

## CAPITULO I

### 1.1. INTRODUCCION

El duraznero (*Prunus Persica L.*) es una especie de árbol robusto de copa ovalada con una vida útil económica de 20 años. Es un cultivo muy apreciado por la exquisitez de sus frutos; al tener propiedades nutricionales; ser ricos en su contenido de proteínas, minerales, carbohidratos, vitaminas (A, B y C), escasa cantidad de grasa y ceniza, que son consumidas en forma natural o procesada.

En el mundo, la sexta producción frutícola de importancia corresponde a los carozos, siendo cercana a 23 millones de toneladas en las cuales duraznos y nectarines corresponde a algo más del 50%.

Los principales países productores son China, Italia y Estados Unidos.

Por otro lado, Chile tiene aproximadamente 18.000 ha entre huertos en producción y en formación según la misma fuente, por lo tanto tiene una participación dentro de la superficie mundial del 0.82 %.

Actualmente en Bolivia; el duraznero es cultivado principalmente en los valles del departamento de Cochabamba, Chuquisaca, Tarija, La Paz, Potosí y Santa Cruz. La producción de durazno es realizada por pequeños agricultores, y está distribuida en valles entre 1.500 y 3.300 msnm. (FDTA-Valles, 2007.)

En los últimos años se han abierto nuevas zonas de producción de durazno de maduración temprana, especialmente en los valles mesotérmicos de Santa Cruz y valles de Tarija. La mayoría de las zonas frutícolas cuentan con riego temporal. Se estima en un 20% de la superficie de cultivos de durazno es a secano.

Este cultivo se ha visto afectada principalmente por nematodos, y por suelos pobres y alcalinos con problemas de replantación.

Una forma de evitar tales problemas fitosanitarios es la propagación del duraznero mediante cultivo in vitro. Además que la micropropagación se ha constituido en una técnica muy eficiente para producir plantas enteras fenotípicamente y genotípicamente idénticas a la planta madre de la que derivaron. (Aguirre et al, 2010)

El cultivo in vitro, es el cultivo de organismos vivos en medios estériles, en condiciones asépticas de laboratorio, dotándole al material vivo todos los requerimientos nutricionales, en la que a partir de un pequeño segmento inicial de tejido es posible regenerar en poco tiempo miles o millones de plantas genéticamente iguales a la planta madre, conservando la variedad deseada y disponibilidad en cualquier época del año, ventaja que solo se obtiene por medio del cultivo in vitro. (Aguirre et al, 2010)

## **1.2. JUSTIFICACION**

Es necesario recurrir a métodos que incrementen la multiplicación del material vegetal, para cubrir de alguna manera la demanda de plantas de duraznero.

Se pueden obtener, en tiempo record, gran cantidad de plantas idénticas entre sí, con alto vigor y libres de plagas y enfermedades.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 .Objetivo general.**

Desarrollar un protocolo para el establecimiento “in vitro” del duraznero (*Prunus pérsica* L) variedad Ulineate Amarillo, en el laboratorio de Cultivos in vitro de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales.

### **1.3.2 Objetivos específicos.**

- Determinación el método adecuado para la desinfección del material vegetal.
- Evaluar la respuesta del durazno frente a 2 medios de cultivo de la fase de establecimiento.
- Determinar la concentración adecuado de fitorreguladores para la fase del establecimiento in vitro del durazno.

### **1.4 HIPOTESIS**

El Duraznero se puede establecer y multiplicar en diferentes medios de cultivo dentro de las instalaciones del laboratorio de Fitopatología y Cultivo In Vitro de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales de la Universidad Autónoma “Juan Misael Saracho”.

## **CAPITULO II**

### **2.1. MARCO TEORICO**

#### **2.1.1 Importancia del cultivo del duraznero**

El duraznero, también llamado melocotonero, es una de las especies frutales más populares que se cultivan en las zonas templadas de todo el mundo. Gracias al continuo trabajo de mejoramiento genético ha evolucionado muchísimo desde su estado silvestre hasta nuestros días. Es el frutal con mayor número de variedades, apareciendo constantemente nuevos cultivares, con mejores características, especialmente en su fruta. (Gratacós, E.2011)

Los frutos son muy apreciados por sus propiedades nutricionales por ser ricos en su contenido de proteínas, minerales, carbohidratos, vitaminas (A, B y C), escasa cantidad de grasa y ceniza, que son consumidas en forma natural o procesada (Damas, 2002).

La fruta en la mayoría de las variedades contiene entre 85 – 89% de agua, la cantidad de azúcar (Brix) varía con la variedad y el manejo de la plantación, además contiene una buena cantidad de sales minerales, compuestos aromáticos, ácidos orgánicos y vitaminas (FDTA – Valles, 2007).

Propiedades terapéuticas: Es diurético y se lo prescribe en los casos de retención de orina, cálculos y arenillas en las vías urinarias. El té de sus flores tiene propiedades laxantes y las hojas son diuréticas, purgantes u antiespasmódicas (Salena, 2000).

La producción de durazno en Bolivia, y Tarija es realizada por pequeños agricultores, y está distribuida en valles entre 1.500 y 3.300 msnm. (FDTA-Valles, 2007).

### **2.1.2 Origen**

Es un árbol originario de China, Afganistán e Irán. Fue traído a occidente por los romanos que lo tomaron como originario de Persia y así lo denominaron. Esta denominación, «persica» - usada en sus antiguas denominaciones genérica o específica (*Prunus pérsica*, *Amygdalus persicus*, *Persica vulgaris*) - persiste en numerosos nombres populares ibéricos como, por ejemplo, alberchigo (el périco) o bresquilla/fresquilla (por metátesis de «persquilla»). (Wikipedia)

### **2.1.3 Clasificación Taxonómica**

El duraznero es una planta caducifolia, perenne y su clasificación botánica es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rosales

Familia: Rosaceae

Subfamilia: Amygdaloideae

Tribu: Amygdaleae

Género: *Prunus*

Especie: *Prunus pérsica*

(Herbario Universitario, 2016)

## **2.1.4 Descripción morfológica del duraznero**

### **2.1.4.1 Raíces**

El Sistema radical es inicialmente profundo y con una raíz central o pivotante muy larga, luego se torna muy ramificado y superficial (Castro Silva et al, 1998; Alvarado et al, 1999).

Existe un marcado antagonismo entre los sistemas radiculares de las plantas próximas, que induce a las raíces de cada planta a no invadir el terreno adyacente, fenómeno causado por principios alelopáticos propios de la especie. La zona explorada por las raíces ocupa una superficie mayor que la zona de proyección de la copa, se considera como el doble del área de sombra (INFOAGRO, 2003).

### **2.1.4.2 Tallos**

Árbol pequeño, su copa mide de 5 a 6 metros, es ovalada y aplomada. Las ramas gruesas son divergentes, cambian de color rojizo a parduzco, se resquebrajan a una edad avanzada (Silva Lezama, 1968); las ramas jóvenes son verdes, se vuelven rojizas y de color pardo (café-grisáceo) a medida envejecen. El tronco es medianamente grueso y corto, con corteza de color pardo que se desprende en láminas (Alvarado et al, 1999; Romero, 2002).

En climas tropicales de altura, alcanzan un porte mediano; en las tierras altas de Colombia, se encuentran árboles de hasta 8 metros de altura (Castro Silva et al, 1998).

### **2.1.4.3 Hojas**

Las hojas son oblongas lanceoladas, con una longitud generalmente de 140-180 mm y una anchura de 40-50 mm el limbo es liso y a veces ondulado a lo largo del nervio central, los bordes son serrados, crenados o doblemente dentados. El color de las hojas en otoños es un índice para la distinción de las variedades de pulpa o carne amarilla de las de pulpa blanca las hojas de las primeras se colorean de amarillo

intenso o anaranjado claro y las de las segundas de amarillo claro (28,30). (INFOAGRO, 2003).

#### **2.1.4.4 Flor**

Son generalmente solitarias, a veces en parejas, casi sentadas, de color rosa a rojo (según la variedad) y de 2 a 3.5 cm. De diámetro (INFOAGRO, 2003).

Cada yema floral produce una flor axilar, completa y hermafrodita; el cáliz es gamosépalo, caduco; la corola está compuesta por cinco pétalos dispuestos alternadamente con los sépalos. Los estambres son de 25 a 30, insertos en el borde del receptáculo, nacen en el fondo de la copa, por lo cual el ovario fecundado forma una drupa sípera monosperma (Alvarado et al, 1999).

Es una especie considerada como autocompatible en su polinización, quizás autógena, no alternante. La fecundación tiene lugar de 24 a 48 horas después de la polinización (INFOAGRO, 2003). Esta característica permite la plantación en grandes lotes de variedades autofructíferas, sin necesidad de otras variedades para la polinización. Algunas variedades no poseen polen viable y no son autofructíferas, por lo que necesitan plantarse junto a otra de polen viable para permitir la polinización (Alvarado et al, 1999).

#### **2.1.4.5 Fruto**

El fruto es una drupa (pericarpio membranoso, mesocarpio pulposo y endocarpio leñoso) de forma más o menos globosa con un surco longitudinal bien marcado y una cavidad alrededor del pedúnculo. El pericarpio puede ser adherente a la pulpa o fácilmente separable. La pulpa adherida puede ser de color amarillo (del amarillo claro al anaranjado) o blanco el hueso adherente a la pulpa o libre. Es frecuente el caso de pigmentación roja en la pulpa que en algunos casos puede cubrir casi completamente el color de fondo. (Alvarado et al, 1999).

## **2.1.5 Principales enfermedades, plagas del duraznero**

### **2.1.5.1 Torque del Duraznero (Hongo: *Taphrina deformans*)**

Este hongo es convive con durazneros y nectarinas, y está presente donde quiera que se produzcan duraznos, con la posible excepción de los trópicos, ya que la enfermedad no se desarrolla bien en temperaturas altas. Sin embargo, en algunas regiones subtropicales, se producen variedades adaptadas a tierras frías, y el torque probablemente ocurre durante los meses más fríos del ciclo de producción.

Síntomas: ataca en época de cosecha y pos cosecha afectando a la planta entera; hojas, tallos, puntos de crecimiento, flores, y frutos (Boa,E; Bentley J; González,A. 2001)

Se produce un engrosamiento de los tejidos o hipertrofias purpura rojizas, enrulamiento y luego formación de polvo gris en las hojas. (Calderón, A. 1984)

### **2.1.5.2 Oidio del duraznero (*Sphaeroteca pannosa*)**

Sintomatología: Aparecimiento de un polvillo blanco sobre las hojas nuevas, los extremos de los brotes y los frutos, aparecen luego necrosis y deformaciones en los lugares de infección.

El oídio deforma las hojas las que caen prematuramente debilitando el árbol.

Este es un hongo muy independiente de la humedad ambiental desarrollándose entre 43 y 100% de la humedad relativa. Tanto las hojas como las ramillas verdes se tornan mas resistentes a medida que ellas envejecen .Los frutos son particularmente susceptibles desde la cuaja hasta el endurecimiento del carozo.  
<http://organichile.blogspot.com/>

### **2.1.5.3 Podredumbre blanda (*Rhizopus stolonifer* )**

La podredumbre blanda es una de las enfermedades más importantes en la poscosecha del duraznero y en determinadas condiciones puede ocasionar pérdidas totales. (INIA, Soria J. 2010)

Organismo causal; Es ocasionada por *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. ex Fr.) Lind., un hongo inferior perteneciente a la clase Zigomycetes. Este hongo no posee tabiques en su micelio (micelio cenocítico). Se reproduce asexualmente produciendo esporangiosporas en esporangios y sexualmente mediante la producción de zigosporas. (INIA, Soria J. 2010)

Síntomas y signos: La podredumbre de los frutos se inicia como pequeñas manchas húmedas de color marrón que avanzan rápidamente. En las zonas afectadas, la piel se desprende con facilidad, se ablanda la pulpa y se liberan líquidos por acción de las enzimas pectinolíticas producidas por el hongo. A su vez, sobre los frutos podridos comienza a crecer abundante micelio blanco que luego produce los esporangióforos con esporangios que se tornan de color negro. (INIA, Soria J. 2010)

### **2.1.5.4 Podredumbre morena ( *Monilinia fructicola* )**

La podredumbre morena de los frutales de carozo (género *Prunus*) es la enfermedad a hongos más importante que afecta al cultivo de durazneros en nuestro país. Su importancia radica en el ataque a flores, brotes y frutos ocasionando la destrucción de los mismos. Es una enfermedad de difícil control cuando ocurren condiciones favorables a su desarrollo.

Síntomas, signos y daños: Al comienzo de la temporada, el primer órgano en ser atacado es la flor, produciéndose su marchitamiento o atizonamiento. Los estambres, pistilos, pétalos o sépalos pueden ser invadidos por el hongo produciéndose pequeñas manchas marrones que se extienden a toda la flor. Normalmente la flor atizonada permanece adherida y el hongo luego avanzará sobre la ramita produciendo una lesión denominada cancro. Sobre estas flores atacadas y en condiciones de alta

humedad se puede apreciar el signo del hongo consistente en micelio y conidios en cadena, de color grisáceo. (INIA, Soria J. 2010)

#### **2.1.5.5 Gomosis, cancer o cancro del tallo (*Pseudomonas syringae* )**

Es una enfermedad que se presenta en la mayoría de las zonas productoras del mundo causando daños en la producción. Se hace evidente la muerte descendente de ramas y la presencia de un cáncer calloso durante la primavera. Una característica importante es la presencia de excesiva de goma que emana de las heridas. La corteza enferma se vuelve oscura con una apariencia acuosa, el área afectada se hunde. Cuando el cáncer bacteriano ahoga ramas o el tronco, las hojas se enrollan y se tornan amarillentas, el crecimiento se detiene y el árbol muere. En esta enfermedad se pueden identificar dos fases (tizón de flores y de yemas muertas). Normalmente el cáncer no se extiende más abajo del cuello del árbol. (Santoyo J.2012)

#### **2.1.5.6 Pulgón (áfido) del Duraznero ( *Myzus persicae* )**

Etapas Fenológicas Afectadas: Floración, germinación, vegetativa, y post-cosecha.

Partes de la Planta Afectadas: Planta entera, hojas, tallos, yemas de crecimiento, y flores.

Síntomas: Las poblaciones de áfidos suelen estar dispersas cuando están sobre sus hospederos de verano. *M. persicae* usualmente se alimenta sobre hojas viejas, especialmente junto a las venas. El efecto de la infestación depende mucho de la planta hospedera y especialmente de los virus que se transmiten. Las infestaciones de áfidos en duraznero causan severo encrespamiento de hojas y distorsiones de las yemas. Producen menos mielecilla que muchas otras especies de áfidos, ya que no forman densas colonias; por lo tanto, se forma menos fumagina en las hojas. En cultivos como la papa y las brásicas, *M. persicae* ocurre en bajas densidades, especialmente en las hojas más viejas. (Boa,E; Bentley J; González,A. 2001)

#### **2.1.5.7 Agalla de la corona (*Agrobacterium tumefaciens*)**

Distribución e importancia: Esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuida, afectando a más de 200 especies de plantas. Los frutales más afectados son el durazno, pero ataca también a manzano, aguacate, ciruelo, membrillo, olivo, peral y zarzamora.

Síntomas: Se caracteriza por la presencia de tumores o agallas en las raíces primarias y secundarias cerca de la base del tallo. Cuando se van formando son de color cremoso y suaves al tacto, conforme van madurando se tornan rugosa y leñosas. (Santoyo J.2012)

#### **2.1.5.8 Marchitez del durazno (*Verticillium*)**

Se encuentra ampliamente en todo el mundo sus síntomas son: la defoliación en las ramas afectadas al principio de verano, presencia de hojas blancas y opacas antes de caer. Puede afectar toda la copa, un lado de la rama, provocando achaparramiento general. En árboles enfermos no siempre mueren; sino que permanecen achaparrados durante varios años.

Su diseminación se da por medio de vareta y yemas, a través del viento, agua superficial del terreno, suelo contaminado y por raíces de árboles contaminados a sanos. (Morales L.2005)

#### **2.1.6 Descripción de variedades de duraznero**

El Duraznero es la especie de mayor dinamismo varietal dentro de los frutales, cada año aparecen numerosas novedades en el mercado y la renovación varietal es de las más rápidas. Debido a las características climáticas y de producción, la distribución varietal no solo varía con el tiempo sino también en las áreas de cultivo.

La elección de variedades tiene enormes posibilidades y no resulta sencilla. Los principales criterios de elección son: requerimientos edafoclimáticos, destino de la fruta (consumo industrial o en fresco), demanda del mercado, época de producción, vocación y área de producción y calidad de la fruta.

Algunas de las variedades de melocotonero más cultivadas son:

**2.1.6.1 De pulpa blanca.** Las variedades de pulpa esencialmente blanca, pueden ser con o sin vetas, con estrías verdosas y/o rojizas (según la variedad), total o parcialmente desprendida del hueso en el momento en que alcanza la madurez. La epidermis tiene vello y puede presentar una coloración muy diversa tanto en el porcentaje de epidermis que cubre, como en el tipo de color (rojo o rosado) así como en la intensidad del mismo.

Entre las variedades de pulpa blanca, están las de tipo europeo y las de tipo americano. Las de tipo europeo pueden ser de tipo clásico o tradicional (escasa coloración rosa o rojiza sobre fondo blanco verdoso, buena calidad gustativa y notable aroma); y de tipo moderno o actual (mejora en la coloración y pulpa más fibrosa y menos pastosa).

Las variedades de tipo americano destacan, por su vistosidad y gran atractivo: la mayoría tienen una coloración rosa intenso que suele cubrir prácticamente el fruto. Entre las variedades destacan: M<sup>a</sup> Blanca, Large White, Iris Roso, Flordalgo, M<sup>a</sup> Delicia, y Alexandra.

**2.1.6.2 De pulpa amarilla.** Bajo esta denominación se engloban los frutos que tienen piel con vello y cuya pulpa está total o parcialmente desprendida del hueso, hecho especialmente relevante en la madurez del fruto. Destacan las variedades: Springcrest, Spring Lady, Redhaven, SpringBelle, St. Isidoro, Royal Glory, Rich Lady, Redtop, M<sup>a</sup> Rosa, Maycrest, Early Maycrest, Flavorcrest, Early grande, Queen Crest y Starcrest.

**2.1.6.3 Tipo pavía.** Son variedades de pulpa dura o semidura adherida al hueso. Hay múltiples variedades según sea su aprovechamiento (industria, consumo en fresco) y su origen, destacando: An-dross, Catherina, Everts, Suney, Tirrenia, Ionia, M<sup>a</sup> Serena, Federica, Romea, Carson, Muntaingold, Babygold (5-6-7-9) y Sudanell.

En Sudamérica las cifras de producción se disparan y países como Brasil y Chile están incrementando sus volúmenes productivos de manera impresionante a partir de variedades como Springcrest, Elegant Lady, Early Sungrad o Flavor Top. En el sur de Europa y América, cada vez son más escasas las horas-frío necesarias para la mayoría de variedades californianas. Por este motivo existen problemas con variedades de melocotón como Springcrest y Maycrest, que no alcanzan la calidad deseada debido a esta falta de frío. Ello ha llevado a un interés creciente por la gama de variedades con bajas necesidades de frío como: Flordastar y Flordaking (en melocotón amarillo), Flordaglo (en melocotón blanco).

### **2.1.7 Propagación in vitro de vegetales**

El cultivo in vitro es una técnica para propagar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial, obteniendo plántulas idénticas a la planta madre.(INIA)

Esta forma de cultivar las plantas tiene dos características fundamentales: la asepsia (ausencia de gérmenes, etc.), y el control de los factores que afectan el crecimiento. Reproducir en condiciones de laboratorio todos los factores que conforman el ambiente de la planta en la naturaleza es técnicamente muy complejo. Por esa razón se realiza una simplificación de la realidad escogiendo aquellos factores que se puedan mantener controlados. (Aguirre et al. 2010)

Los métodos de propagación vegetativa in vitro son:

- Esquejes de segmentos nodales
- Método de las yemas axilares
- Regeneración de explantos
- Formación de raíces adventicias
- Formación de vástagos adventicios
- Cultivo de callos

- Regeneración de órganos
- Regeneración de embriones
- Regeneración de plantas a partir de células aisladas.

### **2.1.7.1 Etapas de la propagación in vitro**

Dentro del proceso de micro propagación se pueden diferenciar varias fases o etapas:

#### **2.1.7.1.1 FASE 0: PREPARATIVA**

1. Seleccionar el material de partida: Debe ser una planta joven, vigorosa y sin enfermedades.
2. Obtener un trozo de tallo cilíndrico lo más cercano al meristemo apical.

#### **2.1.7.1.2 FASE I: ESTABLECIMIENTO**

Lograr el establecimiento del meristemo de forma vigorosa para iniciar la multiplicación a gran escala.

- a. Preparar el medio de cultivo para el establecimiento: Se utiliza un medio sólido (confeccionado con agar-nutriente) enriquecido con vitaminas, minerales y hormonas. Las sustancias decisivas son las auxinas que promueven la división y alargamiento celular.
- b. Extraer e implantar (sembrar) en el medio el ápice meristemático: Lo que en realidad se entierra (siembra) en el medio de cultivo es un conjunto de 2 ó 3 hojas en formación que rodean directamente al ápice meristemático.
- c. A los 30 días ya tenemos una o dos vitroplantas por cada meristemo sembrado: En este punto si queremos que las plántulas estén más vigorosas hay que pasarlas a medio de cultivo fresco y estarán listas para la próxima fase. (Aguirre et al. 2010)

### **2.1.7.1.3 FASE II: MULTIPLICACIÓN**

Lograr el mayor número de plantas posibles, en el menor tiempo, a partir de las plantas establecidas. Evidentemente la multiplicación es en progresión geométrica hasta obtener millones en pocos meses. En este caso la composición del medio de cultivo (semisólido) cambia, aumentando considerablemente el contenido de citoquininas (6 BAP) que estimulan la aparición de los brotes laterales o "hijos".

### **2.1.7.1.4 FASE III: ENRAIZAMIENTO**

Lograr que las plántulas multiplicadas logren un óptimo sistema de raíces. En este caso el medio utilizado es líquido y lo que aumenta considerablemente es el contenido de auxinas (AIA) que estimulan la diferenciación de las raíces.

Se deben tener en cuenta los siguientes consejos:

- No se deben usar citoquininas.
- Si se disminuye el contenido de sales del medio se logra una mayor inducción de raíces.
- El aumento de la concentración de sacarosa produce un buen enraizamiento.
- Los medios líquidos aumentan el volumen de plantas y reducen los costos.

### **2.1.7.1.5 FASE IV: ACLIMATACIÓN**

La aclimatación es un proceso que permite que las plantas que han crecido "in vitro", en condiciones heterótrofas y que sólo han estado expuestas a un microambiente escogido en condiciones totalmente controladas de temperatura, humedad y luz se adapten y sobrevivan en condiciones "ex vitro" adquiriendo condiciones autótrofas, donde tendrá que regular adecuadamente sus procesos de absorción, traslocación y transpiración de agua. (Aguirre et al. 2010)

### **2.1.8 Principales reguladores del crecimiento empleados en cultivo de tejidos**

Constituyen un elemento fundamental para el cultivo in vitro de células, tejidos y órganos para lograr el desarrollo de los mismos in vitro. Los medios de cultivo tienen una serie de componentes generales y específicos cuya presencia y concentración estará en dependencia del objetivo que se persiga en su utilización

Los medios de cultivo están constituidos por componentes inorgánicos, los cuales son suministrados en cantidades relativamente grandes (macronutrientes) y otros añadidos en menor cantidad (micronutrientes).

Dentro de los macronutrientes, se encuentran iones de nitrógeno (N), potasio (K), calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg) y azufre (S).

El medio de cultivo más utilizado es la formulación de las sales Murashige y Skoog (1962) el cual fue desarrollado inicialmente para el crecimiento de callos de tabaco y en la actualidad se emplea como medio de cultivo basal para un grupo importantes de plantas de interés para la alimentación y con fines ornamentales. Sales minerales del medio de cultivo de Murashige y Skoog. (Llorente Berta, 2003)

#### **2.1.8.1 Macronutrientes**

Los macronutrientes son constituyentes esenciales para el crecimiento de los tejidos vegetales debido a que intervienen en la conservación del equilibrio iónico en las plantas.

Estos macronutrientes proveen los seis elementos indispensables: Nitrógeno (N), Fosforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg) y Azufre (S). La concentración óptima de cada nutriente para alcanzar la máxima tasa de crecimiento varía considerablemente entre especies y la finalidad del cultivo. (Gino, A. et al. 2010)

### **2.1.8.2 Micronutrientes**

Los micronutrientes representan un papel esencial en los mecanismos enzimáticos como activadores o constituyentes de las coenzimas. Los principales micronutrientes son: Hierro (Fe), Manganeseo (Mn), Zinc (Zn), Boro (B), Cobre (Cu), Cloro (Cl) y molibdeno (Mo). (Gino, A. et al. 2010)

### **2.1.8.3 Reguladores de crecimiento**

Se entiende por reguladores de crecimiento a las hormonas vegetales, las mismas que son sintetizadas en un determinado lugar de la planta y se traslocan a otro dónde actúan a muy bajas concentraciones, regulando el crecimiento, desarrollo o metabolismo del vegetal. El término “sustancias reguladoras del crecimiento” es más general y abarca a las sustancias, tanto de origen natural como sintetizadas en laboratorio que determinan respuestas a nivel de crecimiento, metabolismo o desarrollo en la planta. (Gino, A. et al. 2010)

### **2.1.8.4 Agente quelatos**

López (1990) indica que son necesarios para la síntesis de la clorofila. Existen varios agentes quelatos, pero el más usado es el EDTA (ácido etilendiamin Tetra Acético) por ser menos tóxico que otros quelatos y que en combinación con  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  en bajas concentraciones, estimula el crecimiento permitiendo la disponibilidad de hierro al cultivo. (Gino, A. et al. 2010)

### **2.1.8.5 Carbohidratos**

Margara (1998), señala que los tejidos *in vitro* son organismos heterótrofos y por esta razón es indispensable añadir una fuente de carbono al medio de cultivo, como fuente de energía y regulador osmótico.

La sacarosa es la fuente de energía más utilizada en el cultivo *in vitro*, pero en ocasiones se emplea otros carbohidratos como la glucosa, galactosa y maltosa, pero estos compuestos son inferiores a la sacarosa, que puede ser sustituida por azúcar comercial, lográndose a obtener óptimos resultados. (Gino, A. et al. 2010)

### **2.1.8.6 Vitaminas**

La única vitamina que ha demostrado tener importancia en cultivos de células y de órganos es la Tiamina; algunas otras se utilizan debido a que pueden estimular procesos de crecimiento específico. (Hurtado, D. et al. 1987)

### **2.1.8.7 Sustancias gelificantes**

El agar es el material de soporte más ampliamente usado en el cultivo de tejidos, pues provee al medio de un excelente gel húmedo que sirve como soporte. Sin embargo fisiológicamente no es inerte, puesto que es una fuente de cantidades variables de sustancias inhibitoras o estimulantes del crecimiento. (Hurtado, D. et al. 1987)

### **2.1.9 Situación mundial del cultivo del duraznero**

En el mundo, la sexta producción frutícola de importancia corresponde a los carozos, siendo cercana a 23 millones de toneladas en las cuales duraznos y nectarines corresponde a algo más del 50%.

La superficie mundial de estos corresponde a 2.190.536 ha al año 2001 (FAO).

Los principales países productores son China, Italia y Estados Unidos.

Por otro lado, Chile tiene aproximadamente 18.000 ha entre huertos en producción y en formación según la misma fuente, por lo tanto tiene una participación dentro de la superficie mundial del 0.82 %.

### **2.2.0 Situación nacional y regional del cultivo del duraznero**

La producción de durazno en Bolivia, y Tarija es realizada por pequeños agricultores, y está distribuida en valles entre 1.500 y 3.300 msnm.

Superficie cultivada, las parcelas de durazno, tienen en promedio entre 0,35 – 0,5ha de superficie; principalmente en los departamentos de Cochabamba, Tarija, Chuquisaca, Potosí, Santa Cruz y La Paz; llegando a un superficie total aproximada de 4.100ha.

En los últimos años se han abierto nuevas zonas de producción de durazno de maduración temprana, especialmente en los valles mesotérmicos de Santa Cruz y valles de Tarija. La mayoría de las zonas frutícolas cuentan con riego temporal. Se estima en un 20% de la superficie de cultivos de durazno es a secano.

## **CAPITULO III**

### **3.1. Ubicación geográfica**

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el departamento de Tarija, Provincia Cercado Zona el Tejar, en las instalaciones del laboratorio de Fitopatología y Cultivo In Vitro de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho, ubicado geográficamente entre los paralelos 21° y 15` de latitud sur y los meridianos 64° 21` y 65° 05` de longitud Oeste, con una altura promedio de 1850 m.s.n.m.

### **3.2 Material y Equipo**

#### **3.2.1 Equipo**

- Agitador
- Balanza
- Microondas
- Autoclave
- Hornos
- Cámara flujo laminar

#### **3.2.2 Material**

- Frascos de vidrio
- Tubos de ensayo
- Probetas
- Pipetas
- Vasos de precipitado

- Pinzas
- Mecheros
- Bisturís
- Cajas Petri
- Plaquetas de vidrio

### **3.2.3 Material Biológico**

- Plantas de Duraznero variedad Ulincate amarillo.

## **3.3 Metodología**

Se trabajara con el método de cultivo in vitro, abarcando la fase de establecimiento, comenzara con la preparación de los diferentes medios de cultivo con diferentes concentraciones de BAP y se utilizaran los diferentes métodos de desinfección.

### **3.3.1 Preparación del medio de cultivo M&S y el medio de cultivo para leñosos WPM.**

Se prepararan los medios en la fase de establecimiento in vitro del duraznero.

Los medios de cultivo se prepararan en tubos de ensayos para luego ser esterilizados en autoclave automática.

Los medios de cultivo están constituidos de la siguiente manera:

**WPM (Medio para Plantas Leñosas)**

- ✚ M1: Macroelementos
- ✚ M2: Microelementos
- ✚ M3: Vitaminas
- ✚ M4: Fuentes de hierro
- ✚ Mio inisitol
- ✚ Sacarosa
- ✚ Agar
- ✚ BAP en diferentes concentraciones:
  - **Primer ensayo** (0,5-1,5-2,5)
  - **Segundo ensayo** (o, 5-1-1,5)

**M Y S (Murashige y Skoog.)**

- ✚ MYS
- ✚ Mio inisitol
- ✚ Sacarosa
- ✚ Agar
- ✚ BAP en diferentes concentraciones:
  - **Primer ensayo** (0,5-1,5-2,5)
  - **Segundo ensayo** (o,5-1-1,5)

### **3.3.1.1 Esterilización de los medios de cultivo**

Se colocaron 20 ml del medio de cultivo en tubos de ensayo y se depositaron dentro de una autoclave automática, para ser esterilizados durante 20 minutos mediante la aplicación de calor húmedo, bajo una presión interna de 1.2 atmosferas y una temperatura de 121°C. Luego el material fue enfriado y almacenado en un lugar fresco para ser utilizado en el menor tiempo posible para la fase de establecimiento in vitro del duraznero.

Se realizara el establecimiento de explantes del duraznero variedad ulincate amarillo, se hará un corte de los esquejes de aproximadamente 1 cm con un bisturí para luego someterlos al protocolo de desinfección.

### **3.3.1.2 Esterilización de los materiales**

Se esterilizaron los materiales como ser: Pinzas, cajas petri, bisturí, vasos de precipitados, tubo de ensayos y plaquetas de vidrio.

Estos materiales se envolvieron en periódicos para ser esterilizados en calor seco en un horno a una temperatura de 150 °C durante un tiempo de dos horas y media.

## **3.3.2 Métodos de desinfección de los explantes**

**3.3.2.1 METODO 1:** Consiste en realizar la desinfección de los explantes con Formol al 40%, por espacio de 10 minutos en cámara cerrada para luego realizar la siembra.

**3.3.2.2 METODO 2:** Consiste en sumergir a los esquejes en detergente líquido, sumergir en alcohol al 70% por diez segundos, enjuagar con agua destilada estéril, luego sumergir en hipoclorito de sodio al 2.5 % por diez minutos después enjuagar tres veces con agua destilada estéril por el tiempo de 3 minutos para posteriormente sembrar en los tubos de ensayo en la cámara de flujo laminar en condiciones de asepsia.

### **3.4 Diseño Experimental**

El diseño experimental que se empleara para determinar las diferencias significativas es completamente al azar (en la fase de establecimiento) con un arreglo bi factorial 6x2, un total de 12 tratamientos y con 3 réplicas haciendo un total de 36 unidades experimentales.

#### **3.4.1 Variables a Estudiar en los ensayos:**

Una vez realizada la introducción del duraznero se procederá a realizar una evaluación al final de cada ensayo; tomando en cuenta los siguientes parámetros:

##### **3.4.1.1 Porcentaje de contaminación.**

Para evaluar el porcentaje de contaminación se realizó la observación de forma visual de los diferentes tratamientos para su respectiva evaluación.

##### **3.4.1.2 Porcentaje de regeneración**

De igual manera la evaluación se realizó en forma visual a los 15 días de iniciada la introducción, contando los explantes que se han regenerado.

##### **3.4.1.3 Tamaño de los brotes a los 15 días**

Para la evaluación de la variable “Tamaño de brotes” se procedió a medir con una regla cada explante; el tamaño que tenía a los 15 días de haber realizado la introducción.

##### **3.4.1.4 Tamaño de los brotes a los 30 días**

Para dicha evaluación se procedió a medir con una regla el tamaño que tenía el explante a los 30 días de su introducción.

### **3.4.2 Tratamientos**

#### **Primer Ensayo**

**T1=M1D1**= Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5% y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T2=M1D2**= Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

**T3=M2D1**= Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T4=M2D2**= Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

**T5=M3D1**= Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 2,5%, y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T6=M3D2**= Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 2,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

**T7=M4D1**= Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog), con concentraciones de BAP al 0,5% y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T8=M4D2**= Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 0,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

**T9=M5D1**= Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T10=M5D2=** Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

**T11=M6D1=** Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 2,5%, y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T12=M6D2=** Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 2,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

### **Segundo Ensayo**

**T1=M1D1=** Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5% y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T2=M1D2=** Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

**T3=M2D1=** Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 1%, y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T4=M2D2=** Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 1%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

**T5=M3D1=** Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T6=M3D2=** Constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

**T7=M4D1=** Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog), con concentraciones de BAP al 0,5% y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T8=M4D2=** Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 0,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

**T9=M5D1=** Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1%, y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T10=M5D2=** Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

**T11=M6D1=** Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección de Formol al 40%.

**T12=M6D2=** Constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

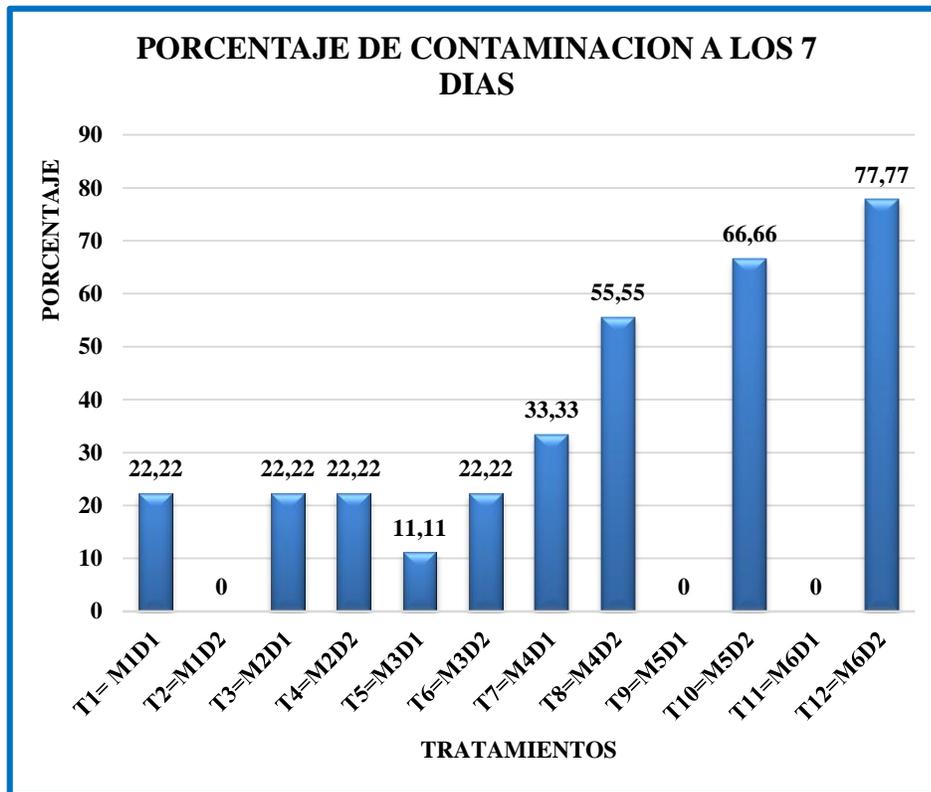
##### PRIMER ENSAYO

Los datos e información recogida del trabajo titulado “ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DEL DURAZNERO (*Prunus pérsica* L) VARIEDAD ULINCATE AMARILLO” en el Laboratorio de Fitopatología y Cultivo *In vitro*, dieron los siguientes resultados; como sigue:

##### 4.1 PORCENTAJE DE CONTAMINACION A LOS 7 DIAS

**CUADRO N°1: PORCENTAJE DE CONTAMINACION A LOS 7 DIAS**

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			$\Sigma$	$\bar{X}$
	I	II	III		
T1= M1D1	33,33	0,00	33,33	66,66	22,22
T2=M1D2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T3=M2D1	33,33	33,33	0,00	66,66	22,22
T4=M2D2	33,33	33,33	0,00	66,66	22,22
T5=M3D1	33,33	0,00	0,00	33,33	11,11
T6=M3D2	33,33	33,33	0,00	66,66	22,22
T7=M4D1	33,33	33,33	33,33	99,99	33,33
T8=M4D2	66,66	66,66	33,33	166,65	55,55
T9=M5D1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T10=M5D2	33,33	66,66	100,00	199,99	66,66
T11=M6D1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T12=M6D2	66,66	100,00	66,66	233,32	77,77
$\Sigma$ Blog.				999,92	

**GRAFICA N°1: PORCENTAJE DE CONTAMINACION A LOS 7 DIAS**

Como se puede observar en el gráfico N°1, el tratamiento que presenta mayor porcentaje de contaminación es el N°12 constituido por el medio de cultivo M&S con concentraciones de BAP al 2,5%, y desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 % presentando un 77,77 % de contaminación, seguido del tratamiento N° 10 constituido por el medio de cultivo M&S con concentraciones de BAP al 1,5%, y desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %; con una contaminación del 66,66%, seguidamente el N° 8 constituido por medio de cultivo M&S con concentraciones de BAP al 0,5%; y desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %; con 55,55 % de contaminación y finalmente el tratamiento N° 2, el tratamiento N° 9 y el 11 no tuvieron contaminación alguna.

#### 4.1.1 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE PORCENTAJE DE CONTAMINACION A LOS 7 DIAS

**CUADRO N°2: TABLA DE DOBLE ENTRADA MEDIO/DESINFECCION**

MED./DESIN.	D1	D2	$\Sigma$	X
M1	66,66	0	66,66	5,555
M2	66,66	66,66	133,32	11,11
M3	33,33	66,66	99,99	8,3325
M4	99,99	166,65	266,64	22,22
M5	0,00	199,99	199,99	16,67
M6	0,00	233,32	233,32	19,44
$\Sigma$	266,64	733,28	999,92	
X	22,22	61,11		

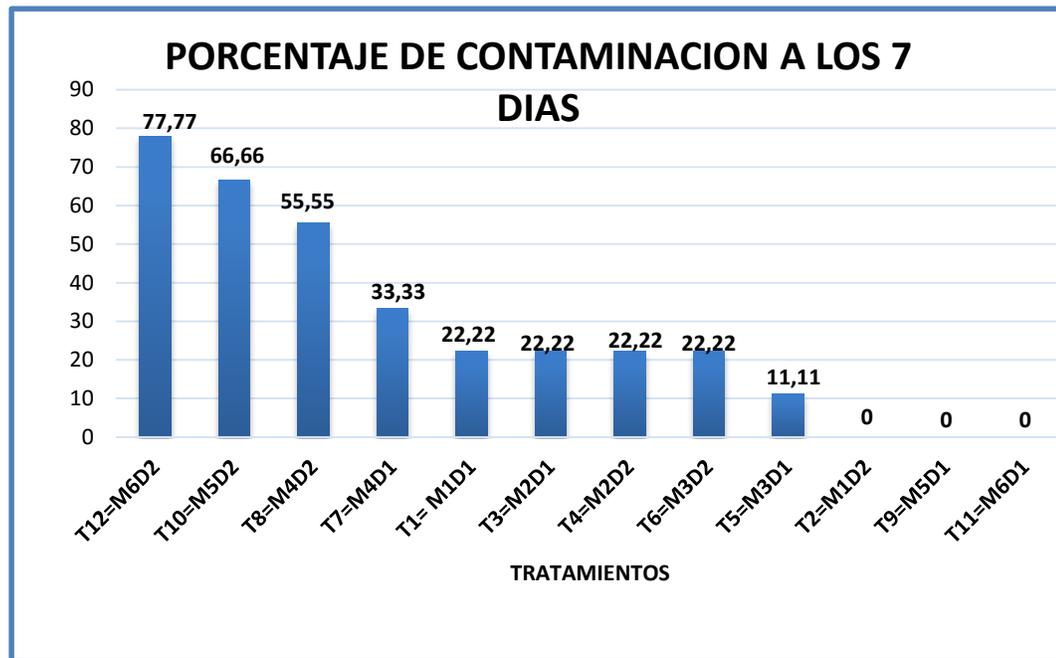
Fv	gl	SC	CM	FC	FT 5%	FT 1%	
TOTAL	35,00	12220,67					
TRATAM.	11,00	22589,85	2053,62	4,51	2,22	3,1	*
ERROR	24,00	10924,57	455,19				
Fac. medio	5,00	5184,48	1036,90	2,28	2,62	3,9	NS
Fact.desinf.	1,00	6048,69	6048,69	13,29	4,26	7,82	**
FMD	5,00	11356,68	2271,34	4,99	2,62	3,9	**

**CUADRO N°3: ANVA**

De acuerdo al ANVA se puede observar que no se encontraron diferencias entre el factor medio de cultivo; existiendo diferencia altamente significativa entre el factor desinfección y entre la interacción medio/desinfección y diferencia significativa entre los tratamientos; por lo tanto se procede a realizar la prueba de DUNCAN para recomendar cual fue el mejor tratamiento.

#### 4.1.2 PRUEBA DUNCAN PARA LOS TRATAMIENTOS

GRÁFICA N°2: PRUEBA DE DUNCAN PARA LOS TRATAMIENTOS



CUADRO N°4 CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN  $LS = q * Sx$

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
q	2,92	3,07	3,16	3,23	3,28	3,32	3,34	3,37	3,39	3,41	3,42
sx	9,75	9,75	9,75	9,75	9,75	9,75	9,75	9,75	9,75	9,75	9,75
Ls	28,4	29,9	30,81	31,49	31,98	32,37	32,57	32,86	33,05	33,25	33,3

**CUADRO N°5 ESTABLECIMIENTO DE LAS DIFERENCIAS Y COMPARACIÓN CON LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN**

	77,77	66,66	55,55	33,33	22,22	22,22	22,22	22,22	11,11	0	0
0	77,77	66,66	55,55	33,33	22,22	22,22	22,22	22,22	11,11	0	0
0	77,77	66,66	55,55	33,33	22,22	22,22	22,22	22,22	11,11	0	0
0	77,77	66,66	55,55	33,33	22,22	22,22	22,22	22,22	11,11	0	0
11,11	66,66	55,55	44,44	22,22	11,11	11,11	11,11	11,11	0	0	0
22,22	55,55	44,44	33,33	11,11	0	0	0	0	0	0	0
22,22	55,55	44,44	33,33	11,11	0						
22,22	55,55	44,44	33,33	11,11	0						
22,22	55,55	44,44	33,33	11,11	0						
33,33	44,44	33,33	22,22	0							
55,55	22,22	11,11	0								
66,66	11,11	0									

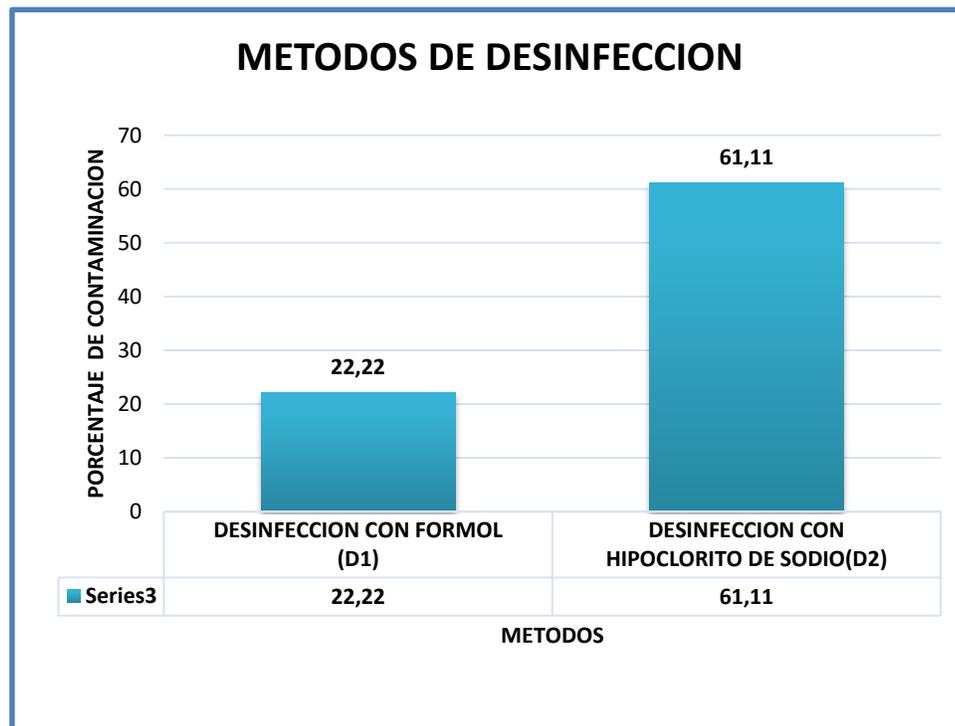
**CUADRO N°6: LETRAS IGUALES SEGÚN DUNCAN NO DIFIEREN A 5% DE PROBABILIDAD**

T12=M6D2	77,77	a
T10=M5D2	66,66	a
T8=M4D2	55,55	ab
T7=M4D1	33,33	bc
T1= M1D1	22,22	c
T3=M2D1	22,22	c
T4=M2D2	22,22	c
T6=M3D2	22,22	c
T5=M3D1	11,11	c
T2=M1D2	0	d
T9=M5D1	0	d
T11=M6D1	0	d

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de DUNCAN y como se demuestra en el cuadro N° 6, el T12 (constituido por medio de cultivo M&S con concentraciones de BAP al 2,5%, y método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.); obtuvo el mayor porcentaje de contaminación en el cultivo in vitro del duraznero. No presentando diferencias significativas con el tratamiento T10 (constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1,5%, y método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.).

El tratamiento con menor porcentaje de contaminación fue T11 (constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 2,5%, y el método de desinfección de Formol al 40%) de igual manera los tratamientos N°9 y 2 con 0% de contaminación.

**GRAFICA N°:3 PRUEBA DUNCAN PARA EL FACTOR METODO DE DESINFECCION**



**CUADRO N°7 CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN  $LS = q * Sx$** 

	2
q	2,92
sx	9,75
Ls	28,47

**CUADRO N°8 ESTABLECIMIENTO DE LAS DIFERENCIAS Y COMPARACIÓN CON LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN**

	61,11
22,22	43,89

**CUADRO N°9: LETRAS IGUALES SEGÚN DUNCAN NO DIFIEREN A 5% DE PROBABILIDAD**

D2	61,11 a
D1	22,22 b

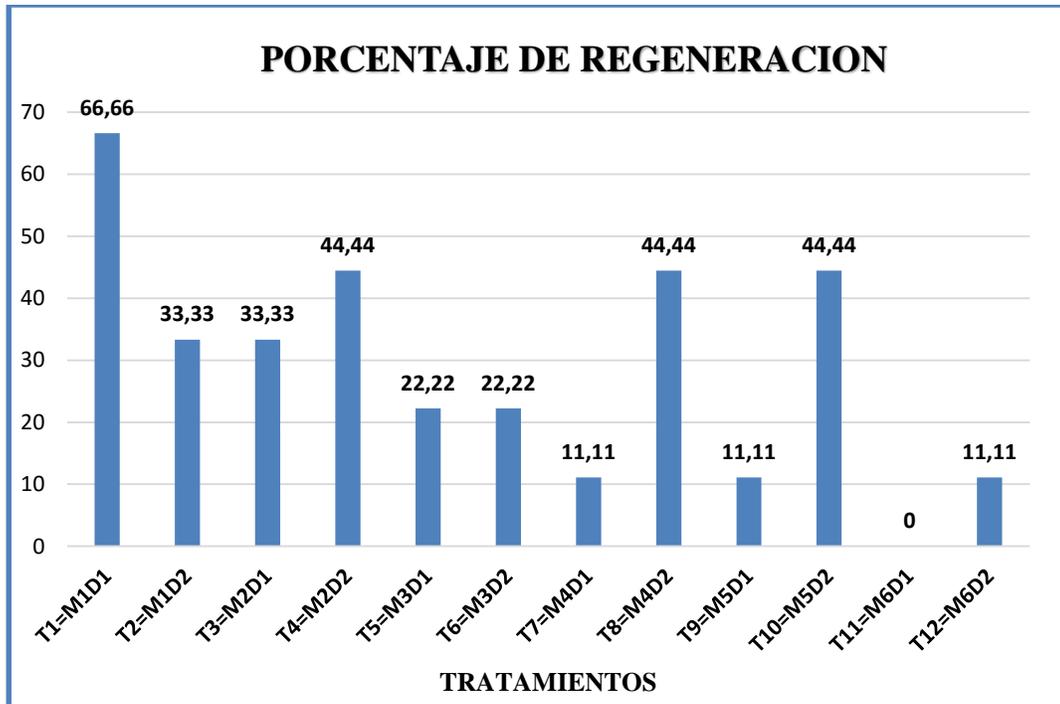
De acuerdo a la prueba DUNCAN realizada para el factor desinfección se observa que el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 % (D2) presenta diferencias significativas con respecto a D1 (método de desinfección de Formol al 40%), el cual tiene un 22,22% de contaminación, considerándose como el mejor método a utilizar.

#### 4.2 PORCENTAJE DE REGENERACION DEL DURAZNERO

**CUADRO N°10: PORCENTAJE DE REGENERACION**

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			$\Sigma$	X
	I	II	III		
T1=M1D1	66,66	66,66	66,66	199,98	66,66
T2=M1D2	0	33,33	66,66	99,99	33,33
T3=M2D1	33,33	0	66,66	99,99	33,33
T4=M2D2	33,33	66,66	33,33	133,32	44,44
T5=M3D1	66,66	0	0	66,66	22,22
T6=M3D2	0	33,33	33,33	66,66	22,22
T7=M4D1	33,33	0	0	33,33	11,11
T8=M4D2	33,33	66,66	33,33	133,32	44,44
T9=M5D1	0	0	33,33	33,33	11,11
T10=M5D2	66,66	66,66	0	133,32	44,44
T11=M6D1	0	0	0	0	0
T12=M6D2	0	0	33,33	33,33	11,11
				1033,23	

#### GRAFICA N° 4 PORCENTAJE DE REGENERACION DEL DURAZNERO



La gráfica N°4 indica que el tratamiento que presenta mayor porcentaje de regeneración con un 66,66% ; a los 15 días es el tratamiento N°1; constituido por medio de cultivo WPM con concentraciones de BAP al 0,5% y desinfección de Formol al 40%, seguido del tratamiento N°4 constituido por medio de cultivo WPM con concentraciones de BAP al 1,5%, y desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.con un 44,44% de regeneración, de igual manera los tratamientos N°8 y N°10 con una regeneración del 44,44% y concluyendo con el tratamiento N°11 en el cual no hubo regeneración; constituido por medio de cultivo M&S con concentraciones de BAP al 2,5%, y desinfección de Formol al 40%.

#### 4.2.1 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE PORCENTAJE DE REGENERACION

**CUADRO N°: 11. TABLA DE DOBLE ENTRADA MEDIO/DESINFECCION**

MED/DES.	D1	D2	$\Sigma$	X
M1	199,98	99,99	299,97	25,00
M2	99,99	133,32	233,31	19,44
M3	66,66	66,66	133,32	11,11
M4	33,33	133,32	166,65	13,89
M5	33,33	133,32	166,65	13,89
M6	0,00	33,33	33,33	2,78
$\Sigma$	433,29	599,94	1033,23	
X	36,11	50,00		

**CUADRO N° 12: ANVA**

Fv	gl	SC	CM	FC	FT 5%	FT 1%	
TOTAL	35	27000,77					
TRATA	11	12188,92	1108,08	1,80	2,22	3,1	NS
ERROR	24	14750,14	614,59				
Fact.MED.	5	6819,62	1363,92	2,22	2,62	3,9	NS
Fact.DES.	1	771,45	771,45	1,26	4,26	7,82	NS
MED/DES	5	4597,85	919,57	1,50	2,62	3,9	NS

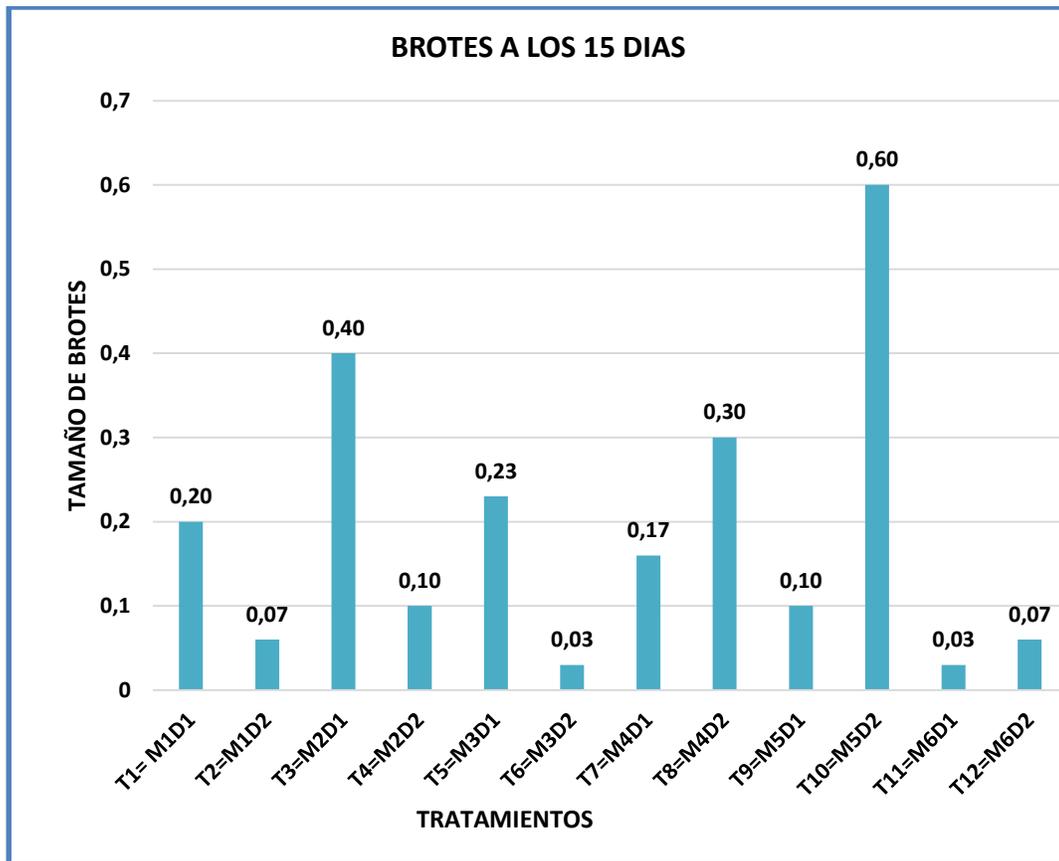
De acuerdo al cuadro N° 12, se observa que no existen diferencias significativas entre tratamientos, factor medio de cultivo, factor método de desinfección ni en la interacción medio/desinfección, lo que quiere decir que el duraznero no tuvo una diferencia significativa en el porcentaje de regeneración.

### 4.3 TAMAÑO DE BROTES A LOS 15 DIAS

**CUADRO N°13: TAMAÑO DE BROTES A LOS 15 DIAS**

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			$\Sigma$	$\bar{X}$
	I	II	III		
T1= M1D1	0,50	0,00	0,10	0,60	0,20
T2=M1D2	0,00	0,10	0,10	0,20	0,07
T3=M2D1	0,10	1,00	0,10	1,20	0,40
T4=M2D2	0,10	0,10	0,10	0,30	0,10
T5=M3D1	0,10	0,10	0,50	0,70	0,23
T6=M3D2	0,10	0,00	0,00	0,10	0,03
T7=M4D1	0,40	0,10	0,00	0,50	0,17
T8=M4D2	0,20	0,30	0,40	0,90	0,30
T9=M5D1	0,00	0,20	0,10	0,30	0,10
T10=M5D2	0,20	0,70	0,90	1,80	0,60
T11=M6D1	0,00	0,10	0,00	0,10	0,03
T12=M6D2	0,00	0,1	0,1	0,20	0,07
				6,90	

**GRAFICA N° 5 TAMAÑO DE BROTES A LOS 15 DIAS**



Como se puede observar en la gráfica N°5 el tratamiento que presenta el mayor tamaño de brotes a los 15 días es el tratamiento N°10 que está constituido por el medio de cultivo M&S con concentraciones de BAP al 1,5%, y desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 % con una media de 0,6 cm, en segundo lugar se encuentra el tratamiento N°3 compuesto por el medio de cultivo WPM con concentraciones de BAP al 1,5%, y desinfección de Formol al 40% con una media de 0,4 cm, seguidamente el tratamiento N°8 constituido por medio de cultivo M&S con concentraciones de BAP al 0,5%, y desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 % teniendo una media de 0.3 cm. Siendo los tratamientos con menor crecimiento el N° 6 y N°11 con 0,03cm de tamaño.

### 4.3.1 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE TAMAÑO DE BROTES A LOS 15 DIAS

**CUADRO N° 14: TABLA DE DOBLE ENTRADA MEDIO/DESINFECCION**

MED./DESIN.	D1	D2	$\Sigma$	X
M1	0,60	0,20	0,80	0,07
M2	1,20	0,30	1,50	0,13
M3	0,70	0,10	0,80	0,07
M4	0,50	0,90	1,40	0,12
M5	0,30	1,80	2,10	0,18
M6	0,10	0,20	0,30	0,03
$\Sigma$	3,40	3,50	6,90	
X	0,28	0,29		

**CUADRO N°15: ANVA**

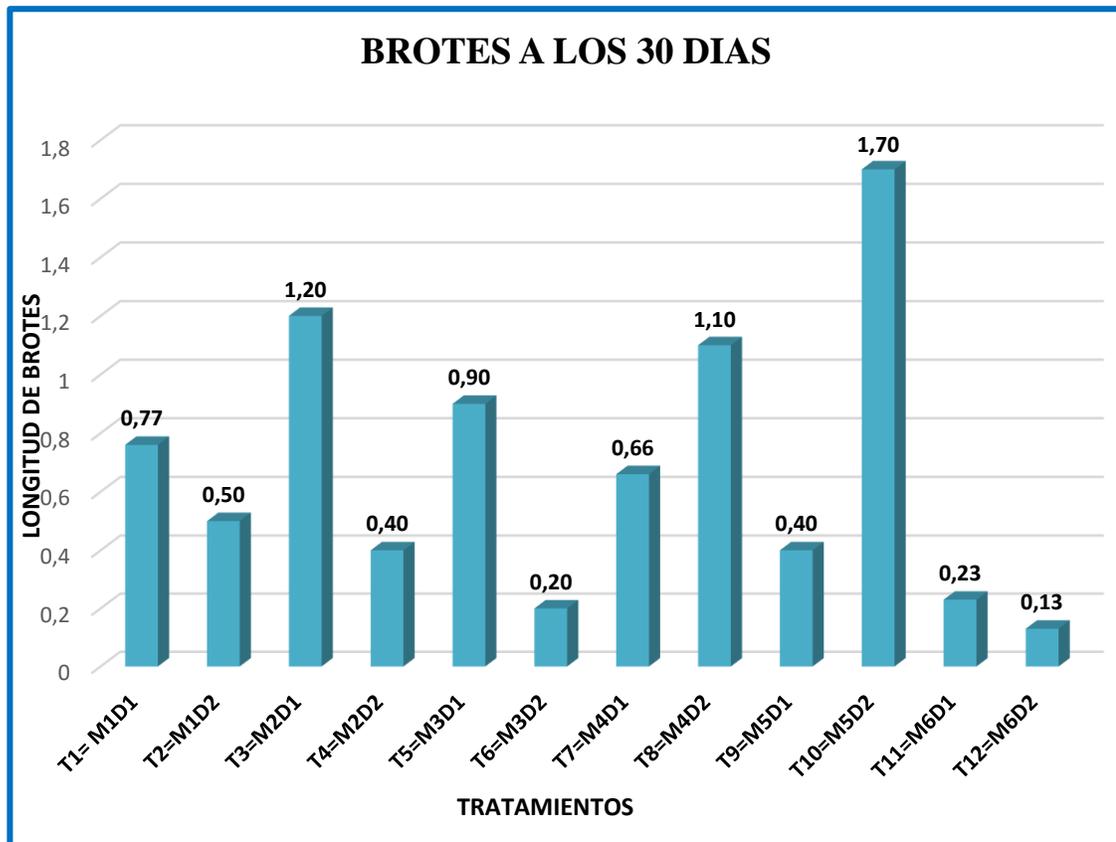
Fv	gl	SC	CM	FC	FT 5%	FT 1%	
TOTAL	35,00	2,17					
TRATAM.	11,00	0,97	0,09	1,84	2,22	3,1	NS
ERROR	24,00	1,15	0,05				
Fac. medio	5,00	0,34	0,07	1,43	2,62	3,9	NS
Fact.desinf.	1,00	0,00	0,00	0,01	4,26	7,82	NS
FMD	5,00	0,62	0,12	2,61	2,62	3,9	NS

De acuerdo al cuadro N° 15, se observa que no existen diferencias significativas entre tratamientos, factor medio de cultivo, factor método de desinfección ni en la interacción medio/desinfección, lo que quiere decir que el duraznero no tuvo una diferencia significativa en el tamaño de brotes a los 15 días de la introducción.

#### 4.4 TAMAÑO DE BROTES A LOS 30 DIAS

**CUADRO N°16: TAMAÑO DE BROTES A LOS 30 DIAS**

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			$\Sigma$	$\bar{x}$
	I	II	III		
T1= M1D1	1,70	0,00	0,60	2,30	0,77
T2=M1D2	0,00	0,90	0,60	1,50	0,50
T3=M2D1	0,70	2,10	0,80	3,60	1,20
T4=M2D2	0,11	0,70	0,40	1,21	0,40
T5=M3D1	0,90	0,70	1,10	2,70	0,90
T6=M3D2	0,60	0,00	0,00	0,60	0,20
T7=M4D1	1,40	0,60	0,00	2,00	0,67
T8=M4D2	0,80	1,20	1,30	3,30	1,10
T9=M5D1	0,00	0,70	0,50	1,20	0,40
T10=M5D2	3,00	0,80	1,30	5,10	1,70
T11=M6D1	0,00	0,70	0,00	0,70	0,23
T12=M6D2	0,00	0,20	0,20	0,40	0,13
$\Sigma$ Blog.				24,61	

**GRAFICA N°6: TAMAÑO DE BROTES A LOS 30 DIAS**

La gráfica N° 6 indica que el tratamiento que presenta una mayor longitud con un 1,70cm; a los 30 días es el tratamiento N°10; constituido por medio de cultivo M&S con concentraciones de BAP al 1,5%, y una desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %, seguido del tratamiento N°3 constituido por medio de cultivo WPM con concentraciones de BAP al 1,5%, y desinfección con Formol al 40% con un 1,20 cm. Luego el tratamiento N°8 con una media de 1,10 cm y concluyendo con el tratamiento N°12 en el cual se obtuvo el menor crecimiento de los brotes con 0,13 cm a los 30 días; constituido por medio de cultivo M&S con concentraciones de BAP al 2,5%, y desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

#### 4.4.1 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE TAMAÑO DE BROTES A LOS 30 DIAS.

**CUADRO N°17: TABLA DE DOBLE ENTRADA MEDIO/DESINFECCION**

MED./DESIN.	D1	D2	$\Sigma$	X
M1	2,30	1,50	3,80	0,32
M2	3,60	1,21	4,81	0,40
M3	2,70	0,60	3,30	0,28
M4	2,00	3,30	5,30	0,44
M5	1,20	5,10	6,30	0,53
M6	0,70	0,40	1,10	0,09
$\Sigma$	12,50	12,11	24,61	
X	1,04	1,01		

**CUADRO N°18: ANVA**

Fv	gl	SC	CM	FC	FT 5%	FT 1%	
TOTAL	35,00	15,40					
TRATAM.	11,00	7,38	0,67	2,07	2,22	3,1	NS
ERROR	24,00	7,76	0,32				
Fac. medio	5,00	2,75	0,55	1,70	2,62	3,9	NS
Fact.desinf.	1,00	0,00	0,00	0,01	4,26	7,82	NS
FMD	5,00	4,62	0,92	2,86	2,62	3,9	NS

De acuerdo al cuadro N°18, se observa que no existen diferencias significativas entre tratamientos, repeticiones, factor medio de cultivo, factor método de desinfección ni en la interacción medio/desinfección, lo que quiere decir que el duraznero no tuvo una diferencia significativa en el tamaño de brotes a los 30 días de la introducción

**SEGUNDO ENSAYO****4.5 PORCENTAJE DE CONTAMINACION A LOS 7 DIAS****CUADRO N°19: PORCENTAJE DE CONTAMINACION A LOS 7 DIAS**

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			$\Sigma$	$\bar{X}$
	I	II	III		
T1= M1D1	0,00	100,00	33,33	133,33	44,44
T2=M1D2	0,00	33,33	0,00	33,33	11,11
T3=M2D1	0,00	66,66	66,66	133,32	44,44
T4=M2D2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T5=M3D1	66,66	0,00	33,33	99,99	33,33
T6=M3D2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T7=M4D1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T8=M4D2	33,33	33,33	0,00	66,66	22,22
T9=M5D1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T10=M5D2	66,66	66,66	66,66	199,98	66,66
T11=M6D1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T12=M6D2	33,33	66,66	0,00	99,99	33,33
				766,6	

**GRAFICA N°7: PORCENTAJE DE CONTAMINACION A LOS 7 DIAS**

Como se puede observar en el gráfico N°7, el tratamiento que presenta mayor porcentaje de contaminación es el N°10 constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1%, y desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 % presentando un 66,66 % de contaminación, seguido del tratamiento N° 1 y 3 con una contaminación del 44,44%, seguidamente el N° 5 y 12 presentaron un 33,33 % de contaminación y finalmente el tratamiento N° 4,6,7,9 y 11 no tuvieron contaminación alguna.

#### 4.5.1 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE PORCENTAJE DE CONTAMINACION A LOS 7 DIAS

**CUADRO N°20: TABLA DE DOBLE ENTRADA MEDIO/DESINFECCION**

MED./DESIN.	D1	D2	$\Sigma$	X
M1	133,33	33,33	166,66	13,89
M2	133,32	0,00	133,32	11,11
M3	99,99	0,00	99,99	8,33
M4	0,00	66,66	66,66	5,56
M5	0,00	199,98	199,98	16,67
M6	0,00	99,99	99,99	8,33
$\Sigma$	366,64	399,96	766,60	
X	30,55	33,33		

**CUADRO N°21: ANVA**

Fv	gl	SC	CM	FC	FT 5%	FT 1%	
<b>TOTAL</b>	35	31445,90					
<b>TRATAM.</b>	11	17373,53	1579,41	3,03	2,22	3,1	*
<b>ERROR</b>	24	12529,28	522,05				
<b>Fac. medio</b>	5	2005,90	401,18	0,77	2,62	3,9	NS
<b>Fact.desinf.</b>	1	30,84	30,84	0,06	4,26	7,82	NS
<b>FMD</b>	5	15336,79	3067,36	5,88	2,62	3,9	**

De acuerdo al cuadro N°21, se observa que no existe diferencia significativa entre factor medio de cultivo, factor método de desinfección y existen diferencias altamente significativas entre tratamientos y en la interacción medio/desinfección, por lo tanto se procede a realizar la prueba de DUNCAN para recomendar cual fue el mejor tratamiento.

#### 4.5.2 PRUEBA DUNCAN PARA LOS TRATAMIENTOS

GRÁFICA N°8: PRUEBA DE DUNCAN PARA LOS TRATAMIENTOS



CUADRO N°22 CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN  $LS = q * S_x$

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
q	2,92	3,07	3,16	3,23	3,28	3,32	3,34	3,37	3,39	3,41	3,42
$S_x$	13,19	13,19	13,19	13,19	13,19	13,19	13,19	13,19	13,19	13,19	13,19
$L_s$	38,51	40,49	41,68	42,60	43,26	43,79	44,05	44,45	44,71	44,98	45,11

**CUADRO N°23 ESTABLECIMIENTO DE LAS DIFERENCIAS Y COMPARACIÓN CON LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN**

	66,66	44,44	44,44	33,33	33,33	22,22	11,11	0	0	0	0
0	66,66	44,44	44,44	33,33	33,33	22,22	11,11	0	0		
0	66,66	44,44	44,44	33,33	33,33	22,22	11,11	0	0		
0	66,66	44,44	44,44	33,33	33,33	22,22	11,11	0	0		
0	66,66	44,44	44,44	33,33	33,33	22,22	11,11	0	0		
0	66,66	44,44	44,44	33,33	33,33	22,22	11,11	0	0		
11,11	55,55	33,33	33,33	22,22	22,22	11,11	0				
22,22	44,44	22,22	22,22	11,11	11,11	0					
33,33	33,33	11,11	11,11	0	0						
33,33	33,33	11,11	11,11								
44,44	22,22	0									
44,44	22,22										

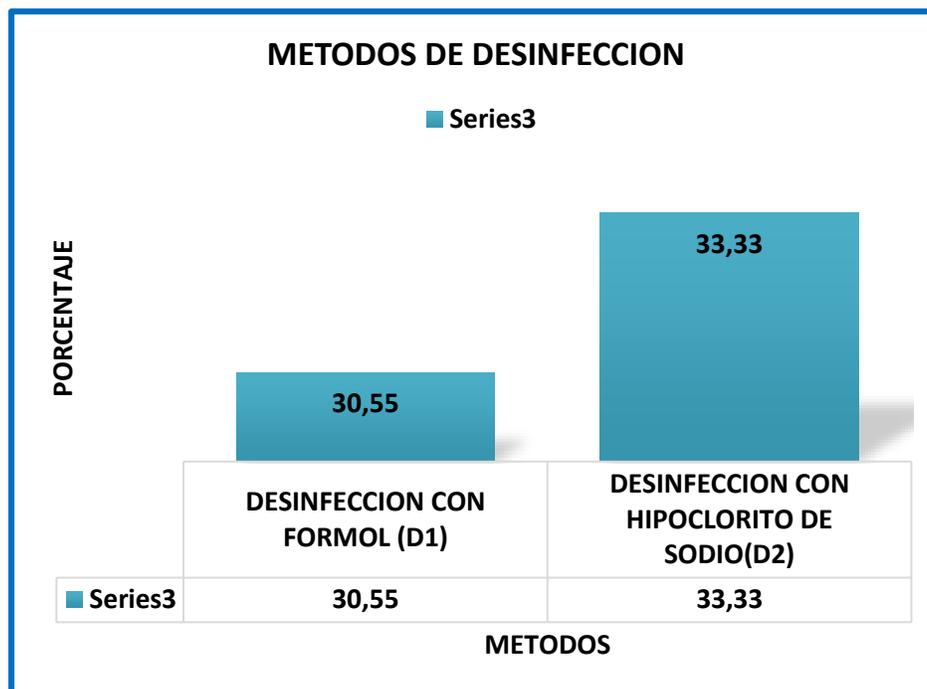
**CUADRO N°24: LETRAS IGUALES SEGÚN DUNCAN NO DIFIEREN A 5% DE PROBABILIDAD**

T10=M5D2	a
T1= M1D1	a
T3=M2D1	ab
T5=M3D1	ab
T12=M6D2	b
T8=M4D2	b
T2=M1D2	c
T4=M2D2	d
T6=M3D2	d
T7=M4D1	d
T9=M5D1	d
T11=M6D1	d

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de DUNCAN y como se demuestra en el cuadro N° 24, el T10 constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %, obtuvo el mayor porcentaje de contaminación en el cultivo in vitro del duraznero.

El tratamiento con menor porcentaje de contaminación fue T4; constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 1%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %, de igual manera los tratamientos N°6, 7,9,11 con un porcentaje de 0% de contaminación.

### GRÁFICA N°9: PRUEBA DUNCAN PARA EL FACTOR METODO DE DESINFECCION



**CUADRO N°25 CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN**

$$LS = q * Sx$$

	2
q	2,92
sx	13,19
Ls	38,51

**CUADRO N°26 ESTABLECIMIENTO DE LAS DIFERENCIAS Y COMPARACIÓN CON LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN**

	33,33
30,55	2,78

**CUADRO N°27: LETRAS IGUALES SEGÚN DUNCAN NO DIFIEREN A 5% DE PROBABILIDAD**

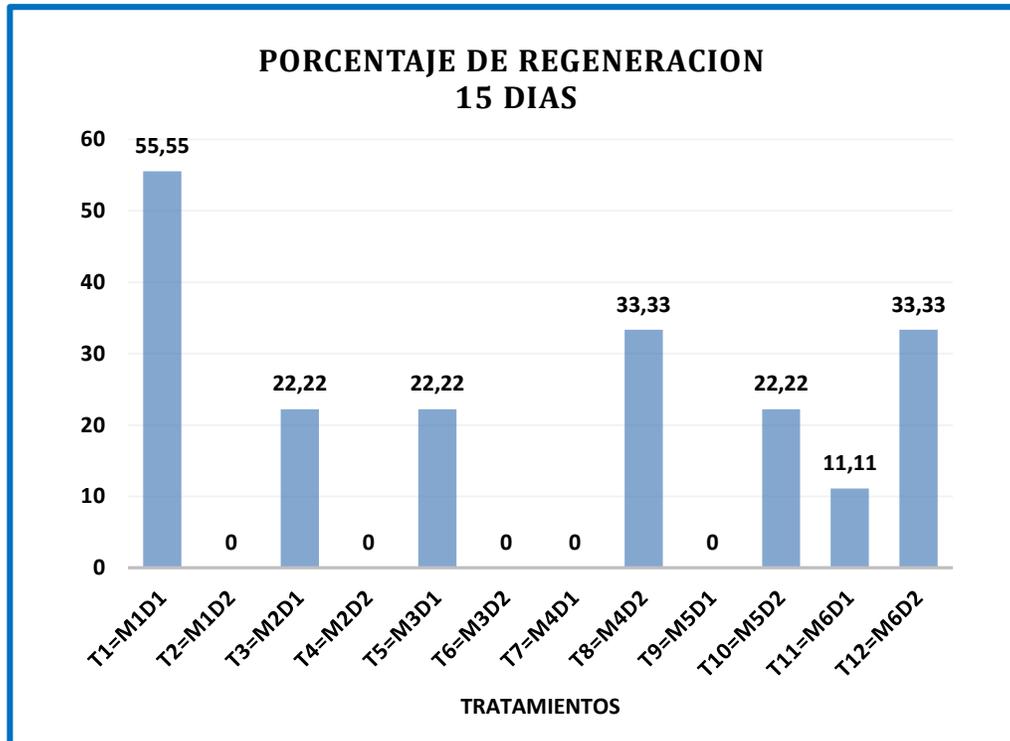
D2	33,33a
D1	30,55a

A través de la prueba DUNCAN realizada para el factor desinfección se puede observar que no hay diferencia significativa entre los dos métodos de desinfección con respecto al porcentaje de contaminación a los 7 días.

#### 4.6 PORCENTAJE DE REGENERACION DEL DURAZNERO

**CUADRO N°28: PORCENTAJE DE REGENERACION**

TRATAM.	REPETICIONES			$\Sigma$	X
	I	II	III		
T1=M1D1	100	33,33	33,33	166,66	55,55
T2=M1D2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T3=M2D1	66,66	0,00	0,00	66,66	22,22
T4=M2D2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T5=M3D1	0,00	33,33	33,33	66,66	22,22
T6=M3D2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T7=M4D1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T8=M4D2	0,00	33,33	66,66	99,99	33,33
T9=M5D1	0,00	0	0,00	0,00	0,00
T10=M5D2	33,33	0,00	33,33	66,66	22,22
T11=M6D1	0,00	33,33	0,00	33,33	11,11
T12=M6D2	33,33	33,33	33,33	99,99	33,33
$\Sigma$ Blog.				599,95	

**GRAFICA N°10: PORCENTAJE DE REGENERACION**

La gráfica N°10 indica que a los 15 días el tratamiento N° 1 presenta mayor porcentaje de regeneración con un 55,55%, constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5% y desinfección con Formol al 40%, seguido del tratamiento N°8 constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 0,5%, desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %, con 33,33% de regeneración, y concluyendo con los tratamiento N° 2, 4, 6, 7 y 9 en los cuales no hubo regeneración.

#### 4.6.1 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE PORCENTAJE DE REGENERACION

**CUADRO N°29. TABLA DE DOBLE ENTRADA MEDIO/DESINFECCION**

MED/DES.	D1	D2	$\Sigma$	X
M1	166,66	0,00	166,66	13,88
M2	66,66	0,00	66,66	5,555
M3	66,66	0,00	66,66	5,555
M4	0,00	99,99	99,99	8,3325
M5	0,00	66,66	66,66	5,555
M6	33,33	99,99	133,32	11,11
$\Sigma$	333,31	266,64	599,95	
X	27,77	22,22		

**CUADRO N°30 ANVA**

Fv	gl	SC	CM	FC	FT 5%	FT 1%	
TOTAL	35	21108,56					
TRATAM.	11	10739,37	976,31	2,30	2,22	3,1	NS
ERROR	24	10183,98	424,33				
Fact.MED.	5	1481,41	296,28	0,70	2,62	3,9	NS
Fact.DES.	1	123,47	123,47	0,29	4,26	7,82	NS
MED/DES	5	9134,49	1826,90	4,31	2,62	3,9	**

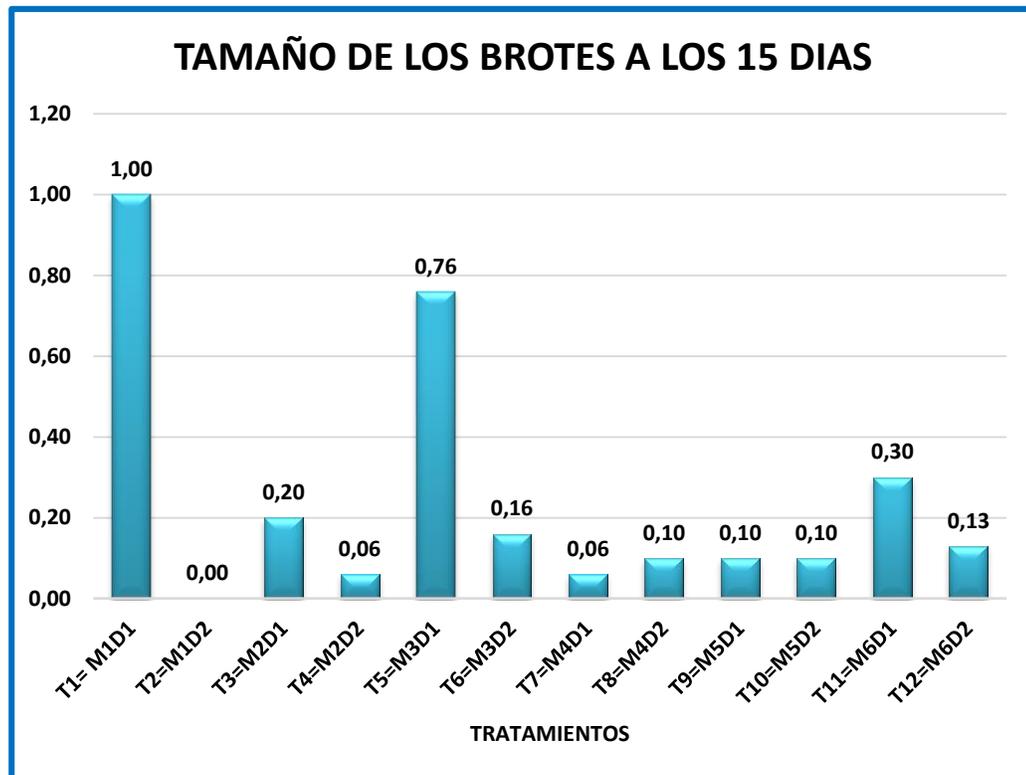
Como se puede observar en el cuadro N° 30 no existe diferencia significativa para el factor medio de cultivo, método de desinfección, tratamientos y réplicas y existe diferencia altamente significativa para la interacción medio de cultivo/método de desinfección.

#### 4.7 TAMAÑO DE BROTES A LOS 15 DIAS

**CUADRO N°31: TAMAÑO DE BROTES A LOS 15 DIAS**

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			$\Sigma$	$\bar{X}$
	I	II	III		
T1= M1D1	1,20	0,30	1,50	3,00	1,00
T2=M1D2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T3=M2D1	0,60	0,00	0,00	0,60	0,20
T4=M2D2	0,10	0,10	0,00	0,20	0,07
T5=M3D1	1,30	0,90	0,10	2,30	0,77
T6=M3D2	0,00	0,50	0,00	0,50	0,17
T7=M4D1	0,10	0,00	0,10	0,20	0,07
T8=M4D2	0,10	0,10	0,10	0,30	0,10
T9=M5D1	0,20	0,10	0,00	0,30	0,10
T10=M5D2	0,30	0,00	0,00	0,30	0,10
T11=M6D1	0,10	0,50	0,30	0,90	0,30
T12=M6D2	0,20	0,20	0,00	0,40	0,13
$\Sigma$ Blog.				9,00	

**GRAFICA N°11 TAMAÑO DE BROTES A LOS 15 DÍAS**



Como se puede observar en la gráfica N° 11 el tratamiento que presenta el mayor tamaño de brotes a los 15 días es el tratamiento N°1 que está constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5% y desinfección de Formol al 40%. con una media de 1 cm, en segundo lugar se encuentra el tratamiento N°5 compuesto por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 1,5%, y desinfección de Formol al 40%, con una media de 0,76 cm, seguidamente el tratamiento N°11 constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1,5%, y desinfección de Formol al 40%, teniendo una media de 0.3 cm. Siendo el tratamiento con menor crecimiento el N° 2 con 0,0 cm de tamaño.

#### 4.7.1 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE TAMAÑO DE BROTES A LOS 15 DÍAS

**CUADRO N°32. TABLA DE DOBLE ENTRADA MEDIO/DESINFECCION**

MED./DESIN.	D1	D2	$\Sigma$	X
M1	3,00	0,00	3,00	0,25
M2	0,60	0,20	0,80	0,07
M3	2,30	0,50	2,80	0,23
M4	0,20	0,30	0,50	0,04
M5	0,30	0,30	0,60	0,05
M6	0,90	0,40	1,30	0,11
$\Sigma$	7,30	1,70	9,00	
X	0,61	0,14		

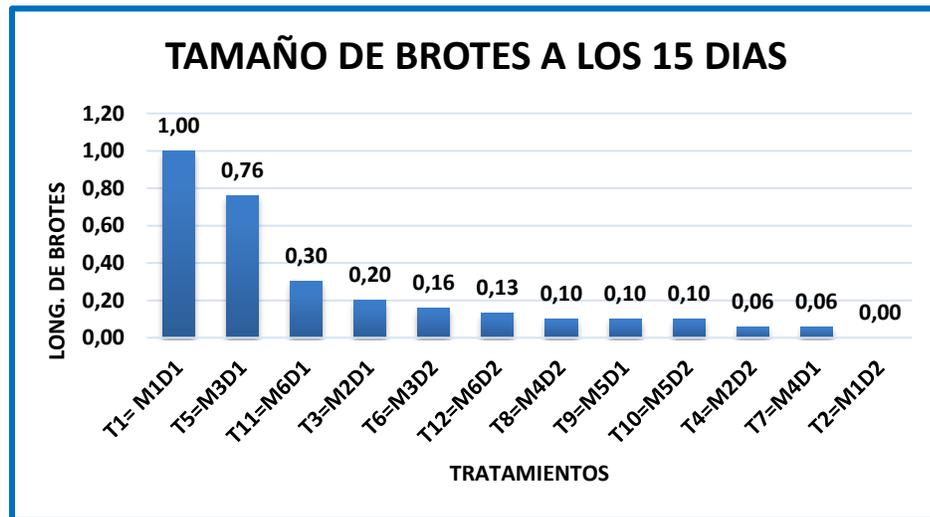
**CUADRO N°33: ANVA**

Fv	gl	SC	CM	FC	FT 5%	FT 1%	
TOTAL	35	5,29					
TRATAM.	11	3,16	0,29	3,55	2,22	3,1	*
ERROR	24	1,94	0,08				
Fac. medio	5	1,05	0,21	2,59	2,62	3,9	NS
Fact.desinf.	1	0,87	0,87	10,79	4,26	7,82	**
FMD	5	1,24	0,25	3,07	2,62	3,09	*

De acuerdo al ANVA se puede observar que existe diferencia altamente significativas entre el factor desinfección y diferencia significativa entre los tratamientos y la interacción medio/desinfección, no encontrándose diferencias entre el factor medio de cultivo.

#### 4.7.2 PRUEBA DUNCAN PARA LOS TRATAMIENTOS

GRÁFICA N°12: PRUEBA DE DUNCAN PARA LOS TRATAMIENTOS



CUADRO N°34 CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN

$$LS = q * Sx$$

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
q	2,92	3,07	3,16	3,23	3,28	3,32	3,34	3,37	3,39	3,41	3,42
sx	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
Ls	0,41	0,43	0,44	0,45	0,46	0,46	0,47	0,47	0,47	0,48	0,48

**CUADRO N°35 ESTABLECIMIENTO DE LAS DIFERENCIAS Y COMPARACIÓN CON LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN**

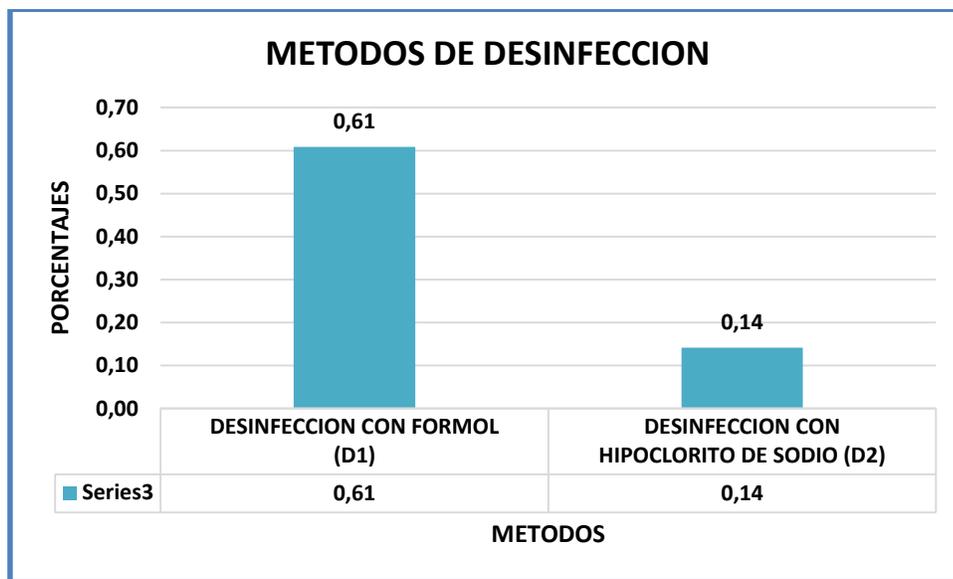
	1,00	0,76	0,30	0,20	0,16	0,13	0,10	0,10	0,10	0,06	0,06
0,00	<b>1,00</b>	<b>0,76</b>	0,30	0,20	0,16	0,13	0,10	0,10	0,10	0,06	0,06
0,06	<b>0,94</b>	<b>0,70</b>	0,24	0,14	0,10	0,07	0,04	0,04	0,04	0,00	0,00
0,06	<b>0,94</b>	<b>0,70</b>	0,24	0,14	0,10	0,07	0,04	0,04	0,04	0,00	
0,10	<b>0,90</b>	<b>0,66</b>	0,20	0,10	0,06	0,03	0,00				
0,10	<b>0,90</b>	<b>0,66</b>	0,20	0,10	0,06	0,03					
0,10	<b>0,90</b>	<b>0,66</b>	0,20	0,10	0,06	0,03					
0,13	<b>0,87</b>	<b>0,63</b>	0,17	0,07	0,03	0,00					
0,16	<b>0,84</b>	<b>0,60</b>	0,14	0,04	0,00						
0,20	<b>0,80</b>	<b>0,56</b>	0,10	0,00							
0,30	<b>0,70</b>	<b>0,46</b>	0,00								
0,76	0,24	0,00									

**CUADRO N°36: LETRAS IGUALES SEGÚN DUNCAN NO DIFIEREN A 5% DE PROBABILIDAD**

T1=M1D1	a
T5=M3D1	a
T11=M6D1	b
T3=M2D1	b
T6=M3D2	b
T12=M6D2	b
T8=M4D2	b
T9=M5D1	b
T10=M5D2	b
T4=M2D2	b
T7=M4D1	b
T2=M1D2	b

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de DUNCAN el mejor tratamiento a utilizar es el T1 constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5% y el método de desinfección de Formol al 40%.

**GRÁFICA N°13: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL FACTOR METODO DE DESINFECCION**



**CUADRO N°37 CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN LS =  $q \cdot S_x$**

	2
q	2,92
sx	0,14
Ls	0,41

**CUADRO N°38 ESTABLECIMIENTO DE LAS DIFERENCIAS Y COMPARACIÓN CON LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN**

	0,61
0,14	<b>0,47</b>

**CUADRO N°39: LETRAS IGUALES SEGÚN DUNCAN NO DIFIEREN A 5% DE PROBABILIDAD**

D1	0,61 a
D2	0,14 b

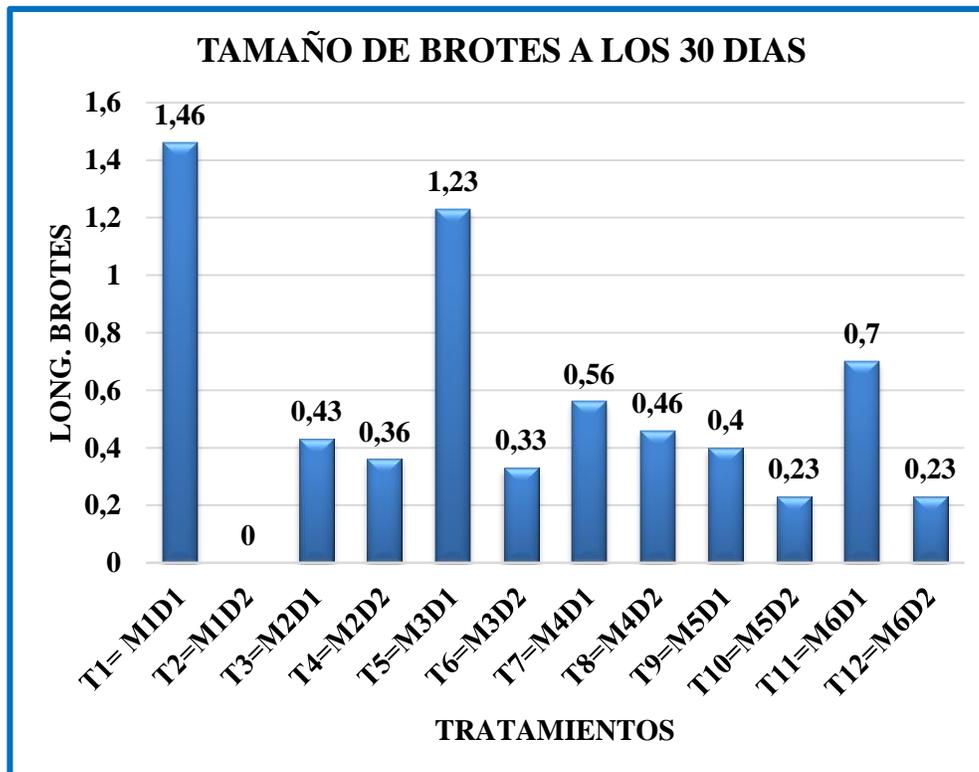
A través de la prueba DUNCAN realizada para el factor métodos de desinfección se puede observar que hay diferencia significativa entre los dos métodos de desinfección con respecto al tamaño de brotes a los 15 días, ya que con la desinfección con formol(D1) se tiene un mayor tamaño de brotes a los 15 días.

#### 4.8 TAMAÑO DE BROTES A LOS 30 DIAS

**CUADRO N°40: TAMAÑO DE BROTES A LOS 30 DIAS**

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			$\Sigma$	$\bar{X}$
	I	II	III		
T1= M1D1	1,60	0,90	1,90	4,40	1,47
T2=M1D2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T3=M2D1	1,30	0,00	0,00	1,30	0,43
T4=M2D2	0,50	0,60	0,00	1,10	0,37
T5=M3D1	1,80	1,30	0,60	3,70	1,23
T6=M3D2	0,00	1,00	0,00	1,00	0,33
T7=M4D1	0,80	0,00	0,90	1,70	0,57
T8=M4D2	0,30	0,50	0,60	1,40	0,47
T9=M5D1	0,80	0,40	0,00	1,20	0,40
T10=M5D2	0,70	0,00	0,00	0,70	0,23
T11=M6D1	0,40	1,10	0,60	2,10	0,70
T12=M6D2	0,00	0,70	0,00	0,70	0,23
$\Sigma$ Blog.				19,30	

**GRAFICA N° 14: TAMAÑO DE BROTES A LOS 30 DÍAS**



La gráfica N°14 indica que el tratamiento que presenta mayor tamaño de brotes a los 30 días es el tratamiento N°1 con 1,46 cm, constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5% y método de desinfección de Formol al 40%, seguido del tratamiento N°5 constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección de Formol al 40% con una media de 1,23cm. Y el tratamiento N° 11 con una media de 0,7cm constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección de Formol al 40%. Y finalmente el tratamiento N° 2 que no tuvo ninguna brotación.

#### 4.8.1 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE TAMAÑO DE BROTES A LOS 30 DÍAS

**CUADRO N°41: TABLA DE DOBLE ENTRADA MEDIO/DESINFECCION**

MED./DESIN.	D1	D2	$\Sigma$	X
M1	4,40	0,00	4,40	0,37
M2	1,30	1,10	2,40	0,20
M3	3,70	1,00	4,70	0,39
M4	1,70	1,40	3,10	0,26
M5	1,20	0,70	1,90	0,16
M6	2,10	0,70	2,80	0,23
$\Sigma$	14,40	4,90	19,30	
X	1,20	0,41		

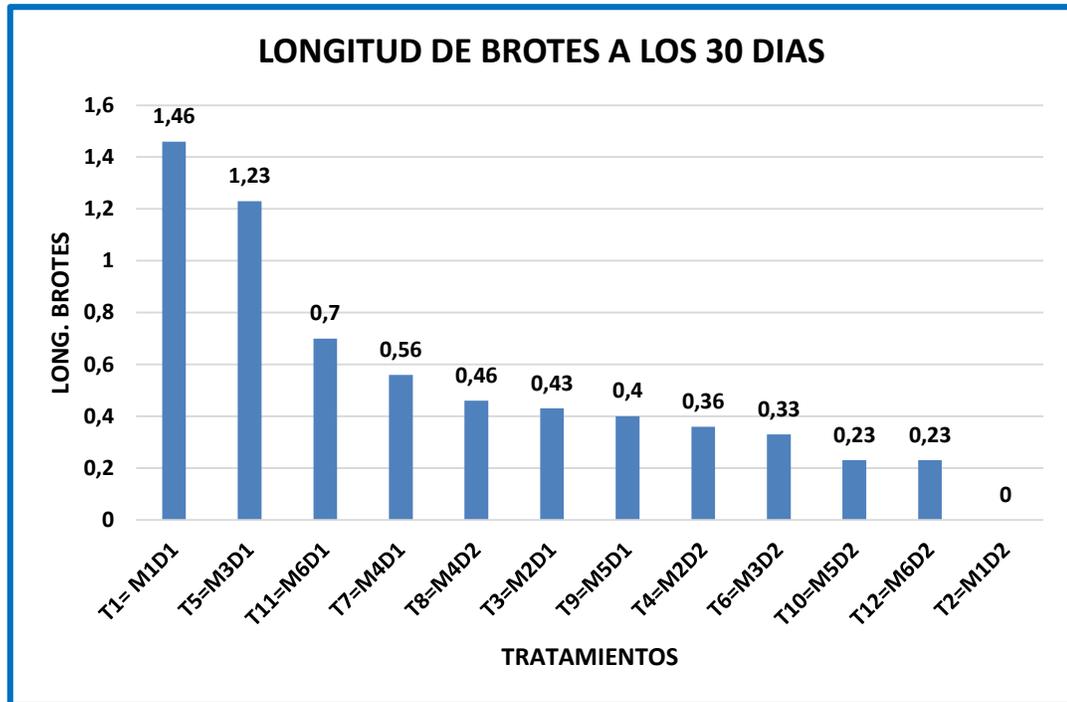
**CUADRO N°42: ANVA**

Fv	gl	SC	CM	FC	FT 5%	FT 1%	
TOTAL	35	10,88					
TRATAM.	11	5,86	0,53	2,86	2,22	3,1	*
ERROR	24	4,48	0,19				
Fac. medio	5	1,03	0,21	1,11	2,62	3,9	NS
Fact.desinf.	1	2,51	2,51	13,43	4,26	7,82	**
FMD	5	2,32	0,46	2,49	2,62	3,9	NS

Según el cuadro N°42 se puede observar que existe diferencia altamente significativas entre el factor desinfección y diferencia significativa entre los tratamientos, no encontrándose diferencias entre el factor medio de cultivo y la interacción medio/desinfección.

#### 4.8.2 PRUEBA DUNCAN PARA LOS TRATAMIENTOS

GRÁFICA N°15: PRUEBA DE DUNCAN PARA LOS TRATAMIENTOS



CUADRO N°43 CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN

$$LS = q * S$$

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
q	2,92	3,07	3,16	3,23	3,28	3,32	3,34	3,37	3,39	3,41	3,42
sx	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
Ls	0,70	0,74	0,76	0,78	0,79	0,80	0,80	0,81	0,81	0,82	0,82

**CUADRO N°44 ESTABLECIMIENTO DE LAS DIFERENCIAS Y COMPARACIÓN CON LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN**

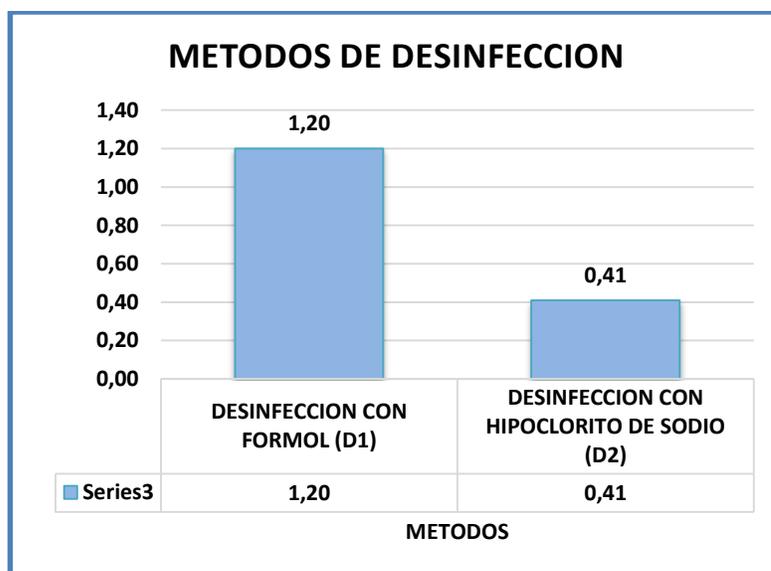
	1,46	1,23	0,7	0,56	0,46	0,43	0,4	0,36	0,33	0,23	0,23
0	<b>1,46</b>	<b>1,23</b>	0,7	0,56	0,46	0,43	0,4	0,36	0,33	0,23	0,23
0,23	<b>1,23</b>	<b>1</b>	0,47	0,33	0,23	0,2	0,17	0,13	0,1		
0,23	<b>1,23</b>	<b>1</b>	0,47	0,33	0,23	0,2	0,17	0,13	0,1		
0,33	<b>1,13</b>	<b>0,9</b>	0,37	0,23	0,13	0,1	0,07	0,03	0		
0,36	<b>1,1</b>	<b>0,87</b>	0,34	0,2	0,1	0,07	0,04	0			
0,4	<b>1,06</b>	<b>0,83</b>	0,3	0,16	0,06	0,03	0				
0,43	<b>1,03</b>	<b>0,8</b>	0,27	0,13	0,03	0					
0,46	<b>1</b>	<b>0,77</b>	0,24	0,1	0						
0,56	<b>0,9</b>	<b>0,67</b>	0,14	0							
0,7	<b>0,76</b>	0,53	0								
1,23	0,23	0									

**CUADRO N°45: LETRAS IGUALES SEGÚN DUNCAN NO DIFIEREN A 5% DE PROBABILIDAD**

T1= M1D1	a
T5=M3D1	b
T11=M6D1	b
T7=M4D1	c
T8=M4D2	c
T3=M2D1	c
T9=M5D1	c
T4=M2D2	c
T6=M3D2	c
T10=M5D2	c
T12=M6D2	c
T2=M1D2	d

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de DUNCAN el mejor tratamiento a utilizar es el T1 constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5% y el método de desinfección de Formol al 40% y el tratamiento T5 constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección de Formol al 40%. Presentando diferencias significativas con el T2 constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 % .del cual no hubo brotación.

**GRÁFICA N°16: PRUEBA DE DUNCAN PARA METODOS DE DESINFECCION**



**CUADRO N°46 CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN**

$$LS = q * Sx$$

	2
q	2,92
sx	0,24
Ls	0,70

**CUADRO N°47 ESTABLECIMIENTO DE LAS DIFERENCIAS Y COMPARACIÓN CON LOS LÍMITES DE SIGNIFICACIÓN**

	1,20
0,41	<b>0,79</b>

**CUADRO N°48: LETRAS IGUALES SEGÚN DUNCAN NO DIFIEREN A 5% DE PROBABILIDAD**

D1	1,2 a
D2	0,79 b

A través de la prueba DUNCAN realizada para el factor métodos de desinfección se puede observar que hay diferencia significativa entre los dos métodos de desinfección con respecto al tamaño de brotes a los 30 días, ya que con la desinfección con formol(D1) se obtiene un mayor tamaño de brotes a los 30 días.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 CONCLUSIONES

De acuerdo al trabajo de investigación se concluye que:

Los tratamientos que tuvieron un menor porcentaje de contaminación fueron: el T2 (WPM +BAP 0,5% +D2) el T9 (M&S + BAP 1,5%+D1) y T11 (M&S +BAP 2,5+D1).

El tratamiento que obtuvo mayor porcentaje de regeneración es el T1 constituido por medio de cultivo WPM (Medio Plantas Leñosas) con concentraciones de BAP al 0,5% y el método de desinfección de Formol al 40%.

El tratamiento que obtuvo un mayor tamaño de brotes a los 15 días y a los 30 días es el T10 constituido por medio de cultivo M&S (Murashige y Skoog) con concentraciones de BAP al 1,5%, y el método de desinfección con hipoclorito de sodio al 2.5 %.

En cuanto se refiere a los métodos de desinfección; el método más efectivo fue el método de desinfección D1 con formol al 40%; el cual tuvo una contaminación menor a comparación del método de desinfección con hipoclorito de sodio.

En cuanto se refiere al medio de cultivo más adecuado para el establecimiento in vitro del duraznero; respecto al tamaño de brotes a los 15 y 30 días los medios que obtuvieron mejores resultados fueron el M5 (M&S+BAP al 1,5%), M4 (M&S +BAP al 0,5%) y M2. (WPM+ BAP al 1,5%).

Respecto a las concentraciones de fitorreguladores los tratamientos que obtuvieron el mayor tamaño de brotes fueron con concentraciones al 1.5% de BAP.

## 5.2 RECOMENDACIONES

Tomando como base a las conclusiones obtenidas, nos permitimos poner en consideración las siguientes recomendaciones:

- Para obtener un menor porcentaje de contaminación se recomienda realizar la desinfección de los explantes con Formol al 40%, por espacio de 10 minutos en cámara cerrada.
- Se debe realizar un correcto manipuleo y uso de los materiales de laboratorio así dentro como afuera de la cámara de flujo laminar, cumpliendo con las normas del mismo, para evitar un mayor porcentaje de contaminación.
- Se debe seguir probando diferentes concentraciones de hormonas en diferentes medios, para poder obtener el medio más adecuado para la introducción in vitro del duraznero.