592 0.071 No	CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.000 12 4.275 0.123 Do Not Test
CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.222 12 4.433 0.094 No	TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 5.333 12 3.800 0.254 Do Not Test	CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.556 12 3.958 0.203 Do Not Test
CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.111 12 3.642 0.313 Do Not Test	TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.667 12 3.325 0.452 Do Not Test	CIN/NAA vs. ZEA/IAA 1.778 12 1.267 0.999 Do Not Test

CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.667 12
 0.475 1.000 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 5.778 12
 4.117 0.159 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 5.556 12
 3.958 0.203 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
 3.800 0.254 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.889 12
 3.483 0.379 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. ZEA/IAA 1.111 12
 0.792 1.000 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 4.667 12
 3.325 0.452 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 4.444 12
 3.167 0.528 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 4.222 12
 3.008 0.606 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 3.778 12
 2.692 0.753 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.889 12
 0.633 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 0.667 12
 0.475 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.444 12
 0.317 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 0.317 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.222 12
 0.158 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.158 1.000 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed means is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the means, even though one may appear to exist.

Coffea arabica CV.
Caturra

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Caturra
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.057)
 Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.068)

Source of Variation DF SS MS F
 P
 Phytohormones 11 12868.704
 1169.882 1022.631 <0.001
 Dose 2 7237.909 3618.954
 3163.443 <0.001
 Phytohormones x Dose 22
 4816.238 218.920 191.365
 <0.001
 Residual 72 82.367 1.144
 Total 107 25005.218 233.694
 Main effects cannot be properly interpreted if significant interaction is determined. This is because the size of a factor's effect depends upon the level of the other factor. The effect of different levels of Phytohormones depends on what level of Dose is present. There is a statistically significant interaction between Phytohormones and Dose. (P = <0.001)
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones x Dose : 1.000
 Least square means for Phytohormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 27.556
 TDZ/IBA 6.814
 TDZ/NAA 41.037
 CIN/IAA 5.111
 CIN/IBA 6.000
 CIN/NAA 13.407
 ZEA/IAA 15.407
 ZEA/IBA 6.074
 ZEA/NAA 10.815
 BAP/IAA 26.593
 BAP/IBA 5.852
 BAP/NAA 20.741
 Std Err of LS Mean = 0.357
 Least square means for Dose :
 Group Mean
 High 26.611
 Medium 12.537
 Low 7.204
 Std Err of LS Mean = 0.178
 Least square means for Phytohormones x Dose :
 Group Mean
 TDZ/IAA x High 46.222
 TDZ/IAA x Medium 24.222
 TDZ/IAA x Low 12.222
 TDZ/IBA x High 12.442
 TDZ/IBA x Medium 5.556
 TDZ/IBA x Low 2.444
 TDZ/NAA x High 67.778

TDZ/NAA x Medium 37.556
 TDZ/NAA x Low 17.778
 CIN/IAA x High 4.000
 CIN/IAA x Medium 2.444
 CIN/IAA x Low 8.889
 CIN/IBA x High 9.333
 CIN/IBA x Medium 6.889
 CIN/IBA x Low 1.778
 CIN/NAA x High 20.444
 CIN/NAA x Medium 11.778
 CIN/NAA x Low 8.000
 ZEA/IAA x High 38.000
 ZEA/IAA x Medium 1.778
 ZEA/IAA x Low 6.444
 ZEA/IBA x High 11.333
 ZEA/IBA x Medium 5.111
 ZEA/IBA x Low 1.778
 ZEA/NAA x High 18.000
 ZEA/NAA x Medium 9.333
 ZEA/NAA x Low 5.111
 BAP/IAA x High 48.444
 BAP/IAA x Medium 21.778
 BAP/IAA x Low 9.556
 BAP/IBA x High 12.222
 BAP/IBA x Medium 3.778
 BAP/IBA x Low 1.556
 BAP/NAA x High 31.111
 BAP/NAA x Medium 20.222
 BAP/NAA x Low 10.889
 Std Err of LS Mean = 0.618
 All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 34.000 3 55.059
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 22.000 3
 35.626 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 12.000 3
 19.433 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 9.998 3 16.190
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 6.887 3 11.152
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.111 3 5.038
 0.002 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 50.000 3 80.969
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 30.222 3
 48.941 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 19.778 3
 32.028 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IAA

Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
Low vs. Medium 6.444 3 10.436
<0.001 Yes
Low vs. High 4.889 3 7.917
<0.001 Yes
High vs. Medium 1.556 3 2.519
0.183 No
Comparisons for factor: Dose
within CIN/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 7.556 3 12.235
<0.001 Yes
High vs. Medium 2.444 3 3.958
0.018 Yes
Medium vs. Low 5.111 3 8.277
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within CIN/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 12.444 3 20.152
<0.001 Yes
High vs. Medium 8.667 3 14.035
<0.001 Yes
Medium vs. Low 3.778 3 6.118
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within ZEA/IAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Medium 36.222 3
58.658 <0.001 Yes
High vs. Low 31.556 3 51.100
<0.001 Yes
Low vs. Medium 4.667 3 7.557
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within ZEA/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 9.556 3 15.474
<0.001 Yes
High vs. Medium 6.222 3 10.076
<0.001 Yes
Medium vs. Low 3.333 3 5.398
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within ZEA/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 12.889 3 20.872
<0.001 Yes
High vs. Medium 8.667 3 14.035
<0.001 Yes
Medium vs. Low 4.222 3 6.837
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within BAP/IAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 38.889 3 62.976
<0.001 Yes
High vs. Medium 26.667 3
43.183 <0.001 Yes
Medium vs. Low 12.222 3
19.792 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within BAP/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 10.667 3 17.273
<0.001 Yes
High vs. Medium 8.444 3 13.675
<0.001 Yes
Medium vs. Low 2.222 3 3.599
0.035 Yes
Comparisons for factor: Dose
within BAP/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 20.222 3 32.747
<0.001 Yes
High vs. Medium 10.889 3
17.633 <0.001 Yes
Medium vs. Low 9.333 3 15.114
<0.001 Yes
Comparisons for factor:
Phytohormones within High
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
TDZ/NAA vs. CIN/IAA 63.778 12
103.281 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IBA 58.444 12
94.644 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 56.444
12 91.405 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IBA 55.556
12 89.966 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 55.336
12 89.609 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 49.778
12 80.609 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/NAA 47.333
12 76.651 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/NAA 36.667
12 59.377 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 29.778
12 48.222 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 21.556
12 34.907 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IAA 19.333
12 31.308 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IAA 44.444 12
71.972 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IBA 39.111 12
63.336 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IBA 37.111 12
60.097 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/IBA 36.222 12
58.658 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IBA 36.002 12
58.301 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/NAA 30.444
12 49.301 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/NAA 28.000 12
45.343 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/NAA 17.333
12 28.069 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 10.444 12
16.914 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IAA 2.222 12
3.599 0.331 No
TDZ/IAA vs. CIN/IAA 42.222 12
68.374 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IBA 36.889 12
59.737 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 34.889 12
56.498 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IBA 34.000 12
55.059 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 33.780 12
54.703 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 28.222
12 45.703 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/NAA 25.778 12
41.744 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/NAA 15.111
12 24.471 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 8.222 12
13.315 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/IAA 34.000 12
55.059 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/IBA 28.667 12
46.422 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 26.667 12
43.183 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/IBA 25.778 12
41.744 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 25.558 12
41.388 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 20.000
12 32.388 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/NAA 17.556 12
28.429 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/NAA 6.889 12
11.156 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. CIN/IAA 27.111 12
43.903 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. CIN/IBA 21.778 12
35.267 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/IBA 19.778
12 32.028 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. BAP/IBA 18.889
12 30.588 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. TDZ/IBA 18.669
12 30.232 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/NAA 13.111
12 21.232 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. CIN/NAA 10.667
12 17.273 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. CIN/IAA 16.444 12
26.630 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. CIN/IBA 11.111 12
17.993 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. ZEA/IBA 9.111 12
14.754 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. BAP/IBA 8.222 12
13.315 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. TDZ/IBA 8.002 12
12.959 <0.001 Yes

CIN/NAA vs. ZEA/NAA 2.444 12
 3.958 0.203 No
 ZEA/NAA vs. CIN/IAA 14.000 12
 22.671 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 8.667 12
 14.035 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 6.667 12
 10.796 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 5.778 12
 9.356 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 5.558 12
 9.000 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. CIN/IAA 8.442 12
 13.671 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 3.109 12
 5.034 0.030 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.109 12
 1.796 0.980 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.220 12
 0.356 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. CIN/IAA 8.222 12
 13.315 <0.001 Yes
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 2.889 12
 4.678 0.060 No
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
 1.439 0.997 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IAA 7.333 12
 11.875 <0.001 Yes
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 2.000 12
 3.239 0.493 Do Not Test
 CIN/IBA vs. CIN/IAA 5.333 12
 8.637 <0.001 Yes
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Medium
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 35.778
 12 57.938 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 35.111 12
 56.858 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 33.778
 12 54.699 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 32.444
 12 52.540 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 32.000
 12 51.820 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 30.667 12
 49.661 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 28.222
 12 45.703 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 25.778
 12 41.744 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 17.333
 12 28.069 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 15.778
 12 25.550 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 13.333
 12 21.592 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 22.444 12
 36.346 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 21.778 12
 35.267 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 20.444 12
 33.107 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 19.111 12
 30.948 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 18.667 12
 30.228 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 17.333 12
 28.069 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 14.889
 12 24.111 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 12.444 12
 20.152 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 4.000 12
 6.478 0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 2.444 12
 3.958 0.203 No
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 20.000 12
 32.388 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 19.333 12
 31.308 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 18.000 12
 29.149 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 16.667 12
 26.990 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 16.222 12
 26.270 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 14.889 12
 24.111 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 12.444
 12 20.152 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 10.000 12
 16.194 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 1.556 12
 2.519 0.823 No
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 18.444
 12 29.869 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 17.778 12
 28.789 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 16.444
 12 26.630 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 15.111
 12 24.471 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 14.667
 12 23.751 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 13.333 12
 21.592 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 10.889
 12 17.633 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 8.444 12
 13.675 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IAA 10.000 12
 16.194 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IAA 9.333 12
 15.114 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12
 12.955 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.667 12
 10.796 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.222 12
 10.076 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 4.889 12
 7.917 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 2.444 12
 3.958 0.203 No
 ZEA/NAA vs. ZEA/IAA 7.556 12
 12.235 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IAA 6.889 12
 11.156 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 5.556 12
 8.997 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.222 12
 6.837 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 3.778 12
 6.118 0.003 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 2.444 12
 3.958 0.203 No
 CIN/IBA vs. ZEA/IAA 5.111 12
 8.277 <0.001 Yes
 CIN/IBA vs. CIN/IAA 4.444 12
 7.197 <0.001 Yes
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 3.111 12
 5.038 0.030 Yes
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 1.778 12
 2.879 0.668 No
 CIN/IBA vs. TDZ/IBA 1.333 12
 2.159 0.928 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IAA 3.778 12
 6.118 0.003 Yes
 TDZ/IBA vs. CIN/IAA 3.111 12
 5.038 0.030 Yes
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.778 12
 2.879 0.668 No
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.444 12
 0.720 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. ZEA/IAA 3.333 12
 5.398 0.014 Yes
 ZEA/IBA vs. CIN/IAA 2.667 12
 4.318 0.115 No
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 1.333 12
 2.159 0.928 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IAA 2.000 12
 3.239 0.493 No
 BAP/IBA vs. CIN/IAA 1.333 12
 2.159 0.928 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 0.667 12
 1.080 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Low
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 16.222
 12 26.270 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 16.000
 12 25.910 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 16.000 12
 25.910 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 15.333
 12 24.831 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 12.667
 12 20.512 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.333
 12 18.353 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 9.778 12
 15.834 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 8.889 12
 14.394 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 8.222 12
 13.315 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 6.889
 12 11.156 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 5.556 12
 8.997 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 10.667 12
 17.273 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 10.444 12
 16.914 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 10.444 12
 16.914 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 9.778 12
 15.834 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 7.111 12
 11.516 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 5.778 12
 9.356 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.222 12
 6.837 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.333 12
 5.398 0.014 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 2.667 12
 4.318 0.115 No
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 1.333 12
 2.159 0.928 Do Not Test
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 9.333 12
 15.114 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 9.111 12
 14.754 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 9.111 12
 14.754 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 8.444 12
 13.675 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 5.778 12
 12.9356 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 4.444 12
 7.197 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 2.889 12
 4.678 0.060 No
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 2.000 12
 3.239 0.493 Do Not Test
 BAP/NAA vs. BAP/IAA 1.333 12
 2.159 0.928 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 8.000 12
 12.955 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 7.778 12
 12.595 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 7.778 12
 12.595 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 7.111 12
 11.516 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 4.444 12
 7.197 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 3.111 12
 5.038 0.030 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 1.556 12
 2.519 0.823 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.667 12
 1.080 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 7.333 12
 11.875 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 7.111 12
 11.516 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 7.111 12
 11.516 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 6.444 12
 10.436 <0.001 Yes

CIN/IAA vs. ZEA/NAA 3.778 12
 6.118 0.003 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.444 12
 3.958 0.203 No
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 0.889 12
 1.439 0.997 Do Not Test
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.444 12
 10.436 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.222 12
 10.076 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.222 12
 10.076 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.556 12
 8.997 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 2.889 12
 4.678 0.060 No
 CIN/NAA vs. ZEA/IAA 1.556 12
 2.519 0.823 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 4.889 12
 7.917 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 4.667 12
 7.557 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 4.667 12
 7.557 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 4.000 12
 6.478 0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 1.333 12
 2.159 0.928 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 3.556 12
 5.758 0.006 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 3.333 12
 5.398 0.014 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 3.333 12
 5.398 0.014 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 2.667 12
 4.318 0.115 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.889 12
 1.439 0.997 No
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.667 12
 1.080 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 0.667 12
 1.080 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.360 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.360 1.000 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed means is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as

if there is no significant difference between

the means, even though one may appear to exist.

***Coffea arabica* cv. Catuai**

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Catuai
 Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.409)
 Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.117)
 Source of Variation DF SS MS F P
 Phytohormones 11 12308.629 1118.966 1059.041 <0.001
 Dose 2 9007.286 4503.643 4262.455 <0.001
 Phytohormones x Dose 22 3317.035 150.774 142.700 <0.001
 Residual 72 76.074 1.057
 Total 107 24709.024 230.925
 Main effects cannot be properly interpreted if significant interaction is determined. This is because the size of a factor's effect depends upon the level of the other factor. The effect of different levels of Phytohormones depends on what level of Dose is present. There is a statistically significant interaction between Phytohormones and Dose. (P = <0.001)
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones x Dose : 1.000
 Least square means for Phytohormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 26.778
 TDZ/IBA 7.481
 TDZ/NAA 41.222
 CIN/IAA 22.556
 CIN/IBA 5.519
 CIN/NAA 12.222
 ZEA/IAA 21.222
 ZEA/IBA 5.704
 ZEA/NAA 11.704
 BAP/IAA 26.852
 BAP/IBA 5.630
 BAP/NAA 20.185
 Std Err of LS Mean = 0.343

Least square means for Dose :
Group Mean
High 29.435
Medium 14.889
Low 7.444
Std Err of LS Mean = 0.171
Least square means for
Phytohormones x Dose :
Group Mean
TDZ/IAA x High 44.778
TDZ/IAA x Medium 22.222
TDZ/IAA x Low 13.333
TDZ/IBA x High 13.778
TDZ/IBA x Medium 5.778
TDZ/IBA x Low 2.889
TDZ/NAA x High 67.333
TDZ/NAA x Medium 36.222
TDZ/NAA x Low 20.111
CIN/IAA x High 38.667
CIN/IAA x Medium 19.000
CIN/IAA x Low 10.000
CIN/IBA x High 9.556
CIN/IBA x Medium 5.778
CIN/IBA x Low 1.222
CIN/NAA x High 20.222
CIN/NAA x Medium 10.444
CIN/NAA x Low 6.000
ZEA/IAA x High 38.778
ZEA/IAA x Medium 16.444
ZEA/IAA x Low 8.444
ZEA/IBA x High 10.222
ZEA/IBA x Medium 5.111
ZEA/IBA x Low 1.778
ZEA/NAA x High 20.222
ZEA/NAA x Medium 9.111
ZEA/NAA x Low 5.778
BAP/IAA x High 50.444
BAP/IAA x Medium 21.000
BAP/IAA x Low 9.111
BAP/IBA x High 9.778
BAP/IBA x Medium 5.556
BAP/IBA x Low 1.556
BAP/NAA x High 29.444
BAP/NAA x Medium 22.000
BAP/NAA x Low 9.111
Std Err of LS Mean = 0.593
All Pairwise Multiple
Comparison Procedures (Tukey
Test):
Comparisons for factor: Dose
within TDZ/IAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 31.444 3 52.985
<0.001 Yes
High vs. Medium 22.556 3
38.007 <0.001 Yes
Medium vs. Low 8.889 3 14.978
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within TDZ/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 10.889 3 18.348
<0.001 Yes
High vs. Medium 8.000 3 13.480
<0.001 Yes
Medium vs. Low 2.889 3 4.868
0.003 Yes
Comparisons for factor: Dose
within TDZ/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 47.222 3 79.571
<0.001 Yes
High vs. Medium 31.111 3
52.423 <0.001 Yes
Medium vs. Low 16.111 3
27.148 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within CIN/IAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 28.667 3 48.304
<0.001 Yes
High vs. Medium 19.667 3
33.139 <0.001 Yes
Medium vs. Low 9.000 3 15.165
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within CIN/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 8.333 3 14.042
<0.001 Yes
High vs. Medium 3.778 3 6.366
<0.001 Yes
Medium vs. Low 4.556 3 7.676
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within CIN/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 14.222 3 23.965
<0.001 Yes
High vs. Medium 9.778 3 16.476
<0.001 Yes
Medium vs. Low 4.444 3 7.489
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within ZEA/IAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 30.333 3 51.113
<0.001 Yes
High vs. Medium 22.333 3
37.632 <0.001 Yes
Medium vs. Low 8.000 3 13.480
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within ZEA/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 8.444 3 14.229
<0.001 Yes
High vs. Medium 5.111 3 8.612
<0.001 Yes
Medium vs. Low 3.333 3 5.617
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within ZEA/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 14.444 3 24.339
<0.001 Yes
High vs. Medium 11.111 3
18.723 <0.001 Yes
Medium vs. Low 3.333 3 5.617
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within BAP/IAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 41.333 3 69.648
<0.001 Yes
High vs. Medium 29.444 3
49.615 <0.001 Yes
Medium vs. Low 11.889 3
20.033 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within BAP/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 8.222 3 13.855
<0.001 Yes
High vs. Medium 4.222 3 7.115
<0.001 Yes
Medium vs. Low 4.000 3 6.740
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within BAP/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 20.333 3 34.262
<0.001 Yes
High vs. Medium 7.444 3 12.544
<0.001 Yes
Medium vs. Low 12.889 3
21.718 <0.001 Yes
Comparisons for factor:
Phytohormones within High
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
TDZ/NAA vs. CIN/IBA 57.778 12
97.357 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IBA 57.556
12 96.983 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 57.111
12 96.234 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 53.556
12 90.243 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/NAA 47.111
12 79.384 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 47.111
12 79.384 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/NAA 37.889
12 63.844 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IAA 28.667 12
48.304 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 28.556
12 48.117 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 22.556
12 38.007 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. BAP/IAA 16.889
 12 28.458 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 40.889 12
 68.899 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 40.667 12
 68.525 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 40.222 12
 67.776 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 36.667 12
 61.785 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.222 12
 50.925 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 30.222
 12 50.925 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 21.000
 12 35.386 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 11.778 12
 19.846 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 11.667 12
 19.659 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IAA 5.667 12
 9.549 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 35.222 12
 59.351 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 35.000 12
 58.976 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 34.556 12
 58.227 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 31.000 12
 52.236 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 24.556 12
 41.377 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 24.556
 12 41.377 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 15.333
 12 25.837 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 6.111 12
 10.297 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 6.000 12
 10.110 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 29.222 12
 49.240 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 29.000 12
 48.866 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 28.556 12
 48.117 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 25.000 12
 42.126 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 18.556 12
 31.267 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 18.556
 12 31.267 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/NAA 9.333 12
 15.727 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IAA 0.111 12
 0.187 1.000 No
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 29.111 12
 49.053 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 28.889 12
 48.679 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 28.444 12
 47.930 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 24.889 12
 41.939 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 18.444 12
 31.080 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 18.444 12
 31.080 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 9.222 12
 15.540 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 19.889 12
 33.513 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 19.667
 12 33.139 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 19.222
 12 32.390 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 15.667
 12 26.399 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 9.222 12
 15.540 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 9.222
 12 15.540 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 10.667 12
 17.974 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 10.444
 12 17.599 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 10.000
 12 16.850 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 6.444 12
 10.859 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.000 12
 0.000 1.000 No
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 10.667 12
 17.974 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 10.444 12
 17.599 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.000 12
 16.850 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.444 12
 10.859 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 4.222 12
 7.115 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 4.000 12
 6.740 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 3.556 12
 5.991 0.004 Yes
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.667 12
 1.123 1.000 No
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 0.749 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 0.222 12
 0.374 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Medium
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 31.111
 12 52.423 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 30.667
 12 51.674 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 30.444 12
 51.300 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 30.444
 12 51.300 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 27.111
 12 45.683 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 25.778
 12 43.436 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 19.778
 12 33.326 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 17.222 12
 29.020 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 15.222
 12 25.650 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 14.222
 12 23.965 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 14.000
 12 23.590 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 17.111 12
 28.833 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 16.667 12
 28.084 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 16.444 12
 27.709 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.444 12
 27.709 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 13.111
 12 22.093 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 11.778 12
 19.846 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 5.778 12
 9.736 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.222 12
 5.430 0.013 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 1.222 12
 2.059 0.947 No
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 0.222 12
 0.374 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 16.889
 12 28.458 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 16.444
 12 27.709 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 16.222 12
 27.335 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 16.222
 12 27.335 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 12.889
 12 21.718 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 11.556
 12 19.471 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 5.556 12
 9.361 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 3.000 12
 5.055 0.029 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IAA 1.000 12
 1.685 0.988 Do Not Test
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 15.889 12
 26.773 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 15.444 12
 26.024 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 15.222 12
 25.650 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 15.222 12
 25.650 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 11.889
 12 20.033 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 10.556 12
 17.786 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 4.556 12
 7.676 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 2.000 12
 3.370 0.431 No

CIN/IAA vs. ZEA/IBA 13.889 12
 23.403 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 13.444 12
 22.654 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 13.222 12
 22.280 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 13.222 12
 22.280 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 9.889 12
 16.663 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 8.556 12
 14.416 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.556 12
 4.306 0.117 No
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 11.333 12
 19.097 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 10.889 12
 18.348 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 10.667 12
 17.974 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 10.667 12
 17.974 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 7.333 12
 12.357 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 6.000 12
 10.110 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
 8.987 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 4.889 12
 8.238 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 4.667 12
 7.863 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.667 12
 7.863 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 1.333 12
 2.247 0.908 No
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.000 12
 6.740 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 3.556 12
 5.991 0.004 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 3.333 12
 5.617 0.009 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 3.333 12
 5.617 0.009 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.667 12
 1.123 1.000 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.374 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.667 12
 1.123 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.374 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.444 12
 0.749 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Low
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 18.889 12
 31.828 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 18.556
 12 31.267 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 18.333
 12 30.892 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 17.222
 12 29.020 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 14.333
 12 24.152 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 14.111
 12 23.778 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.667
 12 19.659 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 11.000
 12 18.535 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 11.000
 12 18.535 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 10.111 12
 17.038 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 6.778 12
 11.421 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 12.111 12
 20.408 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 11.778 12
 19.846 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 11.556 12
 19.471 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 10.444 12
 17.599 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 7.556 12
 12.731 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 7.333 12
 12.357 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.889 12
 8.238 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 4.222 12
 7.115 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 4.222 12
 7.115 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.333 12
 5.617 0.009 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 8.778 12
 14.791 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 8.444 12
 14.229 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 8.222 12
 13.855 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 7.111 12
 11.982 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 4.222 12
 7.115 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 4.000 12
 6.740 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 1.556 12
 2.621 0.783 No
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 0.889 12
 1.498 0.996 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IAA 0.889 12
 1.498 0.996 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 7.889 12
 13.293 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 7.556 12
 12.731 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 7.333 12
 12.357 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 6.222 12
 10.485 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 3.333 12
 5.617 0.009 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 3.111 12
 5.242 0.020 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 0.667 12
 1.123 1.000 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 7.889 12
 13.293 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 7.556 12
 12.731 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 7.333 12
 12.357 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 6.222 12
 10.485 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 3.333
 12 5.617 0.009 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 3.111 12
 5.242 0.020 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 0.667 12
 1.123 1.000 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 7.222 12
 12.170 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 6.889 12
 11.608 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 6.667 12
 11.234 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 5.556 12
 9.361 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 2.667 12
 4.493 0.085 No
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 2.444 12
 4.119 0.159 Do Not Test
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 4.778 12
 8.051 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 4.444 12
 7.489 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 4.222 12
 7.115 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 3.111 12
 5.242 0.020 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.222 12
 0.374 1.000 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.556 12
 7.676 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.222 12
 7.115 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.000 12
 6.740 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 2.889 12
 4.868 0.042 Yes
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.667 12
 2.808 0.701 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.333 12
 2.247 0.908 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.111 12
 1.872 0.973 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.556 12
 0.936 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.374 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 0.333 12
 0.562 1.000 Do Not Test

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed means is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the means, even though one may appear to exist.

Coffea arabica cv. Mundo Novo

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Mundo N
 Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.147)
 Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.053)
 Source of Variation DF SS MS F P
 Phythormones 11 11824.724 1074.975 1166.156 <0.001
 Dose 2 8595.613 4297.807 4662.353 <0.001
 Phythormones x Dose 22 3913.128 177.869 192.957 <0.001
 Residual 72 66.370 0.922
 Total 107 24399.835 228.036
 Main effects cannot be properly interpreted if significant interaction is determined. This is because the size of a factor's effect depends upon the level of the other factor. The effect of different levels of Phythormones depends on what level of Dose is present. There is a statistically significant interaction between Phythormones and Dose. (P = <0.001)
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phythormones : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phythormones x Dose : 1.000

Least square means for
 Phythormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 26.074
 TDZ/IBA 6.815
 TDZ/NAA 39.926
 CIN/IAA 22.815
 CIN/IBA 4.889
 CIN/NAA 11.926
 ZEA/IAA 19.704
 ZEA/IBA 4.741
 ZEA/NAA 11.778
 BAP/IAA 25.630
 BAP/IBA 5.407
 BAP/NAA 19.111
 Std Err of LS Mean = 0.320
 Least square means for Dose :
 Group Mean
 High 28.426
 Medium 14.370
 Low 6.907
 Std Err of LS Mean = 0.160
 Least square means for
 Phythormones x Dose :
 Group Mean
 TDZ/IAA x High 44.222
 TDZ/IAA x Medium 22.889
 TDZ/IAA x Low 11.111
 TDZ/IBA x High 11.556
 TDZ/IBA x Medium 6.444
 TDZ/IBA x Low 2.444
 TDZ/NAA x High 68.000
 TDZ/NAA x Medium 34.667
 TDZ/NAA x Low 17.111
 CIN/IAA x High 39.778
 CIN/IAA x Medium 19.556
 CIN/IAA x Low 9.111
 CIN/IBA x High 8.222
 CIN/IBA x Medium 4.667
 CIN/IBA x Low 1.778
 CIN/NAA x High 18.000
 CIN/NAA x Medium 10.889
 CIN/NAA x Low 6.889
 ZEA/IAA x High 36.667
 ZEA/IAA x Medium 17.111
 ZEA/IAA x Low 5.333
 ZEA/IBA x High 7.778
 ZEA/IBA x Medium 4.889
 ZEA/IBA x Low 1.556
 ZEA/NAA x High 19.333
 ZEA/NAA x Medium 9.333
 ZEA/NAA x Low 6.667
 BAP/IAA x High 48.444
 BAP/IAA x Medium 18.667
 BAP/IAA x Low 9.778
 BAP/IBA x High 10.000
 BAP/IBA x Medium 4.667
 BAP/IBA x Low 1.556
 BAP/NAA x High 29.111
 BAP/NAA x Medium 18.667
 BAP/NAA x Low 9.556
 Std Err of LS Mean = 0.554
 All Pairwise Multiple
 Comparison Procedures (Tukey
 Test):

Comparisons for factor: Dose within TDZ/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 33.111 3 59.733 <0.001 Yes
 High vs. Medium 21.333 3 38.486 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 11.778 3 21.247 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 9.111 3 16.437 <0.001 Yes
 High vs. Medium 5.111 3 9.221 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 4.000 3 7.216 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 50.889 3 91.804 <0.001 Yes
 High vs. Medium 33.333 3 60.134 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 17.556 3 31.670 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 30.667 3 55.323 <0.001 Yes
 High vs. Medium 20.222 3 36.481 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 10.444 3 18.842 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 6.444 3 11.626 <0.001 Yes
 High vs. Medium 3.556 3 6.414 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 2.889 3 5.212 0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 11.111 3 20.045 <0.001 Yes
 High vs. Medium 7.111 3 12.829 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 4.000 3 7.216 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050

High vs. Low 31.333 3 56.526 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 58.000 12 104.633 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. CIN/NAA 21.778 12 39.287 <0.001 Yes
High vs. Medium 19.556 3 35.278 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 56.444 12 101.827 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. ZEA/NAA 20.444 12 36.882 <0.001 Yes
Medium vs. Low 11.778 3 21.247 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 50.000 12 90.201 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. BAP/NAA 10.667 12 19.243 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within ZEA/IBA	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 48.667 12 87.795 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.111 12 5.612 0.009 Yes
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 38.889 12 70.156 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 28.889 12 52.116 <0.001 Yes
High vs. Low 6.222 3 11.225 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 31.333 12 56.526 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. CIN/IBA 28.444 12 51.314 <0.001 Yes
High vs. Medium 2.889 3 5.212 0.001 Yes	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 28.222 12 50.913 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. BAP/IBA 26.667 12 48.107 <0.001 Yes
Medium vs. Low 3.333 3 6.013 <0.001 Yes	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 23.778 12 42.895 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 25.111 12 45.301 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within ZEA/NAA	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 19.556 12 35.278 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. CIN/NAA 18.667 12 33.675 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	BAP/IAA vs. ZEA/IBA 40.667 12 73.363 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 17.333 12 31.270 <0.001 Yes
High vs. Low 12.667 3 22.851 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. CIN/IBA 40.222 12 72.561 <0.001 Yes	ZEA/IAA vs. BAP/NAA 7.556 12 13.630 <0.001 Yes
High vs. Medium 10.000 3 18.040 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. BAP/IBA 38.444 12 69.354 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. ZEA/IBA 21.333 12 38.486 <0.001 Yes
Medium vs. Low 2.667 3 4.811 0.003 Yes	BAP/IAA vs. TDZ/IAA 36.889 12 66.548 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. CIN/IBA 20.889 12 37.684 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within BAP/IAA	BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.444 12 54.922 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. BAP/IBA 19.111 12 34.477 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	BAP/IAA vs. ZEA/NAA 29.111 12 52.517 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. TDZ/IBA 17.556 12 31.670 <0.001 Yes
High vs. Low 38.667 3 69.755 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. BAP/NAA 19.333 12 34.878 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. CIN/NAA 11.111 12 20.045 <0.001 Yes
High vs. Medium 29.778 3 53.720 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. ZEA/IAA 11.778 12 21.247 <0.001 Yes	BAP/NAA vs. ZEA/NAA 9.778 12 17.639 <0.001 Yes
Medium vs. Low 8.889 3 16.036 <0.001 Yes	BAP/IAA vs. CIN/IAA 8.667 12 15.635 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 11.556 12 20.846 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within BAP/IBA	BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.222 12 7.617 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. CIN/IBA 11.111 12 20.045 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.444 12 65.746 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. BAP/IBA 9.333 12 16.837 <0.001 Yes
High vs. Low 8.444 3 15.234 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. CIN/IBA 36.000 12 64.944 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 7.778 12 14.031 <0.001 Yes
High vs. Medium 5.333 3 9.621 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. BAP/IBA 34.222 12 61.737 <0.001 Yes	ZEA/NAA vs. CIN/NAA 1.333 12 2.405 0.862 No
Medium vs. Low 3.111 3 5.612 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 32.667 12 58.931 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.222 12 18.441 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within BAP/NAA	TDZ/IAA vs. CIN/NAA 26.222 12 47.305 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. CIN/IBA 9.778 12 17.639 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 24.889 12 44.900 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12 14.432 <0.001 Yes
High vs. Low 19.556 3 35.278 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. BAP/NAA 15.111 12 27.261 <0.001 Yes	CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.444 12 11.626 <0.001 Yes
High vs. Medium 10.444 3 18.842 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 7.556 12 13.630 <0.001 Yes	TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 3.778 12 6.815 <0.001 Yes
Medium vs. Low 9.111 3 16.437 <0.001 Yes	TDZ/IAA vs. CIN/IAA 4.444 12 8.018 <0.001 Yes	TDZ/IBA vs. CIN/IBA 3.333 12 6.013 0.004 Yes
Comparisons for factor: Phytohormones within High	CIN/IAA vs. ZEA/IBA 32.000 12 57.728 <0.001 Yes	TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.556 12 2.806 0.702 No
Comparison Diff of Means p q P P<0.050	CIN/IAA vs. CIN/IBA 31.556 12 56.927 <0.001 Yes	BAP/IBA vs. ZEA/IBA 2.222 12 4.009 0.188 No
TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 60.222 12 108.642 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. BAP/IBA 29.778 12 53.720 <0.001 Yes	BAP/IBA vs. CIN/IBA 1.778 12 3.207 0.508 Do Not Test
TDZ/NAA vs. CIN/IBA 59.778 12 107.840 <0.001 Yes	CIN/IAA vs. TDZ/IBA 28.222 12 50.913 <0.001 Yes	CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.444 12 0.802 1.000 Do Not Test

Comparisons for factor:
Phytohormones within Medium
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050

TDZ/NAA vs. BAP/IBA 30.000
12 54.120 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. CIN/IBA 30.000 12
54.120 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 29.778
12 53.720 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 28.222
12 50.913 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 25.333
12 45.702 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. CIN/NAA 23.778
12 42.895 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 17.556
12 31.670 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. BAP/IAA 16.000
12 28.864 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. BAP/NAA 16.000
12 28.864 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. CIN/IAA 15.111 12
27.261 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 11.778
12 21.247 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. BAP/IBA 18.222 12
32.873 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. CIN/IBA 18.222 12
32.873 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 18.000 12
32.472 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.444 12
29.666 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 13.556
12 24.454 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. CIN/NAA 12.000 12
21.648 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 5.778 12
10.423 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. BAP/IAA 4.222 12
7.617 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. BAP/NAA 4.222 12
7.617 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.333 12
6.013 0.004 Yes

CIN/IAA vs. BAP/IBA 14.889 12
26.860 <0.001 Yes

CIN/IAA vs. CIN/IBA 14.889 12
26.860 <0.001 Yes

CIN/IAA vs. ZEA/IBA 14.667 12
26.459 <0.001 Yes

CIN/IAA vs. TDZ/IBA 13.111 12
23.653 <0.001 Yes

CIN/IAA vs. ZEA/NAA 10.222 12
18.441 <0.001 Yes

CIN/IAA vs. CIN/NAA 8.667 12
15.635 <0.001 Yes

CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.444 12
4.410 0.098 No

CIN/IAA vs. BAP/IAA 0.889 12
1.604 0.992 Do Not Test

CIN/IAA vs. BAP/NAA 0.889 12
1.604 0.992 Do Not Test

BAP/NAA vs. BAP/IBA 14.000
12 25.256 <0.001 Yes

BAP/NAA vs. CIN/IBA 14.000 12
25.256 <0.001 Yes

BAP/NAA vs. ZEA/IBA 13.778
12 24.855 <0.001 Yes

BAP/NAA vs. TDZ/IBA 12.222
12 22.049 <0.001 Yes

BAP/NAA vs. ZEA/NAA 9.333
12 16.837 <0.001 Yes

BAP/NAA vs. CIN/NAA 7.778 12
14.031 <0.001 Yes

BAP/NAA vs. ZEA/IAA 1.556 12
2.806 0.702 Do Not Test

BAP/NAA vs. BAP/IAA
0.00000000333 12
0.00000000601 1.000 Do Not
Test

BAP/IAA vs. BAP/IBA 14.000 12
25.256 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. CIN/IBA 14.000 12
25.256 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. ZEA/IBA 13.778 12
24.855 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. TDZ/IBA 12.222 12
22.049 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. ZEA/NAA 9.333 12
16.837 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. CIN/NAA 7.778 12
14.031 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. ZEA/IAA 1.556 12
2.806 0.702 Do Not Test

ZEA/IAA vs. BAP/IBA 12.444 12
22.450 <0.001 Yes

ZEA/IAA vs. CIN/IBA 12.444 12
22.450 <0.001 Yes

ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 12.222 12
22.049 <0.001 Yes

ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 10.667 12
19.243 <0.001 Yes

ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 7.778 12
14.031 <0.001 Yes

ZEA/IAA vs. CIN/NAA 6.222 12
11.225 <0.001 Yes

CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.222 12
11.225 <0.001 Yes

CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.222 12
11.225 <0.001 Yes

CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.000 12
10.824 <0.001 Yes

CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.444 12
8.018 <0.001 Yes

CIN/NAA vs. ZEA/NAA 1.556 12
2.806 0.702 No

ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.667 12
8.419 <0.001 Yes

ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.667 12
8.419 <0.001 Yes

ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.444 12
8.018 <0.001 Yes

ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 2.889 12
5.212 0.021 Yes

TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.778 12
3.207 0.508 No

TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.778 12
3.207 0.508 Do Not Test

TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.556 12
2.806 0.702 Do Not Test

ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
0.401 1.000 Do Not Test

ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.222 12
0.401 1.000 Do Not Test

CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.000 12
0.000 1.000 Do Not Test

Comparisons for factor:
Phytohormones within Low
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050

TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 15.556
12 28.062 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. BAP/IBA 15.556
12 28.062 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. CIN/IBA 15.333 12
27.662 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 14.667
12 26.459 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.778
12 21.247 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 10.444
12 18.842 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. CIN/NAA 10.222
12 18.441 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. CIN/IAA 8.000 12
14.432 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. BAP/NAA 7.556
12 13.630 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. BAP/IAA 7.333 12
13.229 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 6.000 12
10.824 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 9.556 12
17.238 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. BAP/IBA 9.556 12
17.238 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. CIN/IBA 9.333 12
16.837 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 8.667 12
15.635 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 5.778 12
10.423 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 4.444 12
8.018 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.222 12
7.617 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.000 12
3.608 0.327 No

TDZ/IAA vs. BAP/NAA 1.556 12
2.806 0.702 Do Not Test

TDZ/IAA vs. BAP/IAA 1.333 12
2.405 0.862 Do Not Test

BAP/IAA vs. ZEA/IBA 8.222 12
14.833 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. BAP/IBA 8.222 12
14.833 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. CIN/IBA 8.000 12
14.432 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. TDZ/IBA 7.333 12
13.229 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. ZEA/IAA 4.444 12
 8.018 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 3.111 12
 5.612 0.009 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 2.889 12
 5.212 0.021 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.667 12
 1.203 0.999 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.222 12
 0.401 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 8.000 12
 14.432 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12
 14.432 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 7.778 12
 14.031 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 7.111 12
 12.829 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 4.222 12
 7.617 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 2.889
 12 5.212 0.021 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 2.667 12
 4.811 0.047 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 0.444 12
 0.802 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 7.556 12
 13.630 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 7.556 12
 13.630 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 7.333 12
 13.229 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 6.667 12
 12.027 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.778 12
 6.815 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 2.444 12
 4.410 0.098 No
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 2.222 12
 4.009 0.188 Do Not Test
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
 9.621 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 5.333 12
 9.621 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 5.111 12
 9.221 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.444 12
 8.018 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IAA 1.556 12
 2.806 0.702 No
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.222 12
 0.401 1.000 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 5.111 12
 9.221 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 5.111 12
 9.221 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.889 12
 8.820 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.222 12
 7.617 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IAA 1.333 12
 2.405 0.862 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 3.778 12
 6.815 <0.001 Yes

ZEA/IAA vs. BAP/IBA 3.778 12
 6.815 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 3.556 12
 6.414 0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 2.889 12
 5.212 0.021 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
 1.604 0.992 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.889 12
 1.604 0.992 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 0.667 12
 1.203 0.999 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
 0.401 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.401 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs
 for a comparison when no
 significant difference is found
 between two
 means that enclose that
 comparison. For example, if you
 had four means sorted in order,
 and found no
 difference between means 4 vs.
 2, then you would not test 4 vs.
 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1
 and 3 vs. 1
 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed
 by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not
 testing the enclosed means is a
 procedural rule, and a result of
 Do Not Test should be treated as
 if there is no significant
 difference between
 the means, even though one
 may appear to exist.

***Coffea arabica* cv. Garnica**

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Garnica
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.061)
 Equal Variance Test (Brown-
 Forsythe): Failed (P < 0.050)
 Source of Variation DF SS MS F
 P
 Phythormones 11 11920.704
 1083.700 2140.969 <0.001
 Dose 2 8316.222 4158.111
 8214.805 <0.001
 Phythormones x Dose 22
 3691.481 167.795 331.497
 <0.001
 Residual 72 36.444 0.506
 Total 107 23964.852 223.971
 Main effects cannot be properly
 interpreted if significant
 interaction is determined. This is
 because the size

of a factor's effect depends upon
 the level of the other factor.
 The effect of different levels of
 Phythormones depends on what
 level of Dose is present. There is
 a
 statistically significant
 interaction between
 Phythormones and Dose. (P =
 <0.001)
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for
 Phythormones : 1.000
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for
 Phythormones x Dose : 1.000
 Least square means for
 Phythormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 26.444
 TDZ/IBA 6.889
 TDZ/NAA 39.333
 CIN/IAA 22.370
 CIN/IBA 5.630
 CIN/NAA 11.852
 ZEA/IAA 21.259
 ZEA/IBA 4.815
 ZEA/NAA 11.704
 BAP/IAA 27.704
 BAP/IBA 5.407
 BAP/NAA 19.481
 Std Err of LS Mean = 0.237
 Least square means for Dose :
 Group Mean
 High 28.630
 Medium 14.574
 Low 7.519
 Std Err of LS Mean = 0.119
 Least square means for
 Phythormones x Dose :
 Group Mean
 TDZ/IAA x High 45.778
 TDZ/IAA x Medium 21.333
 TDZ/IAA x Low 12.222
 TDZ/IBA x High 12.667
 TDZ/IBA x Medium 6.667
 TDZ/IBA x Low 1.333
 TDZ/NAA x High 67.333
 TDZ/NAA x Medium 34.000
 TDZ/NAA x Low 16.667
 CIN/IAA x High 39.333
 CIN/IAA x Medium 18.444
 CIN/IAA x Low 9.333
 CIN/IBA x High 8.889
 CIN/IBA x Medium 5.333
 CIN/IBA x Low 2.667
 CIN/NAA x High 18.222
 CIN/NAA x Medium 9.778
 CIN/NAA x Low 7.556
 ZEA/IAA x High 37.778
 ZEA/IAA x Medium 17.778
 ZEA/IAA x Low 8.222
 ZEA/IBA x High 7.778

ZEA/IBA x Medium 4.000
 ZEA/IBA x Low 2.667
 ZEA/NAA x High 19.111
 ZEA/NAA x Medium 10.444
 ZEA/NAA x Low 5.556
 BAP/IAA x High 47.556
 BAP/IAA x Medium 24.000
 BAP/IAA x Low 11.556
 BAP/IBA x High 9.111
 BAP/IBA x Medium 4.889
 BAP/IBA x Low 2.222
 BAP/NAA x High 30.000
 BAP/NAA x Medium 18.222
 BAP/NAA x Low 10.222
 Std Err of LS Mean = 0.411

Coffea arabica cv. Pacamara

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Pacamara
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.118)
 Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.299)
 Source of Variation DF SS MS F P
 Phythormones 11 12426.809
 1129.710 2451.071 <0.001
 Dose 2 9205.069 4602.534
 9985.874 <0.001
 Phythormones x Dose 22
 3750.683 170.486 369.893
 <0.001
 Residual 72 33.185 0.461
 Total 107 25415.746 237.530
 Main effects cannot be properly
 interpreted if significant
 interaction is determined. This is
 because the size
 of a factor's effect depends upon
 the level of the other factor.
 The effect of different levels of
 Phythormones depends on what
 level of Dose is present. There is
 a statistically significant
 interaction between
 Phythormones and Dose. (P =
 <0.001)
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for
 Phythormones : 1.000
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for
 Phythormones x Dose : 1.000
 Least square means for
 Phythormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 26.667
 TDZ/IBA 6.444
 TDZ/NAA 40.963

CIN/IAA 23.333
 CIN/IBA 5.704
 CIN/NAA 12.889
 ZEA/IAA 21.259
 ZEA/IBA 5.333
 ZEA/NAA 12.296
 BAP/IAA 27.111
 BAP/IBA 5.481
 BAP/NAA 19.556
 Std Err of LS Mean = 0.226
 Least square means for Dose :
 Group Mean
 High 29.574
 Medium 14.833
 Low 7.352
 Std Err of LS Mean = 0.113
 Least square means for
 Phythormones x Dose :
 Group Mean
 TDZ/IAA x High 46.444
 TDZ/IAA x Medium 21.556
 TDZ/IAA x Low 12.000
 TDZ/IBA x High 12.000
 TDZ/IBA x Medium 5.556
 TDZ/IBA x Low 1.778
 TDZ/NAA x High 69.778
 TDZ/NAA x Medium 35.111
 TDZ/NAA x Low 18.000
 CIN/IAA x High 40.222
 CIN/IAA x Medium 20.222
 CIN/IAA x Low 9.556
 CIN/IBA x High 9.556
 CIN/IBA x Medium 5.778
 CIN/IBA x Low 1.778
 CIN/NAA x High 19.556
 CIN/NAA x Medium 11.333
 CIN/NAA x Low 7.778
 ZEA/IAA x High 37.556
 ZEA/IAA x Medium 18.444
 ZEA/IAA x Low 7.778
 ZEA/IBA x High 9.778
 ZEA/IBA x Medium 4.667
 ZEA/IBA x Low 1.556
 ZEA/NAA x High 19.778
 ZEA/NAA x Medium 10.889
 ZEA/NAA x Low 6.222
 BAP/IAA x High 49.778
 BAP/IAA x Medium 20.889
 BAP/IAA x Low 10.667
 BAP/IBA x High 10.667
 BAP/IBA x Medium 4.444
 BAP/IBA x Low 1.333
 BAP/NAA x High 29.778
 BAP/NAA x Medium 19.111
 BAP/NAA x Low 9.778
 Std Err of LS Mean = 0.392
 All Pairwise Multiple
 Comparison Procedures (Tukey
 Test):
 Comparisons for factor: Dose
 within TDZ/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 34.444 3 87.877
 <0.001 Yes

High vs. Medium 24.889 3
 63.498 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 9.556 3 24.379
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose
 within TDZ/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 10.222 3 26.080
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 6.444 3 16.441
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.778 3 9.638
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose
 within TDZ/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 51.778 3 132.099
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 34.667 3
 88.444 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 17.111 3
 43.655 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose
 within CIN/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 30.667 3 78.239
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 20.000 3
 51.025 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 10.667 3
 27.213 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose
 within CIN/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 7.778 3 19.843
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 3.778 3 9.638
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 4.000 3 10.205
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose
 within CIN/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 11.778 3 30.048
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 8.222 3 20.977
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.556 3 9.071
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose
 within ZEA/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 29.778 3 75.971
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 19.111 3
 48.757 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 10.667 3
 27.213 <0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within ZEA/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 8.222 3 20.977
<0.001 Yes
High vs. Medium 5.111 3 13.040
<0.001 Yes
Medium vs. Low 3.111 3 7.937
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within ZEA/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 13.556 3 34.584
<0.001 Yes
High vs. Medium 8.889 3 22.678
<0.001 Yes
Medium vs. Low 4.667 3 11.906
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within BAP/IAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 39.111 3 99.783
<0.001 Yes
High vs. Medium 28.889 3 73.703
<0.001 Yes
Medium vs. Low 10.222 3 26.080
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within BAP/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 9.333 3 23.812
<0.001 Yes
High vs. Medium 6.222 3 15.875
<0.001 Yes
Medium vs. Low 3.111 3 7.937
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose within BAP/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 20.000 3 51.025
<0.001 Yes
High vs. Medium 10.667 3 27.213
<0.001 Yes
Medium vs. Low 9.333 3 23.812
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Phytohormones within High
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
TDZ/NAA vs. CIN/IBA 60.222 12 153.643
<0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 60.000 12 153.076
<0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IBA 59.111 12 150.808
<0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 57.778 12 147.406
<0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/NAA 50.222 12 128.130
<0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 50.000 12 127.563
<0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/NAA 40.000 12 102.050
<0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 32.222 12 82.207
<0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IAA 29.556 12 75.404
<0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 23.333 12 59.529
<0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IAA 20.000 12 51.025
<0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IBA 40.222 12 102.617
<0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IBA 40.000 12 102.050
<0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/IBA 39.111 12 99.783
<0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IBA 37.778 12 96.381
<0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.222 12 77.105
<0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/NAA 30.000 12 76.538
<0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/NAA 20.000 12 51.025
<0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 12.222 12 31.182
<0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IAA 9.556 12 24.379
<0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IAA 3.333 12 8.504
<0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IBA 36.889 12 94.113
<0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.667 12 93.546
<0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IBA 35.778 12 91.279
<0.001 Yes
TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 34.444 12 87.877
<0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/NAA 26.889 12 68.601
<0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 26.667 12 68.034
<0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/NAA 16.667 12 42.521
<0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 8.889 12 22.678
<0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IAA 6.222 12 15.875
<0.001 Yes
CIN/IAA vs. CIN/IBA 30.667 12 78.239
<0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IBA 30.444 12 77.672
<0.001 Yes
CIN/IAA vs. BAP/IBA 29.556 12 75.404
<0.001 Yes
CIN/IAA vs. TDZ/IBA 28.222 12 72.002
<0.001 Yes
CIN/IAA vs. CIN/NAA 20.667 12 52.726
<0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/NAA 20.444 12 52.159
<0.001 Yes
CIN/IAA vs. BAP/NAA 10.444 12 26.647
<0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.667 12 6.803
<0.001 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/IBA 28.000 12 71.435
<0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 27.778 12 70.868
<0.001 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/IBA 26.889 12 68.601
<0.001 Yes
ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 25.556 12 65.199
<0.001 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/NAA 18.000 12 45.923
<0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 17.778 12 45.356
<0.001 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/NAA 7.778 12 19.843
<0.001 Yes
BAP/NAA vs. CIN/IBA 20.222 12 51.592
<0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/IBA 20.000 12 51.025
<0.001 Yes
BAP/NAA vs. BAP/IBA 19.111 12 48.757
<0.001 Yes
BAP/NAA vs. TDZ/IBA 17.778 12 45.356
<0.001 Yes
BAP/NAA vs. CIN/NAA 10.222 12 26.080
<0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/NAA 10.000 12 25.513
<0.001 Yes
ZEA/NAA vs. CIN/IBA 10.222 12 26.080
<0.001 Yes
ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 10.000 12 25.513
<0.001 Yes
ZEA/NAA vs. BAP/IBA 9.111 12 23.245
<0.001 Yes
ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 7.778 12 19.843
<0.001 Yes
ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.222 12 0.567
1.000 No
CIN/NAA vs. CIN/IBA 10.000 12 25.513
<0.001 Yes
CIN/NAA vs. ZEA/IBA 9.778 12 24.946
<0.001 Yes
CIN/NAA vs. BAP/IBA 8.889 12 22.678
<0.001 Yes
CIN/NAA vs. TDZ/IBA 7.556 12 19.276
<0.001 Yes
TDZ/IBA vs. CIN/IBA 2.444 12 6.236
0.002 Yes
TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 2.222 12 5.669
0.008 Yes
TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.333 12 3.402
0.416 No
BAP/IBA vs. CIN/IBA 1.111 12 2.835
0.689 No
BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12 2.268
0.902 Do Not Test
ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.222 12 0.567
1.000 Do Not Test
Comparisons for factor: Phytohormones within Medium
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
TDZ/NAA vs. BAP/IBA 30.667 12 78.239
<0.001 Yes

TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 30.444	CIN/IAA vs. CIN/IBA 14.444 12	ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
12 77.672 <0.001 Yes	36.852 <0.001 Yes	0.567 1.000 Do Not Test
TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 29.556	CIN/IAA vs. ZEA/NAA 9.333 12	Comparisons for factor:
12 75.404 <0.001 Yes	23.812 <0.001 Yes	Phytohormones within Low
TDZ/NAA vs. CIN/IBA 29.333 12	CIN/IAA vs. CIN/NAA 8.889 12	Comparison Diff of Means p q P
74.837 <0.001 Yes	22.678 <0.001 Yes	P<0.050
TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 24.222	CIN/IAA vs. ZEA/IAA 1.778 12	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 16.667
12 61.797 <0.001 Yes	4.536 0.078 No	12 42.521 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/NAA 23.778	CIN/IAA vs. BAP/NAA 1.111 12	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 16.444
12 60.663 <0.001 Yes	2.835 0.689 Do Not Test	12 41.954 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 16.667	BAP/NAA vs. BAP/IBA 14.667	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 16.222
12 42.521 <0.001 Yes	12 37.419 <0.001 Yes	12 41.387 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/NAA 16.000	BAP/NAA vs. ZEA/IBA 14.444	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 16.222 12
12 40.820 <0.001 Yes	12 36.852 <0.001 Yes	41.387 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IAA 14.889 12	BAP/NAA vs. TDZ/IBA 13.556	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 11.778
37.985 <0.001 Yes	12 34.584 <0.001 Yes	12 30.048 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IAA 14.222	BAP/NAA vs. CIN/IBA 13.333 12	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 10.222
12 36.285 <0.001 Yes	34.017 <0.001 Yes	12 26.080 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 13.556	BAP/NAA vs. ZEA/NAA 8.222	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 10.222
12 34.584 <0.001 Yes	12 20.977 <0.001 Yes	12 26.080 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IBA 17.111 12	BAP/NAA vs. CIN/NAA 7.778 12	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 8.444 12
43.655 <0.001 Yes	19.843 <0.001 Yes	21.544 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 16.889 12	BAP/NAA vs. ZEA/IAA 0.667 12	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 8.222
43.088 <0.001 Yes	1.701 0.987 Do Not Test	12 20.977 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.000 12	ZEA/IAA vs. BAP/IBA 14.000 12	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 7.333 12
40.820 <0.001 Yes	35.718 <0.001 Yes	18.709 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IBA 15.778 12	ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 13.778 12	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 6.000 12
40.253 <0.001 Yes	35.151 <0.001 Yes	15.308 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 10.667	ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 12.889 12	TDZ/IAA vs. BAP/IBA 10.667 12
12 27.213 <0.001 Yes	32.883 <0.001 Yes	27.213 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/NAA 10.222 12	ZEA/IAA vs. CIN/IBA 12.667 12	TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 10.444 12
26.080 <0.001 Yes	32.316 <0.001 Yes	26.646 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 3.111 12	ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 7.556 12	TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 10.222 12
7.937 <0.001 Yes	19.276 <0.001 Yes	26.080 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.444 12	ZEA/IAA vs. CIN/NAA 7.111 12	TDZ/IAA vs. CIN/IBA 10.222 12
6.236 0.002 Yes	18.142 <0.001 Yes	26.080 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IAA 1.333 12	CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.889 12	TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 5.778 12
3.402 0.416 No	17.575 <0.001 Yes	14.741 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IAA 0.667 12	CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.667 12	TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.222 12
1.701 0.987 Do Not Test	17.008 <0.001 Yes	10.772 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/IBA 16.444 12	CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.778 12	TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.222 12
41.954 <0.001 Yes	14.741 <0.001 Yes	10.772 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IBA 16.222 12	CIN/NAA vs. CIN/IBA 5.556 12	TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.444 12
41.387 <0.001 Yes	14.174 <0.001 Yes	6.236 0.002 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IBA 15.333 12	CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.444 12	TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.222 12
39.119 <0.001 Yes	1.134 1.000 No	5.669 0.008 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IBA 15.111 12	ZEA/NAA vs. BAP/IBA 6.444 12	TDZ/IAA vs. BAP/IAA 1.333 12
38.552 <0.001 Yes	16.441 <0.001 Yes	3.402 0.416 No
BAP/IAA vs. ZEA/NAA 10.000	ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 6.222 12	BAP/IAA vs. BAP/IBA 9.333 12
12 25.513 <0.001 Yes	15.875 <0.001 Yes	23.812 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/NAA 9.556 12	ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 5.333 12	BAP/IAA vs. ZEA/IBA 9.111 12
24.379 <0.001 Yes	13.607 <0.001 Yes	23.245 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 2.444 12	ZEA/NAA vs. CIN/IBA 5.111 12	BAP/IAA vs. TDZ/IBA 8.889 12
6.236 0.002 Yes	13.040 <0.001 Yes	22.678 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/NAA 1.778 12	CIN/IBA vs. BAP/IBA 1.333 12	BAP/IAA vs. CIN/IBA 8.889 12
4.536 0.078 No	3.402 0.416 No	22.678 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.667 12	CIN/IBA vs. ZEA/IBA 1.111 12	BAP/IAA vs. ZEA/NAA 4.444 12
1.701 0.987 Do Not Test	2.835 0.689 Do Not Test	11.339 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. BAP/IBA 15.778 12	CIN/IBA vs. TDZ/IBA 0.222 12	BAP/IAA vs. CIN/NAA 2.889 12
40.253 <0.001 Yes	0.567 1.000 Do Not Test	7.370 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IBA 15.556 12	TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.111 12	BAP/IAA vs. ZEA/IAA 2.889 12
39.686 <0.001 Yes	2.835 0.689 Do Not Test	7.370 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. TDZ/IBA 14.667 12	TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12	BAP/IAA vs. CIN/IAA 1.111 12
37.419 <0.001 Yes	2.268 0.902 Do Not Test	2.835 0.689 No

BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.889 12
 2.268 0.902 Do Not Test
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 8.444 12
 21.544 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 8.222 12
 20.977 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 8.000 12
 20.410 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 8.000 12
 20.410 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 3.556
 12 9.071 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 2.000 12
 5.103 0.026 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 2.000 12
 5.103 0.026 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 0.222 12
 0.567 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 8.222 12
 20.977 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 8.000 12
 20.410 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 7.778 12
 19.843 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 7.778 12
 19.843 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 3.333 12
 8.504 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 1.778 12
 4.536 0.078 No
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 1.778 12
 4.536 0.078 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 6.444 12
 16.441 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 6.222 12
 15.875 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 6.000 12
 15.308 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 6.000 12
 15.308 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 1.556 12
 3.969 0.200 No
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.444 12
 16.441 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.222 12
 15.875 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.000 12
 15.308 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.000 12
 15.308 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 1.556 12
 3.969 0.200 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.889 12
 12.473 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.667 12
 11.906 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.444 12
 11.339 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.444 12
 11.339 <0.001 Yes
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 1.134 1.000 No

CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
 0.567 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. TDZ/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 1.134 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
 0.567 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.567 1.000 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs
 for a comparison when no
 significant difference is found
 between two
 means that enclose that
 comparison. For example, if you
 had four means sorted in order,
 and found no
 difference between means 4 vs.
 2, then you would not test 4 vs.
 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1
 and 3 vs. 1
 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed
 by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not
 testing the enclosed means is a
 procedural rule, and a result of
 Do Not Test should be treated as
 if there is no significant
 difference between
 the means, even though one
 may appear to exist.

***Coffea arabica* cv. Garena**

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Garena
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.092)
 Equal Variance Test (Brown-
 Forsythe): Failed (P < 0.050)
 Source of Variation DF SS MS F P
 Phythormones 11 11569.589
 1051.781 1969.818 <0.001
 Dose 2 8473.340 4236.670
 7934.609 <0.001
 Phythormones x Dose 22
 4079.198 185.418 347.259
 <0.001
 Residual 72 38.444 0.534
 Total 107 24160.571 225.800
 Main effects cannot be properly
 interpreted if significant
 interaction is determined. This is
 because the size
 of a factor's effect depends upon
 the level of the other factor.
 The effect of different levels of
 Phythormones depends on what
 level of Dose is present. There is
 a
 statistically significant
 interaction between

Phythormones and Dose. (P =
 <0.001)
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for
 Phythormones : 1.000
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for
 Phythormones x Dose : 1.000
 Least square means for
 Phythormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 25.333
 TDZ/IBA 6.963
 TDZ/NAA 39.481
 CIN/IAA 21.630
 CIN/IBA 4.407
 CIN/NAA 10.889
 ZEA/IAA 18.593
 ZEA/IBA 4.111
 ZEA/NAA 11.556
 BAP/IAA 24.741
 BAP/IBA 4.815
 BAP/NAA 18.000
 Std Err of LS Mean = 0.244
 Least square means for Dose :
 Group Mean
 High 27.722
 Medium 13.481
 Low 6.426
 Std Err of LS Mean = 0.122
 Least square means for
 Phythormones x Dose :
 Group Mean
 TDZ/IAA x High 43.556
 TDZ/IAA x Medium 21.333
 TDZ/IAA x Low 11.111
 TDZ/IBA x High 12.444
 TDZ/IBA x Medium 5.556
 TDZ/IBA x Low 2.889
 TDZ/NAA x High 68.222
 TDZ/NAA x Medium 34.222
 TDZ/NAA x Low 16.000
 CIN/IAA x High 38.667
 CIN/IAA x Medium 18.222
 CIN/IAA x Low 8.000
 CIN/IBA x High 7.333
 CIN/IBA x Medium 4.667
 CIN/IBA x Low 1.222
 CIN/NAA x High 17.111
 CIN/NAA x Medium 9.333
 CIN/NAA x Low 6.222
 ZEA/IAA x High 34.889
 ZEA/IAA x Medium 16.444
 ZEA/IAA x Low 4.444
 ZEA/IBA x High 7.111
 ZEA/IBA x Medium 4.000
 ZEA/IBA x Low 1.222
 ZEA/NAA x High 18.444
 ZEA/NAA x Medium 9.111
 ZEA/NAA x Low 7.111
 BAP/IAA x High 47.778
 BAP/IAA x Medium 17.333
 BAP/IAA x Low 9.111

BAP/IBA x High 9.111	High vs. Low 10.889 3 25.810	Medium vs. Low 8.667 3 20.543
BAP/IBA x Medium 4.222	<0.001 Yes	<0.001 Yes
BAP/IBA x Low 1.111	High vs. Medium 7.778 3 18.436	Comparisons for factor:
BAP/NAA x High 28.000	<0.001 Yes	Phytohormones within High
BAP/NAA x Medium 17.333	Medium vs. Low 3.111 3 7.374	Comparison Diff of Means p q P
BAP/NAA x Low 8.667	<0.001 Yes	P<0.050
Std Err of LS Mean = 0.422	Comparisons for factor: Dose	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 61.111
All Pairwise Multiple	within ZEA/IAA	12 144.854 <0.001 Yes
Comparison Procedures (Tukey	Comparison Diff of Means p q P	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 60.889 12
Test):	P<0.050	144.327 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 30.444 3 72.164	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 59.111
within TDZ/IAA	<0.001 Yes	12 140.114 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 18.444 3	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 55.778
P<0.050	43.720 <0.001 Yes	12 132.212 <0.001 Yes
High vs. Low 32.444 3 76.904	Medium vs. Low 12.000 3	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 51.111
<0.001 Yes	28.444 <0.001 Yes	12 121.151 <0.001 Yes
High vs. Medium 22.222 3	Comparisons for factor: Dose	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 49.778
52.674 <0.001 Yes	within ZEA/IBA	12 117.990 <0.001 Yes
Medium vs. Low 10.222 3	Comparison Diff of Means p q P	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 40.222
24.230 <0.001 Yes	P<0.050	12 95.340 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 5.889 3 13.959	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 33.333
within TDZ/IBA	<0.001 Yes	12 79.011 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 3.111 3 7.374	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 29.556 12
P<0.050	<0.001 Yes	70.057 <0.001 Yes
High vs. Low 9.556 3 22.650	Medium vs. Low 2.778 3 6.584	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 24.667
<0.001 Yes	<0.001 Yes	12 58.468 <0.001 Yes
High vs. Medium 6.889 3 16.329	Comparisons for factor: Dose	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 20.444
<0.001 Yes	within ZEA/NAA	12 48.460 <0.001 Yes
Medium vs. Low 2.667 3 6.321	Comparison Diff of Means p q P	BAP/IAA vs. ZEA/IBA 40.667 12
<0.001 Yes	P<0.050	96.394 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 11.333 3 26.864	BAP/IAA vs. CIN/IBA 40.444 12
within TDZ/NAA	<0.001 Yes	95.867 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 9.333 3 22.123	BAP/IAA vs. BAP/IBA 38.667 12
P<0.050	<0.001 Yes	91.653 <0.001 Yes
High vs. Low 52.222 3 123.784	Medium vs. Low 2.000 3 4.741	BAP/IAA vs. TDZ/IBA 35.333 12
<0.001 Yes	0.004 Yes	83.752 <0.001 Yes
High vs. Medium 34.000 3	Comparisons for factor: Dose	BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.667 12
80.592 <0.001 Yes	within BAP/IAA	72.691 <0.001 Yes
Medium vs. Low 18.222 3	Comparison Diff of Means p q P	BAP/IAA vs. ZEA/NAA 29.333
43.193 <0.001 Yes	P<0.050	12 69.530 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 38.667 3 91.653	BAP/IAA vs. BAP/NAA 19.778
within CIN/IAA	<0.001 Yes	12 46.880 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 30.444 3	BAP/IAA vs. ZEA/IAA 12.889 12
P<0.050	72.164 <0.001 Yes	30.551 <0.001 Yes
High vs. Low 30.667 3 72.691	Medium vs. Low 8.222 3 19.490	BAP/IAA vs. CIN/IAA 9.111 12
<0.001 Yes	<0.001 Yes	21.596 <0.001 Yes
High vs. Medium 20.444 3	Comparisons for factor: Dose	BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.222 12
48.460 <0.001 Yes	within BAP/IBA	10.008 <0.001 Yes
Medium vs. Low 10.222 3	Comparison Diff of Means p q P	TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.444 12
24.230 <0.001 Yes	P<0.050	86.386 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 8.000 3 18.963	TDZ/IAA vs. CIN/IBA 36.222 12
within CIN/IBA	<0.001 Yes	85.859 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 4.889 3 11.588	TDZ/IAA vs. BAP/IBA 34.444 12
P<0.050	<0.001 Yes	81.645 <0.001 Yes
High vs. Low 6.111 3 14.485	Medium vs. Low 3.111 3 7.374	TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 31.111 12
<0.001 Yes	<0.001 Yes	73.744 <0.001 Yes
High vs. Medium 2.667 3 6.321	Comparisons for factor: Dose	TDZ/IAA vs. CIN/NAA 26.444 12
<0.001 Yes	within BAP/NAA	62.682 <0.001 Yes
Medium vs. Low 3.444 3 8.165	Comparison Diff of Means p q P	TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 25.111
<0.001 Yes	P<0.050	12 59.522 <0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 19.333 3 45.827	TDZ/IAA vs. BAP/NAA 15.556
within CIN/NAA	<0.001 Yes	12 36.872 <0.001 Yes
Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 10.667 3	TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 8.667 12
P<0.050	25.284 <0.001 Yes	20.543 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. CIN/IAA 4.889 12
 11.588 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 31.556 12
 74.797 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 31.333 12
 74.271 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 29.556 12
 70.057 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 26.222 12
 62.156 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 21.556 12
 51.094 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 20.222 12
 47.934 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 10.667 12
 25.284 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.778 12
 8.955 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 27.778 12
 65.843 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 27.556 12
 65.316 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 25.778 12
 61.102 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 22.444 12
 53.201 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 17.778 12
 42.139 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 16.444
 12 38.979 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/NAA 6.889 12
 16.329 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 20.889
 12 49.514 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 20.667 12
 48.987 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 18.889
 12 44.773 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 15.556
 12 36.872 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 10.889
 12 25.810 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 9.556
 12 22.650 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 11.333
 12 26.864 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 11.111 12
 26.337 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 9.333 12
 22.123 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 6.000 12
 14.222 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 1.333 12
 3.160 0.531 No
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.000 12
 23.703 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 9.778 12
 23.177 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12
 18.963 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.667 12
 11.062 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 5.333 12
 12.642 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 5.111 12
 12.115 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 3.333 12
 7.901 <0.001 Yes
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 2.000 12
 4.741 0.054 No
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 1.778 12
 4.214 0.136 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
 0.527 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Medium
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 30.222
 12 71.637 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 30.000
 12 71.110 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 29.556 12
 70.057 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 28.667
 12 67.950 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 25.111
 12 59.522 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 24.889
 12 58.995 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 17.778
 12 42.139 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 16.889
 12 40.032 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 16.889
 12 40.032 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 16.000 12
 37.925 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 12.889
 12 30.551 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 17.333 12
 41.086 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 17.111 12
 40.559 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 16.667 12
 39.506 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 15.778 12
 37.399 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 12.222
 12 28.971 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 12.000 12
 28.444 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.889 12
 11.588 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 4.000 12
 9.481 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 4.000 12
 9.481 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.111 12
 7.374 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 14.222 12
 33.711 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 14.000 12
 33.185 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 13.556 12
 32.131 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 12.667 12
 30.024 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 9.111 12
 21.596 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 8.889 12
 21.070 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 1.778 12
 4.214 0.136 No
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 0.889 12
 2.107 0.939 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IAA 0.889 12
 2.107 0.939 Do Not Test
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 13.333 12
 31.605 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 13.111 12
 31.078 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 12.667 12
 30.024 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 11.778 12
 27.917 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 8.222 12
 19.490 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 8.000 12
 18.963 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 0.889 12
 2.107 0.939 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 13.333
 12 31.605 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 13.111
 12 31.078 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 12.667 12
 30.024 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 11.778
 12 27.917 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 8.222
 12 19.490 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 8.000 12
 18.963 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 0.889 12
 2.107 0.939 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 12.444 12
 29.498 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 12.222 12
 28.971 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 11.778 12
 27.917 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 10.889 12
 25.810 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 7.333 12
 17.383 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 7.111 12
 16.856 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
 12.642 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 5.111 12
 12.115 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 4.667 12
 11.062 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 3.778 12
 8.955 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.222 12
 0.527 1.000 No
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 5.111 12
 12.115 <0.001 Yes

ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.889 12
 11.588 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.444 12
 10.535 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 3.556 12
 8.428 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.556 12
 3.687 0.295 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.333 12
 3.160 0.531 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 0.889 12
 2.107 0.939 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.667 12
 1.580 0.993 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 1.053 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
 0.527 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phythormones within Low
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 14.889
 12 35.292 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 14.778
 12 35.028 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 14.778 12
 35.028 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 13.111
 12 31.078 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.556
 12 27.391 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 9.778 12
 23.177 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 8.889
 12 21.070 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 8.000 12
 18.963 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 7.333
 12 17.383 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 6.889 12
 16.329 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 4.889 12
 11.588 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 10.000 12
 23.703 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 9.889 12
 23.440 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 9.889 12
 23.440 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 8.222 12
 19.490 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 6.667 12
 15.802 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.889 12
 11.588 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 4.000 12
 9.481 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.111 12
 7.374 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.444 12
 5.794 0.006 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 2.000 12
 4.741 0.054 No

BAP/IAA vs. BAP/IBA 8.000 12
 18.963 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 7.889 12
 18.699 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 7.889 12
 18.699 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 6.222 12
 14.749 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 4.667 12
 11.062 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 2.889 12
 6.848 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 2.000 12
 4.741 0.054 No
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 1.111 12
 2.634 0.778 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.444 12
 1.053 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 7.556 12
 17.909 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 7.444 12
 17.646 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 7.444 12
 17.646 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 5.778 12
 13.695 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 4.222 12
 10.008 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 2.444 12
 5.794 0.006 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 1.556
 12 3.687 0.295 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 0.667 12
 1.580 0.993 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 6.889 12
 16.329 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 6.778 12
 16.066 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 6.778 12
 16.066 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 5.111 12
 12.115 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.556 12
 8.428 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 1.778 12
 4.214 0.136 No
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 0.889 12
 2.107 0.939 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 6.000 12
 14.222 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 5.889 12
 13.959 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 5.889 12
 13.959 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.222 12
 10.008 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IAA 2.667 12
 6.321 0.002 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.889 12
 2.107 0.939 Do Not Test
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 5.111 12
 12.115 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.000 12
 11.852 <0.001 Yes

CIN/NAA vs. CIN/IBA 5.000 12
 11.852 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 3.333 12
 7.901 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IAA 1.778 12
 4.214 0.136 No
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 3.333 12
 7.901 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 3.222 12
 7.638 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 3.222 12
 7.638 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 1.556 12
 3.687 0.295 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.778 12
 4.214 0.136 No
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.667 12
 3.951 0.205 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.667 12
 3.951 0.205 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.111 12
 0.263 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.111 12
 0.263 1.000 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs
 for a comparison when no
 significant difference is found
 between two
 means that enclose that
 comparison. For example, if you
 had four means sorted in order,
 and found no
 difference between means 4 vs.
 2, then you would not test 4 vs.
 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1
 and 3 vs. 1
 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed
 by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not
 testing the enclosed means is a
 procedural rule, and a result of
 Do Not Test should be treated as
 if there is no significant
 difference between
 the means, even though one
 may appear to exist.

***Coffea arabica* cv. Colombia**

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Colombia
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.097)
 Equal Variance Test (Brown-
 Forsythe): Passed (P = 0.283)
 Source of Variation DF SS MS F
 P
 Phythormones 11 12744.934
 1158.630 566.493 <0.001
 Dose 2 9228.453 4614.226
 2256.050 <0.001

Phytohormones x Dose 22
 3737.868 169.903 83.071
 <0.001
 Residual 72 147.259 2.045
 Total 107 25858.514 241.668
 Main effects cannot be properly interpreted if significant interaction is determined. This is because the size of a factor's effect depends upon the level of the other factor. The effect of different levels of Phytohormones depends on what level of Dose is present. There is a statistically significant interaction between Phytohormones and Dose. (P = <0.001)
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phytohormones x Dose : 1.000
 Least square means for Phytohormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 28.148
 TDZ/IBA 8.148
 TDZ/NAA 42.444
 CIN/IAA 24.815
 CIN/IBA 6.370
 CIN/NAA 13.704
 ZEA/IAA 21.037
 ZEA/IBA 6.074
 ZEA/NAA 13.926
 BAP/IAA 28.593
 BAP/IBA 6.667
 BAP/NAA 21.481
 Std Err of LS Mean = 0.477
 Least square means for Dose :
 Group Mean
 High 30.833
 Medium 15.889
 Low 8.630
 Std Err of LS Mean = 0.238
 Least square means for Phytohormones x Dose :
 Group Mean
 TDZ/IAA x High 47.556
 TDZ/IAA x Medium 23.111
 TDZ/IAA x Low 13.778
 TDZ/IBA x High 14.222
 TDZ/IBA x Medium 6.667
 TDZ/IBA x Low 3.556
 TDZ/NAA x High 70.667
 TDZ/NAA x Medium 36.667
 TDZ/NAA x Low 20.000
 CIN/IAA x High 41.778
 CIN/IAA x Medium 22.222
 CIN/IAA x Low 10.444
 CIN/IBA x High 10.000

CIN/IBA x Medium 6.667
 CIN/IBA x Low 2.444
 CIN/NAA x High 20.444
 CIN/NAA x Medium 12.222
 CIN/NAA x Low 8.444
 ZEA/IAA x High 38.444
 ZEA/IAA x Medium 16.444
 ZEA/IAA x Low 8.222
 ZEA/IBA x High 10.222
 ZEA/IBA x Medium 5.333
 ZEA/IBA x Low 2.667
 ZEA/NAA x High 21.556
 ZEA/NAA x Medium 12.444
 ZEA/NAA x Low 7.778
 BAP/IAA x High 51.556
 BAP/IAA x Medium 22.222
 BAP/IAA x Low 12.000
 BAP/IBA x High 11.111
 BAP/IBA x Medium 6.222
 BAP/IBA x Low 2.667
 BAP/NAA x High 32.444
 BAP/NAA x Medium 20.444
 BAP/NAA x Low 11.556
 Std Err of LS Mean = 0.826
 All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 33.778 3 40.909
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 24.444 3 29.605
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 9.333 3 11.304
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 10.667 3 12.919
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 7.556 3 9.151
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.111 3 3.768
 0.026 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 50.667 3 61.363
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 34.000 3 41.178
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 16.667 3 20.185
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 31.333 3 37.948
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 19.556 3 23.684
 <0.001 Yes

Medium vs. Low 11.778 3 14.264
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 7.556 3 9.151
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 3.333 3 4.037
 0.015 Yes
 Medium vs. Low 4.222 3 5.114
 0.002 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 12.000 3 14.533
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 8.222 3 9.958
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.778 3 4.575
 0.005 Yes
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 30.222 3 36.603
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 22.000 3 26.645
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 8.222 3 9.958
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 7.556 3 9.151
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 4.889 3 5.921
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 2.667 3 3.230
 0.065 No
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 13.778 3 16.686
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 9.111 3 11.035
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 4.667 3 5.652
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within BAP/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 39.556 3 47.906
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 29.333 3 35.526
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 10.222 3 12.380
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within BAP/IBA

Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 8.444 3 10.227
<0.001 Yes
High vs. Medium 4.889 3 5.921
<0.001 Yes
Medium vs. Low 3.556 3 4.306
0.009 Yes
Comparisons for factor: Dose
within BAP/NAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 20.889 3 25.299
<0.001 Yes
High vs. Medium 12.000 3
14.533 <0.001 Yes
Medium vs. Low 8.889 3 10.765
<0.001 Yes
Comparisons for factor:
Phytohormones within High
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
TDZ/NAA vs. CIN/IBA 60.667 12
73.474 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 60.444
12 73.205 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IBA 59.556
12 72.129 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 56.444
12 68.361 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/NAA 50.222
12 60.825 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 49.111
12 59.479 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/NAA 38.222
12 46.292 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 32.222
12 39.025 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IAA 28.889 12
34.988 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 23.111
12 27.990 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IAA 19.111
12 23.146 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IBA 41.556 12
50.329 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IBA 41.333 12
50.059 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/IBA 40.444 12
48.983 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IBA 37.333 12
45.215 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/NAA 31.111 12
37.679 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/NAA 30.000
12 36.333 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/NAA 19.111
12 23.146 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 13.111 12
15.879 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IAA 9.778 12
11.842 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.000 12
4.844 0.044 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IBA 37.556 12
45.484 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 37.333 12
45.215 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IBA 36.444 12
44.138 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 33.333 12
40.371 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/NAA 27.111 12
32.835 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 26.000
12 31.489 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/NAA 15.111
12 18.301 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 9.111 12
11.035 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IAA 5.778 12
6.998 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. CIN/IBA 31.778 12
38.487 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IBA 31.556 12
38.217 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. BAP/IBA 30.667 12
37.141 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. TDZ/IBA 27.556 12
33.373 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. CIN/NAA 21.333 12
25.837 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/NAA 20.222 12
24.491 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. BAP/NAA 9.333 12
11.304 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.333 12
4.037 0.180 No
ZEA/IAA vs. CIN/IBA 28.444 12
34.450 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 28.222 12
34.180 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/IBA 27.333 12
33.104 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 24.222 12
29.336 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/NAA 18.000 12
21.800 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 16.889
12 20.454 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/NAA 6.000 12
7.267 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. CIN/IBA 22.444 12
27.183 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/IBA 22.222
12 26.914 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. BAP/IBA 21.333
12 25.837 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. TDZ/IBA 18.222
12 22.069 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. CIN/NAA 12.000
12 14.533 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/NAA 10.889
12 13.188 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. CIN/IBA 11.556 12
13.995 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 11.333
12 13.726 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. BAP/IBA 10.444
12 12.649 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 7.333 12
8.882 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. CIN/NAA 1.111 12
1.346 0.998 No
CIN/NAA vs. CIN/IBA 10.444 12
12.649 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.222 12
12.380 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. BAP/IBA 9.333 12
11.304 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.222 12
7.536 <0.001 Yes
TDZ/IBA vs. CIN/IBA 4.222 12
5.114 0.026 Yes
TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 4.000 12
4.844 0.044 Yes
TDZ/IBA vs. BAP/IBA 3.111 12
3.768 0.265 No
BAP/IBA vs. CIN/IBA 1.111 12
1.346 0.998 No
BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
1.077 1.000 Do Not Test
ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.222 12
0.269 1.000 Do Not Test
Comparisons for factor:
Phytohormones within Medium
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 31.333
12 37.948 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IBA 30.444
12 36.872 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 30.000
12 36.333 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IBA 30.000 12
36.333 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/NAA 24.444
12 29.605 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 24.222
12 29.336 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 20.222
12 24.491 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/NAA 16.222
12 19.647 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IAA 14.444 12
17.494 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IAA 14.444
12 17.494 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 13.556
12 16.417 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 17.778 12
21.531 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IBA 16.889 12
20.454 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.444 12
19.916 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IBA 16.444 12
19.916 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/NAA 10.889 12
13.188 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 10.667
12 12.919 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 6.667 12
 8.074 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.667 12
 3.230 0.497 No
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 0.889 12
 1.077 1.000 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 0.889 12
 1.077 1.000 Do Not Test
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 16.889 12
 20.454 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 16.000 12
 19.378 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 15.556 12
 18.840 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 15.556 12
 18.840 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 10.000 12
 12.111 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 9.778 12
 11.842 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 5.778 12
 6.998 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 1.778 12
 2.153 0.929 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 16.889 12
 20.454 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 16.000 12
 19.378 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 15.556 12
 18.840 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 15.556 12
 18.840 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 10.000 12
 12.111 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 9.778 12
 11.842 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 5.778 12
 6.998 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 1.778 12
 2.153 0.929 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 15.111
 12 18.301 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 14.222
 12 17.225 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 13.778
 12 16.686 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 13.778 12
 16.686 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 8.222 12
 9.958 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 8.000
 12 9.689 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 4.000 12
 4.844 0.044 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 11.111 12
 13.457 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 10.222 12
 12.380 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 9.778 12
 11.842 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 9.778 12
 11.842 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 4.222 12
 5.114 0.026 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 4.000 12
 4.844 0.044 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 7.111 12
 8.612 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 6.222 12
 7.536 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 5.778 12
 6.998 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 5.778 12
 6.998 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.222 12
 0.269 1.000 No
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.889 12
 8.343 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.000 12
 7.267 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.556 12
 6.728 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 5.556 12
 6.728 <0.001 Yes
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 1.333 12
 1.615 0.992 No
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 0.538 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. TDZ/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.333 12
 1.615 0.992 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 0.538 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
 1.077 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Low
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 17.556 12
 21.262 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 17.333
 12 20.993 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 17.333
 12 20.993 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 16.444
 12 19.916 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 12.222
 12 14.803 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.778
 12 14.264 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 11.556
 12 13.995 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 9.556 12
 11.573 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 8.444
 12 10.227 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 8.000 12
 9.689 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 6.222 12
 7.536 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 11.333 12
 13.726 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 11.111 12
 13.457 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 11.111 12
 13.457 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 10.222 12
 12.380 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 6.000 12
 7.267 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 5.556 12
 6.728 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 5.333 12
 6.459 0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.333 12
 4.037 0.180 No
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.222 12
 2.691 0.753 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 1.778 12
 2.153 0.929 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 9.556 12
 11.573 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 9.333 12
 11.304 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 9.333 12
 11.304 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 8.444 12
 10.227 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 4.222 12
 5.114 0.026 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 3.778 12
 4.575 0.073 No
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 3.556 12
 4.306 0.117 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 1.556 12
 1.884 0.972 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.444 12
 0.538 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 9.111 12
 11.035 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 8.889 12
 10.765 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 8.889 12
 10.765 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 8.000 12
 9.689 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 3.778
 12 4.575 0.073 No
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 3.333 12
 4.037 0.180 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 3.111 12
 3.768 0.265 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 1.111 12
 1.346 0.998 Do Not Test
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 8.000 12
 9.689 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 7.778 12
 9.420 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 7.778 12
 9.420 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 6.889 12
 8.343 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 2.667 12
 3.230 0.497 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.222 12
 2.691 0.753 Do Not Test
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 2.000 12
 2.422 0.856 Do Not Test

CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.000 12
7.267 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.778 12
6.998 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. BAP/IBA 5.778 12
6.998 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.889 12
5.921 0.004 Yes
CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.667 12
0.807 1.000 Do Not Test
CIN/NAA vs. ZEA/IAA 0.222 12
0.269 1.000 Do Not Test
ZEA/IAA vs. CIN/IBA 5.778 12
6.998 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 5.556 12
6.728 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/IBA 5.556 12
6.728 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 4.667 12
5.652 0.008 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 0.444 12
0.538 1.000 Do Not Test
ZEA/NAA vs. CIN/IBA 5.333 12
6.459 0.001 Yes
ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 5.111 12
6.190 0.002 Yes
ZEA/NAA vs. BAP/IBA 5.111 12
6.190 0.002 Yes
ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.222 12
5.114 0.026 Yes
TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.111 12
1.346 0.998 No
TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
1.077 1.000 Do Not Test
TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.889 12
1.077 1.000 Do Not Test
BAP/IBA vs. CIN/IBA 0.222 12
0.269 1.000 Do Not Test
BAP/IBA vs. ZEA/IBA
0.000000000333 12
0.000000000404 1.000 Do Not
Test
ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.222 12
0.269 1.000 Do Not Test
A result of "Do Not Test" occurs
for a comparison when no
significant difference is found
between two
means that enclose that
comparison. For example, if you
had four means sorted in order,
and found no
difference between means 4 vs.
2, then you would not test 4 vs.
3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1
and 3 vs. 1
(4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed
by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not
testing the enclosed means is a
procedural rule, and a result of
Do Not Test should be treated as
if there is no significant
difference between
the means, even though one
may appear to exist.

***Coffea arabica* cv. IAPAR 59**

Two Way Analysis of Variance
Dependent Variable: IAPAR 59
Normality Test (Shapiro-Wilk):
Passed (P = 0.713)
Equal Variance Test (Brown-
Forsythe): Passed (P = 0.733)
Source of Variation DF SS MS F
P
Phytohormones 11 12471.243
1133.749 186.401 <0.001
Dose 2 8963.613 4481.807
736.860 <0.001
Phytohormones x Dose 22
3849.720 174.987 28.770
<0.001
Residual 72 437.926 6.082
Total 107 25722.502 240.397
Main effects cannot be properly
interpreted if significant
interaction is determined. This is
because the size
of a factor's effect depends upon
the level of the other factor.
The effect of different levels of
Phytohormones depends on what
level of Dose is present. There is
a statistically significant
interaction between
Phytohormones and Dose. (P =
<0.001)
Power of performed test with
alpha = 0.0500: for
Phytohormones : 1.000
Power of performed test with
alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
Power of performed test with
alpha = 0.0500: for
Phytohormones x Dose : 1.000
Least square means for
Phytohormones :
Group Mean
TDZ/IAA 30.519
TDZ/IBA 10.667
TDZ/NAA 44.667
CIN/IAA 26.963
CIN/IBA 8.444
CIN/NAA 16.148
ZEA/IAA 24.444
ZEA/IBA 9.111
ZEA/NAA 15.778
BAP/IAA 30.667
BAP/IBA 9.333
BAP/NAA 22.444
Std Err of LS Mean = 0.822
Least square means for Dose :
Group Mean
High 32.907
Medium 18.426
Low 10.963

Std Err of LS Mean = 0.411
Least square means for
Phytohormones x Dose :
Group Mean
TDZ/IAA x High 48.667
TDZ/IAA x Medium 26.444
TDZ/IAA x Low 16.444
TDZ/IBA x High 16.667
TDZ/IBA x Medium 9.556
TDZ/IBA x Low 5.778
TDZ/NAA x High 73.333
TDZ/NAA x Medium 39.556
TDZ/NAA x Low 21.111
CIN/IAA x High 44.000
CIN/IAA x Medium 23.333
CIN/IAA x Low 13.556
CIN/IBA x High 12.444
CIN/IBA x Medium 7.778
CIN/IBA x Low 5.111
CIN/NAA x High 22.444
CIN/NAA x Medium 14.667
CIN/NAA x Low 11.333
ZEA/IAA x High 41.556
ZEA/IAA x Medium 22.222
ZEA/IAA x Low 9.556
ZEA/IBA x High 12.222
ZEA/IBA x Medium 9.778
ZEA/IBA x Low 5.333
ZEA/NAA x High 22.444
ZEA/NAA x Medium 14.222
ZEA/NAA x Low 10.667
BAP/IAA x High 53.333
BAP/IAA x Medium 24.000
BAP/IAA x Low 14.667
BAP/IBA x High 14.444
BAP/IBA x Medium 8.444
BAP/IBA x Low 5.111
BAP/NAA x High 33.333
BAP/NAA x Medium 21.111
BAP/NAA x Low 12.889
Std Err of LS Mean = 1.424
All Pairwise Multiple
Comparison Procedures (Tukey
Test):
Comparisons for factor: Dose
within TDZ/IAA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 32.222 3 22.630
<0.001 Yes
High vs. Medium 22.222 3
15.607 <0.001 Yes
Medium vs. Low 10.000 3 7.023
<0.001 Yes
Comparisons for factor: Dose
within TDZ/IBA
Comparison Diff of Means p q P
P<0.050
High vs. Low 10.889 3 7.647
<0.001 Yes
High vs. Medium 7.111 3 4.994
0.002 Yes
Medium vs. Low 3.778 3 2.653
0.153 No

Comparisons for factor: Dose within TDZ/NAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 52.222 3 36.676 <0.001 Yes
 High vs. Medium 33.778 3 23.722 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 18.444 3 12.954 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 30.444 3 21.381 <0.001 Yes
 High vs. Medium 20.667 3 14.514 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 9.778 3 6.867 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IBA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 7.333 3 5.150 0.002 Yes
 High vs. Medium 4.667 3 3.277 0.060 No
 Medium vs. Low 2.667 3 1.873 0.387 No
 Comparisons for factor: Dose within CIN/NAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 11.111 3 7.803 <0.001 Yes
 High vs. Medium 7.778 3 5.462 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.333 3 2.341 0.230 No
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/IAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 32.000 3 22.474 <0.001 Yes
 High vs. Medium 19.333 3 13.578 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 12.667 3 8.896 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/IBA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 6.889 3 4.838 0.003 Yes
 High vs. Medium 2.444 3 1.717 0.449 No
 Medium vs. Low 4.444 3 3.121 0.077 No
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/NAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 11.778 3 8.272 <0.001 Yes
 High vs. Medium 8.222 3 5.775 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.556 3 2.497 0.189 No
 Comparisons for factor: Dose within BAP/IAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 38.667 3 27.156 <0.001 Yes
 High vs. Medium 29.333 3 20.601 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 9.333 3 6.555 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within BAP/IBA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 9.333 3 6.555 <0.001 Yes
 High vs. Medium 6.000 3 4.214 0.011 Yes
 Medium vs. Low 3.333 3 2.341 0.230 No
 Comparisons for factor: Dose within BAP/NAA
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 High vs. Low 20.444 3 14.358 <0.001 Yes
 High vs. Medium 12.222 3 8.584 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 8.222 3 5.775 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Phytohormones within High
 Comparison Diff of Means p q P P<0.050
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 61.111 12 42.919 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 60.889 12 42.763 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 58.889 12 41.358 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 56.667 12 39.797 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 50.889 12 35.740 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 50.889 12 35.740 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 40.000 12 28.092 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 31.778 12 22.318 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 29.333 12 20.601 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 24.667 12 17.324 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 20.000 12 14.046 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 41.111 12 28.873 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 40.889 12 28.717 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 38.889 12 27.312 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 36.667 12 25.751 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.889 12 21.693 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 30.889 12 21.693 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 20.000 12 14.046 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 11.778 12 8.272 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 9.333 12 6.555 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.667 12 3.277 0.474 No
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.444 12 25.595 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 36.222 12 25.439 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 34.222 12 24.034 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 32.000 12 22.474 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 26.222 12 18.416 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 26.222 12 18.416 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 15.333 12 10.769 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 7.111 12 4.994 0.033 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 4.667 12 3.277 0.474 No
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 31.778 12 22.318 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 31.556 12 22.162 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 29.556 12 20.757 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 27.333 12 19.196 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 21.556 12 15.139 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 21.556 12 15.139 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 10.667 12 7.491 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.444 12 1.717 0.986 No
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 29.333 12 20.601 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 29.111 12 20.445 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 27.111 12 19.040 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 24.889 12 17.480 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 19.111 12 13.422 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 19.111 12 13.422 <0.001 Yes

ZEA/IAA vs. BAP/NAA 8.222 12
 5.775 0.006 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 21.111
 12 14.826 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 20.889 12
 14.670 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 18.889
 12 13.266 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 16.667
 12 11.705 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 10.889
 12 7.647 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 10.889
 12 7.647 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 10.222
 12 7.179 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 10.000 12
 7.023 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12
 5.618 0.009 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 5.778 12
 4.058 0.175 No
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.222 12
 7.179 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 10.000 12
 7.023 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12
 5.618 0.009 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.778 12
 4.058 0.175 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 4.444 12
 3.121 0.550 No
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 4.222 12
 2.965 0.627 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 2.222 12
 1.561 0.994 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 2.222 12
 1.561 0.994 Do Not Test
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 2.000 12
 1.405 0.997 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
 0.156 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Medium
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 31.778 12
 22.318 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 31.111
 12 21.850 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 30.000
 12 21.069 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 29.778
 12 20.913 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 25.333
 12 17.792 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 24.889
 12 17.480 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 18.444
 12 12.954 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 17.333
 12 12.173 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 16.222 12
 11.393 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 15.556
 12 10.925 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 13.111
 12 9.208 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 18.667 12
 13.110 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 18.000 12
 12.642 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.889 12
 11.861 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 16.667 12
 11.705 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 12.222
 12 8.584 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 11.778 12
 8.272 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 5.333 12
 3.746 0.273 No
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.222 12
 2.965 0.627 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.111 12
 2.185 0.922 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 2.444 12
 1.717 0.986 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 16.222 12
 11.393 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 15.556 12
 10.925 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 14.444 12
 10.144 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 14.222 12
 9.988 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 9.778 12
 6.867 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 9.333 12
 6.555 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 2.889 12
 2.029 0.952 Do Not Test
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 1.778 12
 1.249 0.999 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.667 12
 0.468 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 15.556 12
 10.925 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 14.889 12
 10.457 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 13.778 12
 9.676 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 13.556 12
 9.520 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 9.111 12
 6.399 0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 8.667 12
 6.087 0.003 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 2.222 12
 1.561 0.994 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 1.111 12
 0.780 1.000 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 14.444 12
 10.144 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 13.778 12
 9.676 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 12.667 12
 8.896 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 12.444 12
 8.740 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 8.000 12
 5.618 0.009 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 7.556 12
 5.306 0.017 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/NAA 1.111 12
 0.780 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 13.333 12
 9.364 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 12.667
 12 8.896 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 11.556
 12 8.116 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 11.333
 12 7.959 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 6.889
 12 4.838 0.045 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 6.444 12
 4.526 0.080 No
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.889 12
 4.838 0.045 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.222 12
 4.370 0.105 No
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.111 12
 3.590 0.334 Do Not Test
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 4.889 12
 3.433 0.402 Do Not Test
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.444 12
 0.312 1.000 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 6.444 12
 4.526 0.080 No
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 5.778 12
 4.058 0.175 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.667 12
 3.277 0.474 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.444 12
 3.121 0.550 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 2.000 12
 1.405 0.997 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 1.333 12
 0.936 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. TDZ/IBA 0.222 12
 0.156 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.778 12
 1.249 0.999 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.111 12
 0.780 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 0.667 12
 0.468 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Low
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 16.000
 12 11.237 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 16.000 12
 11.237 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 15.778
 12 11.081 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 15.333
 12 10.769 <0.001 Yes

TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.556
 12 8.116 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 10.444
 12 7.335 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 9.778 12
 6.867 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 8.222
 12 5.775 0.006 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 7.556 12
 5.306 0.017 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 6.444 12
 4.526 0.080 No
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 4.667 12
 3.277 0.474 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 11.333 12
 7.959 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 11.333 12
 7.959 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 11.111 12
 7.803 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 10.667 12
 7.491 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 6.889 12
 4.838 0.045 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 5.778 12
 4.058 0.175 No
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 5.111 12
 3.590 0.334 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 3.556 12
 2.497 0.831 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.889 12
 2.029 0.952 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 1.778 12
 1.249 0.999 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 9.556 12
 6.711 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 9.556 12
 6.711 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 9.333 12
 6.555 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 8.889 12
 6.243 0.002 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 5.111 12
 3.590 0.334 No
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 4.000 12
 2.809 0.701 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 3.333 12
 2.341 0.882 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 1.778 12
 1.249 0.999 Do Not Test
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 1.111 12
 0.780 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 8.444 12
 5.931 0.004 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 8.444 12
 5.931 0.004 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 8.222 12
 5.775 0.006 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 7.778 12
 5.462 0.012 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 4.000 12
 2.809 0.701 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 2.889 12
 2.029 0.952 Do Not Test

CIN/IAA vs. CIN/NAA 2.222 12
 1.561 0.994 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 0.667 12
 0.468 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 7.778 12
 5.462 0.012 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 7.778 12
 5.462 0.012 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 7.556 12
 5.306 0.017 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 7.111 12
 4.994 0.033 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 3.333 12
 2.341 0.882 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 2.222
 12 1.561 0.994 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 1.556 12
 1.092 1.000 Do Not Test
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.222 12
 4.370 0.105 No
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.222 12
 4.370 0.105 Do Not Test
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.000 12
 4.214 0.136 Do Not Test
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 5.556 12
 3.902 0.220 Do Not Test
 CIN/NAA vs. ZEA/IAA 1.778 12
 1.249 0.999 Do Not Test
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.667 12
 0.468 1.000 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 5.556 12
 3.902 0.220 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 5.556 12
 3.902 0.220 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
 3.746 0.273 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.889 12
 3.433 0.402 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. ZEA/IAA 1.111 12
 0.780 1.000 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 4.444 12
 3.121 0.550 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 4.444 12
 3.121 0.550 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 4.222 12
 2.965 0.627 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 3.778 12
 2.653 0.770 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.667 12
 0.468 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 0.667 12
 0.468 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.444 12
 0.312 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.156 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.222 12
 0.156 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs
 for a comparison when no
 significant difference is found
 between two

means that enclose that
 comparison. For example, if you
 had four means sorted in order,
 and found no
 difference between means 4 vs.
 2, then you would not test 4 vs.
 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1
 and 3 vs. 1
 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed
 by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not
 testing the enclosed means is a
 procedural rule, and a result of
 Do Not Test should be treated as
 if there is no significant
 difference between
 the means, even though one
 may appear to exist.

***Coffea arabica* cv. Costa Rica**

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Costa Rica
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.120)
 Equal Variance Test (Brown-
 Forsythe): Passed (P = 0.084)
 Source of Variation DF SS MS F
 P
 Phytohormones 11 11920.155
 1083.650 1230.483 <0.001
 Dose 2 8471.177 4235.589
 4809.503 <0.001
 Phytohormones x Dose 22
 3985.709 181.169 205.717
 <0.001
 Residual 72 63.408 0.881
 Total 107 24440.450 228.415
 Main effects cannot be properly
 interpreted if significant
 interaction is determined. This is
 because the size
 of a factor's effect depends upon
 the level of the other factor.
 The effect of different levels of
 Phytohormones depends on what
 level of Dose is present. There is
 a
 statistically significant
 interaction between
 Phytohormones and Dose. (P =
 <0.001)
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for
 Phytohormones : 1.000
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for
 Phytohormones x Dose : 1.000
 Least square means for
 Phytohormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 28.741

TDZ/IBA 8.963	High vs. Low 33.111 3 61.112	Medium vs. Low 12.667 3
TDZ/NAA42.593	<0.001 Yes	23.378 <0.001 Yes
CIN/IAA 25.481	High vs. Medium 21.333 3	Comparisons for factor: Dose
CIN/IBA 7.630	39.374 <0.001 Yes	within ZEA/IBA
CIN/NAA 14.593	Medium vs. Low 11.778 3	Comparison Diff of Means p q P
ZEA/IAA 22.667	21.738 <0.001 Yes	P<0.050
ZEA/IBA 7.407	Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 6.222 3 11.484
ZEA/NAA14.444	within TDZ/IBA	<0.001 Yes
BAP/IAA 28.296	Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 2.889 3 5.332
BAP/IBA 8.074	P<0.050	0.001 Yes
BAP/NAA21.778	High vs. Low 7.555 3 13.945	Medium vs. Low 3.333 3 6.152
Std Err of LS Mean = 0.313	<0.001 Yes	<0.001 Yes
Least square means for Dose :	High vs. Medium 3.555 3 6.562	Comparisons for factor: Dose
Group Mean	<0.001 Yes	within ZEA/NAA
High 30.963	Medium vs. Low 4.000 3 7.383	Comparison Diff of Means p q P
Medium 17.130	<0.001 Yes	P<0.050
Low 9.574	Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 12.667 3 23.378
Std Err of LS Mean = 0.156	within TDZ/NAA	<0.001 Yes
Least square means for	Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 10.000 3
Phytohormones x Dose :	P<0.050	18.457 <0.001 Yes
Group Mean	High vs. Low 50.889 3 93.924	Medium vs. Low 2.667 3 4.922
TDZ/IAA x High 46.889	<0.001 Yes	0.003 Yes
TDZ/IAA x Medium 25.556	High vs. Medium 33.333 3	Comparisons for factor: Dose
TDZ/IAA x Low 13.778	61.522 <0.001 Yes	within BAP/IAA
TDZ/IBA x High 12.667	Medium vs. Low 17.556 3	Comparison Diff of Means p q P
TDZ/IBA x Medium 9.111	32.402 <0.001 Yes	P<0.050
TDZ/IBA x Low 5.111	Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 38.667 3 71.366
TDZ/NAA x High 70.667	within CIN/IAA	<0.001 Yes
TDZ/NAA x Medium 37.333	Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 29.778 3
TDZ/NAA x Low 19.778	P<0.050	54.960 <0.001 Yes
CIN/IAA x High 42.444	High vs. Low 30.667 3 56.601	Medium vs. Low 8.889 3 16.406
CIN/IAA x Medium 22.222	<0.001 Yes	<0.001 Yes
CIN/IAA x Low 11.778	High vs. Medium 20.222 3	Comparisons for factor: Dose
CIN/IBA x High 10.889	37.324 <0.001 Yes	within BAP/IBA
CIN/IBA x Medium 7.556	Medium vs. Low 10.444 3	Comparison Diff of Means p q P
CIN/IBA x Low 4.444	19.277 <0.001 Yes	P<0.050
CIN/NAA x High 20.667	Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 8.444 3 15.586
CIN/NAA x Medium 13.556	within CIN/IBA	<0.001 Yes
CIN/NAA x Low 9.556	Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 5.333 3 9.844
ZEA/IAA x High 39.333	P<0.050	<0.001 Yes
ZEA/IAA x Medium 20.667	High vs. Low 6.444 3 11.894	Medium vs. Low 3.111 3 5.742
ZEA/IAA x Low 8.000	<0.001 Yes	<0.001 Yes
ZEA/IBA x High 10.444	High vs. Medium 3.333 3 6.152	Comparisons for factor: Dose
ZEA/IBA x Medium 7.556	<0.001 Yes	within BAP/NAA
ZEA/IBA x Low 4.222	Medium vs. Low 3.111 3 5.742	Comparison Diff of Means p q P
ZEA/NAA x High 22.000	<0.001 Yes	P<0.050
ZEA/NAA x Medium 12.000	Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 19.556 3 36.093
ZEA/NAA x Low 9.333	within CIN/NAA	<0.001 Yes
BAP/IAA x High 51.111	Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 10.444 3
BAP/IAA x Medium 21.333	P<0.050	19.277 <0.001 Yes
BAP/IAA x Low 12.444	High vs. Low 11.111 3 20.507	Medium vs. Low 9.111 3 16.816
BAP/IBA x High 12.667	<0.001 Yes	<0.001 Yes
BAP/IBA x Medium 7.333	High vs. Medium 7.111 3 13.125	Comparisons for factor:
BAP/IBA x Low 4.222	<0.001 Yes	Phytohormones within High
BAP/NAA x High 31.778	Medium vs. Low 4.000 3 7.383	Comparison Diff of Means p q P
BAP/NAA x Medium 21.333	<0.001 Yes	P<0.050
BAP/NAA x Low 12.222	Comparisons for factor: Dose	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 60.222
Std Err of LS Mean = 0.542	within ZEA/IAA	12 111.150 <0.001 Yes
All Pairwise Multiple	Comparison Diff of Means p q P	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 59.778 12
Comparison Procedures (Tukey	P<0.050	110.330 <0.001 Yes
Test):	High vs. Low 31.333 3 57.831	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 58.000
Comparisons for factor: Dose	<0.001 Yes	12 107.049 <0.001 Yes
within TDZ/IAA	High vs. Medium 18.667 3	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 58.000
Comparison Diff of Means p q P	34.452 <0.001 Yes	12 107.049 <0.001 Yes
P<0.050		

TDZ/NAA vs. CIN/NAA 50.000	CIN/IAA vs. BAP/NAA 10.667 12	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 30.000
12 92.283 <0.001 Yes	19.687 <0.001 Yes	12 55.370 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 48.667	CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.111 12	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 29.778
12 89.823 <0.001 Yes	5.742 0.007 Yes	12 54.960 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/NAA 38.889	ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 28.889 12	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 29.778 12
12 71.776 <0.001 Yes	53.319 <0.001 Yes	54.960 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 31.333	ZEA/IAA vs. CIN/IBA 28.444 12	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 28.222
12 57.831 <0.001 Yes	52.499 <0.001 Yes	12 52.089 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. CIN/IAA 28.222 12	ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 26.667 12	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 25.333
52.089 <0.001 Yes	49.218 <0.001 Yes	12 46.757 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 23.778	ZEA/IAA vs. BAP/IBA 26.667 12	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 23.778
12 43.886 <0.001 Yes	49.218 <0.001 Yes	12 43.886 <0.001 Yes
TDZ/NAA vs. BAP/IAA 19.556	ZEA/IAA vs. CIN/NAA 18.667 12	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 16.667
12 36.093 <0.001 Yes	34.452 <0.001 Yes	12 30.761 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IBA 40.667 12	ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 17.333	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 16.000
75.057 <0.001 Yes	12 31.992 <0.001 Yes	12 29.531 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IBA 40.222 12	ZEA/IAA vs. BAP/NAA 7.556 12	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 16.000
74.237 <0.001 Yes	13.945 <0.001 Yes	12 29.531 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IBA 38.445 12	BAP/NAA vs. ZEA/IBA 21.333	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 15.111 12
70.956 <0.001 Yes	12 39.374 <0.001 Yes	27.890 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/IBA 38.444 12	BAP/NAA vs. CIN/IBA 20.889 12	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 11.778
70.956 <0.001 Yes	38.554 <0.001 Yes	12 21.738 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.444 12	BAP/NAA vs. TDZ/IBA 19.111	TDZ/IAA vs. BAP/IBA 18.222 12
56.190 <0.001 Yes	12 35.273 <0.001 Yes	33.632 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/NAA 29.111	BAP/NAA vs. BAP/IBA 19.111	TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 18.000 12
12 53.729 <0.001 Yes	12 35.273 <0.001 Yes	33.222 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/NAA 19.333	BAP/NAA vs. CIN/NAA 11.111	TDZ/IAA vs. CIN/IBA 18.000 12
12 35.683 <0.001 Yes	12 20.507 <0.001 Yes	33.222 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 11.778 12	BAP/NAA vs. ZEA/NAA 9.778	TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.444 12
21.738 <0.001 Yes	12 18.047 <0.001 Yes	30.351 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. CIN/IAA 8.667 12	ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 11.556	TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 13.556
15.996 <0.001 Yes	12 21.328 <0.001 Yes	12 25.019 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.222 12	ZEA/NAA vs. CIN/IBA 11.111 12	TDZ/IAA vs. CIN/NAA 12.000 12
7.793 <0.001 Yes	20.507 <0.001 Yes	22.148 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.444 12	ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 9.333 12	TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.889 12
67.264 <0.001 Yes	17.226 <0.001 Yes	9.023 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IBA 36.000 12	ZEA/NAA vs. BAP/IBA 9.333 12	TDZ/IAA vs. BAP/NAA 4.222 12
66.444 <0.001 Yes	17.226 <0.001 Yes	7.793 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 34.222 12	ZEA/NAA vs. CIN/NAA 1.333 12	TDZ/IAA vs. BAP/IAA 4.222 12
63.163 <0.001 Yes	2.461 0.843 No	7.793 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/IBA 34.222 12	CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.222 12	TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.333 12
63.163 <0.001 Yes	18.867 <0.001 Yes	6.152 0.003 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/NAA 26.222 12	CIN/NAA vs. CIN/IBA 9.778 12	CIN/IAA vs. BAP/IBA 14.889 12
48.398 <0.001 Yes	18.047 <0.001 Yes	27.480 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 24.889	CIN/NAA vs. TDZ/IBA 8.000 12	CIN/IAA vs. ZEA/IBA 14.667 12
12 45.937 <0.001 Yes	14.766 <0.001 Yes	27.070 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. BAP/NAA 15.111	CIN/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12	CIN/IAA vs. CIN/IBA 14.667 12
12 27.890 <0.001 Yes	14.765 <0.001 Yes	27.070 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 7.556 12	BAP/IBA vs. ZEA/IBA 2.222 12	CIN/IAA vs. TDZ/IBA 13.111 12
13.945 <0.001 Yes	4.101 0.163 No	24.199 <0.001 Yes
TDZ/IAA vs. CIN/IAA 4.444 12	BAP/IBA vs. CIN/IBA 1.778 12	CIN/IAA vs. ZEA/NAA 10.222 12
8.203 <0.001 Yes	3.281 0.473 Do Not Test	18.867 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/IBA 32.000 12	BAP/IBA vs. TDZ/IBA 0.000111	CIN/IAA vs. CIN/NAA 8.667 12
59.061 <0.001 Yes	12 0.000205 1.000 Do Not Test	15.996 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. CIN/IBA 31.556 12	TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 2.222 12	CIN/IAA vs. ZEA/IAA 1.556 12
58.241 <0.001 Yes	4.101 0.163 Do Not Test	2.871 0.672 No
CIN/IAA vs. TDZ/IBA 29.778 12	TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.778 12	CIN/IAA vs. BAP/NAA 0.889 12
54.960 <0.001 Yes	3.281 0.473 Do Not Test	1.641 0.990 Do Not Test
CIN/IAA vs. BAP/IBA 29.778 12	CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.444 12	CIN/IAA vs. BAP/IAA 0.889 12
54.960 <0.001 Yes	0.820 1.000 Do Not Test	1.641 0.990 Do Not Test
CIN/IAA vs. CIN/NAA 21.778 12	Comparisons for factor:	BAP/IAA vs. BAP/IBA 14.000 12
40.195 <0.001 Yes	Phytohormones within Medium	25.839 <0.001 Yes
CIN/IAA vs. ZEA/NAA 20.444 12	Comparison Diff of Means p q P	BAP/IAA vs. ZEA/IBA 13.778 12
37.734 <0.001 Yes	P<0.050	25.429 <0.001 Yes

BAP/IAA vs. CIN/IBA 13.778 12	CIN/IBA vs. ZEA/IBA	BAP/IAA vs. CIN/NAA 2.889 12
25.429 <0.001 Yes	0.000000000333 12	5.332 0.016 Yes
BAP/IAA vs. TDZ/IBA 12.222 12	0.000000000615 1.000 Do Not	BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.667 12
22.558 <0.001 Yes	Test	1.230 0.999 Do Not Test
BAP/IAA vs. ZEA/NAA 9.333 12	ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12	BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.222 12
17.226 <0.001 Yes	0.410 1.000 Do Not Test	0.410 1.000 Do Not Test
BAP/IAA vs. CIN/NAA 7.778 12	Comparisons for factor:	BAP/NAA vs. ZEA/IBA 8.000 12
14.355 <0.001 Yes	Phytohormones within Low	14.765 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. ZEA/IAA 0.667 12	Comparison Diff of Means p q P	BAP/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12
1.230 0.999 Do Not Test	P<0.050	14.765 <0.001 Yes
BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.000 12	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 15.556	BAP/NAA vs. CIN/IBA 7.778 12
0.000 1.000 Do Not Test	12 28.710 <0.001 Yes	14.355 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. BAP/IBA 14.000	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 15.556	BAP/NAA vs. TDZ/IBA 7.111 12
12 25.839 <0.001 Yes	12 28.710 <0.001 Yes	13.125 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/IBA 13.778	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 15.333 12	BAP/NAA vs. ZEA/IAA 4.222 12
12 25.429 <0.001 Yes	28.300 <0.001 Yes	7.793 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. CIN/IBA 13.778 12	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 14.667	BAP/NAA vs. ZEA/NAA 2.889
25.429 <0.001 Yes	12 27.070 <0.001 Yes	12 5.332 0.016 Yes
BAP/NAA vs. TDZ/IBA 12.222	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.778	BAP/NAA vs. CIN/NAA 2.667 12
12 22.558 <0.001 Yes	12 21.738 <0.001 Yes	4.922 0.038 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/NAA 9.333	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 10.444	BAP/NAA vs. CIN/IAA 0.444 12
12 17.226 <0.001 Yes	12 19.277 <0.001 Yes	0.820 1.000 Do Not Test
BAP/NAA vs. CIN/NAA 7.778 12	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 10.222	CIN/IAA vs. ZEA/IBA 7.556 12
14.355 <0.001 Yes	12 18.867 <0.001 Yes	13.945 <0.001 Yes
BAP/NAA vs. ZEA/IAA 0.667 12	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 8.000 12	CIN/IAA vs. BAP/IBA 7.556 12
1.230 0.999 Do Not Test	14.765 <0.001 Yes	13.945 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. BAP/IBA 13.333 12	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 7.556	CIN/IAA vs. CIN/IBA 7.333 12
24.609 <0.001 Yes	12 13.945 <0.001 Yes	13.535 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 13.111 12	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 7.333 12	CIN/IAA vs. TDZ/IBA 6.667 12
24.199 <0.001 Yes	13.535 <0.001 Yes	12.304 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. CIN/IBA 13.111 12	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 6.000 12	CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.778 12
24.199 <0.001 Yes	11.074 <0.001 Yes	6.973 <0.001 Yes
ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 11.556 12	TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 9.556 12	CIN/IAA vs. ZEA/NAA 2.444 12
21.328 <0.001 Yes	17.636 <0.001 Yes	4.512 0.082 No
ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 8.667 12	TDZ/IAA vs. BAP/IBA 9.556 12	CIN/IAA vs. CIN/NAA 2.222 12
15.996 <0.001 Yes	17.636 <0.001 Yes	4.101 0.163 Do Not Test
ZEA/IAA vs. CIN/NAA 7.111 12	TDZ/IAA vs. CIN/IBA 9.333 12	CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
13.125 <0.001 Yes	17.226 <0.001 Yes	9.844 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.222 12	TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 8.667 12	CIN/NAA vs. BAP/IBA 5.333 12
11.484 <0.001 Yes	15.996 <0.001 Yes	9.844 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. ZEA/IBA 6.000 12	TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 5.778 12	CIN/NAA vs. CIN/IBA 5.111 12
11.074 <0.001 Yes	10.664 <0.001 Yes	9.433 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.000 12	TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 4.444 12	CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.444 12
11.074 <0.001 Yes	8.203 <0.001 Yes	8.203 <0.001 Yes
CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.444 12	TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.222 12	CIN/NAA vs. ZEA/IAA 1.556 12
8.203 <0.001 Yes	7.793 <0.001 Yes	2.871 0.672 No
CIN/NAA vs. ZEA/NAA 1.556 12	TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.000 12	CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.222 12
2.871 0.672 No	3.691 0.294 No	0.410 1.000 Do Not Test
ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.667 12	TDZ/IAA vs. BAP/NAA 1.556 12	ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 5.111 12
8.613 <0.001 Yes	2.871 0.672 Do Not Test	9.433 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.444 12	TDZ/IAA vs. BAP/IAA 1.333 12	ZEA/NAA vs. BAP/IBA 5.111 12
8.203 <0.001 Yes	2.461 0.843 Do Not Test	9.433 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.444 12	BAP/IAA vs. ZEA/IBA 8.222 12	ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.889 12
8.203 <0.001 Yes	15.176 <0.001 Yes	9.023 <0.001 Yes
ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 2.889 12	BAP/IAA vs. BAP/IBA 8.222 12	ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.222 12
5.332 0.016 Yes	15.176 <0.001 Yes	7.793 <0.001 Yes
TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.778 12	BAP/IAA vs. CIN/IBA 8.000 12	ZEA/NAA vs. ZEA/IAA 1.333 12
3.281 0.473 No	14.765 <0.001 Yes	2.461 0.843 Do Not Test
TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.556 12	BAP/IAA vs. TDZ/IBA 7.333 12	ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 3.778 12
2.871 0.672 Do Not Test	13.535 <0.001 Yes	6.973 <0.001 Yes
TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.556 12	BAP/IAA vs. ZEA/IAA 4.444 12	ZEA/IAA vs. BAP/IBA 3.778 12
2.871 0.672 Do Not Test	8.203 <0.001 Yes	6.973 <0.001 Yes
CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12	BAP/IAA vs. ZEA/NAA 3.111 12	ZEA/IAA vs. CIN/IBA 3.556 12
0.410 1.000 Do Not Test	5.742 0.007 Yes	6.562 <0.001 Yes

ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 2.889 12
 5.332 0.016 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
 1.641 0.990 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.889 12
 1.641 0.990 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 0.667 12
 1.230 0.999 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
 0.410 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.410 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed means is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the means, even though one may appear to exist.

Coffea arabica cv. Oro Azteca

Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: Oro Azteca
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.110)
 Equal Variance Test (Brown-Forsythe):
 Failed (P < 0.050)
 Source of Variation DF SS MS F P
 Phythormones 11 11461.774
 1041.979 1808.579 <0.001
 Dose 2 8455.218 4227.609
 7337.921 <0.001
 Phythormones x Dose 22
 4097.572 186.253 323.282
 <0.001
 Residual 72 41.481 0.576
 Total 107 24056.045 224.823
 Main effects cannot be properly interpreted if significant interaction is determined. This is because the size of a factor's effect depends upon the level of the other factor. The effect of different levels of Phythormones depends on what

level of Dose is present. There is a statistically significant interaction between Phythormones and Dose. (P = <0.001)
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phythormones : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with alpha = 0.0500: for Phythormones x Dose : 1.000
 Least square means for Phythormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 29.333
 TDZ/IBA 11.185
 TDZ/NAA 43.481
 CIN/IAA 25.185
 CIN/IBA 8.519
 CIN/NAA 14.889
 ZEA/IAA 22.593
 ZEA/IBA 8.222
 ZEA/NAA 15.556
 BAP/IAA 28.667
 BAP/IBA 8.667
 BAP/NAA 22.000
 Std Err of LS Mean = 0.253
 Least square means for Dose :
 Group Mean
 High 31.722
 Medium 17.370
 Low 10.481
 Std Err of LS Mean = 0.127
 Least square means for Phythormones x Dose :
 Group Mean
 TDZ/IAA x High 47.556
 TDZ/IAA x Medium 25.333
 TDZ/IAA x Low 15.111
 TDZ/IBA x High 17.111
 TDZ/IBA x Medium 9.556
 TDZ/IBA x Low 6.889
 TDZ/NAA x High 72.222
 TDZ/NAA x Medium 38.222
 TDZ/NAA x Low 20.000
 CIN/IAA x High 42.667
 CIN/IAA x Medium 20.889
 CIN/IAA x Low 12.000
 CIN/IBA x High 11.333
 CIN/IBA x Medium 8.667
 CIN/IBA x Low 5.556
 CIN/NAA x High 21.111
 CIN/NAA x Medium 13.333
 CIN/NAA x Low 10.222
 ZEA/IAA x High 38.889
 ZEA/IAA x Medium 20.444
 ZEA/IAA x Low 8.444
 ZEA/IBA x High 11.111
 ZEA/IBA x Medium 8.000
 ZEA/IBA x Low 5.556
 ZEA/NAA x High 22.444
 ZEA/NAA x Medium 13.111

ZEA/NAA x Low 11.111
 BAP/IAA x High 51.556
 BAP/IAA x Medium 21.333
 BAP/IAA x Low 13.111
 BAP/IBA x High 12.667
 BAP/IBA x Medium 8.222
 BAP/IBA x Low 5.111
 BAP/NAA x High 32.000
 BAP/NAA x Medium 21.333
 BAP/NAA x Low 12.667
 Std Err of LS Mean = 0.438
 All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 32.444 3 74.036
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 22.222 3
 50.709 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 10.222 3
 23.326 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 10.222 3 23.326
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 7.556 3 17.241
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 2.667 3 6.085
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within TDZ/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 52.222 3 119.167
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 34.000 3
 77.585 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 18.222 3
 41.582 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 30.667 3 69.979
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 21.778 3
 49.695 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 8.889 3 20.284
 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within CIN/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 5.778 3 13.184
 <0.001 Yes
 High vs. Medium 2.667 3 6.085
 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.111 3 7.099
 <0.001 Yes

Comparisons for factor: Dose within CIN/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 10.889 3 24.848 <0.001 Yes
 High vs. Medium 7.778 3 17.748 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.111 3 7.099 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 30.444 3 69.472 <0.001 Yes
 High vs. Medium 18.444 3 42.089 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 12.000 3 27.383 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 5.556 3 12.677 <0.001 Yes
 High vs. Medium 3.111 3 7.099 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 2.444 3 5.578 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within ZEA/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 11.333 3 25.862 <0.001 Yes
 High vs. Medium 9.333 3 21.298 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 2.000 3 4.564 0.005 Yes
 Comparisons for factor: Dose within BAP/IAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 38.444 3 87.727 <0.001 Yes
 High vs. Medium 30.222 3 68.965 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 8.222 3 18.762 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within BAP/IBA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 7.556 3 17.241 <0.001 Yes
 High vs. Medium 4.444 3 10.142 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 3.111 3 7.099 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Dose within BAP/NAA
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 High vs. Low 19.333 3 44.117 <0.001 Yes
 High vs. Medium 10.667 3 24.340 <0.001 Yes
 Medium vs. Low 8.667 3 19.777 <0.001 Yes
 Comparisons for factor: Phytohormones within High
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 61.111 12 139.450 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 60.889 12 138.943 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 59.556 12 135.901 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 55.111 12 125.759 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 51.111 12 116.631 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 49.778 12 113.589 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 40.222 12 91.784 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 33.333 12 76.064 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 29.556 12 67.443 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 24.667 12 56.287 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 20.667 12 47.160 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 40.444 12 92.291 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 40.222 12 91.784 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 38.889 12 88.741 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 34.444 12 78.599 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.444 12 69.472 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 29.111 12 66.429 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 19.556 12 44.624 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 12.667 12 28.904 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 8.889 12 20.284 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.000 12 9.128 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.444 12 83.163 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 36.222 12 82.656 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 34.889 12 79.614 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 30.444 12 69.472 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 26.444 12 60.344 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 25.111 12 57.301 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 15.556 12 35.496 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 8.667 12 19.777 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 4.889 12 11.156 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 31.556 12 72.007 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 31.333 12 71.500 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 30.000 12 68.457 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 25.556 12 58.316 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 21.556 12 49.188 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 20.222 12 46.145 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 10.667 12 24.340 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.778 12 8.621 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 27.778 12 63.387 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 27.556 12 62.879 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 26.222 12 59.837 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 21.778 12 49.695 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 17.778 12 40.567 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 16.444 12 37.525 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/NAA 6.889 12 15.720 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 20.889 12 47.667 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 20.667 12 47.160 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 19.333 12 44.117 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 14.889 12 33.975 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 10.889 12 24.848 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 9.556 12 21.805 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 11.333 12 25.862 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 11.111 12 25.355 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 9.778 12 22.312 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 5.333 12 12.170 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 1.333 12 3.043 0.589 No
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.000 12 22.819 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 9.778 12 22.312 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 8.444 12 19.270 <0.001 Yes

CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.000 12
 9.128 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 6.000 12
 13.691 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 5.778 12
 13.184 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 4.444 12
 10.142 <0.001 Yes
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 1.556 12
 3.550 0.351 No
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 1.333 12
 3.043 0.589 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
 0.507 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Medium
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 30.222
 12 68.965 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 30.000
 12 68.457 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 29.556 12
 67.443 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 28.667
 12 65.415 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 25.111
 12 57.301 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 24.889
 12 56.794 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 17.778
 12 40.567 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 17.333 12
 39.553 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 16.889
 12 38.539 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 16.889
 12 38.539 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 12.889
 12 29.411 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 17.333 12
 39.553 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 17.111 12
 39.046 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 16.667 12
 38.032 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 15.778 12
 36.004 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 12.222
 12 27.890 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 12.000 12
 27.383 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 4.889 12
 11.156 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 4.444 12
 10.142 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 4.000 12
 9.128 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 4.000 12
 9.128 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 13.333 12
 30.426 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 13.111 12
 29.918 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 12.667 12
 28.904 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 11.778 12
 26.876 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 8.222 12
 18.762 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 8.000 12
 18.255 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 0.889 12
 2.028 0.953 No
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 0.444 12
 1.014 1.000 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 13.333
 12 30.426 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 13.111
 12 29.918 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 12.667 12
 28.904 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 11.778
 12 26.876 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 8.222
 12 18.762 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 8.000 12
 18.255 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 0.889 12
 2.028 0.953 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 0.444 12
 1.014 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 12.889 12
 29.411 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 12.667 12
 28.904 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 12.222 12
 27.890 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 11.333 12
 25.862 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 7.778 12
 17.748 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 7.556 12
 17.241 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 0.444 12
 1.014 1.000 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 12.444 12
 28.397 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 12.222 12
 27.890 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 11.778 12
 26.876 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 10.889 12
 24.848 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 7.333 12
 16.734 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 7.111 12
 16.227 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
 12.170 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 5.111 12
 11.663 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 4.667 12
 10.649 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 3.778 12
 8.621 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 0.222 12
 0.507 1.000 No
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 5.111 12
 11.663 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.889 12
 11.156 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.444 12
 10.142 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 3.556 12
 8.113 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.556 12
 3.550 0.351 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.333 12
 3.043 0.589 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 0.889 12
 2.028 0.953 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.667 12
 1.521 0.995 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 1.014 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.222 12
 0.507 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Low
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 14.889
 12 33.975 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 14.444
 12 32.961 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 14.444 12
 32.961 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 13.111
 12 29.918 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.556
 12 26.369 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 9.778 12
 22.312 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 8.889
 12 20.284 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 8.000 12
 18.255 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 7.333
 12 16.734 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 6.889 12
 15.720 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 4.889 12
 11.156 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 10.000 12
 22.819 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 9.556 12
 21.805 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 9.556 12
 21.805 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 8.222 12
 18.762 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 6.667 12
 15.213 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.889 12
 11.156 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 4.000 12
 9.128 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.111 12
 7.099 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. BAP/NAA 2.444 12
 5.578 0.009 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 2.000 12
 4.564 0.075 No
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 8.000 12
 18.255 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 7.556 12
 17.241 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 7.556 12
 17.241 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 6.222 12
 14.199 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 4.667 12
 10.649 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 2.889 12
 6.592 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 2.000 12
 4.564 0.075 No
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 1.111 12
 2.535 0.816 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.444 12
 1.014 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 7.556 12
 17.241 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 7.111 12
 16.227 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 7.111 12
 16.227 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 5.778 12
 13.184 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 4.222 12
 9.635 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 2.444 12
 5.578 0.009 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 1.556
 12 3.550 0.351 Do Not Test
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 0.667 12
 1.521 0.995 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 6.889 12
 15.720 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 6.444 12
 14.706 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 6.444 12
 14.706 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 5.111 12
 11.663 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.556 12
 8.113 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 1.778 12
 4.057 0.175 No
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 0.889 12
 2.028 0.953 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 6.000 12
 13.691 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 5.556 12
 12.677 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 5.556 12
 12.677 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.222 12
 9.635 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IAA 2.667 12
 6.085 0.003 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.889 12
 2.028 0.953 Do Not Test

CIN/NAA vs. BAP/IBA 5.111 12
 11.663 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 4.667 12
 10.649 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 4.667 12
 10.649 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 3.333 12
 7.606 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IAA 1.778 12
 4.057 0.175 No
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 3.333 12
 7.606 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 2.889 12
 6.592 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 2.889 12
 6.592 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 1.556 12
 3.550 0.351 No
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.778 12
 4.057 0.175 No
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.333 12
 3.043 0.589 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.333 12
 3.043 0.589 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 1.014 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 1.014 1.000 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs
 for a comparison when no
 significant difference is found
 between two
 means that enclose that
 comparison. For example, if you
 had four means sorted in order,
 and found no
 difference between means 4 vs.
 2, then you would not test 4 vs.
 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1
 and 3 vs. 1
 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed
 by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not
 testing the enclosed means is a
 procedural rule, and a result of
 Do Not Test should be treated as
 if there is no significant
 difference between
 the means, even though one
 may appear to exist.

Coffea arabica cv.
ICATU
 Two Way Analysis of Variance
 Dependent Variable: ICATU
 Normality Test (Shapiro-Wilk):
 Passed (P = 0.255)
 Equal Variance Test (Brown-
 Forsythe): Passed (P = 0.117)
 Source of Variation DF SS MS F
 P
 Phythormones 11 11730.021
 1066.366 1008.276 <0.001

Dose 2 8508.848 4254.424
 4022.665 <0.001
 Phythormones x Dose 22
 3949.424 179.519 169.740
 <0.001
 Residual 72 76.148 1.058
 Total 107 24264.440 226.770
 Main effects cannot be properly
 interpreted if significant
 interaction is determined. This is
 because the size
 of a factor's effect depends upon
 the level of the other factor.
 The effect of different levels of
 Phythormones depends on what
 level of Dose is present. There is
 a
 statistically significant
 interaction between
 Phythormones and Dose. (P =
 <0.001)
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for
 Phythormones : 1.000
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for Dose : 1.000
 Power of performed test with
 alpha = 0.0500: for
 Phythormones x Dose : 1.000
 Least square means for
 Phythormones :
 Group Mean
 TDZ/IAA 28.074
 TDZ/IBA 8.815
 TDZ/NAA 41.926
 CIN/IAA 24.963
 CIN/IBA 7.481
 CIN/NAA 13.852
 ZEA/IAA 21.852
 ZEA/IBA 6.667
 ZEA/NAA 13.778
 BAP/IAA 27.778
 BAP/IBA 7.630
 BAP/NAA 21.111
 Std Err of LS Mean = 0.343
 Least square means for Dose :
 Group Mean
 High 30.481
 Medium 16.407
 Low 9.093
 Std Err of LS Mean = 0.171
 Least square means for
 Phythormones x Dose :
 Group Mean
 TDZ/IAA x High 46.222
 TDZ/IAA x Medium 24.889
 TDZ/IAA x Low 13.111
 TDZ/IBA x High 13.556
 TDZ/IBA x Medium 8.444
 TDZ/IBA x Low 4.444
 TDZ/NAA x High 70.000
 TDZ/NAA x Medium 36.667
 TDZ/NAA x Low 19.111
 CIN/IAA x High 42.444
 CIN/IAA x Medium 21.333

CIN/IAA x Low 11.111	High vs. Medium 21.111 3	Comparisons for factor: Dose
CIN/IBA x High 10.667	35.556 <0.001 Yes	within BAP/IBA
CIN/IBA x Medium 6.667	Medium vs. Low 10.222 3	Comparison Diff of Means p q P
CIN/IBA x Low 5.111	17.216 <0.001 Yes	P<0.050
CIN/NAA x High 20.000	Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 7.778 3 13.099
CIN/NAA x Medium 12.889	within CIN/IBA	<0.001 Yes
CIN/NAA x Low 8.667	Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 5.333 3 8.982
ZEA/IAA x High 38.667	P<0.050	<0.001 Yes
ZEA/IAA x Medium 19.333	High vs. Low 5.556 3 9.357	Medium vs. Low 2.444 3 4.117
ZEA/IAA x Low 7.556	<0.001 Yes	0.013 Yes
ZEA/IBA x High 9.556	High vs. Medium 4.000 3 6.737	Comparisons for factor: Dose
ZEA/IBA x Medium 7.111	<0.001 Yes	within BAP/NAA
ZEA/IBA x Low 3.333	Medium vs. Low 1.556 3 2.620	Comparison Diff of Means p q P
ZEA/NAA x High 21.333	0.160 No	P<0.050
ZEA/NAA x Medium 11.333	Comparisons for factor: Dose	High vs. Low 19.556 3 32.936
ZEA/NAA x Low 8.667	within CIN/NAA	<0.001 Yes
BAP/IAA x High 50.222	Comparison Diff of Means p q P	High vs. Medium 10.444 3
BAP/IAA x Medium 20.889	P<0.050	17.591 <0.001 Yes
BAP/IAA x Low 12.222	High vs. Low 11.333 3 19.088	Medium vs. Low 9.111 3 15.345
BAP/IBA x High 12.000	<0.001 Yes	<0.001 Yes
BAP/IBA x Medium 6.667	High vs. Medium 7.111 3 11.977	Comparisons for factor:
BAP/IBA x Low 4.222	<0.001 Yes	Phytohormones within High
BAP/NAA x High 31.111	Medium vs. Low 4.222 3 7.111	Comparison Diff of Means p q P
BAP/NAA x Medium 20.667	<0.001 Yes	P<0.050
BAP/NAA x Low 11.556	Comparisons for factor: Dose	TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 60.444
Std Err of LS Mean = 0.594	within ZEA/IAA	12 101.801 <0.001 Yes
All Pairwise Multiple	Comparison Diff of Means p q P	TDZ/NAA vs. CIN/IBA 59.333 12
Comparison Procedures (Tukey	P<0.050	99.930 <0.001 Yes
Test):	High vs. Low 31.111 3 52.398	TDZ/NAA vs. BAP/IBA 58.000
Comparisons for factor: Dose	<0.001 Yes	12 97.684 <0.001 Yes
within TDZ/IAA	High vs. Medium 19.333 3	TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 56.444
Comparison Diff of Means p q P	32.561 <0.001 Yes	12 95.065 <0.001 Yes
P<0.050	Medium vs. Low 11.778 3	TDZ/NAA vs. CIN/NAA 50.000
High vs. Low 33.111 3 55.766	19.836 <0.001 Yes	12 84.211 <0.001 Yes
<0.001 Yes	Comparisons for factor: Dose	TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 48.667
High vs. Medium 21.333 3	within ZEA/IBA	12 81.965 <0.001 Yes
35.930 <0.001 Yes	Comparison Diff of Means p q P	TDZ/NAA vs. BAP/NAA 38.889
Medium vs. Low 11.778 3	P<0.050	12 65.497 <0.001 Yes
19.836 <0.001 Yes	High vs. Low 6.222 3 10.480	TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 31.333
Comparisons for factor: Dose	<0.001 Yes	12 52.772 <0.001 Yes
within TDZ/IBA	High vs. Medium 2.444 3 4.117	TDZ/NAA vs. CIN/IAA 27.556 12
Comparison Diff of Means p q P	0.013 Yes	46.409 <0.001 Yes
P<0.050	Medium vs. Low 3.778 3 6.363	TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 23.778
High vs. Low 9.111 3 15.345	<0.001 Yes	12 40.047 <0.001 Yes
<0.001 Yes	Comparisons for factor: Dose	TDZ/NAA vs. BAP/IAA 19.778
High vs. Medium 5.111 3 8.608	within ZEA/NAA	12 33.310 <0.001 Yes
<0.001 Yes	Comparison Diff of Means p q P	BAP/IAA vs. ZEA/IBA 40.667 12
Medium vs. Low 4.000 3 6.737	P<0.050	68.491 <0.001 Yes
<0.001 Yes	High vs. Low 12.667 3 21.333	BAP/IAA vs. CIN/IBA 39.556 12
Comparisons for factor: Dose	<0.001 Yes	66.620 <0.001 Yes
within TDZ/NAA	High vs. Medium 10.000 3	BAP/IAA vs. BAP/IBA 38.222 12
Comparison Diff of Means p q P	16.842 <0.001 Yes	64.374 <0.001 Yes
P<0.050	Medium vs. Low 2.667 3 4.491	BAP/IAA vs. TDZ/IBA 36.667 12
High vs. Low 50.889 3 85.708	0.006 Yes	61.755 <0.001 Yes
<0.001 Yes	Comparisons for factor: Dose	BAP/IAA vs. CIN/NAA 30.222 12
High vs. Medium 33.333 3	within BAP/IAA	50.901 <0.001 Yes
56.140 <0.001 Yes	Comparison Diff of Means p q P	BAP/IAA vs. ZEA/NAA 28.889
Medium vs. Low 17.556 3	P<0.050	12 48.655 <0.001 Yes
29.567 <0.001 Yes	High vs. Low 38.000 3 64.000	BAP/IAA vs. BAP/NAA 19.111
Comparisons for factor: Dose	<0.001 Yes	12 32.187 <0.001 Yes
within CIN/IAA	High vs. Medium 29.333 3	BAP/IAA vs. ZEA/IAA 11.556 12
Comparison Diff of Means p q P	49.404 <0.001 Yes	19.462 <0.001 Yes
P<0.050	Medium vs. Low 8.667 3 14.597	BAP/IAA vs. CIN/IAA 7.778 12
High vs. Low 31.333 3 52.772	<0.001 Yes	13.099 <0.001 Yes
<0.001 Yes		

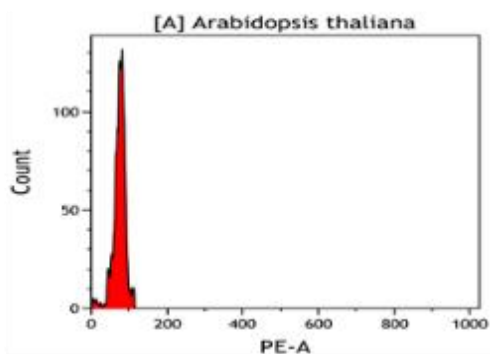
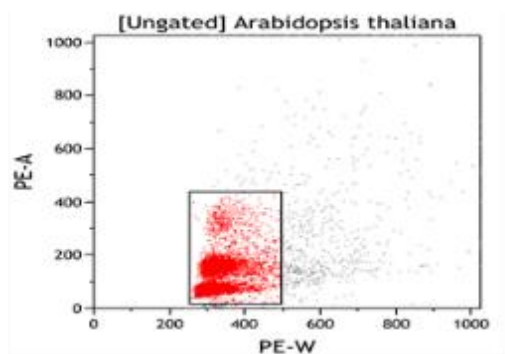
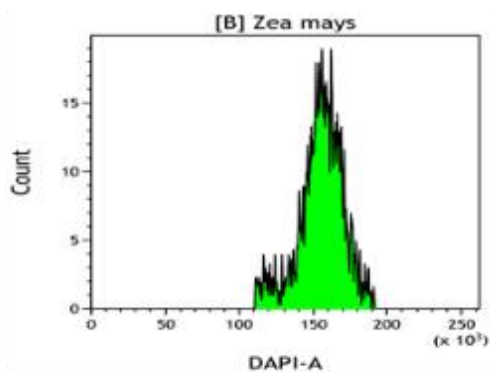
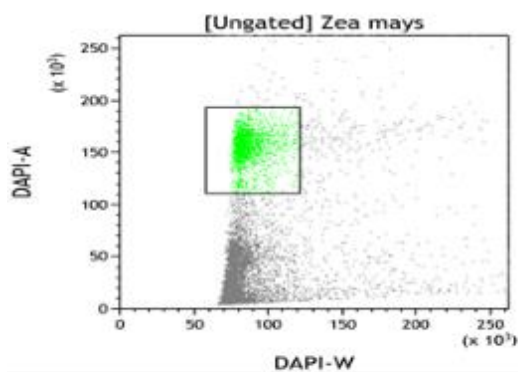
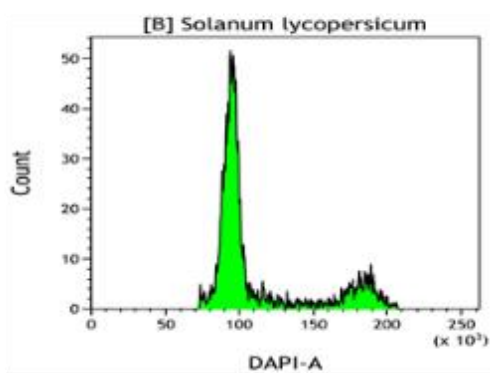
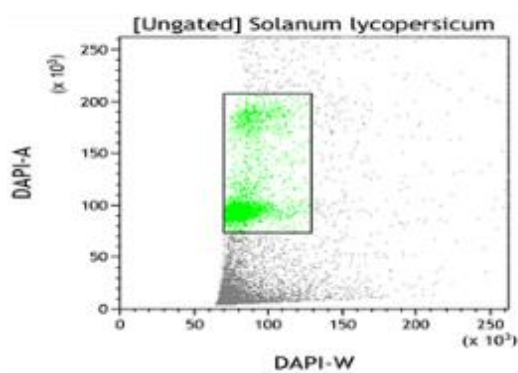
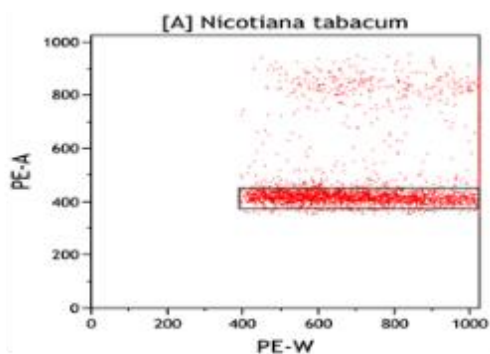
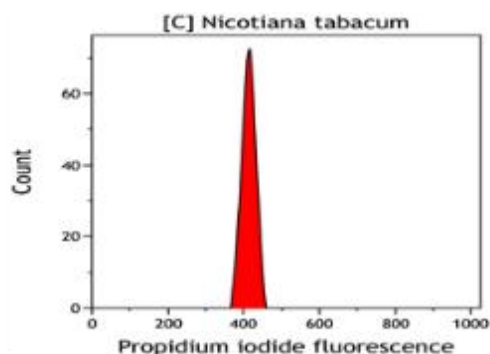
BAP/IAA vs. TDZ/IAA 4.000 12
 6.737 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 36.667 12
 61.755 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 35.556 12
 59.883 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 34.222 12
 57.638 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 32.667 12
 55.018 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 26.222 12
 44.164 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 24.889
 12 41.918 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 15.111
 12 25.450 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 7.556 12
 12.725 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.778 12
 6.363 0.002 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 32.889 12
 55.392 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 31.778 12
 53.521 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 30.444 12
 51.275 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 28.889 12
 48.655 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 22.444 12
 37.801 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 21.111 12
 35.556 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 11.333 12
 19.088 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.778 12
 6.363 0.002 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 29.111 12
 49.029 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 28.000 12
 47.158 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 26.667 12
 44.912 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 25.111 12
 42.292 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 18.667 12
 31.439 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 17.333
 12 29.193 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/NAA 7.556 12
 12.725 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 21.556
 12 36.304 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 20.444 12
 34.433 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 19.111
 12 32.187 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 17.556
 12 29.567 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 11.111
 12 18.713 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 9.778
 12 16.468 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 11.778
 12 19.836 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 10.667 12
 17.965 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 9.333 12
 15.719 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 7.778 12
 13.099 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 1.333 12
 2.246 0.908 No
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 10.444 12
 17.591 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 9.333 12
 15.719 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 8.000 12
 13.474 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 6.444 12
 10.854 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 4.000 12
 6.737 <0.001 Yes
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 2.889 12
 4.866 0.042 Yes
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.556 12
 2.620 0.783 No
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 2.444 12
 4.117 0.159 No
 BAP/IBA vs. CIN/IBA 1.333 12
 2.246 0.908 Do Not Test
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 1.111 12
 1.871 0.973 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Medium
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 30.000
 12 50.526 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 30.000 12
 50.526 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 29.556
 12 49.778 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 28.222
 12 47.532 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 25.333
 12 42.667 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 23.778
 12 40.047 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 17.333
 12 29.193 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 16.000
 12 26.947 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 15.778
 12 26.573 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 15.333 12
 25.825 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 11.778
 12 19.836 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IBA 18.222 12
 30.690 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 18.222 12
 30.690 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 17.778 12
 29.942 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 16.444 12
 27.696 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 13.556
 12 22.830 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 12.000 12
 20.211 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 5.556 12
 9.357 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 4.222 12
 7.111 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 4.000 12
 6.737 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 3.556 12
 5.988 0.004 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 14.667 12
 24.702 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 14.667 12
 24.702 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 14.222 12
 23.953 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 12.889 12
 21.708 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/NAA 10.000 12
 16.842 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 8.444 12
 14.222 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 2.000 12
 3.368 0.431 No
 CIN/IAA vs. BAP/NAA 0.667 12
 1.123 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. BAP/IAA 0.444 12
 0.749 1.000 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 14.222 12
 23.953 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 14.222 12
 23.953 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 13.778 12
 23.205 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 12.444 12
 20.959 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 9.556 12
 16.094 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 8.000 12
 13.474 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 1.556 12
 2.620 0.783 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.222 12
 0.374 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 14.000
 12 23.579 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 14.000 12
 23.579 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 13.556
 12 22.830 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 12.222
 12 20.585 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 9.333
 12 15.719 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 7.778 12
 13.099 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 1.333 12
 2.246 0.908 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 12.667 12
 21.333 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 12.667 12
 21.333 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 12.222 12
 20.585 <0.001 Yes

ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 10.889 12
 18.339 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. ZEA/NAA 8.000 12
 13.474 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/NAA 6.444 12
 10.854 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 6.222 12
 10.480 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 6.222 12
 10.480 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.778 12
 9.731 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.444 12
 7.485 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/NAA 1.556 12
 2.620 0.783 No
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.667 12
 7.860 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 4.667 12
 7.860 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 4.222 12
 7.111 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 2.889 12
 4.866 0.042 Yes
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 1.778 12
 2.994 0.613 No
 TDZ/IBA vs. CIN/IBA 1.778 12
 2.994 0.613 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.333 12
 2.246 0.908 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. BAP/IBA 0.444 12
 0.749 1.000 Do Not Test
 ZEA/IBA vs. CIN/IBA 0.444 12
 0.749 1.000 Do Not Test
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 Comparisons for factor:
 Phytohormones within Low
 Comparison Diff of Means p q P
 P<0.050
 TDZ/NAA vs. ZEA/IBA 15.778
 12 26.573 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IBA 14.889
 12 25.076 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IBA 14.667
 12 24.702 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IBA 14.000 12
 23.579 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/IAA 11.556
 12 19.462 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/NAA 10.444
 12 17.591 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. ZEA/NAA 10.444
 12 17.591 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. CIN/IAA 8.000 12
 13.474 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/NAA 7.556
 12 12.725 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. BAP/IAA 6.889 12
 11.602 <0.001 Yes
 TDZ/NAA vs. TDZ/IAA 6.000 12
 10.105 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IBA 9.778 12
 16.468 <0.001 Yes

TDZ/IAA vs. BAP/IBA 8.889 12
 14.971 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. TDZ/IBA 8.667 12
 14.597 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IBA 8.000 12
 13.474 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/IAA 5.556 12
 9.357 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/NAA 4.444 12
 7.485 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. ZEA/NAA 4.444 12
 7.485 <0.001 Yes
 TDZ/IAA vs. CIN/IAA 2.000 12
 3.368 0.431 No
 TDZ/IAA vs. BAP/NAA 1.556 12
 2.620 0.783 Do Not Test
 TDZ/IAA vs. BAP/IAA 0.889 12
 1.497 0.996 Do Not Test
 BAP/IAA vs. ZEA/IBA 8.889 12
 14.971 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. BAP/IBA 8.000 12
 13.474 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. TDZ/IBA 7.778 12
 13.099 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IBA 7.111 12
 11.977 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/IAA 4.667 12
 7.860 <0.001 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/NAA 3.556 12
 5.988 0.004 Yes
 BAP/IAA vs. ZEA/NAA 3.556 12
 5.988 0.004 Yes
 BAP/IAA vs. CIN/IAA 1.111 12
 1.871 0.973 Do Not Test
 BAP/IAA vs. BAP/NAA 0.667 12
 1.123 1.000 Do Not Test
 BAP/NAA vs. ZEA/IBA 8.222 12
 13.848 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. BAP/IBA 7.333 12
 12.351 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. TDZ/IBA 7.111 12
 11.977 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IBA 6.444 12
 10.854 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/IAA 4.000 12
 6.737 <0.001 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/NAA 2.889 12
 4.866 0.042 Yes
 BAP/NAA vs. ZEA/NAA 2.889
 12 4.866 0.042 Yes
 BAP/NAA vs. CIN/IAA 0.444 12
 0.749 1.000 Do Not Test
 CIN/IAA vs. ZEA/IBA 7.778 12
 13.099 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. BAP/IBA 6.889 12
 11.602 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. TDZ/IBA 6.667 12
 11.228 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/IBA 6.000 12
 10.105 <0.001 Yes
 CIN/IAA vs. ZEA/IAA 3.556 12
 5.988 0.004 Yes
 CIN/IAA vs. CIN/NAA 2.444 12
 4.117 0.159 No

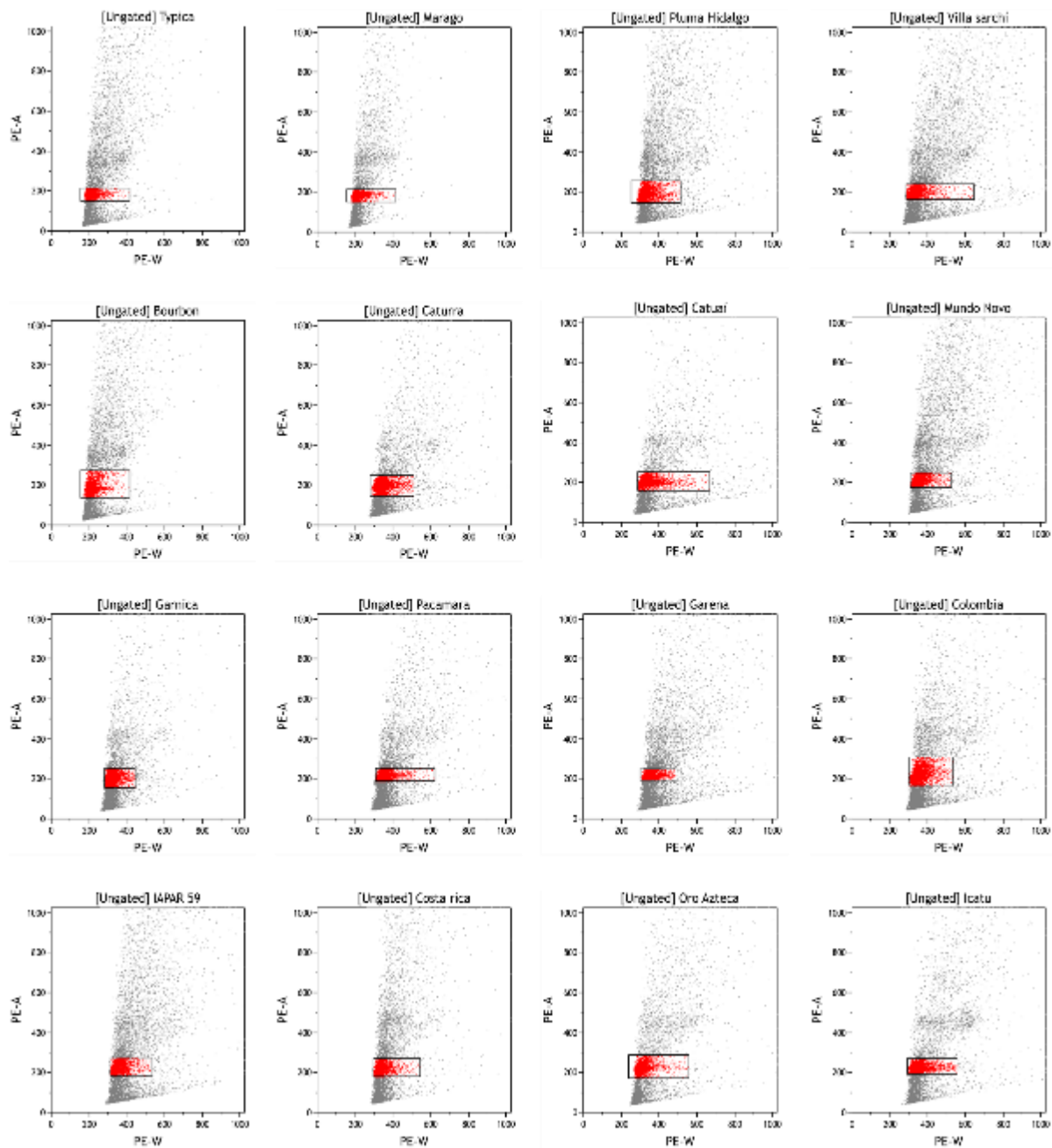
CIN/IAA vs. ZEA/NAA 2.444 12
 4.117 0.159 Do Not Test
 ZEA/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
 8.982 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. BAP/IBA 4.444 12
 7.485 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. TDZ/IBA 4.222 12
 7.111 <0.001 Yes
 ZEA/NAA vs. CIN/IBA 3.556 12
 5.988 0.004 Yes
 ZEA/NAA vs. ZEA/IAA 1.111 12
 1.871 0.973 No
 ZEA/NAA vs. CIN/NAA 0.000 12
 0.000 1.000 Do Not Test
 CIN/NAA vs. ZEA/IBA 5.333 12
 8.982 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. BAP/IBA 4.444 12
 7.485 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. TDZ/IBA 4.222 12
 7.111 <0.001 Yes
 CIN/NAA vs. CIN/IBA 3.556 12
 5.988 0.004 Yes
 CIN/NAA vs. ZEA/IAA 1.111 12
 1.871 0.973 Do Not Test
 ZEA/IAA vs. ZEA/IBA 4.222 12
 7.111 <0.001 Yes
 ZEA/IAA vs. BAP/IBA 3.333 12
 5.614 0.009 Yes
 ZEA/IAA vs. TDZ/IBA 3.111 12
 5.240 0.020 Yes
 ZEA/IAA vs. CIN/IBA 2.444 12
 4.117 0.159 No
 CIN/IBA vs. ZEA/IBA 1.778 12
 2.994 0.613 No
 CIN/IBA vs. BAP/IBA 0.889 12
 1.497 0.996 Do Not Test
 CIN/IBA vs. TDZ/IBA 0.667 12
 1.123 1.000 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. ZEA/IBA 1.111 12
 1.871 0.973 Do Not Test
 TDZ/IBA vs. BAP/IBA 0.222 12
 0.374 1.000 Do Not Test
 BAP/IBA vs. ZEA/IBA 0.889 12
 1.497 0.996 Do Not Test
 A result of "Do Not Test" occurs
 for a comparison when no
 significant difference is found
 between two
 means that enclose that
 comparison. For example, if you
 had four means sorted in order,
 and found no
 difference between means 4 vs.
 2, then you would not test 4 vs.
 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1
 and 3 vs. 1
 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed
 by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not
 testing the enclosed means is a
 procedural rule, and a result of
 Do Not Test should be treated as
 if there is no significant
 difference

Anexo 6. Análisis del ciclo celular y graficas Dot plot de diferentes plantas modelo usadas como estándares para Citometría de flujo.



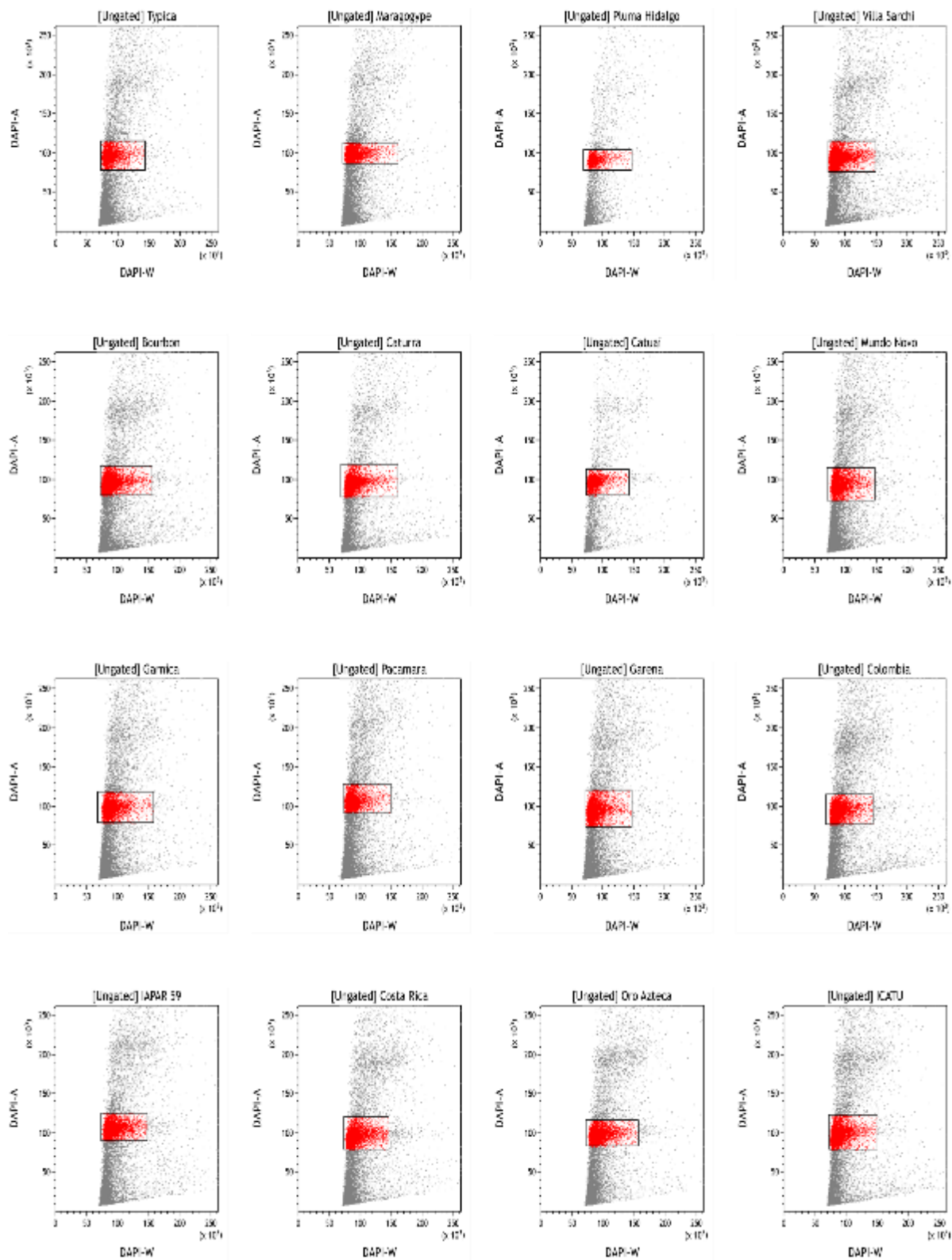
Anexo 7. Graficas de dispersión celular (Dot-plot) de 16 cultivares de *C. arabica*.

IP fue usado como compuesto de tinción de núcleos.



Anexo 8. Graficas de dispersión celular (Dot-plot) de 16 cultivares de *C. arabica*.

DAPI fue usado como compuesto de tinción de núcleos.



Anexo 9. Prueba *t* de student. Comparación del tamaño de genoma de 16 Cultivares de *C. arabica*. Soya y *C. canephora* fueron usados como estándares, IP como compuesto de tinción.

Los cultivares que no pasaron la prueba de normalidad también fueron evaluados con el análisis de suma de rangos Mann-Whitney.

***Coffea arabica* cv. Typica:**

Dependent Variable: Typica

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.181)

Equal Variance Test: Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	2.558	2.556	2.560
<i>C. canephora</i>	3	0	2.524	2.522	2.527

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.100)

***Coffea arabica* cv. Maragogype:**

Dependent Variable: Marago

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.181)

Equal Variance Test: Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: 2C soya vs canephora in t student 2c genome canephora vs soya

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	2.612	2.611	2.613
<i>C. canephora</i>	3	0	2.577	2.576	2.578

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.100)

***Coffea arabica* cv. Pluma Hidalgo:**

Dependent Variable: Pluma H

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.181)
Equal Variance Test: Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: 2C soya vs canephora in t student 2c genome canephora vs soya

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	2.660	2.660	2.660
<i>C. canephora</i>	3	0	2.625	2.624	2.625

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.100)

Coffea arabica cv. Villa sarchi:

Dependent Variable: Villa S

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.176)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.914)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Soya	3	0	2.761	0.000916	0.000529
<i>C. canephora</i>	3	0	2.724	0.000904	0.000522

Difference 0.0365

t = 49.071 with 4 degrees of freedom. (P = <0.001)

95 percent confidence interval for difference of means: 0.0344 to 0.0385

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Power of performed test with alpha = 0.050: 1.000

Coffea arabica cv. Bourbon:

Dependent Variable: Bourbon

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.181)

Equal Variance Test: Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: 2C soya vs canephora in t student 2c genome canephora vs soya

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	2.858	2.858	2.858
<i>C. canephora</i>	3	0	2.820	2.820	2.820

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.100)

Coffea arabica cv. Caturra:

Dependent Variable: Caturra

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.181)

Equal Variance Test: Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: 2C soya vs canephora in t student 2c genome canephora vs soya

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	2.877	2.877	2.878
<i>C. canephora</i>	3	0	2.839	2.839	2.840

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.100)

Coffea arabica cv. Catuai:

Dependent Variable: Catuai

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.181)

Equal Variance Test: Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: 2C soya vs canephora in t student 2c genome canephora vs soya

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	2.884	2.883	2.884
<i>C. canephora</i>	3	0	2.846	2.845	2.846

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.100)

Coffea arabica cv. Mundo Novo:

Dependent Variable: Mundo N

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.102)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.980)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Soya	3	0	2.896	0.000430	0.000248
<i>C. canephora</i>	3	0	2.857	0.000424	0.000245

Difference 0.0382

t = 109.620 with 4 degrees of freedom. (P = <0.001)

95 percent confidence interval for difference of means: 0.0373 to 0.0392

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).
Power of performed test with $\alpha = 0.050$: 1.000

Coffea arabica cv. Garnica:

Dependent Variable: Garnica

Normality Test (Shapiro-Wilk) Failed ($P < 0.050$)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: 2C soya vs canephora in t student 2c genome canephora vs soya

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	2.930	2.930	2.930
<i>C. canephora</i>	3	0	2.891	2.891	2.892

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0.100$)

Coffea arabica cv. Pacamara:

Dependent Variable: Pacamara

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed ($P = 0.147$)

Equal Variance Test: Passed ($P = 0.967$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Soya	3	0	2.994	0.000354	0.000205
<i>C. canephora</i>	3	0	2.954	0.000350	0.000202

Difference 0.0395

t = 137.577 with 4 degrees of freedom. ($P = <0.001$)

95 percent confidence interval for difference of means: 0.0387 to 0.0403

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

Power of performed test with $\alpha = 0.050$: 1.000

Coffea arabica cv. Garena:

Dependent Variable: Garena

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed ($P = 0.163$)

Equal Variance Test: Passed ($P = 0.954$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Soya	3	0	3.026	0.000494	0.000285
<i>C. canephora</i>	3	0	2.986	0.000488	0.000282

Difference 0.0400

t = 99.663 with 4 degrees of freedom. (P = <0.001)

95 percent confidence interval for difference of means: 0.0389 to 0.0411

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Power of performed test with alpha = 0.050: 1.000

Coffea arabica cv. Colombia:

Dependent Variable: Colombia

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.147)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.967)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Soya	3	0	3.050	0.000354	0.000205
<i>C. canephora</i>	3	0	3.010	0.000350	0.000202

Difference 0.0403

t = 140.163 with 4 degrees of freedom. (P = <0.001)

95 percent confidence interval for difference of means: 0.0395 to 0.0411

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Power of performed test with alpha = 0.050: 1.000

Coffea arabica cv. IAPAR 59:

Dependent Variable: IAPAR

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0.181)

Equal Variance Test: Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: 2C soya vs canephora in t student 2c genome canephora vs soya

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	3.054	3.053	3.055
<i>C. canephora</i>	3	0	3.014	3.013	3.015

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.100)

Coffea arabica cv. Costa Rica:

Dependent Variable: C rica

Normality Test (Shapiro-Wilk) Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: 2C soya vs canephora in t student 2c genome canephora vs soya

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	3.125	3.122	3.125
<i>C. canephora</i>	3	0	3.084	3.081	3.084

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.100)

Coffea arabica cv. Oro Azteca:

Dependent Variable: Oro Azteca

Normality Test (Shapiro-Wilk) Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: 2C soya vs canephora in t student 2c genome canephora vs soya

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	3.154	3.154	3.155
<i>C. canephora</i>	3	0	3.113	3.112	3.113

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.100)

Coffea arabica cv. ICATU:

Dependent Variable: ICATU

Normality Test (Shapiro-Wilk) Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: 2C soya vs canephora in t student 2c genome canephora vs soya

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Soya	3	0	3.159	3.158	3.159
<i>C. canephora</i>	3	0	3.117	3.117	3.117

Mann-Whitney U Statistic= 0.000

T = 15.000 n(small)= 3 n(big)= 3 P(est.)= 0.081 P(exact)= 0.100

The difference in the median values between the two groups is not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.100)

Anexo 10 Análisis Fisher's Least Significant Difference (LSD). Comparación del tamaño de genoma de 16 Cultivares de *C. arabica*. Soya y *C.canephora* fueron usados como estándares, IP como compuesto de tinción de núcleos.

Abreviación	Cultivar	Valor 2C (pg)	Error (pg)	Error Relativo	Varianza
y2	Typica	2.56	0.0629	0.0246	27.3529
y3	Marago	2.61	0.0692	0.0265	31.9225
y4	Pluma H	2.66	0.0678	0.0255	29.4849
y5	Villa sarchi	2.76	0.0545	0.0198	17.7241
y6	Bourbon	2.86	0.0760	0.0266	32.0356
y7	Caturra	2.89	0.0193	0.0067	37.5769
y8	Catuai	2.89	0.0193	0.0067	19.7136
y9	Mundo N	2.9	0.0194	0.0067	18.4041
y10	Garnica	2.93	0.0777	0.0265	31.9225
y11	Pacamara	2.99	0.0886	0.0296	39.9424
y12	Garena	3.03	0.0708	0.0234	24.7009
y13	Colombia	3.05	0.0362	0.0119	26.5225
y14	Iapar 59	3.05	0.0362	0.0119	24.6016
y15	Costa rica	3.12	0.0838	0.0269	32.8329
y16	Oro azteca	3.16	0.0416	0.0132	27.2484
y17	Icatu	3.16	0.0417	0.0132	36.2404

Varianza global	0.035204995
SW	44.01771861
F calculada	4800883.95
v1 (grados de libertad num)	2
v2 (grados de libertad dem)	30
F tablas 0.05 (2,30)	3.32
MSW	3.107213333
LSD	0.13356

			/y5	y7/	0.135562947	/y9	y14/	0.133919609
		LSD	/y5	y8/	0.131795948	/y9	y15/	0.149574541
/y2	y3/	0.125650761	/y5	y9/	0.147676126	/y9	y16/	0.139169526
/y2	y4/	0.146162088	/y5	y10/	0.137127142	/y9	y17/	0.149211861
/y2	y5/	0.144218777	/y5	y11/	0.147308758	/y10	y11/	0.145639345
/y2	y6/	0.13135611	/y5	y12/	0.143688946	/y10	y12/	0.148069004
/y2	y7/	0.129918728	/y5	y13/	0.146151018	/y10	y13/	0.155958724
/y2	y8/	0.125983075	/y5	y14/	0.154138949	/y10	y14/	0.144808615
/y2	y9/	0.142512461	/y5	y15/	0.142846836	/y10	y15/	0.154280051
/y2	y10/	0.131550053	/y5	y16/	0.152440259	/y10	y16/	0.136941136
/y2	y11/	0.142131747	/y5	y17/	0.134699807	/y10	y17/	0.135562903
/y2	y12/	0.138376575	/y6	y7/	0.141663073	/y11	y12/	0.131795964
/y2	y13/	0.140931485	/y6	y8/	0.125650764	/y11	y13/	0.147676076
/y2	y14/	0.149199125	/y6	y9/	0.146162114	/y11	y14/	0.137127084
/y2	y15/	0.137501934	/y6	y10/	0.144218736	/y11	y15/	0.147308722
/y2	y16/	0.147443534	/y6	y11/	0.131356061	/y11	y16/	0.143688896
/y2	y17/	0.129017833	/y6	y12/	0.129918724	/y11	y17/	0.146150984
/y3	y4/	0.133607077	/y6	y13/	0.125983135	/y12	y13/	0.15413891
/y3	y5/	0.131478327	/y6	y14/	0.142512447	/y12	y14/	0.142846824
/y3	y6/	0.117225946	/y6	y15/	0.131550034	/y12	y15/	0.152440311
/y3	y7/	0.115613022	/y6	y16/	0.142131748	/y12	y16/	0.134699781
/y3	y8/	0.111172074	/y6	y17/	0.138376563	/y12	y17/	0.125650764
/y3	y9/	0.129604385	/y7	y8/	0.140931488	/y13	y14/	0.146162114
/y3	y10/	0.117443226	/y7	y9/	0.149199122	/y13	y15/	0.144218736
/y3	y11/	0.129185635	/y7	y10/	0.137501961	/y13	y16/	0.131356061
/y3	y12/	0.125042279	/y7	y11/	0.147443509	/y13	y17/	0.129918724
/y3	y13/	0.127863905	/y7	y12/	0.129017849	/y14	y15/	0.125983135
/y3	y14/	0.136922875	/y7	y13/	0.133607111	/y14	y16/	0.142512447
/y3	y15/	0.124073675	/y7	y14/	0.131478288	/y14	y17/	0.131550034
/y3	y16/	0.135007743	/y7	y15/	0.117225897	/y15	y16/	0.142131748
/y3	y17/	0.114599721	/y7	y16/	0.115613024	/y15	y17/	0.138376563
/y4	y5/	0.122708942	/y7	y17/	0.111172149	/y16	y17/	0.140931488
/y4	y6/	0.151201167	/y8	y9/	0.129604375			
/y4	y7/	0.138986204	/y8	y10/	0.11744321			
/y4	y8/	0.137628533	/y8	y11/	0.129185643			
/y4	y9/	0.133919648	/y8	y12/	0.125042271			
/y4	y10/	0.149574526	/y8	y13/	0.127863915			
/y4	y11/	0.139169514	/y8	y14/	0.136922877			
/y4	y12/	0.149211831	/y8	y15/	0.124073711			
/y4	y13/	0.145639328	/y8	y16/	0.135007721			
/y4	y14/	0.148068972	/y8	y17/	0.114599746			
/y4	y15/	0.155958699	/y9	y10/	0.12270893			
/y4	y16/	0.14480856	/y9	y11/	0.151201156			
/y4	y17/	0.154280047	/y9	y12/	0.138986187			
/y5	y6/	0.136941098	/y9	y13/	0.13762856			

Anexo 11 Prueba *t* de student. Comparación del tamaño de genoma de 16 cultivares de *C. arabica* usando DAPI y IP como compuestos de tinción de núcleos.

Coffea arabica cv. Typica:

Dependent Variable: Typica

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.975)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Failed (P < 0.050)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.029	0.000839	0.000484
PI	3	0	2.558	0.00225	0.00130

Difference of means 0.470

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 338.947 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.467 to 0.474

Two-tailed P-value = 0.000000000455

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 338.947 with 2.545 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.464 to 0.476

Two-tailed P-value = 0.000000544

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Coffea arabica cv. Maragogype:

Dependent Variable: Marago

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.593)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 1.000)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.127	0.000193	0.000111
PI	3	0	2.612	0.000986	0.000569

Difference of means 0.516

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 889.599 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.514 to 0.517

Two-tailed P-value = 9.580E-012

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 889.599 with 2.152 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.513 to 0.518

Two-tailed P-value = 0.000000498

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

***Coffea arabica* cv. Pluma Hidalgo:**

Dependent Variable: Pluma H

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.202)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.387)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.128	0.00260	0.00150
PI	3	0	2.660	0.000141	0.0000813

Difference of means 0.468

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 310.924 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.464 to 0.472

Two-tailed P-value = 0.00000000642

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 310.924 with 2.012 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.462 to 0.475

Two-tailed P-value = 0.00000975

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

***Coffea arabica* cv. Villa Sarchi:**

Dependent Variable: Villa S

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.529$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.299$)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.141	0.00117	0.000676
PI	3	0	2.761	0.000916	0.000529

Difference of means 0.380

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

$t = 442.809$ with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.378 to 0.382

Two-tailed P-value = 0.000000000156

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

$t = 442.809$ with 3.781 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.378 to 0.383

Two-tailed P-value = 0.000000000469

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

***Coffea arabica* cv. Bourbon:**

Dependent Variable: Bourbon

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.403$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.343$)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.145	0.00126	0.000729
PI	3	0	2.858	0.000141	0.0000813

Difference of means 0.287

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

$t = 391.803$ with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.285 to 0.289

Two-tailed P-value = 0.00000000255

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

$t = 391.803$ with 2.050 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.284 to 0.290

Two-tailed P-value = 0.00000500

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

***Coffea arabica* cv. Caturra:**

Dependent Variable: Caturra

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.854$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Failed ($P < 0.050$)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.184	0.00217	0.00125
PI	3	0	2.877	0.000563	0.000325

Difference of means 0.307

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

$t = 236.950$ with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.303 to 0.310

Two-tailed P-value = 0.0000000190

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

$t = 236.950$ with 2.268 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.301 to 0.312

Two-tailed P-value = 0.00000495

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

***Coffea arabica* cv. Catuai:**

Dependent Variable: Catuai

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.794$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.246$)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.188	0.000839	0.000484
PI	3	0	2.884	0.000563	0.000325

Difference of means 0.304

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 521.282 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.303 to 0.306

Two-tailed P-value = 8.126E-011

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 521.282 with 3.498 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.302 to 0.306

Two-tailed P-value = 0.00000000111

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Coffea arabica cv. Mundo Novo:

Dependent Variable: Mundo N

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.864)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.225)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.192	0.000667	0.000385
PI	3	0	2.896	0.000430	0.000248

Difference of means 0.296

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 645.905 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.295 to 0.297

Two-tailed P-value = 3.447E-011

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 645.905 with 3.419 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.295 to 0.297

Two-tailed P-value = 0.000000000812

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Coffea arabica cv. Garnica:

Dependent Variable: Garnica

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.900)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Failed (P < 0.050)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.199	0.00100	0.000578
PI	3	0	2.930	0.000293	0.000169

Difference of means 0.269

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 447.392 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.268 to 0.271

Two-tailed P-value = 0.000000000150

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 447.392 with 2.341 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.267 to 0.272

Two-tailed P-value = 0.000000793

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Coffea arabica cv. Pacamara:

Dependent Variable: Pacamara

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.251)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Failed (P < 0.050)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.251	0.00534	0.00308
PI	3	0	2.994	0.000354	0.000205

Difference of means 0.258

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 83.365 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.249 to 0.266

Two-tailed P-value = 0.000000124

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 83.365 with 2.018 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.244 to 0.271

Two-tailed P-value = 0.000135

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Coffea arabica cv. Garena:

Dependent Variable: Garena

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.660)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.132)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.260	0.000667	0.000385
PI	3	0	3.026	0.000494	0.000285

Difference of means 0.234

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 487.420 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.232 to 0.235

Two-tailed P-value = 0.000000000106

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 487.420 with 3.689 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.232 to 0.235

Two-tailed P-value = 0.000000000525

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

***Coffea arabica* cv. Colombia:**

Dependent Variable: Colombia

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.800$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.102$)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.273	0.00135	0.000778
PI	3	0	3.050	0.000354	0.000205

Difference of means 0.223

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

$t = 277.092$ with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.221 to 0.225

Two-tailed P-value = 0.0000000102

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

$t = 277.092$ with 2.275 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.219 to 0.226

Two-tailed P-value = 0.00000335

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups ($P = <0.001$).

***Coffea arabica* cv. IAPAR 59:**

Dependent Variable: IAPAR

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.319$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Failed ($P < 0.050$)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.282	0.00100	0.000578
PI	3	0	3.054	0.00113	0.000650

Difference of means 0.228

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 261.751 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.225 to 0.230

Two-tailed P-value = 0.00000000128

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 261.751 with 3.945 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.225 to 0.230

Two-tailed P-value = 0.00000000164

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Coffea arabica cv. Costa Rica:

Dependent Variable: C rica

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.957)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.151)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.305	0.00433	0.00250
PI	3	0	3.124	0.00176	0.00102

Difference of means 0.181

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 66.894 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.173 to 0.188

Two-tailed P-value = 0.000000299

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 66.894 with 2.642 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.169 to 0.192

Two-tailed P-value = 0.0000243

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Coffea arabica cv. Oro Azteca:

Dependent Variable: Oro Azteca

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.707)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.056)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.476	0.00117	0.000676
PI	3	0	3.154	0.000293	0.000169

Difference of means 0.322

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 462.246 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.320 to 0.324

Two-tailed P-value = 0.00000000131

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 462.246 with 2.250 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.319 to 0.325

Two-tailed P-value = 0.00000120

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Coffea arabica cv. ICATU:

Dependent Variable: ICATU

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.698)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Failed (P < 0.050)

The result of the equal variance test indicates the likelihood that the two groups are sampled from populations with equal variances, but does not guarantee the equality or inequality of the two variances.

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
DAPI	3	0	3.500	0.00150	0.000868
PI	3	0	3.159	0.000293	0.000169

Difference of means 0.341

Use the results of Welch's test, where equal variances are not assumed, if the equality of the population variances of the two groups is in doubt.

Equal Variances Assumed (Student's t-test):

t = 385.605 with 4 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.339 to 0.343

Two-tailed P-value = 0.00000000271

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Equal Variances Not Assumed (Welch's t-test):

t = 385.605 with 2.152 degrees of freedom.

95 percent two-tailed confidence interval for difference of means: 0.337 to 0.345

Two-tailed P-value = 0.00000302

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Anexo 12. Cálculo del AT% y GC%

Mean fluorescence DAPI Glycine max	70.48	binding length of DAPI	3.5
Mean fluorescence PI Glycine max	163.36		
		Glycine max AT%	63.6

AT%= AT% for standard [(mean fluorescence standard DAPI/ mean fluorescence sample DAPI)/(mean fluorescence standard PI/mean fluorescence sample PI)](1/binding length).

GC%= 100 – AT%

Typica

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.86
$y = x^{1/3}$	0.96
%AT= 63.6*y	60.98
%GC= 100 - %AT	39.02

Maragotype

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.85
$y = x^{1/3}$	0.96
%AT= 63.6*y	60.78
%GC= 100 - %AT	39.22

Pluma H

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.87
$y = x^{1/3}$	0.96
%AT= 63.6*y	61.09
%GC= 100 - %AT	38.91

Villa Sarchi

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.90
$y = x^{1/3}$	0.97
%AT= 63.6*y	61.68
%GC= 100 - %AT	38.32

Bourbon

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.93
$y = x^{1/3}$	0.98
%AT= 63.6*y	62.26
%GC= 100 - %AT	37.74

Caturra

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.92
$y = x^{1/3}$	0.98
%AT= 63.6*y	62.17
%GC= 100 - %AT	37.83

Catuai

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.92
---	------

DAPI)/(mean fluorescence standard PI/mean fluorescence sample PI)	
$y = x^{(1/3)}$	0.98
%AT= 63.6*y	62.19
%GC= 100 - %AT	37.81

Garnica

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.94
$y = x^{(1/3)}$	0.98
%AT= 63.6*y	62.41
%GC= 100 - %AT	37.59

Garena

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.95
$y = x^{(1/3)}$	0.99
%AT= 63.6*y	62.65
%GC= 100 - %AT	37.35

IAPAR 59

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.95
$y = x^{(1/3)}$	0.99
%AT= 63.6*y	62.69
%GC= 100 - %AT	37.31

Mundo N

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.93
$y = x^{(1/3)}$	0.98
%AT= 63.6*y	62.24
%GC= 100 - %AT	37.76

Pacamara

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.94
$y = x^{(1/3)}$	0.98
%AT= 63.6*y	62.50
%GC= 100 - %AT	37.50

Colombia

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.95
$y = x^{(1/3)}$	0.99
%AT= 63.6*y	62.71
%GC= 100 - %AT	37.29

Costa Rica

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.97
$y = x^{(1/3)}$	0.99
%AT= 63.6*y	62.97
%GC= 100 - %AT	37.03

Oro Azteca

$x = (\text{mean fluorescence standard DAPI} / \text{mean fluorescence sample DAPI}) / (\text{mean fluorescence standard PI} / \text{mean fluorescence sample PI})$	0.93
$y = x^{(1/3)}$	0.98
%AT= 63.6*y	62.24
%GC= 100 - %AT	37.76