

RESUMEN

El presente trabajo de investigación evaluó la fase de multiplicación *IN VITRO* del portainjerto de duraznero GxN (Garfi x Nemared) en tres medios de cultivo con diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento. El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey confirmaron diferencias significativas entre los tratamientos, destacando el tratamiento **T3 (MGxN11)** como el más eficiente en la producción de brotes/explante, con un promedio de **(25,60 brotes/explante)** y una altura promedio de **(3,98 cm)** en vitroplantas. La combinación de BAP elevada (8 mg/L) y GA₃ en mayor concentración (1,2 mg/L) favoreció la división celular y la formación de meristemos axilares, lo que explica la alta tasa de multiplicación observada. Por otro lado, los tratamientos **T1 (MGxN8)** y **T2 (MGxN10)**, aunque generaron menor número de brotes/explante (10,20 y 11,60 respectivamente), mostraron un mejor desarrollo foliar, lo que indica mayor vigor y mejor calidad de vitroplantas. Este resultado sugiere que existe un balance entre cantidad de brotes y vigor foliar: mientras T3 es más eficiente en multiplicación, T1 y T2 aportan mayor calidad fisiológica a las vitroplantas, aspecto relevante para etapas posteriores del proceso de propagación.

INTRODUCCIÓN

El durazno (*Prunus pérsica* L.) también conocida como melocotón es un cultivo de gran relevancia tanto económica como nutricional. Originario de China, su cultivo se ha extendido a diversas regiones del mundo gracias a su adaptabilidad y valor comercial. fueron introducidos en Europa gracias a la antigua ruta de la seda persa, que permitía transportar los árboles a diferentes lugares. Los romanos la denominaron “manzana persa” por el país de procedencia (Persia, actualmente Irán). (Guía de arbolado, 2012).

En Bolivia, la producción frutícola se encuentra localizada principalmente en los valles interandinos de los departamentos de La Paz, Tarija, Chuquisaca, Potosí, Santa Cruz y Cochabamba. Estos valles conforman microrregiones con características de clima y suelo, aptas para la producción de frutales, en particular, el durazno (*Prunus pérsica* L.) Batsch. (Coca, 2011).

La producción de durazno en Tarija, se centra en zonas como Paicho, Tomayapo (El Puente), Yunchará, Uriondo y Padcaya. Se producen variedades tempranas e intermedias, intensificándose la cosecha entre enero y febrero. Se implementa riego por goteo y una nueva planta procesadora para industrializar la producción local. **Viceministerio de Desarrollo Agropecuario y Desarrollo Integral. (2024).**

La construcción de la Planta Procesadora de Durazno que se emplaza en el municipio de El Puente, en Tarija, alcanza el 45% y se proyecta su entrega para fines de este año. En la planta, una vez en operaciones, se producirá jugos, mermelada, té y néctar de durazno, y el fruto deshidratado o “moco-chinchi”. Beneficiará a más de 3.000 productores de durazno de los distritos de Paicho y Tomayapo del municipio, que tiene certificado una producción de 3.000 toneladas anuales de durazno. Además, generando empleos directos e indirectos. ECOS DE TARIJA (2025).

Esta producción no solo satisface el mercado local de Tarija, sino que abastece a otros departamentos de Bolivia. Dentro del departamento de Tarija existen notables cualidades para el cultivo del durazno, en la zona del valle central, como en otras zonas,

sin embargo, no se tiene disponibilidad de los portainjertos resistentes a riesgos fitosanitarios como la *Agrobacterium tumefaciens* que produce la agalla de corona. Existen viveros que tienen este material y lo multiplican en pequeña escala, utilizando métodos de multiplicación asexual (esquejes) presentando muchas dificultades y costos elevados, por lo que no se dispone de este material o de plantas injertadas. De todos los factores de producción, los materiales genéticos son el punto crítico para establecer huertos homogéneos libres de plagas y enfermedades. Muchas variedades de frutales se producen sobre portainjertos francos que presentan huertos heterogéneos, asociados a problemas de agalla de corona y nematodos. Como alternativa a este problema diversos centros de mejoramiento de varios países desarrollaron portainjertos híbridos con determinadas características, que solucionen problemas de tolerancia y/o resistencia a enfermedades, plagas y algunos problemas que se presentan en el suelo (encharcamiento, replante, salinidad y otros). Algunos de estos portainjertos son: GxN 15, GF-677. Garnem, "Cadaman® Avimag" seleccionado por el INRA (Francia); INIA. Las Brujas. (2014).

En la actualidad en los valles solo se tiene difundido el híbrido GxN 15, que en los últimos años mostró buen vigor, buen rendimiento, buena sanidad, adaptación a variantes de suelo y afinidad con muchas variedades de durazno. La propagación vegetativa de este portainjerto, permite una alta pureza varietal y sanidad vegetal, es por este método que se obtiene individuos idénticos a sus progenitores, acarreando las características más importantes que se pueden aprovechar de un portainjerto, transmitiendo buen comportamiento en el suelo, buen vigor a las variedades injertadas, buena sanidad, y por sobre todo un alto rendimiento productivo. Cruz. (2020).

Esta investigación busca lograr la multiplicación eficiente de los explantes de verano del portainjerto GxN (Garfi– Nemared), en la fase de multiplicación *IN VITRO* que constituye el paso clave para obtener un número elevado de brotes homogéneos en menor tiempo. De esta manera se pretende beneficiar a los productores de durazno de Tarija, a los viveristas, productores de plantas frutales locales, regionales y departamentales. ya que permite responder a la creciente demanda de plantines de

durazno adaptados a las condiciones locales, donde la producción enfrenta desafíos como plagas, enfermedades y la necesidad de mejorar la productividad en menor tiempo con portainjertos de durazno con pureza varietal y calidad sanitaria, garantizando la disponibilidad de material vegetal libre de patógenos y apto para injertación lo cual es especialmente relevante en una región donde el durazno representa una de las frutas de mayor importancia económica y cultural.

El éxito de la multiplicación *IN VITRO* asegura una producción temprana de portainjertos de durazno, minimizando los riesgos de infestación fitosanitaria y respondiendo a la necesidad urgente del productor de contar con material vegetal sano, uniforme y de rápida disponibilidad. Así, se establecen las bases para una estrategia de propagación masiva que fortalezca la competitividad y sostenibilidad del cultivo del durazno

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La variedad G × N (Garfí - Nemared) es utilizada como portainjerto en la producción de plantas de durazno. Sin embargo, su uso en los viveros que producen estas plantas de pepa es aún limitado, en parte a algunas razones que se plantean a continuación

- Desconocimiento de los productores que no piden o buscan plantas injertadas en portainjertos, se ha establecido el uso corriente de plantas francas o injertadas en patrones de pepa.
- Inexistencia de proveedores de este material genético, fundamentalmente a que no se aprovecha las bondades del cultivo de tejidos para la multiplicación de esta variedad, así como otros cultivos importantes para el departamento de Tarija.
- Falta de investigaciones que evalúen su desempeño en condiciones *IN VITRO*.

La producción de durazno en Tarija enfrenta limitaciones importantes relacionadas con la disponibilidad de portainjertos de calidad. Los métodos tradicionales de propagación presentan riesgos de contaminación fitosanitaria, baja eficiencia en la obtención de plantas homogéneas y tiempos prolongados para disponer de material apto para injertación. Esto genera dificultades para los productores de plantas frutales, quienes

requieren soluciones rápidas y confiables para mantener la competitividad de un cultivo que constituye una de las principales actividades frutícolas de la región.

JUSTIFICACIÓN

Con el presente trabajo se pretende solucionar la problemática histórica del uso de material de propagación inadecuado (plantas francas o portainjertos de pepas de variedades comerciales) y promover la disponibilidad de recursos genéticos que no están siendo aprovechados.

Así mismo, GxN (Garfi x Nemared) al ser un portainjerto vigoroso y resistente, puede reducir la necesidad de insumos químicos, como pesticidas y fertilizantes, también reducir riesgos fitosanitarios, al ofrecer portainjertos libres de plagas y enfermedades, En el caso del durazno, cultivo de gran importancia económica y social en Tarija, esta técnica representa una alternativa estratégica frente a los métodos tradicionales de propagación, que suelen ser más lentos y presentan mayores riesgos de contaminación fitosanitaria.

La multiplicación *IN VITRO* constituye una herramienta biotecnológica de gran relevancia para la fruticultura moderna, ya que permite obtener un número elevado de plantas en menor tiempo, asegurando la disponibilidad de material vegetal sano, uniforme y con pureza varietal fortaleciendo así una agricultura más sostenible y rentable promoviendo la competitividad frutícola.

OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la fase de multiplicación *IN VITRO* del portainjerto de duraznero GxN (Garfi x Nemared) en tres medios de cultivo con el fin de identificar las condiciones más favorables para su propagación en el laboratorio de la FCAYF.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la Tasa de multiplicación del portainjerto GxN en tres medios de cultivo.

- Evaluar la altura de vitroplantas del portainjerto GxN en tres medios de cultivo.
- Evaluar el vigor de vitroplantas del portainjerto GxN en tres medios de cultivo.

HIPÓTESIS

Hi: El portainjerto $G \times N$ (Garfi-Nemared) presenta una mayor tasa de multiplicación *IN VITRO* y una mayor altura en uno de los tres medios de cultivo debido a la composición de reguladores de crecimiento.

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 ORIGEN

Cotevisa (2004), y Parada (2009), refieren que el portainjerto ‘GxN15’, llamado también ‘Garnem’ fue obtenido en España por el Servicio de Investigación Agraria de la Diputación General de Aragón, Zaragoza. Es un híbrido entre almendro y durazno seleccionado entre las plantas originadas por el cruzamiento del ‘Garfi x Nemared’ (Serie GxN).

Soto mayor et al. (2005), menciona que el GxN 15 Garnem, portainjerto obtenido por el SIA de Zaragoza. Híbrido de almendro (*Prunus amygdalus*) y duraznero (*Prunus persica*), pertenece a la serie de portainjertos denominada G*N, debido a sus parentales: el almendro Garfi (elegido por su fácil propagación y porte erecto) y el duraznero Nemared (elegido por su buena compatibilidad para el injerto, su resistencia a nematodos y sus buenas características agronómicas). Es de hoja roja, apto para el injerto de almendro, duraznero, nectarino, ciruelo y damasco.

Así mismo Felipe et al. (1997), recalca que el híbrido es el resultado de la selección de las descendencias del cruce de un híbrido entre *Prunus dulcis* y *Prunus persica*. Centellas et al. (2011), menciona que gradualmente el GxN se está convirtiendo en el principal portainjerto para el durazno en Bolivia por la buena adaptación a las condiciones de suelos de valles, buen vigor, rápida entrada en producción, y principalmente por el fácil enraizamiento en invernadero en buena parte de los meses del año.

1.2. IMPORTANCIA DEL DURAZNO

Es una de las frutas más tecnificadas y más difundidas en todo el mundo. España es la segunda productora a nivel europeo con más de un millón de toneladas. El 20% de la producción se destina a la industrialización: conserva de frutos en almíbar, zumos, elaboración de mermeladas y secado. El 70% a consumo en fresco, casi siempre para

mercado interior. Solo el 10% se destina a la exportación. El incremento de la producción en los últimos años se debe fundamentalmente a la renovación de las plantaciones, incremento de la superficie en regadío y mejora de las técnicas de cultivo. Las tendencias de plantación del melocotonero se orientan al cultivo de variedades de maduración extra temprana en las zonas cálidas y al de variedades tardías de carne dura en zonas menos cálidas. Las preferencias de los consumidores por el color de la carne y el pretendido uso del fruto (mercado en fresco, enlatado, congelación o secado) contribuyen a la diversidad y al gran número de cultivares cultivados en el mundo. (Kattery, 2010).

1.2.1. PRODUCCIÓN NACIONAL

El cultivo del durazno en Bolivia

Los españoles vinieron a asentarse en Bolivia durante la colonia, trajeron consigo los durazneros e iniciaron las plantaciones en aquellas regiones donde las condiciones de clima y suelo eran favorables. A nivel nacional la producción es heterogénea, no existen variedades definidas lo cual dificulta la comercialización. El durazno en fresco es una de las principales frutas de la temporada de enero y abril. Los departamentos ofertantes de durazno son Cochabamba, Chuquisaca, Tarija, La Paz, Potosí y Santa Cruz. (Coca. 2009).

Las zonas de mayor importancia según los departamentos son:

Departamento Cochabamba: las provincias del Valle alto.

Departamento La Paz: Las provincias Loayza (Luribay, Sapahaqui) e Inquisivi.

Departamento de Santa Cruz: M.M. Caballero, Valle grande y Florida.

Departamento de Chuquisaca: Nor Cinti y Sud Cinti.

Departamento de Potosí: Nor Chichas, Sud Chichas y Modesto Omiste.

Departamento de Tarija: Emborozú, Valle Central, El Puente (Coca. 2009).

1.2.2. Producción, superficie y rendimiento de producción de durazno por departamento para la gestión 2023

Tabla N°1

Producción, superficie y rendimiento de producción de durazno por departamento para la gestión 2023.

<i>Departamento</i>	Producción	Superficie	Rendimiento
	Tm	Ha	T/ ha
<i>CHUQUISACA</i>	12.937	2.383	5,43
<i>LA PAZ</i>	12.374	1.565	7,91
<i>SANTA CRUZ</i>	11.348	1.463	7,76
<i>POTOSI</i>	8.546	1.289	6,63
<i>TARIJA</i>	7.873	1.132	6,96
<i>COCHABAMBA</i>	5.448	764	7,13
Total	58.526	8.596	6,81

Fuente MDRT, *Elaboración DAPRO*

La ubicación geográfica de cada departamento nos permite obtener diferentes rendimientos en el cultivo de durazno es así que el departamento de La Paz, Santa Cruz y Cochabamba tienen un rendimiento superior al resto de los departamentos tales como Potosí, Tarija y por último Chuquisaca con un rendimiento menor.

1.2.3. PRODUCCIÓN A NIVEL DEPARTAMENTAL

La producción de durazno en el departamento de Tarija es de 7.873 toneladas y tiene una superficie total de 1.132 ha. La cual obtiene un rendimiento promedio de 6,96 kg por hectárea.

1.3. TAXONOMÍA

El duraznero según Gil y Schurhoff, (1987) se clasifica en género *Prunus* y a la especie *pérsica* de la siguiente manera:

Reino: Vegetal

Phylum: Teleomorphytae

División: Tracheophytae

Sub división: Anthophyta

Clase: Angiospermae

Sub clase: Dicotyledoneae

Grado Evolutivo: Archichlamydeae

Grupo de Ordenes: Corolinos

Orden: Rosales

Familia: Rosaceae

Subfamilia: Prunoideae

Nombre científico: *Prunus persica* (L.) Batsch

Nombre común: Duraznero

Fuente: Herbario Universitario (T.B. 2025)

1.4. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Según García (2013), define que el árbol de la familia Rosaceae, género *Prunus*. Es una planta perenne, caducifolia, de ciclo anual, tienen vida productiva relativamente

corta (15 - 20 años). Requiere un adecuado riego, especialmente en primavera y verano, con suelos profundos y bien drenados.

1.4.1. RAÍZ

Las raíces del híbrido son muy ramificadas y profundas, tiene un típico color anaranjado no tolera la excesiva humedad, Si es expuesto a una elevada humedad llega a morir aún en el tercer año de vida, el antagonismo que se establece en los sistemas radiculares de las plantas próximas es no invadir el terreno de la planta adyacente.

1.4.2. HOJAS

Las hojas son simples, lanceoladas, alternas con el margen finamente aserrado. Su tamaño varía entre 5 a 12 cm de largo por 3 a 5 cm de ancho. Presenta un pecíolo de 1-1.5 cm de longitud, con 2 a 4 glándulas cerca del limbo. Las hojas del híbrido (GxN) son de aspecto intermedio entre el almendro y Duraznero. En primavera tiene un color rojo que durante el verano vira a verde bronceado. Los brotes en crecimiento tienen las hojas terminales con ese color que va virando de color a medida que va madurando. (Contenida, 2010).

1.4.3. FLORES

Las flores son grandes, de color rosa pálido. Frutos pequeños redondeados de color verde oscuro con tonalidad rojizas. Indehiscentes y con hueso libre. Los brotes son largos y erectos de color verde claro teñidos de rojo antocianico en la cara superior, que viran a rojo intenso durante la parada vegetativa. (Cotevisa, 2015).

El patrón fecunda frutos poco vistosos, el fruto es una drupa con las siguientes características epicarpio membranoso, mesocarpio pulposo, endocardio leñoso, con una semilla con embrión y genes recesivos Hebert (2008); (Laime,2015).

1.5. LAS VARIEDADES MÁS USADAS

Existen muchas variedades cultivadas en Bolivia, la mayor parte introducidas de España, durante la época del coloniaje, este grupo lo constituye los duraznos tardíos del grupo de los Ulincales.

Si estudiamos las distintas variedades de durazno que podemos coleccionar entre las diversas zonas productoras de durazno, veremos que existen grandes diferencias entre ellas desde el punto de vista morfológico. (Seino H. 1993)

Las variedades criollas o regionales seleccionadas con un buen manejo técnico se obtienen rendimientos de 15.000 a 20.000 Kg/ha, mientras que la producción a nivel nacional es de 5.736 Kg/ha. Las variedades cultivadas corresponden a los grupos: pavía o Ullincate y prisco o mocito; siendo el primero de mayor importancia.

1.5.1. VARIEDAD DE MADURACIÓN TEMPRANA

1.5.2. FLORIDA RED

Es una variedad que más se cultiva en los valles calientes de Santa Cruz, Cochabamba y Tarija. Se cosecha en octubre-noviembre, fruto de tamaño mediano a grande, color rojo, pulpa amarilla, rápido crecimiento, baja resistencia al transporte. Árbol vigoroso, entra en producción en el segundo año, rendimientos altos (Quiroga 2009).

1.5.3 VARIEDADES DE MADURACIÓN INTERMEDIO Y TARDÍA

1.5.4. GUMUCIO REYES

Es la variedad más importante, difundida en los viveros del SEDAG, 2010 (Servicio Departamental Agropecuario). Fruto de color crema con jaspes rojos, tamaño mediano a grande, alto contenido en azúcar, sensibles al oídio. Árbol de mediano vigor, capacidad productiva mediana, sensible a la roya, menos sensible al torque. En el Valle Central de Tarija y otras zonas productivas de durazno, existen variedades criollas como Ullincate amarillo, Ullincate blanco y un gran número de ecotipos.

En las comunidades de: La Merced, Rio Negro, de la Provincia Arce, y otras existe un número importante de variedades introducidas de la República Argentina. En el vivero de Rio negro se trabaja con las variedades: frordastar, Early grande, forda King, florprince, forastero y otras. En la provincia de O'Connor, comunidad de potreros se han introducido las siguientes variedades: cardinal, Desergold, Earli grande, flavorcrest, flordaprince, flordaking, golcrest, meariabianca y otras (Quiroga 2009).

1.5.5. ULINCATE

Este grupo de variedad pertenece a la familia europea en su estado original. En Bolivia la variedad Ulincate se denomina originaria o “criolla”, solo las encontramos en las zonas de comunicación deficiente. (Montaño, 2002). El fruto es de tamaño mediano (120 - 150 gr) pero hay muchas variedades, desde unos bastantes pequeños hasta otros que sobre pasan los 150 gr. Su forma es redonda o cónica. La punta generalmente convexa, aunque también las encontramos planas. El color del mesocarpio, es crema y anaranjado su constitución es elástica, aromática con mucha glucosa y acidez. El color del pericarpio es claro con mucha pigmentación rojiza, aunque varía según la variedad. (Montaño, 2002). El fruto de este grupo de variedades es de muy buena calidad poco jugoso, tiene mucha resistencia para el transporte y larga duración. Se caracteriza por su calidad y utilidad para las conservas. La mayoría de estas variedades son de maduración tardía, algunas de maduración media y ninguna de maduración precoz, todas las variedades de este grupo tienen muy buena fructificación. (Montaño, 2002).

1.5.6. ULINCATE BLANCO

Esta variedad da un crecimiento elevado que al paso del tiempo forma una copa abierta de buena conformación, de crecimiento precoz la rama es gruesa y posee abundante fruto con 120 y 200 gr cada fruto, es redondo y posee en la punta algo cóncavo algunas veces se pigmenta de color rojizo, tiene abundante jugo y glucosa que llega entre 15 y 16°brix es una variedad de maduración tardía y es necesario su raleo debido a la carga de frutas. (Seino, H. 1993).

1.5.7. ULINCATE AMARILLO

Esta variedad pertenece a la familia Rosaceae del género *Prunus*, de la especie *Prunus pérsica* L. es un árbol de porte medianamente alto que forma buena copa es de crecimiento precoz, de maduración tardía de ramas gruesas con abundante fruto que pesan entre 150 y 200 gr cada fruto, es de buen aroma dulce que llegan entre 15 y 16°brix es de pulpa amarilla adherida al carozo y tiene buena resistencia al transporte. (Seino, H. 1993).

1.5.8. ESPIRITEÑO

Esta variedad es una de las mejores dentro de la maduración tardía. La planta tiene la copa abierta, es de gran crecimiento y alcanza gran tamaño. Las hojas tienen color verde oscuro. El fruto es mediano de 90 a 100 gr. de peso, su forma es redonda con la punta algo cóncava. Tienen muy buena uniformidad. El pericarpio tiene pigmentación rojiza fuerte, sobre fondo crema oscuro. El mesocarpio es de color crema con algo de pigmentación rojiza alrededor del endocarpio. (Seino, H. 1993). La constitución de los frutos es menos fina, tiene algo de fibra. El fruto es blando y jugoso. La glucosa alcanza 16° a 17° Brix y tiene algo de acidez. El tiempo de maduración es a comienzos de abril. (Seino, H. 1993).

1.6. PROPAGACIÓN Y ELECCIÓN DE PORTAINJERTO

Los patrones se propagan por dos vías: por semillas y por enraizamiento de partes vegetativas, que resultan en portainjerto denominados clonales.

Una planta injertada está formada por dos partes: la aérea, o variedad, y la subterránea, que define la raíz, es el patrón, pie o portainjerto. Ambas partes pueden proceder de la misma especie o pertenecer a especies distintas, emparentadas, con una relación recíproca entre los dos. El portainjerto ejerce influencias sobre la variedad, que se manifiestan en el tamaño del árbol y su precocidad, productividad y la calidad de los frutos, y muy especialmente aporta la resistencia o tolerancia del árbol a agentes externos, ya sea climáticos, físico-químicos del suelo o fitopatológicos.

repositorio.uchile.cl

1.6.1. PATRONES PROVENIENTES DE SEMILLA

En este grupo se distinguen dos tipos de portainjertos: aquellos seleccionados y los patrones francos. Estos últimos son plantas procedentes de semillas (origen sexual) de la misma especie (*Prunus persica*), y no proporcionan un comportamiento homogéneo, ya que cada planta es distinta de su hermana, debido a la variabilidad genética propia de las descendencias entre dos progenitores. Por ello, cuando se utilizan semillas que provienen de la industria conservera, las plantas obtenidas presentan alta

heterogeneidad o variabilidad, característica indeseable, que transmitirán a la variedad injertada sobre ellos, especialmente durante los primeros años. Dentro de los portainjertos propagados por semilla también existen selecciones, como el Nemaguard y Nemared, que logran una alta homogeneidad en las plantas resultantes, debido al mejoramiento a que han sido sometidos. repositorio.uchile.cl

1.6.2. EL PORTAINJERTO IDEAL PARA EL DURAZNERO

Se obtienen por cualquier procedimiento de propagación vegetativa (asexual): estaca, acodo o micropropagación, originando una descendencia homogénea, por ser individuos idénticos genéticamente, éstos puestos en condiciones iguales, manifiestan el mismo comportamiento. Por mejoramiento genético se han seleccionado patrones que ofrecen un comportamiento especial frente a condiciones adversas de suelo, como calcáreo, salinidad, textura, resistencia a patógenos, como nematodos, *Phytophthora* sp., y situaciones de mal del replante, entre otras. También se han logrado portainjertos enanizantes, que controlan el crecimiento vegetativo. Dado que el fruticultor deberá elegir un portainjerto, que tiene que tomar en cuenta diversos aspectos, y sus principales exigencias deben ser:

- Compatibilidad de injerto con la variedad seleccionada.
- Adaptación a las condiciones adversas de su suelo como asfixia radicular, calcáreo, salinidad.
- Tolerancia al mal del replante, en caso que deba repetir el cultivo sobre un suelo implantado anteriormente con durazneros.
- Resistencia y/o tolerancia a patógenos: nematodos, *Phytophthora* sp, agalla de cuello (*Agrobacterium tumefaciens*), cáncer bacterial, etc.

Cabe señalar que las Normativas para la Producción Integrada y Cultivos Orgánicos, que prohíben el uso de fumigantes de suelo y nematicidas y las restricciones que imponen los consumidores por los posibles efectos negativos de los pesticidas, propician el uso de métodos alternativos para reducir problemas de plagas, como los

portainjertos tolerantes. Así, Nemaguard y Nemared son dos de los portainjertos más utilizados en Argentina para el cultivo del duraznero. **Repositorio.uchile.cl**

1.6.3. PROPAGACIÓN DE ESPECIES LEÑOSAS

La propagación hace referencia al aprovechamiento de los tipos de reproducción: el sexual y el asexual, para reproducir genotipos o combinaciones de estos, hasta obtener poblaciones con características seleccionadas. Hay que tener en cuenta que la reproducción sexual genera genotipos variados y evita problemas causados por la endogamia, mientras que la asexual permite multiplicar organismos y poblaciones seleccionadas y mantener cultivos que no generan semillas viables, al reproducir partes vegetativas como los tallos, ramas, hojas, raíces, que facilitan el mantenimiento de un genotipo (Escobar, Zuluaga, & Osorio, 2002). Teniendo en cuenta lo anterior, las plantas leñosas a lo largo de la historia han sido propagadas con métodos vegetativos, mediante el enraizamiento de estacas, el uso de injertos, bulbos, brotes laterales entre otros. Estas técnicas han sido efectivas hasta cierto punto, puesto que obtener plantas con un material genético de buena calidad, es bastante complejo por su largo ciclo de vida y la alta variabilidad genética que presentan. Además en una gran cantidad de especies se ha observado que la edad de la planta donante afecta la propagación vegetativa tradicional, en consecuencia la propagación *IN VITRO* se ha convertido en una herramienta muy eficiente y con múltiples ventajas para desarrollar protocolos de multiplicación de especímenes y genotipos con características deseables, logrando el mejoramiento de individuos productivos y resistentes de patógenos y la clonación de híbridos en poco tiempo (Caso, 1992) (Olmos et al, 2010).

El método más utilizado para propagar *IN VITRO* especies leñosas es la de segmentos nodales, brotación de yemas adventicias, cultivando explantes de ápices de vástagos, yemas laterales así obtenidos de áreas basales de la planta que tengan carácter juvenil. (Olmos et al, 2010).

Finalmente es necesario saber que la propagación *IN VITRO* de plantas leñosas presenta un gran reto en el control de la oxidación de los explantes. Este fenómeno se da principalmente en las fases iniciales del cultivo, debido al estrés oxidativo al cual

los tejidos se ven sometidos, lo cual desencadena la producción celular de radicales libres, fenoles generados por el polifenol oxidasa y múltiples alteraciones fisiológicas, morfológicas y genéticas, que pueden generar oscurecimiento de los tejidos vegetales y del medio de cultivo hasta conducir al daño y muerte celular. (Olmos et al, 2010) (Azofeifa, 2009).

1.6.4. Principales portainjertos híbridos provenientes del cruzamiento de especies del género *Prunus*

Tabla N°2

Principales portainjertos híbridos provenientes del cruzamiento de especies del género *Prunus*.

PORTAINJERTO	GENOTIPO	ORIGEN
Atlas	<i>Nemaguard x (Prunus dulcis x P. blirelana)</i>	EE.UU.
Cadaman	<i>P.persica x P. davidiana</i>	Francia
GF 677	<i>P.persica x P. dulcis</i>	Francia
GxN 15	<i>P.persica x P. dulcis</i>	España
MrS 2/5	<i>P.cerasifera x P. spinosa</i>	Italia
Viking	<i>P. dulcis x P. blirelana</i>	EE.UU.
Barrier (Emoyrean #1)	<i>P.persica x P. davidiana</i>	Italia
Controller 5	<i>P.salicina x P. persica</i>	EE.UU.
Controller 9	<i>P.salicina x P. persica</i>	EE.UU.

Fuente: //Repositorio.uchile.cl › handle › Port... (Capítulo 3 Portainjertos y calidad de plantas).

1.6.5. LA TOTIPOTENCIA

Es la capacidad de una célula de generar un individuo completamente idéntico a la célula madre, la cual tiene la misma información genética y la misma función (Kieran & Col, 1997), es decir, indica que cualquier célula vegetal contiene una copia íntegra

del material genético de la planta a la que pertenece sin importar su función o posición en ella, y por lo tanto tiene el potencial para regenerar una nueva planta completa (Fertl y Paul, 2000).

El cultivo se incuba bajo condiciones de luz, temperatura y humedad controlada, que junto con los factores físicos, químicos y nutricionales conducen el desarrollo del explante hacia la formación de una masa celular denominada amorfa, que producirá órganos o embriones. (Calva y Ríos 1999, Seabrook 1980, Martin 1980, Yasuda et al 1972).

1.6.6. EL CULTIVO DE MERISTEMAS

En la yema apical se encuentran un grupo de células que conforman el meristema apical (tiene un tamaño entre 0,01 y 0,3 mm), tejido embrionario que tiene la capacidad de formar todos los tejidos de la planta. A partir de ellos se pueden regenerar plantas completas. El cultivo de meristemas tiene numerosas aplicaciones. Una de las más importantes es la obtención de plantas libres de virus, ya que esta pequeña zona de tejido generalmente no es afectada por estos patógenos vegetales.

1.6.7. EXPLANTES

Son segmentos de tallo que contienen nudos que son áreas donde se encuentran las hojas y las yemas axilares y que tiene la capacidad de regenerar plantas completas.

1.6.8. REQUERIMIENTOS CLIMÁTICOS

Frutal de zona templada no muy resistente al frío. Sufre a temperaturas por debajo de los -15°C . En floración a -3°C sufre daños graves. Requiere de 400 a 800 horas-frío y los nuevos cultivares requieren incluso menos. La falta de frío puede ser un problema si la elección varietal es errónea. Las heladas tardías pueden afectarle. Es una especie ávida de luz y la requiere para conferirle calidad al fruto. Sin embargo, el tronco sufre con excesiva insolación, por lo que habrá que encalar o realizar una poda adecuada. Los diferentes patrones le permiten cualquier tipo de suelo, aunque prefiere suelos frescos, profundos, de pH moderado, nunca muy calizo y arenosos o al menos con buen drenaje. Necesita riegos continuos para obtener los calibres adecuados (Infoagro, n.d.)

1.6.9. REQUERIMIENTOS EDÁFICOS

El suelo para el cultivo del duraznero debe ser profundo, Por lo menos un metro, no debe ser pesado arcilloso, sino liviano para que la raíz desarrolle en lo profundo y ancho, el suelo debe tener suficiente alimento para que las plantas puedan crecer fuertes y dar mucha fruta de calidad, debe considerarse que el suelo tenga suficiente alimento y para ello se siembra haba o arveja, enterrándolo con la yunta una vez que este maduro desmenuzar e incorporar al suelo, esto se llama abono verde. (Montaño, 2002).

1.6.10. PLAGAS

Se entiende por plaga, a cualquier organismo vivo que cause efectos no deseados. Las plagas pueden ser insectos, hongos, roedores, aves o cualquier otro animal. Un organismo puede ser deseado en un lugar, pero considerada plaga en otro lugar. Una población de insectos se considera como una plaga cuando reduce la cantidad y calidad de los alimentos, forrajes o fibra durante la producción, cuando transmite organismos causantes de enfermedades al hombre o a plantas o animales valiosos, cuando perjudican a los animales útiles al hombre; cuando dañan a plantas de ornato, prados o flores o bien cuando causan daños a casas y a otras propiedades particulares. (National Academy of sciences, 1993).

El durazno (*Prunus persica* L.) es susceptible a diversas plagas y enfermedades que pueden afectar su producción y calidad.

Pulgón del duraznero (*Myzus persicae*):

Insecto que se alimenta de la savia de las hojas, debilitando la planta y transmitiendo virus.

Mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*):

Deposita sus huevos en los frutos, causando pudrición y pérdida de calidad.

Arañuela roja (*Tetranychus urticae*):

Provoca decoloración y caída prematura de las hojas.

Gusano del duraznero (*Grapholita molesta*):

Sus larvas perforan los brotes y frutos, afectando el desarrollo del árbol.

1.6.11. ENFERMEDADES

La enfermedad de las plantas es un proceso fisiológico anormal y perjudicial causado por una continua irritación de un agente causal primario, exhibido por la actividad celular anormal y expresada mediante condiciones patológicas caracterizadas por los síntomas. (Agrios. 2007).

Las plantas presentan enfermedad cuando una o varias de sus funciones son alteradas por organismos patógenos o por determinadas condiciones del medio físico. Los procesos físicos específicos que caracterizan las enfermedades, varían considerablemente según el agente causal y a veces según la planta misma. (Herbas, R. 1983).

Como en los seres humanos, las enfermedades que padecen las plantas son desórdenes fisiológicos causados por problemas internos o por el ataque de algún microorganismo, como los hongos, las bacterias y los virus. (Herbas, R. 1983).

Esta enfermedad tiene distribución mundial y causa pérdidas severas en una variedad de especies frutales en viveros y plantaciones, pero, principalmente, en duraznero.

1.6.12. AGALLA DE CORONA (*Agrobacterium tumefaciens*).

La agalla de corona es una enfermedad causada por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* y es conocida como una de las más destructivas del duraznero. Las plantas enfermas pueden mostrar clorosis. Los síntomas de agalla de corona son a nivel de la base del tallo y raíz de la planta. Es una enfermedad que afecta a una gran cantidad de especies vegetales, entre ellas frutales de carozo, pomáceas, vid, diferentes ornamentales y hortícolas. Provoca daños en duraznero siendo un problema muy importante en los viveros de plantas frutales. Se trata de un habitante del suelo que infecta las raíces y cuello de las plantas, siendo allí mismo dónde se observan los síntomas. Su importancia radica en que compromete el desarrollo y productividad de los árboles al dificultar la absorción de agua y nutrientes. Debido a que los mecanismos por los que se ocasiona la enfermedad son muy sutiles, es una enfermedad muy

estudiada. La bacteria es capaz de transferir información genética a la célula vegetal haciendo que ésta se multiplique indiscriminadamente formando un tumor y produciendo sustancias (opinas) que le sirven de alimento. El mecanismo de transmisión de información genética desde la bacteria a una planta superior, hoy día es utilizado en la creación de plantas transgénicas (Pagani, 1998).

1.6.13. SÍNTOMAS, SIGNOS Y DAÑOS

Esta bacteria produce agallas o tumores en las raíces o en el cuello de la planta. Las agallas jóvenes tienen color crema y posteriormente se van oscureciendo tornándose de color marrón oscuro a la vez que toman aspecto rugoso. Las plantas infectadas ven dificultad en la absorción de agua y nutrientes por las raíces, manifestando síntomas inespecíficos en la parte aérea. Estos síntomas pueden confundirse con los ocasionados por deficiencias nutricionales o enfermedades radiculares provocadas por otros patógenos del suelo. © 2010, INIA

Figura N°1 Agalla de corona en la raíz del duraznero



1.6.14. CICLO DE LA ENFERMEDAD

A. tumefaciens vive en el suelo e infecta las raíces y cuello de las plantas ingresando por aberturas naturales o heridas mecánicas. La bacteria, una vez en contacto con las

células de la raíz, le transfiere parte de su ADN codificado en un plásmido (plásmido Ti). La información genética una vez transferida hace que las células de la planta se dividan, crezcan sin control resultando en agallas y produzcan opinas, sustancias que le sirven de fuente de energía a la bacteria. Las agallas se observan dos a tres meses después de ocurrida la infección, pero también pueden pasar desapercibidas, ya que muchas veces se encuentran debajo del suelo. En el otoño, los tejidos periféricos del tumor se degradan liberando bacterias al suelo las que pueden ser diseminadas por el agua hacia otras plantas. La diseminación desde un suelo infestado a otro se realiza principalmente al llevar material vegetal infectado. © 2010, INIA.

Abolladura del duraznero (*Taphrina deformans*): Es una enfermedad fúngica muy común en duraznero, nectarino y almendro también se le conoce como torque o lepra dejando un aspecto de abolladura y Caída prematura, en brotes tiernos deforma las hojas, causando engrosamiento y coloración rojiza,

Moniliosis (*Monilinia spp.*): Provoca pudrición marrón en los frutos y afecta la floración.

Roya del duraznero (*Tranzschelia discolor*): Se manifiesta como manchas marrones en las hojas, reduciendo la fotosíntesis.

Cancro del duraznero (*Cytospora spp.*): Enfermedad que afecta el tronco y ramas, causando exudación de goma y muerte de tejidos.

1.7. NEMÁTODO DE LOS NÓDULOS RADICULARES

Los nematodos son organismos pluricelulares que se distribuyen en todo el mundo, principalmente en zonas húmedas. El género de nematodos fitopatógenos más importante es *Meloidogyne spp.*, por la capacidad de adaptación en climas fríos y cálidos. Las especies de este género pueden soportar temperaturas entre los 0 a 35 °C. A nivel mundial se han encontrado más de 70 especies de *Meloidogyne spp.*, las cuales afectan a una gran variedad de cultivos y provocan una reducción considerable en la producción, y sin un adecuado manejo del cultivo son difíciles de controlar. Los

nematodos no participan en la descomposición de la materia orgánica (López y Quesada, 1997; Dagatti et al. 2014).

Los nematodos fitopatógenos más comunes del género que provocan mayores daños a los cultivos del duraznero son:

o Meloidogyne incognita

o Meloidogyne javanica

o Meloidogyne arenaria

1.7.1. DAÑOS CAUSADOS POR NEMATODOS

Los daños de los nematodos del género *Meloidogyne* ocurren principalmente en el área radical, debido a que en esta área existe mayor disponibilidad de alimento y su reproducción es más eficiente. Los estados juveniles causan mayores daños, los cuales son ocasionados durante la alimentación del nematodo debido a las secreciones salivares que los nematodos liberan al alimentarse, generando nódulos en los tejidos radiculares. La severidad de los daños varía de acuerdo al grado de infestación del nematodo, la especie de este y la planta a la que parasita (Guzmán et al. 2013).

Las hembras adultas son las que ocasionan los mayores daños. En la glándula esofágica dorsal se producen enzimas, las cuales son secretadas en el sitio de alimentación de la hembra (las células radiculares del duraznero). Allí las enzimas actúan disolviendo las paredes celulares y se produce la fusión de varias de ellas, formando «células gigantes», las cuales presentan un comportamiento particular y afectan la expresión de los reguladores hormonales de la planta. Como consecuencia se produce un engrosamiento de las raíces y la aparición de «nódulos» o «agallas», que son fácilmente visibles y constituyen el aspecto distintivo de esta enfermedad. © 2010, INIA

Condiciones predisponentes

La incidencia de estos nemátodos es mayor en suelos arenosos. Los mayores daños y la mayor sobrevivencia de los nemátodos ocurren a 30 °C

Manejo de la enfermedad

La principal medida de manejo es el uso de portainjertos con resistencia/ tolerancia a nemátodos, siendo los más conocidos Nemaguard y Nemared. En experimentos de evaluación de portainjertos realizados en el país, el portainjerto INIA Tsukuba se ha destacado por su comportamiento y es citado como inmune a *M. incognita*, *M. javanica* y *M. mali* (Cabrera et al., 2001).

1.8. PROBLEMAS DE REPLANTE

El Ing. Agr. Antonio Weibel, del área de Fruticultura de esa unidad, señala que “la reimplantación de montes frutales con la misma especie involucra la enfermedad conocida como mal del replante, fatiga o cansancio del suelo; y reconoce que “es un problema en todas las áreas frutícolas del mundo, incluido nuestro país, donde cada vez es más frecuente la reimplantación total de montes de durazneros con especies idénticas, así como la sustitución de plantas envejecidas aisladas, por nuevas”. El problema del replante implica mortandad de plantas, reducción de crecimiento radicular y aéreo, mayor susceptibilidad a plagas y enfermedades, clorosis (amarillamiento) y disminución de la producción, especialmente en los primeros años. Esta enfermedad, presente en frutales como manzano, peral, cerezo entre los más afectados, se hace más notoria en duraznero. El replante involucra factores de tipo agronómico: nutricionales, hídricos, degradaciones, compactaciones y acumulaciones de pesticidas, entre otros. A estos se suman los efectos producidos por bacterias (agalla de corona), hongos y nemátodos. Por otro lado, la presencia de fitotoxinas, sustancias químicas producidas por las raíces del duraznero, constituye una de las principales causas del problema.

El empleo de biocidas (nematicidas, bactericidas, fungicidas), si bien produce una mejora en la situación de la planta joven no constituye una solución definitiva. Por otra parte, el uso de estos biocidas, además de ser en algunos casos poco económico, es actualmente muy resistido por los residuos y perjuicios ambientales que muchos de ellos traen aparejados. Se presenta entonces la alternativa de ofrecer portainjertos tolerantes al mal del replante.

1.9. CULTIVO IN VITRO

La expresión cultivo *IN VITRO* de plantas, significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. 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. El avance alcanzado por las ciencias biológicas ha permitido en los últimos años el estudio detallado de las plantas tanto a nivel celular como molecular, y en condiciones de laboratorio es posible actualmente reproducir todos los factores que puedan incidir en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Este principio general se aplica también al cultivo IN VITRO de plantas. Haberlandt, un científico alemán, postuló a principios del siglo pasado que las plantas eran capaces de reproducir su crecimiento a partir de células aisladas, originando la hipótesis de la totipotencia celular en plantas. Sin embargo, este investigador no pudo demostrar en forma práctica su hipótesis, debido a que la mayoría de los componentes complejos que integran los medios de cultivo actuales todavía no habían sido descubiertos. Sería recién en la década del '50 cuando se determina la importancia del balance hormonal en las plantas, con el descubrimiento de las hormonas vegetales más usadas en la actualidad. INIA Las Brujas. (2004).

1.9.1. LA MICROPROPAGACIÓN O PROPAGACIÓN CLONAL

Es una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo *IN VITRO*, a través de la micropropagación, a partir de un fragmento (explante) de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones. El explante más usado para los procesos de propagación *IN VITRO* son las yemas vegetativas de las plantas. Los frascos que contienen las plantas se ubican en estanterías con luz artificial dentro de la cámara de crecimiento, donde se fija la temperatura en valores que oscilan entre los 21 y 23°C, además de controlar la cantidad de horas de luz. Por su parte, el medio de cultivo se compone de una mezcla de sales minerales, vitaminas, reguladores de crecimiento, azúcar, agua y agar. La composición del medio depende de la especie vegetal y de la etapa del proceso de micropropagación. INIA Las Brujas. (2004).

Con finalidad puramente descriptiva se puede clasificar los principales factores no biológicos que afectarán al desarrollo del cultivo *IN VITRO*, incluyendo:

Ambiente químico

- Composición del medio de cultivo
- pH

Ambiente físico

- temperatura
- luz y fotoperíodo
- humedad

1.9.2. DENTRO DEL PROCESO DE MICROPROPAGACIÓN DIFERENCIAMOS VARIAS FASES

0: Selección y Preparación de la planta madre

1: Desinfección de las yemas de la planta y/o desinfección de semillas

2: introducción del material seleccionado in vitro

3: Multiplicación de brotes

4: Enraizamiento

5: Aclimatación

Esta secuencia de etapas abarca el ciclo completo de la multiplicación de plantas *IN VITRO* que puede ser aplicada a diferentes especies vegetales, en cada caso se podrán incluir simplificaciones o cambios de acuerdo a las características de las plantas, pero en términos generales son comunes al proceso de propagación *IN VITRO*.

1.9.3. FASE 0

1.9.3.1. PREPARACIÓN DE LA PLANTA MADRE

Para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantes con un nivel nutricional y un grado de desarrollo adecuado. Para obtener estos

explantes es recomendable mantener a las plantas madre, es decir la planta donadora de yemas, durante un período de tiempo que puede oscilar entre unas semanas o varios meses en un invernadero bajo condiciones controladas. En ese ambiente se cultiva la planta en condiciones sanitarias óptimas y con un control de la nutrición y riego adecuados para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades. INIA Las Brujas. (2004).

1.9.3.2. FASE 1

1.9.3.3. DESINFECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Una vez elegida la planta madre, se extraerán los fragmentos a partir de los cuales se obtendrán los explantes. Los explantes pueden ser yemas, trozos de hojas, porciones de raíces, semillas, etc. Antes de extraer los explantes se hará una desinfección de los fragmentos de planta madre para eliminar los contaminantes externos. Los contaminantes más comunes son los hongos y las bacterias que habitan en forma natural en el ambiente. Una vez desinfectado el material vegetal, se debe mantener en condiciones de asepsia. A efectos de obtener las condiciones de asepsia, se trabajará en cabinas de flujo laminar para extraer los explantes a partir del material vegetal. Estos explantes se introducirán en un tubo de cultivo conteniendo medio de iniciación para poder controlar la sanidad y la viabilidad, luego de realizar la desinfección del material con hipoclorito de sodio (agua clorada comercial), pura o diluida durante un período de 5 a 15 minutos, seguido por 3 a 4 enjuagues en agua esterilizada. INIA Las Brujas. (2004).

1.9.3.4. FASE 2

1.9.3.5. INTRODUCCIÓN DEL MATERIAL IN VITRO

Luego de la desinfección superficial, las semillas o las yemas dependiendo del material seleccionado, se ponen en medio de cultivo estéril. En un período de una semana o quince días, comienza el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo de cultivo *IN VITRO*.

1.9.3.6. FASE 3

1.9.3.7. MULTIPLICACIÓN DE LOS BROTES

Durante esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron la FASE 1 y 2 originen brotes (de procedencia axilar o adventicia) con varias hojas. En la base de cada hoja hay una yema que se desarrollará luego de ser puesta en contacto con el medio de cultivo. Periódicamente estos nuevos brotes se deben sub cultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones se realizan en la cámara de flujo laminar o en un lugar aislado que nos permita mantener las condiciones de asepsia. De esta forma aumenta el número de plantas en cada repique o división de las plantas. El número de plantas que se obtiene dependerá de la especie vegetal y de las condiciones del medio de cultivo. El número de plantas que se obtiene por la vía de la micropropagación permite alcanzar incrementos exponenciales, considerando que todos los factores que afectan el crecimiento hayan sido optimizados. INIA Las Brujas. (2004).

1.9.3.8. FASE 4

1.9.3.9. ELECCIÓN DE UN MEDIO DE ENRAIZAMIENTO DE LOS EXPLANTOS

Para enraizar los explantes se utilizan principalmente plantines individuales de un tamaño aproximado de 2 centímetros. Los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación se transfieren a un medio libre de reguladores de crecimiento o que solo contenga hormonas del tipo auxinas. Algunas especies de plantas no necesitan pasar por esta etapa y emiten sus raíces en el mismo medio de cultivo donde desarrollan yemas nuevas, por lo tanto, el proceso de multiplicación y enraizamiento transcurren en forma simultánea.

1.9.3.10. FASE 5

1.9.3.11. ACLIMATACIÓN DE LOS EXPLANTOS ENRAIZADOS

Los explantes recién enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales, de manera que el éxito o el fracaso de todo el proceso depende de la aclimatación. En esta

etapa las plantas sufrirán cambios de diferente tipo que permitirán la adaptación de las mismas a vivir en condiciones naturales. En el momento en que se extraen los explantes o plantines enraizados de los frascos, están poco adaptados a crecer en un invernáculo, ya que estos explantes han enraizado y crecido en ambientes con una humedad relativa muy elevada y generalmente tienen estomas (estructuras responsables de regular la transpiración y pérdida de agua en la planta) que no son completamente funcionales frente a descensos de la humedad relativa, y por lo tanto demasiado lentos para evitar la desecación del explante. Por otra parte, crecer en ambientes tan húmedos también suele implicar la falta de una cutícula con cera bien desarrollada, que representa la barrera física para evitar la pérdida de agua a lo largo de toda la superficie de la planta. INIA Las Brujas. (2004).

1.9.4. COMPARACIÓN DE CARACTERÍSTICAS DE UNA PLANTA (IN VITRO) E (IN VIVO).

Se presenta una comparación de las características de una planta en condiciones de laboratorio (in vitro) respecto a una planta en condiciones naturales (in vivo):

IN VITRO	IN VIVO
• No realiza fotosíntesis	• Realiza fotosíntesis
• Crecimiento en condiciones controladas	• Crecimiento en condiciones no controladas
• Crecimiento en condiciones de asepsia	• Exposición a los patógenos y gérmenes del ambiente
• Alta humedad relativa	• Humedad relativa variable
• Estomas no funcionales	• Estomas funcionales
• Ausencia de pelos radicales	• Presencia de pelos radicales

Fuente:<http://inia.uy/en/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>

1.9.4.1. VENTAJAS DE LA TÉCNICA IN VITRO

- Producción de gran número de plantas.
- Obtención de plantas en cualquier época del año.
- Almacenamiento de plantas en poco espacio.
- Producción de plantas libres de contaminación.
- Mejora genética de plantas.
- Germinación de semillas.
- Conservación de germoplasma: material de un conjunto de individuos que representa la variabilidad genética de una población vegetal.

1.9.4.2. DESVENTAJAS DE LA TÉCNICA IN VITRO

- No todas las especies son viables de propagar in vitro; algunas son recalcitrantes
- Cada especie requiere de métodos específicos.
- La estandarización de protocolos resulta costosa

1.9.4.3. MEDIOS DE CULTIVO

1.9.4.4. MEDIO DE LLOYD Y McCOWN (WPM)

El medio de cultivo Woody plant fue propuesto por Lloyd y McCown en 1980 para la micropropagación de *kalmia latifolia*. Este medio de cultivo tiene bajas concentraciones de sales, es decir presenta menor concentración de nitrógeno total y de amonio. Además, es utilizado para plantas leñosas que presentan toxicidad a altas concentraciones de sales (Phillips & Garda; 2019).

Fue desarrollado específicamente para especies leñosas, que requieren niveles más bajos de sales y nutrientes en comparación con otros cultivos. La combinación de este

medio con diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento puede optimizar las tasas de multiplicación.

1.9.4.5. MEDIO MS (MURASHIGE Y SKOOG)

Este es el papel que desempeñan los medios de cultivo MS cuando las plantas se trasladan a condiciones de laboratorio.

El medio MS o Murashige y Skoog es un medio nutritivo utilizado para el cultivo *IN VITRO* de células, tejidos y órganos vegetales. Fue desarrollado por primera vez en 1962 por Toshio Murashige y Folke Skoog y desde entonces se ha convertido en uno de los medios más utilizados para el cultivo de tejidos vegetales. © 2025 Plant Cell Technology.

Contiene una mezcla equilibrada de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas y reguladores del crecimiento vegetal para proporcionar las condiciones óptimas para el correcto crecimiento y desarrollo de las plantas.

1.9.4.6. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL MEDIO (MS)

- **Macronutrientes:** Los macronutrientes en el medio MS son los elementos primarios que las plantas necesitan en grandes cantidades para su crecimiento y desarrollo. Estos incluyen nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S). Dichos macronutrientes se proporcionan en forma de sales inorgánicas, como nitrato de amonio (NH_4NO_3), fosfato de potasio (KH_2PO_4), cloruro de calcio (CaCl_2), sulfato de magnesio (MgSO_4) y sulfato de potasio (K_2SO_4).
- **Micronutrientes:** Los micronutrientes en el medio MS son oligoelementos necesarios en pequeñas cantidades para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Incluyen hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn), cobre (Cu), boro (B) y molibdeno (Mo). Estos micronutrientes se proporcionan en forma de diversas sales, como sulfato de hierro (FeSO_4), sulfato de manganeso (MnSO_4), sulfato de zinc (ZnSO_4), sulfato de cobre (CuSO_4), ácido bórico (H_3BO_3) y molibdato de sodio (Na_2MoO_4).

- **Vitaminas:** Las vitaminas añadidas al medio MS incluyen tiamina (vitamina B1), piridoxina (vitamina B6), ácido nicotínico (vitamina B3) y riboflavina (vitamina B2).

1.9.4.7. SUPLEMENTOS DEL MEDIO (MS)

Además de los macronutrientes, micronutrientes y vitaminas, las plantas también necesitan otros suplementos para crecer adecuadamente en el entorno de laboratorio. Estos incluyen:

Azúcar

La sacarosa actúa como fuente de carbono para las plantas. Les proporciona la energía que necesitan para crecer y desarrollarse.

Agente solidificante

Los dos agentes solidificantes más utilizados en los medios de cultivo de tejidos son el agar y la goma gellan. Proporcionan soporte sólido y nutrientes para el crecimiento de las plantas *in vitro*. También son importantes para mantener el pH y el equilibrio osmótico del medio.

Reguladores del crecimiento vegetal

También conocidos como hormonas de crecimiento vegetal, existen cinco clases de hormonas presentes de forma natural en las plantas: auxina, citoquinina, ácido giberélico, ácido abscísico y etileno. Sin embargo, normalmente solo la auxina, la citoquinina y el ácido giberélico se utilizan ampliamente en cultivos celulares. La citoquinina se añade para promover la división celular y la formación de brotes, mientras que las auxinas se pueden añadir para promover la formación de raíces. © 2025 Plant Cell Technology

1.9.4.8. APLICACIONES DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL MEDIO (MS) EN EL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

El medio MS se utiliza ampliamente en laboratorios de cultivo de tejidos para diversas aplicaciones *IN VITRO*, desde la inducción de callos y la regeneración de brotes hasta

la formación de raíces y la embriogénesis somática. Sin embargo, es importante saber que no todas las plantas necesitan el medio MS para crecer en el laboratorio. Algunas prefieren composiciones diferentes de micro y macronutrientes para el desarrollo de sus órganos. Por eso siempre debes averiguar qué sustrato se adapta mejor a tus plantas. Además, la concentración del medio MS puede tener un impacto significativo en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Los tres tipos de concentración de medio MS utilizados en los laboratorios incluyen:

Máxima concentración

Contiene una concentración completa de macro y micronutrientes. Se suele utilizar en las etapas iniciales del cultivo de tejidos vegetales, cuando las plantas requieren un alto nivel de nutrientes y reguladores del crecimiento para promover un rápido desarrollo.

Concentración reducida

Contiene la mitad de la concentración de micro y macronutrientes que el sustrato de concentración completa. Esto puede ser útil para el cultivo de plantas más sensibles a altos niveles de nutrientes y en etapas posteriores del cultivo de tejidos vegetales, cuando las plantas requieren menos nutrientes y reguladores del crecimiento para su desarrollo continuo.

Concentración reducida

Contiene una cuarta parte de la concentración de micro y macronutrientes de un medio de cultivo de concentración completa. Puede ser adecuado para las últimas etapas del crecimiento de las plantas, cuando éstas solo requieren mantenimiento en el laboratorio. © 2025 Plant Cell Technology

1.9.5. TIPOS DE REGULADORES DE CRECIMIENTO

Las hormonas vegetales a pesar de ser pocas en comparación con las hormonas animales, se encuentran en todas las plantas, sin importar su hábitat, forma de vida y ciclo de vida. Estos compuestos con actividad reguladora del crecimiento de las plantas son auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico, etileno, brasinoesteroides, poliaminas, ácido jasmónico, el ácido salicílico, strigolactonas, turgorinas, sistemina y

fitosulfoquinas, pero las cinco primeras son las clases principales y más importantes, mientras tanto, las demás van a accionar muy limitadamente en muy pocos procesos y en especies específicas (Gamborg & Phillips, 2013) (Seeta et al., 2002) (Jordán & Casaretto, 2006).

1.9.5.1. AUXINAS

La primera persona en evidenciar su existencia, fue Darwin, al realizar ensayos con ápices de coleóptilo de avena y observar la respuesta de crecimiento a la exposición de luz, tras diferentes experimentos a lo largo del tiempo, finalmente Fritz Went, logró aislarla y comprobar su acción promotora del crecimiento vegetal. Esto hace que sean uno de los primeros grupos de hormonas vegetales en ser encontrados y descritos. (Jordán & Casaretto, 2006).

Las auxinas son fitohormonas naturales. El ácido indol acético AIA es la forma más predominante y se encuentra principalmente en puntos donde se esté llevando a cabo división celular y expansión celular, también llamados zonas de crecimiento (Gamborg & Phillips, 2013).

1.9.5.2. GIBERELINAS

Las giberelinas son hormonas que estimulan el crecimiento principalmente vía división y alargamiento celular, regulan al proceso de germinación, crecimiento de tallo, la elongación radicular, También intervienen en procesos de inhibición de senescencia e inhibición floral. En términos prácticos promueven el alargamiento de entrenudos, aumentan el tamaño de frutos, inducen partenocarpia en algunas especies frutales y retrasan maduración, entre otras cosas. Existen más de 100 tipos de giberelinas en las plantas, pero muy pocas tienen actividad biológica. (Jordán & Casaretto, 2006).

1.9.5.3. CITOQUININAS

Son responsables de la división celular, la formación y crecimiento de brotes axilares, la inducción de organogénesis y androgénesis, la germinación de semillas, la maduración de cloroplastos, la diferenciación celular, la inhibición de la dominancia apical, el retardo de la senescencia, la transducción de señales y se ha reportado que

aumentan la demanda de transporte de savia elaborada a nivel del floema. Se encuentran en los sistemas conductores floema y xilema luego de su síntesis en los tejidos meristemáticos (Aguilar, Melgarejo, & Romero, 2007 citando a Klee y Estelle 1991, Sakakibara 2006).

1.9.5.4. ÁCIDO ABSCÍSICO

El ácido abscísico o ABA está muy involucrado en respuestas al estrés, al permitir la adaptación a condiciones de sequía, frío y salinidad, generando efectos en diferentes procesos fisiológicos que pueden variar según el tejido y la fase de desarrollo vegetal, lo cual ayuda a la maduración y crecimiento de embriones somáticos, que el embrión tenga tolerancia a la deshidratación y acumule proteínas de almacenamiento (Aguilar et al., 2007) (Roncancio & Pereira, 2009).

1.9.5.5. ETILENO

El etileno es un compuesto hormonal gaseoso sintetizado por gran parte de las plantas. Se caracteriza por estimular la maduración de frutos y regular procesos como la germinación de las semillas al romper la dormancia, cambiar el ángulo de crecimiento de ramas y brotes, la expansión celular en hojas y la expansión lateral, la senescencia de hojas y flores, la abscisión de hojas y frutos y la floración de algunas especies. (Llorente, 2002) (Jordán & Casaretto, 2006).

1.9.5.6. BAP (6-Bencilaminopurina)

Es una citoquinina que promueve la formación de brotes laterales y acelera la multiplicación de yemas. Es especialmente efectivo en la etapa de multiplicación in vitro, donde se busca obtener un mayor número de brotes por explante. La concentración de BAP debe ajustarse cuidadosamente, ya que niveles excesivos pueden causar vitrificación (crecimiento anormal de tejidos).

1.9.5.7. 2iP (2-Isopenteniladenina)

La citoquinina utilizada en la micropropagación, conocida por inducir un crecimiento más controlado y brotes vigorosos. En algunas investigaciones, el 2iP ha demostrado ser menos propenso a causar vitrificación en comparación con el BAP, aunque su efecto

puede ser más lento. Ambos reguladores son frecuentemente combinados o usados en diferentes concentraciones para determinar las condiciones óptimas de desarrollo en cada etapa del cultivo *in vitro*.

1.9.5.8. El ácido giberélico (GA3)

es una hormona vegetal natural que promueve el crecimiento y desarrollo de las plantas, incluyendo la elongación del tallo y las hojas, la germinación de semillas y la floración.

1.9.6. DISTRIBUCIÓN DE LABORATORIO

1.9.6.1. ANTE SALA

Es el área donde llega el personal, estudiantes o visitantes donde dejan todas sus pertenencias y proceden a ponerse el mandil, barbijo, guantes quirúrgicos y los zapatones. (CIIAB). (2024).

1.9.6.2. SALA DE LAVADO Y ESTERILIZACIÓN

Es el área donde llega el material vegetal contaminado, donde se realiza la desinfección y esterilización tanto de material vegetal como también de los tubos de ensayo con el medio preparado, pinzas, bisturí, cajas Petri y las gradillas.

1.9.6.3. SALA DE PREPARADO DE MEDIOS

En esta área se encuentran todos los reactivos, materiales de vidrio, hornos mufla, balanzas, microondas, pH metro, bisturís, pinzas y otros. También es aquí donde se prepara los medios de cultivo, se dosifica y prepara para llevar para el procedimiento de autoclave de 121°C. (CIIAB). (2024).

1.9.6.4. SALA DE SIEMBRA

Es la más limpia y desinfectada de todo el laboratorio, cuenta con cuatro lámparas UV que se prenden directamente con el interruptor.

Por otra parte, solamente puede ingresar personal autorizado, cuenta también con los microscopios, estetoscopios y la cámara de flujo laminar.

Este ambiente nos sirve para hacer el establecimiento de la especie a propagar, se hace el cambio de medio de multiplicación y enraizamiento. (CIIAB). (2024).

1.9.6.5. SALA DE CRECIMIENTO

Es un ambiente en el que se controla los fotoperiodos que cada especie requiere como la luz, temperatura y la humedad. (CIIAB). (2024).

1.9.6.6. CAMARA DE FLUJO LAMINAR

Para la manipulación aséptica del material vegetal, es un recinto que emplea un ventilador para forzar el paso de aire a través de un filtro de aire que se proporciona aire limpio a la zona de trabajo, libre de partículas de hasta 0,1 micra. Este equipo solo tiene una cara libre. (La frontal) que da acceso al interior donde se coloca el material vegetal de trabajo y los medios de cultivo con la mayor asepsia.

1.9.6.7. AUTOCLAVE

Es para la esterilización de medios de cultivo, agua y material de vidrio, es un recipiente de presión metálico de paredes gruesas con un cierre hermético que permite trabajar a alta presión para realizar una reacción industrial, una cocción o una esterilización con vapor de agua. Su construcción debe ser tal que resista la presión y temperatura desarrollada en su interior a 121 °C.

1.9.6.8. BALANZAS

De precisión y macro balanzas para pesar los componentes del medio

1.9.6.9. PH

El pH (potencial de hidrógeno) mide el grado de acidez o alcalinidad de una solución acuosa en una escala del 0 al 14. Sirve para determinar si una sustancia es ácida (<7), neutra (7) o básica (>7), siendo esencial en el funcionamiento biológico, la agricultura, la seguridad alimentaria

1.9.6.10. AGITADOR MAGNÉTICO

Para la disolución de componentes del medio.

1.9.6.11. FRASCOS Y RECIPIENTES DE VIDRIO

Para el cultivo de las plantas en el medio.

1.9.6.12. CÁMARA DE CRECIMIENTO

Un ambiente controlado donde se monitorean y regulan la temperatura, luz y humedad, sino también de radiaciones solares atmósferas gaseosas modificadas (ozono, CO₂) en función de los entornos de investigación que se pretendan estudiar con controles precisos del espectro de la radiación y la intensidad fotoperiodo.

1.9.6.13. PLACA PETRI

Es un recipiente redondo, de cristal o plástico con una cubierta de la misma forma que la placa, pero algo más grande de diámetro, para que pueda colocar encima y cerrar el recipiente, aunque no de forma hermética. (Ramos,2014).

1.9.6.14. PINZAS

Para sujetar a los segmentos nodales al momento de cambiar de un recipiente a otro.

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. LOCALIZACIÓN

El presente trabajo de estudio se realizó en el laboratorio de Fitopatología y Cultivos In Vitro dependiente de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. Ubicado en la zona de el Tejar que se encuentra en el departamento de Tarija, Provincia Cercado.

2.1.1. UBICACIÓN DEL ENSAYO

Ubicado geográficamente entre los paralelos 21°33 de latitud Sur y 64°48 de longitud Oeste, a una altura de 1859 m.s.n.m.

2.1.2. CARACTERÍSTICA AGROCLIMÁTICA

2.1.3. CLIMA

La temperatura máxima oscila entre 30°C y 39°C se da en los meses calurosos de octubre a marzo y la mínima 1°C Y 8°C en los meses de abril a septiembre que corresponde también a la época seca.

Las precipitaciones se presentan en una marcada estacionalidad entre octubre y marzo con una precipitación anual de 596 mm aproximadamente, enero es el mes con mayor precipitación con un promedio de 155 mm aproximadamente, los vientos oscilan entre 9,7 km/h y 11,7km/h aproximadamente. SENAMI. (2025)

2.2. VEGETACIÓN NATURAL

Tabla N°3

Vegetación natural

<i>Nombre común</i>	<i>Nombre científico</i>
<i>Molle</i>	<i>Schinus molle</i> L.
<i>Churqui</i>	<i>Acacia caven</i> (Molina)
<i>Lapacho rosado</i>	<i>Tabebuia impetiginosa</i> Standley

Fuente: elaboración propia

2.2.1. VEGETACIÓN CULTIVADA

Tabla N°4

Vegetación cultivada

<i>Nombre común</i>	<i>Nombre científico</i>
<i>Durazno</i>	<i>Prunus persica</i> L.
<i>Manzana</i>	<i>Malus domestica</i>
<i>Higo</i>	<i>Ficus carica</i>

Fuente: Elaboración propia

2.2.2. CULTIVOS DE LA ZONA

Tabla N°5

Cultivos de la zona

<i>Nombre común</i>	<i>Nombre científico</i>
<i>Papa</i>	<i>Solanum tuberosum</i> L.
<i>Maíz</i>	<i>Zea mays</i> L.
<i>Arveja</i>	<i>Pisum sativum</i> L.
<i>Zanahoria</i>	<i>Daucus carota</i>

Fuente: Elaboración propia

2.3. MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron vitroplantas ya existentes de G x N (Garfi x Nemared) en el laboratorio, los cuales fueron establecidos en enero del 2025, a partir de plantas madre existentes de la Estación Experimental de Chocloca, de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.

Figura N°2 Vitroplantas de duraznero GxN – Sala de Crecimiento del Laboratorio de Fitopatología y Cultivo *in vitro* – FCAyF.





Fuente: elaboración propia

2.4. MATERIAL DE LABORATORIO

2.4.1. Área de preparación

- Frascos o tubos de cría
- Balanza de precisión
- Potenciómetro
- Pipetas
- Matraces
- Erlenmeyer

2.4.2. Área de esterilización

- Autoclave
- Estufa de esterilización para el material in vitro

2.4.3. Área de siembra

- Cámara de flujo laminar
- Mechero
- Pinzas

- Agujas
- Bisturís
- Tijeras
- Placa de Petri

2.4.4. Área de crecimiento

- Luz fluorescente
- Control de temperatura

2.4.5. Medio de cultivo

- Componentes
- Sales
- Macro (M1)-M&S
- Micro (M2)-M&S
- Compuestos orgánicos (vitaminas)(MG/l)
- Vitaminas M&S
- Sustancias de crecimiento (MG/l)
- BAP
- GA3
- Azúcar (gr/l)
- Agar (gr/l)
- PH

2.5. METODOLOGÍA

2.5.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental utilizado en la investigación es monofactorial completamente al azar con tres tratamientos y 5 repeticiones con 15 unidades experimentales.

2.5.2. VARIABLES DE ESTUDIO

Las variables de estudio fueron 3 medios de cultivo

- **Medio 1:** MS 100% (Murashige y shkoog) y (8mg/L) de BAP (6-bencilaminopurina) y (0,6 mg/L) de GA3 (ácido giberelico).
- **Medio 2:** WPM 100% (Woody Plant Medium) y 6 mg/L de BAP (6-bencilaminopurina) y (0,8mg/L) de GA3 (ácido giberelico).
- **Medio 3:** MS 50% (Murashige y shkoog) y (8 mg/L) de BAP (6-bencilaminopurina) y (1,2) mg/L de GA3 (ácido giberelico).

2.5.3. SIMBOLOGÍA DE LOS TRATAMIENTOS

Tabla N°6

Simbología de los tratamientos

Medios de cultivo	Tratamientos
Medio 1: MS 100% + BAP 8 mg/L y (0,6) mg/L de GA3.	T1
Medio 2: WPM100% + BAP 6 mg/L y (0,8) mg/L de GA3.	T2
Medio 3: MS 50% + BAP 8 mg/L y (1,2) mg/L de GA3.	T3

Fuente: elaboración propia

2.5.4. UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental consiste en un frasco de multiplicación, conteniendo 50ml de medio de cultivo y cinco segmentos nodales (explante), sometido a iluminación Led blanca, con un fotoperiodo de 16 Hrs. Luz/8Hrs oscuridad.

2.5.5. ESTRUCTURA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

Tabla N°7

Estructura del diseño experimental

Medios de cultivo	Trats	R1	R2	R3	R4	R5
Medio 1: MS 100% + BAP 8 mg/L y (0,6) mg/L de GA3.	T1					
Medio 2: WPM100% + BAP 6 mg/L y (0,8) mg/L de GA3.	T2					
Medio 3: MS 50% + BAP 8 mg/L y (1,2) mg/L de GA3.	T3					

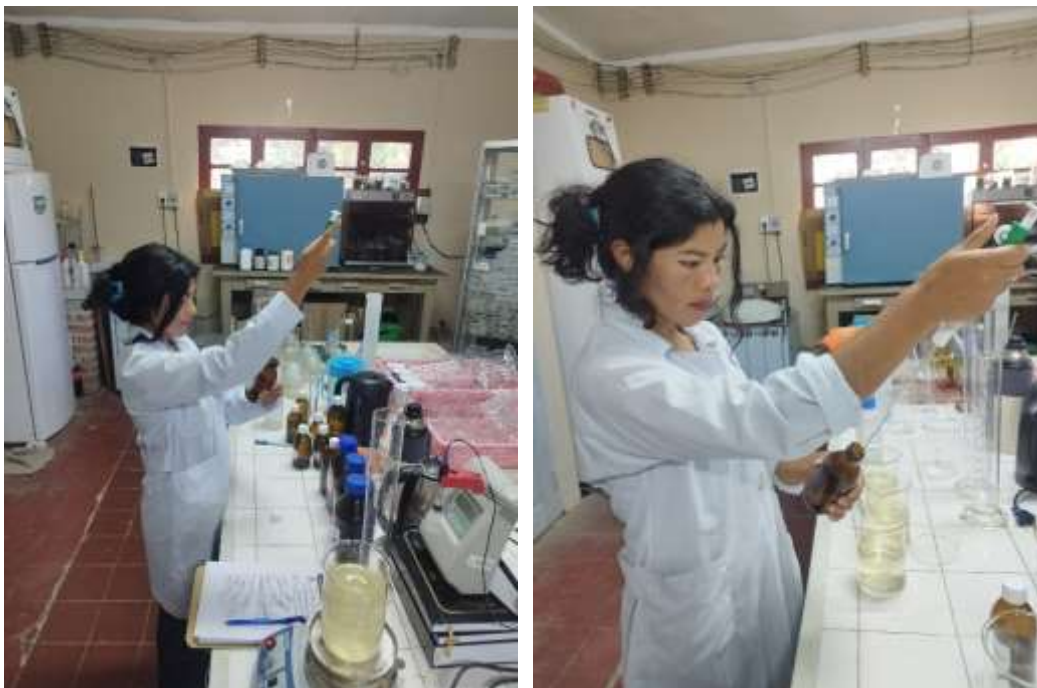
Fuente: elaboración propia

2.5.6. PROCEDIMIENTO GENERAL

El ensayo se inició el 15 de septiembre del año 2025, con la planificación de todas las actividades (verificación de Stocks de los medios de cultivo el MS y WPM, pruebas de funcionamiento de equipos de laboratorio y elaboración de la papeleta de preparación de medios de cultivo correspondientes a los tratamientos).

En fecha 19 de septiembre se realizó la preparación de los medios de cultivo, con base en las formulaciones de los tres tratamientos formulados (T1, T2 y T3), los cuales una vez elaborados fueron esterilizados en una autoclave por 20 minutos a 121° C y 1.atm. de presión. Posterior a ello se guardó medios de cultivo en tapers desinfectados, hasta su utilización.

Figura N°3 Preparación de los medios de cultivo para GxN



Fuente: elaboración propia

Figura N°4 Enrazar 50 ml de medio de cultivo en cada frasco



Fuente: elaboración propia

El material vegetal que se empleó en este ensayo fueron vitroplantas del portainjerto GxN existentes en sala de crecimiento del laboratorio, a partir de las cuales fueron seleccionadas todas aquellas que permitieron contar con explantes homogéneos en tamaño, para que de esta manera tengamos la menor variación posible entre el material vegetal de los tratamientos.

Con el material ya seleccionado se procedió a la inoculación (siembra) de explantes en los medios de cultivo de los tres tratamientos y de acuerdo a una distribución completamente al azar. Todo este trabajo se realizó en la cámara de flujo laminar, previamente desinfectada por luz UV, y empleando instrumental (pinzas, bisturíes, caja Petri) esterilizados en un horno por 60 minutos a 150°C.

Figura N°5 Frascos con vitroplantas herméticamente sellados listos para entrar en la sala de crecimiento



Fuente: elaboración propia, en el laboratorio

Una vez logradas todas las unidades experimentales (frascos de vidrio conteniendo 50 ml de cada medio de cultivo y cinco segmentos nodales (explante), fueron trasladados a la sala de crecimiento donde fueron sometidos a iluminación Led blanca, con un fotoperiodo de 16 Hrs. Luz/8Hrs oscuridad por 80 días.

Evaluaciones:

Durante este intervalo de tiempo se prosiguió a tomar o registrar los datos concernientes a las variables de respuestas.

Evaluaciones:

Se hicieron evaluaciones semanales hasta los 80 días.

Se Evaluó:

- Tasa de multiplicación: número total de explantes vivos con respecto a los diferentes medios de cultivo.
- Altura de vitroplanta (cm): se midió con una regla graduada, desde la base de la vitroplanta hasta la última hoja completamente extendida.
- Vigor de vitroplanta: Se observa la capacidad de crecimiento y desarrollo saludable de una planta cultivada *in vitro*.

2.5.7. VARIABLE DE RESPUESTA**Tabla N°8****Variables de respuesta**

Variable	descripción	Unidad de medida
Tasa de multiplicación	Número de brotes de explantes	número / explantes
Altura de Vitroplanta	Medición de altura de vitroplanta	cm
Vigor de vitroplantas	Aspecto general de vitroplanta	Porte con base al mejor desarrollo

Fuente: elaboración propia

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3. DATOS CULMINADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Figura N°6 Altura de vitroplantas a los 80 días en cm



3.1. ALTURA DE VITROPLANTAS A LOS 80 DÍAS EN CM

Tabla N°9

Altura de vitroplantas a 80 días del repique

TRATAMIENTOS	OBSERVACIONES					Σ	X
	1	2	3	4	5		
T1 MGxN8	2,8	2,5	3,0	2,0	2,7	13,00	2,60
T2 MGxN10	3,0	3,3	2,8	2,0	3,5	14,60	2,92
T3 MGxN11	3,8	4,0	3,9	4,0	4,2	19,90	3,98
Σ	9,60	9,80	9,70	6,00	10,40	45,50	9,50
X							3,17

La tabla N°9 nos muestra los datos obtenidos en cuanto a la variable altura de vitroplantas del portainjerto GxN en tres medios de cultivo, donde se refleja que la T3

MGxN11 obtuvo el mayor promedio (3,98 cm) con relación a las demás, el tratamiento, T1 MGxN8 refleja el promedio más bajo, (2,60 cm) sin embargo podemos indicar que las hojas en este tratamiento y en el T2 MGxN10 estuvieron mejor desarrolladas que en el T3.

Figura N°7 Toma de datos de la altura de vitroplantas a 80 días del repique



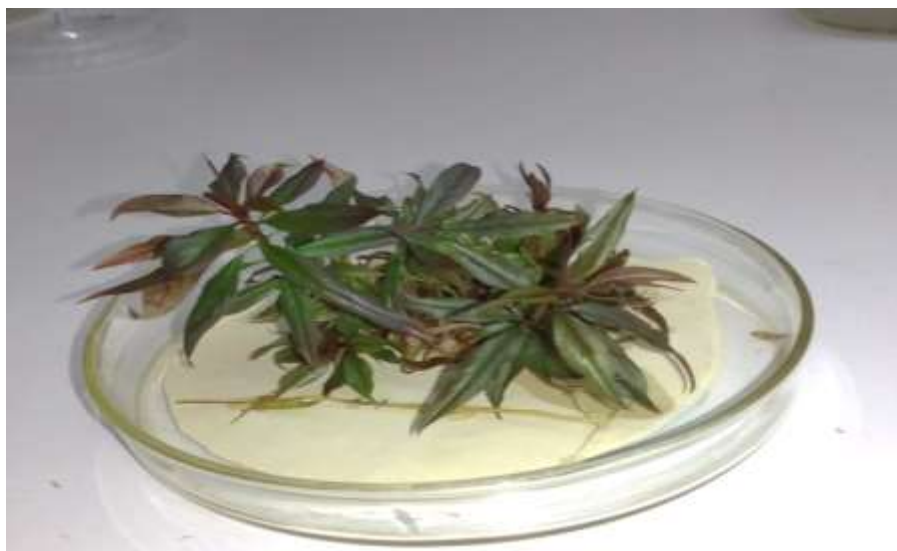
fuentes: elaboración propia

Figura N°8 Momento del repique del explante T1 (MGxN8) en la fase de multiplicación



Fuente: elaboración propia

Figura N°9 Momento del repique del explante T2 (MGxN10) en la fase de multiplicación



Fuente: elaboración propia

Figura N°10 Momento del repique del explante T3 (MGxN11) en la fase de multiplicación



Fuente: elaboración propia

3.1.1. ANOVA PARA LA VARIABLE ALTURA DE LA VITROPLANTA (CM)

Tabla N°10

Anova para la variable altura de la vitroplanta (cm)

FUENTES DE VARIACION	GL	SC	CME	Fc	Ft	
					5%	1%
TRATAMIENTOS	2	5,21	2,60	15,53	3,88	6,93
ERROR	12	2.01	0,16			
TOTAL	14	7,23				

Observando el ANOVA en el Tabla N°10 podemos concluir que sí existen diferencias significativas en la fuente de variación que corresponde a los tratamientos ($F_c > F_t$) por lo que recurrimos a una prueba de comparación de medias para determinar el mejor tratamiento.

3.1.2. PRUEBA DE COMPARACIÓN DE MEDIOS DE TUKEY

Tabla N°11

Prueba de comparación de medias de Tukey

T3 MGxN11 3,98	T2 MGxN10 2,92	T1 MGxN8 2,60	Valor critico 3,7
a	b	c	

La prueba de Tukey nos muestra que el mejor tratamiento en cuanto a la variable altura de vitroplantas es el tratamiento T3 MGxN11 (3,98cm) por lo que se recomienda utilizar este medio de cultivo.

3.1.3. BROTES POR EXPLANTES, A LOS 80 DÍAS

Tabla N°12

Brotes por explantes, a los 80 días

TRATAMIENTOS	OBSERVACIONES					Σ	X
	1	2	3	4	5		
T1 MGxN8	12	10	10	8	11	51,00	10,20
T2 MGxN10	14	11	12	11	10	58,00	11,60
T3 MGxN11	23	27	28	29	21	128,00	25,60
Σ	49,0	48,0	50,0	48,0	42,0	237,00	47,40
X							15,80

Fuente: elaboración propia

La tabla N°12 nos muestra los datos obtenidos en cuanto a la variable de brotes por explante de vitroplantas del portainjerto GxN en tres medios de cultivo donde se refleja que T3 MGxN11 obtuvo el mayor promedio (25,60) y el tratamiento T1 MGxN8(10,20) fue el que reflejo el menor promedio.

Figura N°11 Se muestra los brotes del explante (T1 MGxN8)



Figura N°12 Se muestra los brotes del explante (T3 MGxN11)



Fuente: elaboración propia

3.1.4. ANOVA PARA LA VARIABLE BROTES POR EXPLANTES

Tabla N°13

Anova para la variable brotes por explantes

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	SC	CME	Fc	Ft	
					5%	1%
TRATAMIENTOS	2	725,20	362,60	66,74	3,93	5,25
ERROR	12	65,20	5,43			
TOTAL	14	790,40				

Fuente: elaboración propia

La tabla N°13 de ANOVA nos muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a la variable estudiada (brotes por explante) ($F_c > F_t$) por lo que recurrimos a una prueba de comparación de medias para determinar el mejor tratamiento.

3.1.5. PRUEBA DE COMPARACIÓN DE MEDIAS DE TUKEY

Tabla N°14

Prueba de comparación de medias de Tukey

T3 MGxN11 25,60	T2 MGxN10 11,60	T1 MGxN8 10,20	Valor critico
a	b	c	3,93

Fuente: elaboración propia

La prueba de Tukey nos muestra que el mejor tratamiento en cuanto a la variable brotes por explante es el tratamiento T3 MGxN11 (25,60 brotes/explante) por lo que recomienda utilizar este medio de cultivo.

3.1.6. COMPARATIVA DE DIFERENCIACIÓN PARA LA TASA DE MULTIPLICACIÓN

Tabla N°15

Comparativa de diferenciación para la tasa de multiplicación

Tratamiento	Promedio de brotes/explante	Total, de brotes	Diferenciación observada
T1 (MGxN8)	10,20	51	Menor número de brotes, pero mejor desarrollo foliar (hojas más vigorosas).
T2 (MGxN10)	11,60	58	Multiplicación moderada, con hojas desarrolladas y equilibradas.
T3 (MGxN11)	25,60	128	Mayor número de brotes por explante, aunque con menor desarrollo foliar comparado con M8 y M10.

Fuente: elaboración propia

El tratamiento **T3 (MGxN11)** con un promedio de (25,60 brotes/explante) tuvo la mayor tasa de multiplicación (cantidad de brotes) lo que favorece la producción masiva de brotes de portainjerto GxN. El **Tratamientos T1 (MGxN8) y T2 (MGxN10)** con promedios de (10,20 brotes/explante) y (11,60 brotes/explante) obtuvo menor número de brotes, pero mostraron un mejor desarrollo foliar, lo que indica mayor vigor de las vitroplantas. La suma total de brotes fue de (237), con un promedio general de 15,8 brotes/explante.

La diferencia se explica por el balance hormonal:

BAP (citoquinina) estimula la formación de brotes.

GA₃ (giberelina) favorece elongación y desarrollo foliar.

T3 (MGxN11) dio mayor número de brotes por explante. Esto se debe a que la combinación de BAP alta (8 mg/L) con GA₃ más elevada (1,2 mg/L) estimuló la división celular y la formación de meristemas axilares.

3.1.7. EVALUACIÓN DEL VIGOR DE VITROPLANTAS

El resultado más favorable en el vigor de las vitroplantas del portainjerto GxN (Garfi x Nemared) fue en el tratamiento T1 (MGxN8) y T2 (MGxN10) a pesar de generar menor número de brotes/explante, mostraron un buen desarrollo foliar lo que se traduce en mayor vigor de vitroplantas y de mejor calidad, el tratamiento T3 (MGxN11) es excelente para la multiplicación masiva de brotes/explante, pero los brotes tienden a ser menos vigorosos individualmente.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

En base a los objetivos específicos planteados se concluye que el tratamiento T3 (MGxN11) presentó la mayor tasa de multiplicación (cantidad de brotes) con un promedio de 25,60 brotes/explantes lo que favorece la producción masiva de brotes de portainjertos. La combinación de BAP alta (8 mg/ L) con GA₃ más elevada (1,2 mg/L) estimuló la división celular y la formación de meristemas axilares. Con respecto al objetivo de evaluar la altura de vitroplantas del portainjerto GxN en tres medios de cultivo se encontró que el T3 (MGxN11) presentó un promedio más elevado con una altura de 3.98 cm. En cuando al objetivo de evaluar el vigor de vitroplantas del portainjerto GxN en tres medios de cultivo, se observó que los tratamientos T1 (MGxN8) y T2 (MGxN10) produjeron menor brote, pero mostraron mejor desarrollo foliar, lo que indica mayor vigor y mejor calidad de vitroplantas del portainjerto GxN. Sin embargo, el T3 (MGxN11): fue el más eficiente en multiplicación, pero el vigor foliar fue menor, lo que puede afectar la calidad de las vitroplantas en fases posteriores.

4.2. RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos se recomienda continuar y profundizar el trabajo de investigación sobre el comportamiento del portainjerto de duraznero GxN (Garfi x Nemared) en la fase de multiplicación *in vitro* en tres medios de cultivo.

Se recomienda utilizar el tratamiento T3 (MGxN11) para la producción masiva de brotes/explante ya que presentó la mayor tasa de multiplicación.

Considerar la utilización de los tratamientos T1 (MGxN8) Y T2 (MGxN10) para la producción de vitroplantas con mayor vigor, mejor calidad, ya que mostraron mejor desarrollo foliar.

Se recomienda utilizar una estrategia combinada que podría ser iniciar multiplicación en T3 (MGxN11) y luego transferir a T1 (MGxN8) Y T2 (MGxN10) para mejorar el vigor foliar antes de entrar a la fase de enraizamiento en nuevas investigaciones.