

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**ESTABLECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN IN-VITRO A PARTIR DE
MERISTEMOS APICALES EN LA VARIEDAD DE PERA DE AGUA (*Pyrus
communis* L.), EN EL CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA – CUSCO**

PRESENTADA POR:

Br. GRICHEL VILLAFUERTE AQUENA

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

ASESORAS:

M.Sc. MAYWA CECILIA BLANCO ZAMALLOA

Dra. ANALÍ LIZÁRRAGA FARFÁN

**CUSCO – PERÚ
2026**



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el **Asesor M.Sc. Maywa Blanco Zamalloa** quien aplica el software de detección de similitud al trabajo de investigación/tesis titulada: **ESTABLECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN IN-VITRO A PARTIR DE MERISTEMOS APICALES EN LA VARIEDAD DE PERA DE AGUA (*Pyrus communis* L.), EN EL CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA – CUSCO**

Presentado por: Br. **Grichel Villafuerte Acquena** DNI N° 78887415; presentado por:
DNI N°: Para optar el título Profesional/Grado Académico de Ingeniero Agrónomo.

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 4 veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 6.....%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 21 de Agosto de 2026


Firma

Post firma M.Sc. Maywa Blanco Zamalloa

Nro. de DNI 23.998.514

ORCID del Asesor 0000-0002-3927-8769

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: **oid:** 27259:615999436

Grichel Villafuerte

Tesis Grichel. Obs levantadas 21 de agosto.pdf

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::27259:615999436

126 páginas

Fecha de entrega

21 ago 2026, 10:42 a.m. GMT-5

22.865 palabras

125.735 caracteres

Fecha de descarga

21 ago 2026, 12:14 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

Tesis Grichel. Obs levantadas 21 de agosto.pdf

Tamaño del archivo

3.6 MB

6% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 6%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 2%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

A mis queridos padres: Richard y Vidalina por su infinito amor y apoyo constante, a mi mamita por siempre estar a mi lado, acompañándome en todo momento, por brindarnos su amor, vida, tiempo y paciencia a sus hijas.

Para mis padres del camino: Tía Celia, Ing. Catalina, Dra. Analí, fam. Mejía Pachacútec, fam. Laureano Isacio por la motivación constante, sus consejos, sus valores, todo tipo de apoyo que siempre me brindaron durante mi formación profesional.

Por el amor incondicional que me brindaron, a las que fueron mis hermosas abuelitas Isidora

A mis queridos hermanos: Joy y Norali, mi sobrino Hayzon, mi hermana de vida: Erica, por brindarme cariño y apoyo constante en los momentos más oportunos.

AGRADECIMIENTO

- A mi casa de estudios a la tricentenaria Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y en especial a cada uno de los docentes de la escuela profesional de Agronomía por sus conocimientos y sabios consejos compartidos durante el transcurso de mi formación académica.
- A mis asesoras M.Sc. Maywa Blanco Zamalloa y Dra. Analí Lizárraga Farfán por la orientación y ayuda constante que me brindaron para culminar este presente trabajo.
- A mis docentes y compañeros de la Universidad de San Antonio Abad del Cusco, a mis docentes y compañeros del colegio C.R.F.A “Riqchariy Wayna”, por impartir conocimiento, habilidades y experiencias que intervinieron positivamente durante mi formación profesional.
- A mis amigos: Erica, Rusbel, Cristian, Maricielo, Yina, Delsi, Anell Itala, Bania Aexa, Maricela, Hayron, Julio... son quienes que con su motivación, apoyo y consejos han hecho posible la culminación de esta hermosa etapa profesional.
- A mis tíos y primas: Familia Villafuerte, Familia Aquena, Tía Celia, Tía Katy, Prima Yesica, compadres: fam. Valdez, fam. Vera, agradezco sus sabios consejos y apoyo durante el transcurso de mi formación académica.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
ÍNDICE	iii
INDICE DE TABLAS	vii
INDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	xi
INTRODUCCIÓN	1
I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Identificación del problema objeto de investigación	2
1.2. Planteamiento del problema	3
1.2.1. Problema general	3
1.2.2. Problemas específicos.....	3
II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN	5
2.1. Objetivo.....	5
2.1.1. Objetivo general.....	5
2.1.2. Objetivos específicos	5
2.2. Justificación	6
III. HIPÓTESIS	8
3.1. Hipótesis general	8
3.2. Hipótesis específicas	8
IV. MARCO TEÓRICO	9
4.1. Antecedentes de la investigación.....	9
4.1.1. Antecedente internacional	9
4.1.2. Antecedente nacional	12

4.2.	Bases teóricas	12
4.2.1.	Origen y distribución del peral.	12
4.2.2.	Domesticación del cultivo de peral	14
4.2.3.	Producción de la pera en el Perú.....	15
4.2.4.	Taxonomía.....	16
4.2.5.	Morfología.....	16
4.2.6.	Ciclo fenológico.	19
4.2.7.	Variedades del cultivo de pera.....	21
4.2.8.	Requerimientos de cultivo.....	24
4.2.9.	Plagas principales del cultivo del peral.	24
4.2.10.	Enfermedades principales del cultivo del peral.....	25
4.2.11.	Propagación de la pera.....	27
4.2.12.	Fases de la propagación <i>in-vitro</i>	31
4.2.13.	Reguladores de crecimiento	36
4.2.14.	Modo de aplicación de las fitohormonas.....	38
4.3.	Definición de términos	40
4.3.1.	Medio de establecimiento	40
4.3.2.	Medio de multiplicación.....	41
4.3.3.	Meristemo apical.....	41
4.3.4.	Totipotencia celular.....	41
4.3.5.	Auxina.....	41
4.3.6.	Citoquininas	42
4.3.7.	Explanto.....	42
4.3.8.	Medio de cultivo Murashige y Skoog	42
4.3.9.	Vitrificación o hiperhidratación	42
4.3.10.	Contaminación.....	43

4.3.11. Domo meristemático	43
4.3.12. Cultivar.....	43
4.3.13. Variedad y cultivar	44
V. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	45
5.1. Tipo de investigación	45
5.2. Ubicación del campo experimental	45
5.2.1. Ubicación espacial	45
5.2.2. Ubicación geográfica	45
5.2.3. Ubicación hidrográfica	45
5.2.4. Ubicación política.....	45
5.2.5. Zona de vida	46
5.3. Ubicación temporal experimental.....	46
5.4. Materiales y métodos	46
5.4.1. Materiales	46
5.4.2. Método.....	49
5.4.3. Descripción de las actividades.....	1
5.4.4. Variables a evaluar	9
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
6.1. Fase de establecimiento	13
6.2. Fase de multiplicación	16
6.2.1. Número de brotes formados	16
6.2.2. Número de brotes desarrollados.....	18
6.2.3. Longitud de explanto desarrollado	20
6.2.4. Número de hojas formados por brote	22
6.2.5. Número de hojas desarrollados	23
6.2.6. Tamaño de callos	25

6.2.7.	Número Brotes hiperhídricos	27
6.2.8.	Número de hojas defoliados	29
6.2.9.	Número de hojas cloróticas	31
6.2.10.	Número de hojas necróticos	33
VII.	CONCLUSIONES.....	37
VIII.	RECOMENDACIONES	38
IX.	BIBLIOGRAFÍA.....	39
X.	ANEXOS	47

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Ciclo fenológico de la pera	20
Tabla 2 Tratamientos a evaluar	50
Tabla 3 Tratamientos a evaluar	51
Tabla 4 Fórmulas aplicadas en el software estadístico infoStat.....	12
Tabla 5 Porcentaje de prendimiento	13
Tabla 6 Anova para el porcentaje de prendimiento.....	13
Tabla 7 Tukey al 95 % de confianza	14
Tabla 8 Número de brotes formados	16
Tabla 9 Anava para el número de brotes formados	16
Tabla 10 Tukey al 95% de confianza	16
Tabla 11 Número de brotes desarrollados	18
Tabla 12 Anava para el número de brotes desarrollados.....	18
Tabla 13 Tukey al 95% de confianza	18
Tabla 14 Longitud de explanto	20
Tabla 15 Análisis de varianza	20
Tabla 16 Tukey al 95% de confianza	20
Tabla 17 Número de hojas formadas	22
Tabla 18 Análisis de varianza	22
Tabla 19 Tukey al 95% de confianza	22
Tabla 20 Hojas desarrolladas	23
Tabla 21 Análisis de varianza	24
Tabla 22 Tukey al 95% de confianza	24
Tabla 23 Tamaño de callos.....	25
Tabla 24 Análisis de varianza	26

Tabla 25 Tukey al 95% de confianza	26
Tabla 26 Brotes hiperhídricos	27
Tabla 27 Análisis de varianza	27
Tabla 28 Tukey al 95% de confianza	28
Tabla 29 Hojas defoliadas.....	29
Tabla 30 Análisis de varianza para hojas defoliadas	29
Tabla 31 Tukey al 95% de confianza	30
Tabla 32 Hojas cloróticas.....	31
Tabla 33 Análisis de varianza para hojas cloróticas	31
Tabla 34 Tukey al 95% de confianza	31
Tabla 35 Hojas necróticas.....	33
Tabla 36 Análisis de varianza hojas necróticas	33
Tabla 37 Tukey al 95% de confianza	33
Figura 32 Hojas cloróticas.....	34

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Yemas de la pera.....	18
Figura 2 Flor de la pera.....	18
Figura 3 Fruto de pera	19
Figura 4 Etapas del cultivo in vitro	35
Figura 5 Área experimental.....	51
Figura 6 Flujograma de la fase de establecimiento.....	52
Figura 7 Distribución de la unidad experimental (tubos de ensayo).....	52
Figura 8 Área experimental.....	53
Figura 9 Flujograma de la fase de establecimiento.....	53
Figura 10 <i>La distribución del laboratorio</i>	1
Figura 11 Recolección de material vegetal	1
Figura 12 Preparación para periodo de dormancia	2
Figura 13 Elaboración del medio de cultivo	3
Figura 14 Desinfección superficial con hipoclorito de sodio.....	4
Figura 15 Reducción del brote para encontrar el domo meristemático	4
Figura 16 Establecimiento del material vegetal.....	5
Figura 17 Explantos en tubos de ensayo en condiciones de crecimiento	5
Figura 18 Distribución de BA	7
Figura 19 Desinfección superficial del material vegetal	8
Figura 20 Fase de la multiplicación.....	8
Figura 21 Ambiente para el crecimiento de explantos	9
Figura 22 Porcentaje de prendimiento	14
Figura 23 Media de número de brotes formados	17
Figura 24 Número de brotes desarrollados.....	19

Figura 25 Longitud de explanto.....	21
Figura 26 Número de hojas formadas.....	23
Figura 27 Media de número de hojas	25
Figura 28 Tamaño de callos.....	27
Figura 29 Brotes hiperhídricos.	28
Figura 30 Número de hojas defoliadas	30
Figura 31 Hojas cloróticas.....	32
Figura 32 Hojas cloróticas.....	34

RESUMEN

La presente investigación titulada “Establecimiento y multiplicación *in-vitro* a partir de meristemos apicales en la variedad de pera de agua (*Pyrus communis* L.), en el centro agronómico k'ayra - cusco”, tuvo como objetivo Evaluar el establecimiento y la multiplicación in vitro, mediante la optimización de medios de cultivo y reguladores de crecimiento, en condiciones de laboratorio del Centro Agronómico K'ayra – Cusco. En la fase de establecimiento se empleó el Diseño Completamente al Azar (DCA) con tres tratamientos y tres repeticiones, evaluándose el porcentaje de prendimiento en diferentes medios de cultivo; mientras que en la fase de multiplicación se utilizó el (DCA) con cinco tratamientos y tres repeticiones, analizando diferentes concentraciones de citoquinina en combinación con una dosis constante de auxina sobre categorías como número de explantos, longitud del explante, número de brotes, número de hojas, presencia de callos y otros caracteres morfológicos. Los resultados evidenciaron que el balance hormonal influyó significativamente en la respuesta morfogénica de los explantes, destacando el tratamiento T4 (2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) por su mayor capacidad de proliferación, formación de hojas y estabilidad fisiológica, mientras que el tratamiento T3 (1.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) favoreció la elongación y calidad estructural de los brotes. En conclusión, la optimización de reguladores de crecimiento permitió mejorar significativamente el establecimiento y la multiplicación in vitro de meristemos apicales de pera cultivar Williams' Bon Chretien.

Palabras clave: *Pyrus communis* L., Micropropagación, Meristemos apicales, Citoquininas, Cultivo *in vitro*,

INTRODUCCIÓN

La pera (*Pyrus communis* L.) es uno de los frutales con importancia a nivel mundial debido a la calidad nutricional de sus frutos. Entre sus cultivares más destacados se encuentra Williams' Bon Chretien o Bartlett, apreciado por su pulpa jugosa, sabor dulce y alto contenido de fibra, potasio y vitaminas A y C. Además, la pera presenta un bajo contenido proteico, entre 0.1 y 0.9 g por 100 g de fruto, cuya concentración puede variar según la variedad y la parte del fruto evaluada (Du et al., 2025).

En el Perú, la producción de pera durante el año 2021 alcanzó aproximadamente 4 249 t, distribuidas en diversas regiones del país (SIEA, 2021). Sin embargo, este cultivo enfrenta limitaciones relacionadas con la disponibilidad de material vegetal de calidad y con adecuadas características fitosanitarias. Frente a ello, la micropropagación a partir de meristemas apicales permite obtener plantas sanas, uniformes en condiciones controladas. Asimismo, los protocolos de establecimiento y multiplicación *in vitro* contribuyen a mejorar la productividad y sostenibilidad del cultivo.

En ese contexto, la presente investigación titulada “Establecimiento y multiplicación *in vitro* a partir de meristemas apicales en la variedad de pera de agua (*Pyrus communis* L.), en el centro agronómico k'ayra - cusco”, tuvo como objetivo evaluar el comportamiento de explantes meristemáticos durante las fases de establecimiento y multiplicación *in vitro*. Para ello, se evaluó el porcentaje de prendimiento, número de brotes y el comportamiento agronómico de los explantes mediante la aplicación de diferentes dosis de citoquinina combinadas con una dosis constante de auxina y un tratamiento testigo.

La autora.

I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN

1.1. Identificación del problema objeto de investigación

La propagación de pera (*Pyrus communis* L.) en el Perú se realiza principalmente mediante métodos convencionales, los cuales presentan limitaciones para disponer de material vegetal uniforme y con adecuada calidad fitosanitaria. Esta situación constituye una dificultad para el establecimiento y renovación de plantaciones, debido a que la calidad del material de propagación influye directamente en la uniformidad, sanidad y desempeño agronómico de los cultivos. De acuerdo con el Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias (SIEA, 2021), la producción nacional de pera se distribuye en once departamentos y se destina principalmente al mercado interno; sin embargo, el desarrollo tecnológico asociado a la propagación de este frutal continúa siendo limitado. En este contexto, la propagación in vitro constituye una alternativa biotecnológica que permite multiplicar material vegetal bajo condiciones controladas y obtener plantas homogéneas a partir de explantes seleccionados. Particularmente, el cultivo de meristemas representa una herramienta de interés para la propagación clonal y el establecimiento de material vegetal de calidad. No obstante, la respuesta in vitro depende del genotipo, tipo de explante, composición del medio de cultivo, concentración de reguladores de crecimiento y condiciones ambientales, por lo que los protocolos deben ser ajustados para cada material vegetal.

Esta problemática adquiere relevancia en el Centro Agronómico K'ayra de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, donde se dispone de material vegetal de pera que puede ser aprovechado para desarrollar y evaluar alternativas de propagación. La dependencia de métodos convencionales limita

la posibilidad de multiplicar rápidamente plantas seleccionadas y mantener características homogéneas del material propagado. Asimismo, la ausencia de un protocolo in vitro ajustado a las condiciones y al material vegetal disponible restringe la aplicación de herramientas biotecnológicas para la multiplicación de este frutal. Por ello, resulta necesario evaluar el establecimiento y multiplicación in vitro a partir de meristemas apicales de pera (*Pyrus communis* L.), mediante la determinación de medios de cultivo y concentraciones de reguladores de crecimiento que permitan mejorar la respuesta de los explantes. El desarrollo de este protocolo permitiría generar una base técnica para la propagación clonal de pera en el Centro Agronómico K'ayra y fortalecer las capacidades de investigación y aplicación de biotecnologías vegetales en la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSAAC. A continuación, se plantean las siguientes preguntas de investigación:

1.2.Planteamiento del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál será el mejor medio de establecimiento y la multiplicación in vitro a partir de meristemas apicales en la variedad de pera de agua (*Pyrus communis* L), mediante la optimización de medios de cultivo y reguladores de crecimiento, en condiciones de laboratorio del Centro Agronómico K'ayra – Cusco?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Qué medio de cultivo permite obtener el mayor porcentaje de prendimiento en el establecimiento in vitro de meristemas apicales del cultivar de pe en la variedad de

pera de agua (*Pyrus communis* L.), en condiciones de laboratorio del Centro Agronómico K'ayra?

- ¿Cuál es la concentración óptima de citoquinina en combinación con una auxina que maximiza el número de brotes y mejora el comportamiento agronómico durante la multiplicación in vitro de meristemas apicales en la variedad de pera de agua (*Pyrus communis* L.), en condiciones de laboratorio en el Centro Agronómico K'ayra?.

II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

2.1.Objetivo

2.1.1.Objetivo general

Evaluar el establecimiento y la multiplicación *in vitro* a partir de meristemos apicales en la variedad de pera de agua (*Pyrus communis* L.), mediante la optimización de medios de cultivo y reguladores de crecimiento, en condiciones de laboratorio del Centro Agronómico K'ayra – Cusco.

2.1.2. Objetivos específicos

- Establecer el medio de cultivo más adecuado para el establecimiento *in vitro* de meristemos apicales en la variedad de pera de agua (*Pyrus communis* L.), evaluando el porcentaje de prendimiento bajo condiciones de laboratorio en el Centro Agronómico K'ayra.
- Determinar la concentración óptima de citoquinina en combinación con una auxina que permita obtener la mayor multiplicación en número de brotes y evaluar el comportamiento agronómico de los brotes en la multiplicación *in vitro* de meristemos apicales en la variedad de pera de agua (*Pyrus communis* L.), en condiciones de laboratorio en el Centro Agronómico K'ayra.

2.2. Justificación

En lo económico, la micropropagación, constituyen una estrategia eficiente para la producción masiva de plántones con alta calidad genética y fitosanitaria. Este enfoque permite disminuir significativamente las pérdidas económicas asociadas a los métodos de propagación convencional, los cuales presentan limitaciones en eficiencia, uniformidad y sanidad vegetal. De tal manera que constituye a incrementar la productividad y la rentabilidad de los sistemas frutícolas en la región del Cusco, facilitando la inserción en mercados más exigentes.

En lo social, la implementación de técnicas de cultivo in vitro fortalece las capacidades tecnológicas y científicas en instituciones locales, como el Centro Agronómico K'ayra, promoviendo la formación de capital humano especializado. De igual manera, la producción de material vegetal certificado impulsa el desarrollo sostenible de la fruticultura regional, generando empleo directo e indirecto en viveros, unidades productivas y cadenas de comercialización.

En lo ambiental, la micropropagación permite la obtención de plantas libres de patógenos, reduciendo la dependencia de agroquímicos en las fases iniciales del cultivo. Esto contribuye a mitigar la contaminación del suelo y de los recursos hídricos, favoreciendo la implementación de sistemas productivos más sostenibles. Asimismo, la propagación eficiente de cultivares adaptados optimiza el uso de recursos naturales, como el agua y el suelo.

En lo científico, la investigación contribuye al desarrollo y validación de protocolos de establecimiento y multiplicación in vitro en frutales, específicamente en el cultivar Williams' Bon Chretien, cuya respuesta depende de factores como el medio de cultivo

y la interacción de reguladores de crecimiento. La generación de un protocolo eficiente bajo condiciones locales del Centro Agronómico K'ayra permitirá optimizar la propagación clonal, aportando al avance de la biotecnología vegetal en el Perú y constituyendo una base sólida para futuras investigaciones en mejoramiento genético, conservación de germoplasma y producción de material vegetal élite.

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis general

La optimización de medios de cultivo y reguladores de crecimiento mejora significativamente el establecimiento y la multiplicación in vitro de meristemos apicales en la variedad de pera de agua (*Pyrus communis* L.), bajo condiciones de laboratorio del Centro Agronómico K'ayra – Cusco.

3.2. Hipótesis específicas

- Al menos uno de los medios de cultivo evaluados permite obtener un porcentaje de prendimiento significativamente mayor en el establecimiento in vitro de meristemos apicales en la variedad de pera de agua (*Pyrus communis* L.), en condiciones de laboratorio del Centro Agronómico K'ayra.
- Existe una combinación óptima de citoquinina y auxina que incrementa significativamente el número de brotes y mejora el comportamiento agronómico en la fase de multiplicación in vitro de meristemos apicales en la variedad de pera de agua (*Pyrus communis* L.), en condiciones de laboratorio en el Centro Agronómico K'ayra.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1. Antecedentes de la investigación

4.1.1. Antecedente internacional

En la investigación titulada “Propagación de portainjertos de pera en biorreactores de inmersión temporal” se señala que la pera es uno de los frutales de clima templado más importantes a nivel mundial. Uruguay produce peras de alta calidad, con volúmenes variables de producción y un destacado valor de exportación. Desde el Repositorio Nacional de Germoplasma de Corvallis (NCGR) se introdujeron nuevos portainjertos de la serie Old Home × Farmingdale (OhxF), pertenecientes a la colección de germoplasma de pera del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, con el objetivo de identificar materiales mejor adaptados a las condiciones locales de suelo y clima. Entre los materiales evaluados destacó el portainjerto OhxF40, seleccionado por su menor vigor y su resistencia al fuego bacteriano, podredumbre de corona, pulgón lanígero y decaimiento del peral. Se compararon sistemas de multiplicación in vitro en medios sólidos y biorreactores de inmersión temporal utilizando dos medios de cultivo: el medio Murashige y Skoog (MS) convencional y un medio enriquecido con calcio, magnesio y potasio, cuyos niveles fueron incrementados 2,5 veces respecto al MS estándar. En ambos sistemas se empleó 4,44 μM de benciladenina como único regulador de crecimiento. En medio sólido se observaron diferencias significativas en la altura de las plantas, obteniéndose mayor crecimiento con el medio enriquecido en sales. Sin embargo, no se registraron diferencias significativas en la tasa de multiplicación entre ambos medios. La mayor tasa de multiplicación se obtuvo en los biorreactores de inmersión temporal con medio enriquecido, mientras que la menor correspondió al

medio sólido con MS convencional. Además, no se observaron plantas vitrificadas en ninguno de los sistemas evaluados. La calidad de las plantas obtenidas fue excelente en todos los tratamientos, permitiendo el enraizamiento de explantes con más de 2 cm de altura (Castillo *et al.*, 2018).

Según Kaviani *et al.* (2023), afirman que las peras se encuentran entre las frutas de mayor importancia económica a nivel mundial y se cultivan ampliamente en zonas templadas. El portainjerto de *Pyrus communis* L. 'Pyrodwarf® (S)' constituye una importante fuente genética para mejorar la productividad, resistencia y tolerancia a estreses bióticos y abióticos. Sin embargo, su propagación tradicional es lenta y limitada por la corta temporada de crecimiento y las condiciones invernales severas, por lo que la propagación *in vitro* representa una alternativa eficiente. Para la proliferación de brotes se utilizaron los medios Murashige y Skoog (MS) y Woody Plant Medium (WPM), suplementados con distintas concentraciones de 6-benciladenina (BA) y kinetina (Kin), aplicadas individualmente o en combinación, empleando segmentos nodales como explantes. Posteriormente, el enraizamiento de los microbrotes se realizó en medio MS suplementado con ácido indol-3-butírico (IBA) o ácido indol-3-acético (IAA). La combinación de 2 mg·L⁻¹ de BA y 1 mg·L⁻¹ de Kin en medio MS permitió una mejora significativa en la proliferación, obteniéndose el mayor número de brotes (4,35 por explante) y hojas (10,02 por explante). Los brotes de mayor longitud (4,04 cm) se desarrollaron en WPM suplementado con 1 mg·L⁻¹ de BA; sin embargo, no resultaron adecuados para las fases de multiplicación y enraizamiento. El mayor número de raíces (5,50 por microbrote) se obtuvo en medio MS con 1 mg·L⁻¹ de IAA. Finalmente, las

plántulas fueron aclimatadas en invernadero en sustrato de perlita y fibra de coco (1:3), alcanzando una tasa de supervivencia del 90 %.

Lizárraga *et al.*, (2017), mencionan que ocho cultivares de manzana (*Malus × domestica*) y dos de pera (*Pyrus communis*), de interés comercial, fueron seleccionados del banco de germoplasma del CIAM (Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo, España), una de las colecciones más importantes de la Península Ibérica. Con el objetivo de establecer un protocolo de cultivo, se aislaron yemas apicales de 1,0 a 1,5 mm de longitud, las cuales fueron cultivadas en medio sólido Murashige y Skoog (MS) suplementado con vitaminas (tiamina 10X), 1 mg·L⁻¹ de 6-benciladenina (BA), 0,2 mg·L⁻¹ de ácido giberélico (GA₃) y 0,3 mg·L⁻¹ de ácido indol-3-butírico (IBA). Las mayores tasas de iniciación de brotes se obtuvieron en el cultivar de manzana 'Príncipe Grande' (55 %) y en el cultivar de pera 'Barburiña' (50 %), mientras que la menor correspondió al cultivar de manzana 'Camoesa' (11 %). En los demás cultivares, las tasas de iniciación variaron entre 22 % y 37 %. Durante la fase de multiplicación se evaluaron las citoquininas BA, zeatina, 2-isopenteniladenina (2iP) y tidiazurón (TDZ) en concentraciones de 0, 0,25, 0,5 y 1 mg·L⁻¹, en ausencia o presencia de 0,1 mg·L⁻¹ de IBA. Para todos los cultivares, las mayores tasas de multiplicación se registraron en medios suplementados con TDZ y BA. El enraizamiento *in vitro* en medio con 0,1 mg·L⁻¹ de IBA, sin citoquininas, así como la supervivencia de las plantas aclimatadas en invernadero, dependieron del genotipo de cada cultivar. Asimismo, señalan que la propagación *in vitro* de estos diez cultivares no había sido reportada previamente en el noroeste de España.

4.1.2. Antecedente nacional

En la investigación titulado Medios de cultivo mejorados para el establecimiento in vitro de peras a partir de esquejes nodales, e realizaron experimentos con el objetivo de obtener un establecimiento in vitro eficiente a partir de esquejes uninodales. Los explantes se prepararon a partir de brotes en crecimiento obtenidos durante dos años consecutivos de los mismos tres árboles maduros de "Rocha" en el campo y de un árbol "Williams". Se investigaron los efectos de la planta madre 'Rocha', el medio de sal basal (QL vs MS) y la concentración de bencilaminopurina (BAP) (0,5, 1,0 o 2,0 mg/L) sobre el desarrollo del explante. La planta madre influyó en el peso fresco y seco de los brotes formados a partir de los esquejes. Sin embargo, este efecto no fue consistente entre los árboles de 'Rocha' de un año a otro, posiblemente debido a diferencias en el estado fisiológico de un árbol determinado en años sucesivos al momento de la tala. En ambos cultivares, un aumento en la concentración de BAP resultó en un mayor número de brotes por explante. En comparación con el medio MS, el medio QL aumentó el desarrollo del explante así como el peso fresco y seco de los brotes desarrollados durante al menos un año para cada variedad. Estos resultados demostraron la superioridad del medio fisiológico QL para el establecimiento de esquejes de peral uninodales (Freire et al., 2002).

4.2. Bases teóricas

4.2.1. Origen y distribución del peral.

[Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA, (2010)], menciona que el cultivo del peral se inicia en el oeste asiático, en los valles formados por la cadena montañosa Tian Shan en China hace unos 3000 años, aunque escritos de Homero (700 Ac)

sugieren una posible procedencia europea. La primera especie domesticada fue *Pyrus pyrifolia*, peral silvestre que producía frutos comestibles. Posteriormente se realizaron hibridaciones entre *Pyrus ussuriensis* y *Pyrus pyrifolia*. En Occidente, *Pyrus communis* variedad *pyraster* y *Pyrus communis* variedad *cydoni* fueron seguramente los ancestros del peral europeo. El género *Pyrus* incluye 22 especies divididas en occidentales y orientales según su situación geográfica. Las más utilizadas en la actualidad son *Pyrus betulifolia*, *Pyrus calleryana*, *Pyrus pyrifolia* y *Pyrus ussuriensis* (orientales), y *Pyrus communis*, var. *pyraster*, *Pyrus amygdaliformis*, y *Pyrus salicifolia* (occidentales).

Volk (2006), indica que peral ha tenido su zona de dispersión desde el norte de Italia, Suiza, ex Yugoslavia, Alemania, Grecia, Moldavia y Ucrania hasta países del este como Irán, Uzbekistán, China, Japón, Corea y Bután. Además, este género crece de forma espontánea en los bosques de climas templados desde el mar Caspio hasta el océano Atlántico. Algunos estudios señalan que en el Cáucaso, Ucrania y Armenia podría encontrarse el centro de domesticación de la pera

Evans (2002), menciona por otra parte, estudios moleculares sugieren que el origen de la subfamilia *Amygdaloideae*, a la cual pertenece el género *Pyrus*, también podría encontrarse en Norte América. La amplia distribución y la extensa hibridación hacen difícil identificar y distinguir las especies de *Pyrus* por caracteres morfológicos. El número de especies reconocidas en *Pyrus* ha variado entre los taxonomistas, de 60 a 21 y se han registrado más de 900 nombres de especies *Pyrus*. Sin embargo, el número de especies primarias (es decir, de origen no híbrido) ha sido relativamente consistente y alrededor de 20 especies primarias han sido revisadas.

Rubtsov (1944), menciona que los más de mil cultivares que se encuentran en la especie *Pyrus* se pueden dividir en dos grandes grupos nativos: Perales Occidentales o europeos y Perales Orientales o asiáticos dependiendo de su distribución geográfica. Esta especiación puede estar asociada con el aislamiento geográfico de las poblaciones debido a las cadenas montañosas.

4.2.2. Domesticación del cultivo de peral

Hancock (2008), reseña que el peral ha sido cultivado al menos durante los últimos 3000 años en áreas de clima templado de Asia y Europa. Los cultivos actuales provienen de cultivares seleccionados durante el siglo XIX o finales del siglo XVIII, o bien, algunos son derivados de estas selecciones.

La mejora de la pera se produjo en Europa a partir de dos especies: *Pyrus communis* y *Pyrus nivalis*. La primera, la pera común o europea, es completamente estéril y tiene en su conjunto genético una influencia de otras especies como *Pyrus eleagrifolia*, *Pyrus spinosa*, *Pyrus nivalis* y *Pyrus syriaca* (Rubtsov, 1944; Silva, 2014).

Silva (2014), dice que la mayoría de los cultivares liberados en Europa se desarrollaron a través de la polinización abierta y la selección de frutos de acuerdo a su suavidad y aspecto mantecoso.

Bell (1996) explica que en el occidente se cultiva como única especie *Pyrus communis* L., que además de Europa, se distribuye por Norte y Sur América, África y Australia. En Asia, el cultivo comenzó hace más de 2500 años, con las principales especies *Pyrus pyrifolia*, *Pyrus itoquin* y *Pyrus ussuriensis* siendo *Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nakai, también llamada pera de arena o Nashi, la especie más cultivada en China central y Japón). Existen también en Asia algunos híbridos de *Pyrus pyrifolia* y *Pyrus ussuriensis* y la

llamada pera blanca. Comercialmente, las peras de origen europeo tienen un cuerpo alargado y una textura jugosa y las de origen asiático tienen una textura arenosa y crujiente con un cuerpo redondeado. Dentro de Europa, cada país se ha caracterizado por cultivar de forma específica algunas variedades. Por ejemplo, en el caso de Italia la más importante es “Abate Fetel”, en Bélgica y Holanda se produce mayormente “Conference”, mientras que en Francia tienen mayor importancia “Limonera” o “Guyot” y “Williams”.

4.2.3. Producción de la pera en el Perú

El cultivo de pera (*Pyrus communis* L.) en el Perú presenta una participación limitada dentro del sistema frutícola nacional, caracterizándose por bajos volúmenes de producción y reducida tecnificación. De acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística e Informática, la producción nacional de pera ha mostrado un comportamiento relativamente estable en los últimos años, con valores que oscilan entre 3,900 y 4,500 toneladas anuales, registrándose aproximadamente 4,530 toneladas en el año 2022 (INEI, 2023).

Este nivel productivo es considerablemente inferior al de otros frutales de importancia económica, lo cual evidencia una limitada inversión tecnológica, así como deficiencias en el manejo agronómico y en la disponibilidad de material vegetal certificado. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, el Perú no figura entre los principales productores de pera a nivel mundial, lo que refuerza su condición de cultivo emergente y poco desarrollado en el país (FAO, 2022).

En la región Cusco, durante el año 2015, el cultivo de pera registró una superficie cosechada de 41 ha, una producción de 232 t y un rendimiento promedio de 5.6 t ha⁻¹ (MINAGRI, 2016).

4.2.4. Taxonomía

Determinada por: Cronquist (1981).

Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Rosales
Familia:	Rosaceae
Subfamilia:	Amygdaloideae
Tribu:	Maleae
Género:	Pyrus
Especie:	<i>Pyrus communis L.</i>

4.2.5. Morfología

4.2.5.1. Planta

Jackson (1999), indica que son árboles caducifolios, generalmente más grandes que el manzano, con una altura entre 5 y 8 m y un diámetro de copa de 0,3 a 0,5 m en la base, con una forma cilíndrica o piramidal bajo condiciones naturales.

4.2.5.2. Hojas

Paganova (2003), refiere que las hojas de *Pyrus communis* L. pueden ser de orbiculares a elípticas, crenato-serradas y glabras cuando están maduras, pero son pubescentes en crecimientos nuevos e inflorescencias. Las hojas pecioladas (de 2 a 12 cm de longitud), son de color verde brillante y pueden presentar vellosidad plateada muy densa. La forma de la hoja varía de ovalada a lanceolada, orbicular-ovada a elíptica o crenato-serrada.

4.2.5.3. Yemas

Jackson (1999) describe que las yemas reproductivas presentan escamas imbricadas se forman apicalmente en las ramas o en lamburdas (sobre madera de 2 o más años); también, ocasionalmente, como yemas laterales de ramas de 1 año.

Las yemas de la pera son estructuras meristemáticas responsables del crecimiento vegetativo y reproductivo del árbol. Se desarrollan en las axilas de las hojas o en posiciones terminales y se diferencian en función de su morfología y destino fisiológico.

Las yemas se clasifican en tres tipos. Yemas vegetativas: Son de forma puntiaguda y alargada, dan origen a brotes y hojas. Participan en el crecimiento estructural del árbol.

Yemas florales (mixtas): Son más redondeadas y voluminosas, y producen inflorescencias tipo corimbo, que posteriormente formarán los frutos. Yemas latentes:

Permanecen en estado de dormancia y pueden activarse bajo condiciones favorables o tras prácticas como la poda (Westwood, 1993).

Figura 1

Yemas de la pera.



Nota: Tomado de (Westwood, 1993).

4.2.5.4. Flores

Paganova (2003), detalla que se organizan en corimbos, son de color blanco y en algunas ocasiones con tintes rosados o amarillos; presentan entre 20 y 30 estambres, de dos a cinco estilos y dos óvulos por lóculo. Brotan a la vez o antes que las hojas, en racimos umbeliformes.

Figura 2

Flor de la pera



Nota: Tomado de (Favilla, 2019).

4.2.5.5. Fruto

Hancock (2008), señala que son muy variables con la genética y el ambiente. El fruto es un pomo, piriforme, globoso u ovoide, con diámetro entre 2 y 12 cm y de 5 a 20 cm de longitud con varias tonalidades entre verde/ amarillo o rojo/café. Describió la alta variabilidad en las formas de la pera: redonda, en forma de manzana y de ovada a oblonga en varios genotipos.

La pulpa normalmente contiene tejidos endurecidos con células pétreas. El fruto crece, igualmente como en la manzana, en forma sigmoidal simple.

Figura 3

Fruto de pera



Nota: Tomado de (Westwood, 1993).

4.2.6. Ciclo fenológico.

El ciclo fenológico del peral inicia en reposo invernal, continúa con la brotación y desarrollo floral, sigue con la floración, luego el cuajado y finaliza con el crecimiento del fruto; todo este proceso está determinado por la acumulación de frío y calor, lo que influye directamente en la productividad del cultivo (Rodríguez et al., 2020). El ciclo fenológico del cultivo de la pera se detalla a continuación:

Tabla 1

Ciclo fenológico de la pera

Estadio	Denominación	Descripción morfológica	Importancia agronómica
A	Ojo marrón (yema invernal)	Yema completamente cerrada, en estado de reposo.	Indica endodormancia; depende de acumulación de horas de frío.
B	Huso con yemas alargadas	Yema comienza a hincharse y alargarse.	Inicio de reactivación metabólica.
C₁	Yema bifurcada (inicio)	Apertura inicial de la yema con diferenciación de tejidos.	Transición de dormancia a crecimiento activo.
C₃	Yema bifurcada (avanzado)	Mayor desarrollo y apertura de la yema.	Alta sensibilidad a condiciones climáticas.
D	Aparición del corimbo floral	Se observan estructuras florales agrupadas.	Inicio de diferenciación floral visible.
D₃	Corimbo floral desarrollado	Mayor exposición del racimo floral.	Determina potencial productivo.
E₁	Botón blanco (pétalos visibles)	Pétalos visibles, pero aún cerrados.	Etapla crítica previa a floración.
E₂	Botón avanzado	Apertura parcial de flores.	Alta susceptibilidad a heladas.
F₁	Inicio de floración (3–10%)	Primeras flores abiertas.	Marca inicio del periodo reproductivo.
F₂	Plena floración (≈70%)	Mayoría de flores abiertas.	Etapla clave para rendimiento y cuajado.
G	Caída de pétalos	Pétalos comienzan a desprenderse.	Inicio de fecundación y formación de frutos.
H	Cuajado de frutos	Frutos pequeños comienzan a formarse.	Define número final de frutos.
I	Fruto pequeño	Crecimiento inicial del fruto.	Determina desarrollo posterior y calidad.

Nota: Adaptado de Rodríguez et al. (2020)

4.2.7. Variedades del cultivo de pera

La especie *Pyrus communis* L. presenta una amplia diversidad genética expresada en numerosos cultivares, los cuales difieren en características morfológicas, fisiológicas y agronómicas, tales como forma y tamaño del fruto, textura de la pulpa, contenido de azúcares, requerimientos de frío y comportamiento postcosecha. Esta variabilidad constituye un factor determinante en la adaptación del cultivo a distintas condiciones agroecológicas y en su competitividad en los mercados (Jackson, 2003; Webster, 2005).

A nivel mundial, las variedades de pera han sido seleccionadas principalmente por su calidad organoléptica, productividad y capacidad de almacenamiento, destacando cultivares ampliamente difundidos en sistemas productivos comerciales (Bell & Quamme, 2011).

4.2.7.1. Variedad Williams' Bon Chretien (Bartlett)

La variedad Williams' Bon Chretien, conocida internacionalmente como Bartlett, es una de las más importantes a nivel global debido a su alta productividad y excelente calidad de fruto. Presenta frutos de forma piriforme, con piel verde que se torna amarilla al madurar, y pulpa blanca, jugosa y altamente aromática. Es ampliamente utilizada tanto para consumo fresco como para la industria (jugos, néctares y conservas) (Jackson, 2003).

Desde el punto de vista agronómico, esta variedad destaca por su buena adaptación a diferentes condiciones climáticas y su respuesta favorable a técnicas de propagación, incluyendo el cultivo in vitro, lo cual la convierte en un material vegetal clave en programas de mejoramiento y saneamiento (Webster, 2005).

4.2.7.2. Variedad (Packham's Triumph)

La variedad 'Packham's Triumph' es originaria de Australia y se caracteriza por producir frutos grandes, de forma irregular y piel verde. Su pulpa es firme, dulce y de buena calidad para el consumo en fresco. Esta variedad posee una elevada capacidad de almacenamiento, lo que la hace altamente valorada en mercados de exportación (Bell & Quamme, 2011).

En sistemas productivos de Sudamérica, 'Packham's Triumph' es ampliamente cultivada debido a su resistencia al transporte y su buena vida postcosecha, lo cual contribuye a la sostenibilidad de la cadena comercial (Calabrese, 2012).

4.2.7.3. Variedad Anjou (D'Anjou)

La variedad 'Anjou', de origen francés, presenta frutos de forma ovalada, con piel verde o roja dependiendo del tipo. La pulpa es suave, jugosa y ligeramente dulce, características que la hacen atractiva para el consumo fresco. Su principal ventaja agronómica es su excelente capacidad de conservación en almacenamiento en frío (USDA, 2022).

Esta variedad es ampliamente utilizada en mercados internacionales debido a su estabilidad postcosecha y su aceptación por los consumidores (Bell & Quamme, 2011).

4.2.7.4. Variedad Bosc (Beurré Bosc)

La variedad 'Bosc' se caracteriza por su fruto alargado y piel marrón con textura rugosa (russet). Su pulpa es firme, ligeramente granulosa y de sabor dulce. Debido a su textura, es especialmente adecuada para la cocción y procesamiento culinario (Jackson, 2003). Desde el punto de vista agronómico, presenta buena resistencia al manejo postcosecha y tolerancia relativa a condiciones adversas, lo que favorece su cultivo en diversas regiones productoras (Webster, 2005).

4.2.7.5. Variedad (Conference)

La variedad 'Conference', originaria del Reino Unido, presenta frutos alargados y de piel verde con tonalidades amarillentas. Su pulpa es jugosa, dulce y de buena calidad organoléptica. Se caracteriza por su alta productividad y buena adaptación a climas templados (Calabrese, 2012).

Esta variedad es ampliamente cultivada en Europa debido a su rendimiento estable y su capacidad de adaptación a diferentes sistemas de manejo (FAO, 2020).

4.2.7.6. Variedad Comice (Doyenné du Comice)

La variedad 'Comice' es considerada una de las peras de mayor calidad para consumo en fresco. Presenta frutos redondeados, con pulpa extremadamente jugosa, dulce y aromática. Su alto contenido de azúcares la convierte en una variedad premium en mercados especializados (Bell & Quamme, 2011).

Sin embargo, desde el punto de vista agronómico, requiere condiciones específicas de manejo y presenta menor resistencia al almacenamiento prolongado en comparación con otras variedades (Webster, 2005).

4.2.7.7. Variedad Abate Fetel

Fruto elongado, de cuello largo y forma irregular. La epidermis es fina y lisa, de color verde claro a amarillento, a veces con un rosado tenue en la cara que está expuesta al sol. La pulpa es blanca, consistente, de textura fina, jugosa y de sabor neutro (Caballido, 2024).

4.2.8. Requerimientos de cultivo.

4.2.8.1. Clima

Parra (1997), reseña que el peral es característico de climas templados y algo húmedos, siendo más resistente al frío que al calor. Los veranos extremados desecan los frutos y les impiden crecer. Con altitudes entre 2000 y 2800 msnm.

4.2.8.2. Temperatura

Parra (1997), describe que las temperaturas que oscilen entre 12 y 16 °C y períodos de frío de 4 a 7 °C en la época de reposo.

4.2.8.3. Luminosidad

Parra (1997), menciona que requiere alta luminosidad, baja humedad relativa y precipitación anual media de 1000 mm.

4.2.8.4. Suelo

Parra (1997), señala que el peral requiere suelos profundos y fértiles, preferiblemente con textura media y pH entre 6,0 y 6,8. El contenido de materia orgánica puede variar entre 2,8 y 5,0%; si el valor es menor, debe aplicarse abonos.

4.2.9. Plagas principales del cultivo del peral.

4.2.9.1. Psila (*Cacopsylla pyri* L.)

Phytoma (2023), menciona que el síntoma más claro de su parasitismo es la melaza pegajosa y brillante que produce el insecto y que impregna la superficie de tallos, hojas y frutos donde existen colonias de Psila. Las hojas afectadas se curvan y retuercen, llegando a presentar necrosis. Sobre la melaza producida aparece, a su vez, una costra constituida por especies fúngicas y conocida popularmente como Negrilla.

4.2.9.2. Araña roja (*Panonychus ulmi*. Koch)

Phytoma (2023), dice que las hojas parasitadas aparecen decoloradas, con aspecto plomizo. Si se observa el envés de estas hojas con una pequeña lupa de bolsillo se pueden apreciar las formas móviles del ácaro. En las hojas afectadas pueden verse, mediante una lupa, las arañas causantes de los daños. Estas, de color rojo, tienen la base de las quetas de color blanco. Su tamaño real es de 0.7 mm aproximadamente.

4.2.9.3. Mosca de la fruta

La pera (*Pyrus communis* L.) constituye un hospedero de moscas de la fruta del complejo *Anastrepha fraterculus*, una plaga de importancia fitosanitaria para la fruticultura. La asociación de este insecto con frutos de pera ha sido confirmada mediante ejemplares obtenidos directamente de *P. communis*, evidenciando la susceptibilidad de este frutal al ataque de tefrítidos (Gomulski et al., 2024).

4.2.9.4. Piojo de san José (*Quadraspidiotus perniciosus*. Comstock)

Phytoma (2023), refiere que en las ramas y tronco de los árboles parasitados aparecen unas escamas o conchitas aplastadas, de color gris oscuro, redondas y alargadas y que llegan a tener unos 2 mm de diámetro. Estas escamas o conchitas corresponden al caparazón del insecto, que se encuentra debajo de ellas. Cuando las conchitas están sobre el fruto, aparecen en éste, alrededor del insecto, unas aureolas rojizas.

4.2.10. Enfermedades principales del cultivo del peral.

Phytoma (2023), describe que es producida por el hongo *Venturia pirina*. Los síntomas se presentan en hojas, en cuyo envés aparecen unas manchas verde-violáceas, oscuras y pulverulentas, que las deforman y provocan su abscisión, y en frutos, sobre los que producen puntea duras que van aumentando en número y superficie, generando finalmente grietas y fisuras en tejido subyacente.

4.2.10.1. Fuego bacteriano (*Erwinia amylovora*) (Burrill) Winslow et al.

Phytoma (2023), cita que, en primavera, en la base del cáliz o el pedúnculo aparecen, primero, unos exudados o gotitas blancas o acarameladas y, posteriormente, una o varias flores que se marchitan, ennegrecen y, con aspecto untoso, quedan adheridas al ramillete. Estos síntomas progresan afectando a hojas, brotes y ramas. Si el tiempo es húmedo es frecuente apreciar exudados gomosos en los órganos afectados. Adquieren un tono general parduzco o atabacado, como si el árbol entero hubiese sido quemado, de donde le viene el nombre a la enfermedad.

4.2.10.2. *Phytophthora cactorum* y *Armillaria mellea*

Phytoma (2023), explica que, aunque son peligrosas, no presentan problemas graves en el peral por la buena tolerancia, en general, de los patrones utilizados.

4.2.10.3. Necrosis

Phytoma (2023), indica que la enfermedad debida al hongo *Sphaceloma prinum* muy frecuente en plantaciones de peral costeras y con suelos húmedos, que afecta sobre todo a las hojas con manchas, de color violáceo oscuro al principio y grisáceo después.

4.2.10.4. Septoriosis

Phytoma (2023), detalla que es originada por el hongo *Septoria piricola* y caracterizada por la formación de pequeñas manchas sobre las hojas, primero marrones y más tarde grisáceas. Finalmente se dan pequeños puntos muertos en las fructificaciones.

4.2.10.5. Roya

Phytoma (2023), describe que es ocasionada por *Gymnosporangium clavariiforme*. Atacan frutos jóvenes, pedúnculos, ramitas y sobre todo a las hojas, en cuyo envés origina unas manchas ovales en las que terminan apareciendo puntea duras oscuras.

4.2.11. Propagación de la pera

4.2.11.1. Propagación por injerto

Roca & Mroginski (1991), señala que es un método de propagación empleado para unir dos partes que provienen de plantas diferentes, una enraizada denominada pie o patrón, y otra parte aérea o injerto propiamente dicho. Para nuestro caso, se trata de unir la estaca enraizada de membrillero, con la yema de la variedad de pera seleccionada. Las plumas o yemas a injertar, deben provenir de plantas de pera seleccionadas previamente y que destaquen por su sanidad, por ser altamente productivas y que hayan tenido una historia de rendimientos constantes durante varios años.

4.2.11.2. Propagación por polinización

Roca & Mroginski (1991), menciona que la mayoría de las variedades de peral no son auto fértiles. Esto significa que la mayoría de los árboles necesitan árboles de polinización cercanos, de diferente variedad para producir la fruta. Incluso las variedades auto fértiles de pera producen mayores rendimientos cuando un árbol de polinización se planta a una distancia cercana. Los cultivadores de peras a menudo plantan variedades polinizadoras que son compatibles y tardan el mismo tiempo en florecer que las variedades comerciales; es necesario asegurar una polinización cruzada adecuada.

4.2.11.3. Micropropagación

Roca & Mroginski (1991), señala que consiste en cultivar asépticamente diferentes explantos constituidos por fracciones de un tejido u órgano que se extrae de la planta, la micropropagación es prácticamente una multiplicación masiva *in vitro*.

Incremento acelerado del número de plantas derivadas por genotipo.

- Reducción del tiempo de multiplicación.
- Posibilidad de multiplicar grandes cantidades de plantas en una superficie reducida, a bajos costos y en tiempos económicamente costeados.
- Mayor control sobre la sanidad del material que se propaga.
- Facilidad para transportar el material *in vitro* de un país a otro, con menos restricciones aduaneras.
- Posibilidad de multiplicar rápidamente una variedad de la cual sólo existan pocos individuos.

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 (explanto) de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones. El explanto 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 reguladoras de crecimiento, azúcar, agua y agar. La composición del medio depende de la especie vegetal y de la etapa del proceso de micropropagación.

4.2.11.4. Cultivo *in-vitro*

Castillo (2004), explica la expresión cultivo *in vitro* de plantas que 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. El científico alemán Gottlieb Haberlandt postuló a inicios del siglo XX que las plantas poseen la capacidad de regenerar su crecimiento a partir de células aisladas, formulando así la hipótesis de la totipotencia celular vegetal. No obstante, no logró validar experimentalmente dicha hipótesis, debido a que en su época aún no se conocían muchos de los componentes esenciales que actualmente conforman los medios de cultivo. Fue recién en la década de 1950 cuando se estableció la importancia del equilibrio hormonal en el desarrollo vegetal, a partir del descubrimiento y uso de reguladores de crecimiento ampliamente empleados en la actualidad. El término cultivo *in vitro* de plantas se refiere al crecimiento de tejidos vegetales en recipientes de vidrio, bajo condiciones artificiales y controladas. Esta técnica se fundamenta en dos principios esenciales: la asepsia, que implica la ausencia de microorganismos contaminantes, y el control riguroso de los factores ambientales que influyen en el crecimiento y desarrollo del explante. La reproducción en laboratorio de todos los factores presentes en el ambiente natural de la planta resulta altamente compleja desde el punto de vista técnico. Por ello, el cultivo *in vitro* se basa en una simplificación del sistema natural, seleccionando únicamente aquellos factores que pueden ser controlados con precisión. En este contexto, el éxito del cultivo depende del manejo adecuado de las condiciones físicas y químicas del entorno en el que se desarrolla el material vegetal. Con fines

descriptivos, los principales factores no biológicos que influyen en el desarrollo del cultivo *in vitro* pueden clasificarse en: Ambiente químico: composición del medio de cultivo y pH, Ambiente físico: temperatura, luz (intensidad y fotoperiodo) y humedad relativa.

4.2.11.5. Etapas de la micropropagación *in-vitro*

Establecimiento

Pierik (1990), describe que las yemas apicales y axilares de pera en un medio de iniciación de MS que contenía ácido naftalenacetico (ANA) como auxina y bencilamino purina (BAP) como citoquinina, produjeron brotes y callos, pero no logró determinar las dosis óptimas de cada hormona debido a la gran contaminación de citoquininas de los explantos que usó.

Multiplificación

Pierik (1990), menciona que los explantos, que son los hijuelos formados en la base de los florales partidos por la mitad, fueron transferidos al medio de MS con una concentración alta de BAP (4 mg/l). El periodo de formación de brotes dura aproximadamente 30 días, pudiéndose hacer ciclos de multiplicación mensuales que las plantas necesitan alrededor de 5mg/l de BAP para inducir la multiplicación.

Enraizamiento

Pierik (1990), explica que los brotes desarrollan para que formaren raíces y así obtener plantas completas *in vitro*. En esta etapa, usaron el medio de MS y generalmente, suprimen las citoquininas y utilizaron ANA en una dosis de 0.5 mg/l. A los 30 días. aproximadamente, obtuvieron una buena relación entre las raíces y el follaje. Hay

ciertas especies que no necesitan una etapa de enraizamiento pues forman raíces en la etapa de multiplicación o en el invernadero de aclimatación sin mayores problemas.

Aclimatación

Pierik (1990), informa que una planta originada *in vitro* difiere en muchos aspectos de las que se originan in vivo. Tienen una cutícula escasamente desarrollada debido a la alta humedad relativa dentro del tubo de ensayo; por lo tanto, hay mayor transpiración y las hojas son fotosintéticamente poco activas. Las estomas de la planta no son suficientemente operativos y permanecen abiertos cuando han pasado al suelo. Lo anterior conduce a un estrés hídrico y a la carencia de azúcares, por lo que es necesario brindar un trato especial a estas plantas. Generalmente, lo que se hace es mantener la humedad relativa alta en el ambiente al que pasan, por medio de riegos por aspersión o en cajas de plástico, además de una fertilización foliar y riegos frecuentes ya que tienen raíces poco funcionales.

4.2.12. Fases de la propagación *in-vitro*

Castillo (2004), describe esta secuencia de etapas abarca el ciclo completo de la multiplicación de plantas *in vitro*; 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*.

4.2.12.1. Fase 0: Preparación de la planta madre.

Castillo (2004), refiere que para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantos con un nivel nutricional y un grado de desarrollo adecuado. Para obtener estos explantos 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.

4.2.12.2. Fase 1: Desinfección del material vegetal.

Castillo (2004), detalla que una vez elegida la planta madre, se extraerán los fragmentos a partir de los cuales se obtendrán los explantos. Los explantos pueden ser yemas, trozos de hojas, porciones de raíces, semillas, etc. Antes de extraer los explantos 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 explantos a partir del material vegetal. Estos explantos 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.

4.2.12.3. Fase 2: Introducción del material *in vitro*.

Castillo (2004), describe que 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*.

4.2.12.4. Fase 3: Multiplicación de los brotes.

Castillo (2004), menciona que durante esta fase se espera que los explantos 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 subcultivar 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.

4.2.12.5. Fase 4: Elección de un medio de enraizamiento de los explantos.

Castillo (2004), menciona que para enraizar los explantos 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.

4.2.12.6. Fase 5: Aclimatación de los explantos enraizados

Castillo (2004), reseña que los explantos 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 explantos o plantines enraizados de los frascos, están poco adaptados a crecer en un invernáculo, ya que estos explantos 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 explanto. 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. La siguiente lista 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

- No realiza fotosíntesis
- Crecimiento en condiciones controladas
- Crecimiento en condiciones de asepsia
- Alta humedad relativa
- Estomas no funcionales
- Ausencia de pelos radiculares

- Ausencia de cera en la cutícula

In vivo

- Realiza fotosíntesis
- Crecimiento en condiciones no controladas
- Exposición a los patógenos y gérmenes del ambiente
- Humedad relativa variable
- Estomas funcionales
- Presencia de pelos radiculares
- Presencia de cera en la cutícula

Figura 4

Etapas del cultivo *in vitro*

- 1 Planta madre** Selección de una planta sana y de buen vigor.
- 2 Obtención del explanto** Se toma una pequeña parte de la planta (yema, nudo, hoja, meristemo, etc.)
- 3 Desinfección** El explante se desinfecta para eliminar microorganismos.
- 4 Establecimiento** El explante se coloca en un medio de cultivo estéril para iniciar su crecimiento.



5 Multiplicación

Se transfieren los brotes a un medio con reguladores de crecimiento para inducir la formación de múltiples brotes



6 Enraizamiento

Los brotes se pasan a un medio que favorece la formación de raíces.



7 Aclimatación

Las plantas se adaptan gradualmente a condiciones ex vitro y se trasplantan al sustrato.



Nota: Adaptado de George et al., (2008).

4.2.13. Reguladores de crecimiento

Pierik (1990), explica que las fitohormonas son compuestos orgánicos sintetizados por las plantas superiores, que influyen en el crecimiento y el desarrollo, actúan generalmente en lugares diferentes a donde son producidas y se encuentran presentes y activas en muy pequeñas cantidades. Actualmente se agrupan en cinco categorías: auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico y etileno. Además de estas sustancias naturales, existen numerosos productos de síntesis que pueden utilizarse como reguladores del crecimiento en el cultivo *in vitro*.

4.2.13.1. Auxinas

Jordán & Casaretto (2006), señala que las auxinas son un grupo de hormonas que regulan muchos aspectos del desarrollo y crecimiento en plantas. La más abundante es el ácido indolacético. Su síntesis ocurre mayormente en meristemos apicales y tejidos jóvenes de donde son transportadas al resto de la planta. El gradiente de concentración

de éstas reprime el desarrollo de brotes axilares hacia la base del tallo. Entre las principales funciones, las auxinas promueven la elongación celular, inhiben el crecimiento de raíces primarias, median la respuesta a tropismos, reprimen la abscisión de órganos e inducen el desarrollo floral y de frutos. Aunque con modo de acción distinto, las giberelinas también son una familia de hormonas que regulan positivamente el crecimiento de la planta, especialmente la elongación de tallos. También promueven la movilización de reservas y germinación de semillas, así como el desarrollo floral y de frutos. Por otro lado, las citoquininas son hormonas que estimulan la división celular, activan la brotación de yemas, inducen organogénesis y retardan la senescencia.

4.2.13.2. Citoquininas

García (2004), refiere que los efectos fisiológicos producidos por las citoquinina pueden variar dependiendo del tipo de citoquinina y de la especie vegetal, entre estos tenemos: estimular la división celular, la morfogénesis en cultivo de tejidos; el desarrollo de las yemas laterales; contrarresta la dominancia apical; estimula la expansión foliar debido al alargamiento celular; pueden incrementar la apertura estomática en algunas especies; retrasan la senescencia foliar al estimular la movilización de nutrientes y la síntesis de clorofila; promueven la conversión de etioplastos en cloroplastos vía estimulación de la síntesis de clorofila; intervienen en la estimulación de la pérdida de agua por transpiración y permiten eliminar la dormición que presentan las yemas y semillas de algunas especies

4.2.13.3. Giberelinas

Castillo (2004), cita que las GA conforman el otro gran grupo de fitohormonas. Se sintetizan en los pequeños frutos y semillas, en los ápices vegetativos y radicales. Se

transportan por el floema y xilema (en sentido ascendente con la savia no elaborada) y actúan incrementando la elongación de los tallos al promover primero la división y luego la elongación celular. Inhibe la floración y en cerezos, por ejemplo, atrasa la maduración.

4.2.13.4. Etileno

Jordán & Casaretto (2006) detalla que existe como gas y se mueve a través del proceso de difusión. Es sintetizado a partir del amino ácido metionina. El etileno actúa en la madurez y abscisión de los frutos, en la senescencia de las flores, la inducción floral, epinastia debida por ejemplo al anegamiento de las raíces, pero también en pequeñas concentraciones actúa favoreciendo la extensión de las raíces.

4.2.13.5. Ácido abscísico

Jordán & Casaretto (2006), describe que es producido por las hojas maduras y por las semillas, se mueve en la xilema y el floema. Regula el nivel de agua en la planta y promueve la síntesis de proteínas.

4.2.14. Modo de aplicación de las fitohormonas

(Jones et al., 1988), describe que las auxinas y citoquininas cumplen una función importante en la regulación del crecimiento y la diferenciación de los tejidos vegetales cultivados *in vitro*. Asimismo, modificar la proporción entre ambos reguladores puede influir en el desarrollo de los tejidos y favorecer distintos procesos de regeneración de plantas.

4.2.14.1. Temperatura

Ramos (2012), cita que la aclimatación es una etapa fundamental de la micropropagación, porque dependen de ella la eficiencia del proceso y la calidad final de las plantas producidas *in vitro*, permitiendo que la planta alcance un crecimiento

autotrófico normal. Muchas plantas micropropagadas no sobreviven cuando son transferidas desde las condiciones *in vitro* a *ex vitro*. Esto es así porque los invernaderos presentan baja humedad relativa, altos niveles de luz y un ambiente séptico, condiciones mucho más estresantes para las plantas micropropagadas que las que se dan *in vitro*. Las condiciones especiales en las que se encuentran las plántulas durante el cultivo *in vitro* provocan en ellas una morfología, anatomía y fisiología anormal. Después de la transferencia a condiciones *ex vitro*, estas plántulas fácilmente podrían verse afectadas por los cambios bruscos de las condiciones ambientales, por lo que necesitan un período de aclimatación para corregir dichas anomalías. A pesar de que la aclimatación es una etapa que se suele llevar a cabo tras el enraizamiento *in vitro*, en el caso del enraizamiento *ex vitro*, puede ocurrir al mismo tiempo, lo que simplifica el procedimiento y los costos se observa que el realizar de forma conjunta los procesos de enraizamiento *ex vitro* y aclimatación mejoró el rendimiento respecto a realizar el enraizamiento *in vitro* y posteriormente la aclimatación. Todas las plántulas, tanto si el enraizamiento es *in vitro* o *ex vitro*, deben someterse a un proceso de aclimatación para readaptarse a las condiciones ambientales *in vivo* durante la cual las plántulas enraizadas desarrollan raíces y hojas plenamente funcionales y el crecimiento de los brotes se inicia o se acelera.

4.2.14.2. Luminosidad

Ramos (2012), indica que el control de la morfogénesis por la luz se denomina foto morfogénesis, es decir los efectos provocados por los cambios en la cantidad y composición espectral de la luz en la inducción, crecimiento y desarrollo de órganos.

Este proceso es completamente separado de la fotosíntesis, donde distintos patrones de crecimiento responden al espectro de luz

4.2.14.3. La luz en la micropropagación

Ramos (2012), refiere que la micropropagación es una de las aplicaciones del cultivo de tejidos vegetales y una de las biotecnologías agrícolas más usadas para la producción masiva de plántulas, esta se centra en el cultivo de explantos en ambientes controlados. En este ambiente artificial se busca conseguir excelentes condiciones de luz (calidad, intensidad y duración), humedad y temperatura. La asepsia o ausencia de microorganismos o agentes patógenos también es clave. Estos explantos se encuentran bajo una nutrición heterotrófica, empleando un medio de cultivo que actúa como sustrato y fuente energética dentro de envases plásticos o de vidrio. El medio de cultivo este compuesto, de una mezcla de sales minerales, vitaminas reguladoras de crecimiento, azúcar, agua y agar. Este crecimiento se da gracias a una característica que poseen las células vegetales conocido como totipotencia, o la capacidad de regenerar una planta cuando está sujeta a estímulos adecuados, gracias a la información que contienen estas. Este tipo de propagación tiene como finalidad la obtención de mayor cantidad plantas en menor tiempo, uniformidad genética y fenotípica, regeneración a partir de células, órganos o tejidos, entre otros.

4.3. Definición de términos

4.3.1. Medio de establecimiento

Palomeque (2021), señala que el objetivo de esta fase es obtener un cultivo aséptico y axénico de la especie que se requiere multiplicar, el establecimiento incluye la desinfección y siembra del explanto en condiciones asépticas en medios de cultivo, esta

fase termina con la obtención de un cultivo libre de contaminación visibles y suficientemente adaptadas a las condiciones *in vitro* de modo que pueda presentar una reacción favorable a la aplicación de fitorreguladores en la fase siguiente de acuerdo.

4.3.2. Medio de multiplicación

Palomeque (2021), explica que también llamada fase de propagación y como el nombre lo indica el objetivo de esta fase es la producción masiva de propágulos a partir de los explantos establecidos, en un medio de cultivo adecuado para este fin, el medio debe estar enriquecido por una citoquinina y la más usada es el BAP (Benzil amino purina).

4.3.3. Meristemo apical

Sandí (2019), menciona que el meristemo apical se ubica en la yema apical, en las yemas axilares y en las puntas de las raíces. De esta manera, las plantas crecen en altura, se ramifican y desarrollan un sistema radical. Este meristemo está en hierbas, arbustos y árboles.

4.3.4. Totipotencia celular

La totipotencia celular es la capacidad inherente de una célula vegetal para regenerar una planta completa incluso después de que la célula haya alcanzado un estado diferenciado. Para expresar esta capacidad *in vitro*, las células pueden sufrir procesos de dediferenciación y posterior rediferenciación, dando lugar a la formación de órganos o embriones somáticos y, finalmente, una planta completa (Bhojwani & Razdan, 1996).

4.3.5. Auxina

Ascón & Talón (2000), indica que las auxinas participan en diferentes procesos del desarrollo vegetal: alargamiento o elongación celular, formación de raíces adventicias, partenocarpia, tropismo, promoción de biosíntesis del etileno, entre otros. Por ello se

han desarrollado auxinas sintéticas que se utilizan en áreas de la biotecnología y agronomía.

4.3.6. Citoquininas

Ascón & Talón (2000), refiere que las citoquininas regulan varios procesos del desarrollo de las plantas, incluyendo la división celular, proliferación de yemas axilares, senescencia foliar y floración, entre otros. También son influenciados ambientalmente y hormonalmente.

En la industria de la propagación se utilizan las citoquininas con interacción de auxinas para que regula la neoformación de órganos *in vitro* y controlar la dominancia apical.

4.3.7. Explanto

Fragmento de un tejido extraído de un ser vivo para cultivarlo en un medio artificial según la Real Academia Española (RAE, 2023).

4.3.8. Medio de cultivo Murashige y Skoog

(Palomeque, 2021), señala que es un medio de crecimiento vegetal o medio basal para ser empleados en los laboratorios de cultivo de células vegetales. MS0 fue inventado por los científicos de plantas Toshio Murashige y Folke K. Skoog en 1962 durante la búsqueda de Murashige de un nuevo regulador del crecimiento de las plantas. Academia Lab. (AL,2024)

4.3.9. Vitrificación o hiperhidratación

ZIV (1991), indica que en los cultivos *in vitro*, especialmente en las hojas, que incide sobre dos de los procesos más importantes que realizan estas estructuras: la fotosíntesis y el intercambio gaseoso. En menor medida los tallos y raíces también

resultan afectados por estas anomalías anatómicas, que en ciertos casos van a impedir el establecimiento de plantas micropropagadas en condiciones *ex vitro*.

4.3.10. Contaminación

Cassells (2012), detalla que por definición, un contaminante es cualquier microorganismo introducido en un cultivo o medio de cultivo. Las principales causas de contaminación son: microorganismos presentes en el interior o en el exterior de los explantos y las fallas en los procedimientos de cultivo en el laboratorio. Se denominan “vitropatogenos” a los contaminantes más frecuentes que aparecen en condiciones *in vitro*. El término “vitropatogeno” es empleado para aquellos organismos que no son necesariamente patógenos para las plantas a campo, pero sí lo son para las células, tejidos u órganos cultivados *in vitro*. Estos contaminantes son los responsables de ocasionar la muerte del tejido debido a que pueden modificar el Ph, competir por los nutrientes y modificar el medio de cultivo.

4.3.11. Domo meristemático

El domo meristemático es la región apical constituida por células indiferenciadas y en activa división, responsable del crecimiento y formación de nuevos tejidos vegetales (George et al., 2008).

4.3.12. Cultivar

En plantas cultivadas, un cultivar es una población vegetal uniforme y estable que posee características distintivas reconocibles y que puede propagarse manteniendo sus características esenciales. En horticultura, el término variedad se utiliza frecuentemente de manera intercambiable con cultivar, aunque botánicamente no son términos estrictamente equivalentes (Hartmann et al., 2011).

4.3.13. Variedad y cultivar

La variedad y el cultivar se diferencian principalmente por su origen y aplicación: una variedad botánica constituye una categoría taxonómica inferior a la especie que permite distinguir poblaciones con características heredables particulares, generalmente originadas de manera natural, mientras que un cultivar corresponde a un conjunto de plantas cultivadas que ha sido seleccionado y mantenido por el ser humano debido a características distintivas, uniformes y estables de interés agronómico u hortícola (Brickell et al., 2016).

V. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

5.1. Tipo de investigación

La investigación es de tipo explicativa ya que existe una relación de causa efecto entre las variables de estudio.

5.2. Ubicación del campo experimental

5.2.1. Ubicación espacial

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología de la Facultad de Agronomía y Zootecnia UNSAAC, que se encuentra ubicada en el centro agronómico de K'ayra-San Jerónimo-Cusco.

5.2.2. Ubicación geográfica

Longitud : 71°50' Oeste
Latitud : 13°33' Sur
Altitud : 3180 M.S.N.M

5.2.3. Ubicación hidrográfica

Cuenca : Vilcanota
Sub cuenca : Watanay
Microcuenca : Wanacaure

5.2.4. Ubicación política

Región : Cusco
Provincia : Cusco
Distrito : San Jerónimo
Lugar : Centro Agronómico K'ayra

5.2.5. Zona de vida

La zona de vida del ámbito de influencia del trabajo de investigación, del Centro Agronómico K'ayra, está dentro de la zona de vida: bosque seco – Montano bajo Subtropical (bs-MSB) (Holdridge, 1978).

5.3. Ubicación temporal experimental

El experimento se desarrolló desde febrero de 2023, iniciándose con la implementación del laboratorio y la adquisición de materiales e insumos necesarios para la investigación, hasta octubre de 2023, periodo en el cual culminaron las evaluaciones experimentales.

5.4. Materiales y métodos

5.4.1. Materiales

5.4.1.1. Material vegetal

Se seleccionaron segmentos de material vegetal de aproximadamente 10 cm de longitud y 1 cm de diámetro, con apariencia saludable y sin síntomas visibles de enfermedades (Lizárraga et al., 2017). La variedad empleada fue la pera de agua (*Pyrus communis* L.) Williams' Bon Chretien.

5.4.1.2. Insumos

- Medio mineral de Murashige y Skoog
- BAP (6-Bencilaminopurina)
- AIB (ácido indol-3-butírico)
- Hidróxido de Sodio (NaOH)
- Sacarosa, agar, vitaminas y minerales
- Agua destilada - estéril

- Hipoclorito comercial
- Alcohol al 96%

5.4.1.3. Materiales del área de transferencia de condiciones de campo a laboratorio

- Bandejas de plásticos
- Jarra
- Papel toalla
- Fungicida Acronis 8 g/L
- Jeringa
- Cepillo
- Parafina
- Rollo emplaye film
- Refrigerador
- Tijera de podar

5.4.1.4. En el área de preparación de medio de cultivo

- Autoclave
- Balanza digital
- Agitador magnético
- Horno estufa
- Matraz de Erlenmeyer de (125, 250 y 500 ml)
- Vaso de precipitado (250, 500 y 1000 ml)
- Parafina
- Insumos

- Pipeta
- Papel aluminio
- Cernidor metálico

5.4.1.5. Área de siembra

- Cámara de flujo laminar
- Instrumentos de disección (cuchillas, bisturí y pinzas)
- Lupa binocular
- Pulverizador de alcohol
- Mechero
- Marcadores de tinta indeleble
- Placas Petri, frascos de vidrio, tubos de ensayo
- Papel toalla
- Papel filtro
- Film
- Guantes, toca, barbijo y bata
- Bayeta esterilizada

5.4.1.6. Área de crecimiento de explanto

- Área de crecimiento con iluminación controlada
- Termómetro
- Gradillas para tubos de ensayo
- Luxómetro.

5.4.1.7. En el área de desinfección y esterilización

- Autoclave

- Cámara de flujo laminar
- Destilador
- Horno estufa

5.4.1.8. Material de gabinete

- Libreta de apuntes
- Marcadores de tinta indeleble
- Lápiz, lapicero, plumones
- Tijeras
- Etiquetas de precios
- Cámara fotográfica

5.4.1.9. Medios basales de cultivo

- Medio basal Murashige y Skoog (MS)
- MS + Benciladenina (BA)
- MS + BA + Ácido Indolbutírico (AIB)

5.4.2. Método

5.4.2.1. Diseño experimental

El presente trabajo de investigación, desarrollado en condiciones de laboratorio, corresponde a un estudio de tipo experimental, en el cual la fase de establecimiento fue evaluada mediante el análisis de porcentajes de prendimiento de los explantos. Para lo cual, se empleó el diseño completamente al azar DCA con 3 tratamientos y 3 repeticiones.

Para la fase de multiplicación, se empleó un diseño completamente al azar (DCA), conformado por 5 tratamientos y 3 repeticiones por tratamiento. Se evaluaron 4

concentraciones de citoquinina (BA) en combinación con 1 dosis constante de auxina (IBA), además de 1 tratamiento testigo que contiene misma dosis de auxina que el resto.

5.4.2.2. Características de la investigación

Fase de establecimiento:

Número de tratamientos:	3
Número de repeticiones:	3
Número de tubos de ensayo por UE:	10
Número de unidades experimentales:	9
Número de explantos en total:	90

Fase de multiplicación:

Número de tratamientos:	5
Número de repeticiones:	3
Número de frascos por UE:	2
Número de unidades experimentales:	15
Número de explantos por frasco:	5
Total de explantos en el tratamiento:	150

5.4.2.3. Tratamientos

Fase de establecimiento:

Tabla 2

Tratamientos a evaluar

Clave	Descripción de tratamientos	Repeticiones
T ₁	Medio basal Murashige y Skoog (MS)	3 repeticiones
T ₂	MS + Benciladenina (BA)	3 repeticiones
T ₃	MS + BA + Ácido Indolbutírico (AIB)	3 repeticiones

Fase de multiplicación:

Tabla 3

Tratamientos a evaluar

Clave	Descripción de tratamientos	Repeticiones
T ₁	Meristemo del peral más citoquinina (0.5) y auxina (0.1)	3 repeticiones
T ₂	Meristemo del peral más citoquinina (1) y auxina (0.1)	3 repeticiones
T ₃	Meristemo del peral más citoquinina (1.5) y auxina (0.1)	3 repeticiones
T ₄	Meristemo del peral más citoquinina (2) y auxina (0.1)	3 repeticiones
T ₅	Meristemo del peral y auxina (0.1)	3 repeticiones

5.4.2.4. Área experimental.

Fase de establecimiento:

Figura 5

Área experimental

T1	T2	T3
T3	T1	T2
T1	T3	T2

Nota: elaboración propia

Figura 6

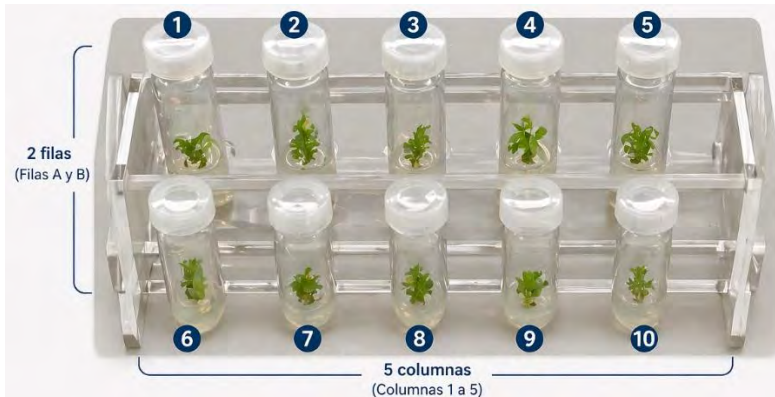
Flujograma de la fase de establecimiento



Nota: elaboración propia

Figura 7

Distribución de la unidad experimental (tubos de ensayo)



Nota: elaboración propia.

Fase de multiplicación:

Figura 8

Área experimental

T4	T1	T3	T5	T2
T5	T1	T2	T4	T3
T5	T3	T4	T2	T1

Nota. Ubicación de las unidades experimentales

Figura 9

Flujograma de la fase de establecimiento



Nota. Elaboración propia

Figura 10

La distribución del laboratorio



1 Cámara de flujo laminar
Trabajo estéril.

2 Autoclave
Esterilización de medios y materiales.

3 Cuarto de cultivo
Incubación de cultivos.

4 Almacenamiento
Reactivos y material.

5 Balanza analítica
Medición de peso.

6 pH-metro
Medición de pH.

7 Refrigerador
Conservación de medios y reactivos.

8 Mesa de trabajo
Preparación de medios y manipulación.

9 Estanterías de cultivo
Crecimiento *in vitro*.

Fuente: elaboración propia

5.4.3. Descripción de las actividades

5.4.3.1. Primer objetivo: fase establecimiento

A.- Obtención del material vegetal

El material vegetal se obtuvo el 05 de mayo del 2023 y estuvo constituido por varetas del año, seleccionadas por su alto grado de vigor, con dimensiones aproximadas de 1 cm de diámetro y 10 cm de longitud. Estas fueron recolectadas durante la estación de invierno, en estado de dormancia, a partir de árboles que evidenciaban un adecuado vigor vegetativo (Lizárraga et al., 2017). El material corresponde al cultivar de pera Williams' Bon Chretien (*Pyrus communis* L.), proveniente del campo de Fruticultura de la Facultad de Agronomía y Zootecnia de la UNSAAC.

Figura 11

Recolección de material vegetal



B.- Preparación de material vegetal

Las varetas en estado de dormancia fueron sometidas a un lavado minucioso bajo agua corriente durante 15 minutos, empleando un cepillo de cerdas suaves, con el fin de eliminar impurezas y microorganismos superficiales. Posteriormente, como medida preventiva frente a patógenos fúngicos, se desinfectaron mediante inmersión en una

solución de fungicida Acronis a una concentración de $8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ durante 15 minutos. Posteriormente, el material fue secado cuidadosamente con papel toalla para eliminar el exceso de humedad. Las heridas generadas por los cortes fueron selladas con parafina, y finalmente, las varetas se envolvieron en una lámina delgada de film plástico, con el propósito de inducir y mantener su estado de dormancia. Seguidamente, las varetas fueron sometidas a un periodo de dormancia en refrigeración a 4°C durante aproximadamente 30 días (mayo de 2023), con el fin de no alterar su ciclo fisiológico y favorecer una adecuada brotación.

Figura 12

Preparación para periodo de dormancia



Posteriormente, en junio de 2023, se indujo la brotación colocando las varetas en recipientes de vidrio con agua destilada, bajo un fotoperiodo natural y en condiciones de laboratorio durante un mes, hasta la emisión de los primeros brotes.

C.- Elaboración del medio de cultivo para la fase de establecimiento

Se emplearon tres tipos de medios de cultivo: el medio basal Murashige y Skoog (MS), que contiene sales minerales, vitaminas y sacarosa, utilizado para el establecimiento;

el medio MS suplementado con Benciladenina (BA), orientado a estimular la división celular y la inducción de brotes; y el medio MS suplementado con BA + Ácido Indolbutírico (AIB), destinado a promover la proliferación de brotes y favorecer el crecimiento y desarrollo de los explantos.

Para su preparación, se utilizó 1 L de agua destilada en un matraz, al cual se adicionó un sobre de 42,1 g de medio Murashige y Skoog (MS). El medio se solidificó con agar y se agitó hasta su completa disolución. Posteriormente, se dispensaron 15 mL del medio en 90 tubos de ensayo estériles, los cuales fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 40 minutos. Finalmente, los tubos se conservaron sellados en condiciones estériles y refrigeradas hasta la inoculación de los explantos.

Figura 13

Elaboración del medio de cultivo



D.- Desinfección superficial del material vegetal

De las varetas con brotación, se extrajeron brotes apicales y axilares mayores a 2 cm, los cuales fueron extirpados con bisturí esterilizado. El extremo basal se selló con parafina para evitar el ingreso de hipoclorito de sodio. Posteriormente, los explantos se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 10% durante 15 minutos, con agitación lenta y constante.

Figura 14

Desinfección superficial con hipoclorito de sodio



Luego, se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril para eliminar residuos de cloro. Finalmente, se colocaron en placas Petri esterilizadas, cubiertas con papel filtro estéril, para evitar la contaminación antes de su establecimiento en los tubos de ensayo.

Figura 15

Reducción del brote para encontrar el domo meristemático



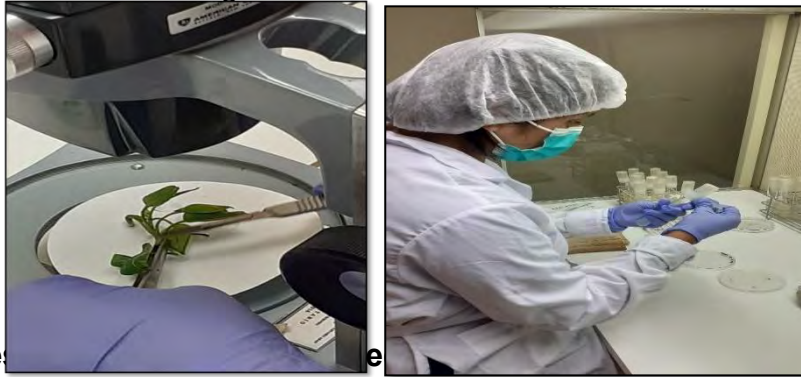
E.- Establecimiento del material vegetal en el medio de cultivo

El establecimiento se realizó el 14 de junio del 2023 en condiciones de cámara de flujo laminar, se utilizaron brotes apicales y axilares previamente desinfectados, los cuales fueron reducidos hasta aislar el domo meristemático (1,0–1,5 mm) con ayuda de un bisturí y una lupa binocular. Estos domos fueron inoculados en los medios basales

previamente establecidos en tubos de ensayo. Este procedimiento permitió identificar explantos contaminados y seleccionar aquellos aptos para el cultivo, evaluando la presencia de hongos y bacterias a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la inoculación.

Figura 16

Establecimiento del material vegetal



F.- Condiciones

Todos los explantos fueron transferidos a una cámara de crecimiento, a una temperatura de 18–24 °C, con una intensidad lumínica de 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ proporcionada por lámparas fluorescentes blancas y un fotoperiodo controlado de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

Figura 17

Explantos en tubos de ensayo en condiciones de crecimiento



5.4.3.2. Segundo objetivo: fase de multiplicación

A.- Obtención del material vegetal

La obtención del material vegetal para esta fase se realizó el 1 de agosto de 2023. Asimismo, los protocolos de obtención, preparación y desinfección se mantuvieron de acuerdo con los procedimientos previamente descritos en la fase de establecimiento.

B.- Elaboración de la solución madre de BA₁ e IBA_{0,1}

Para la preparación de las soluciones hormonales, se pesó 0,025 g de la citoquinina 6-bencilaminopurina (BA) para un volumen aforado de 25 mL, y 0,001 g de la auxina ácido indol-3-butírico (IBA) para un aforado de 10 mL. Posteriormente, ambas soluciones hormonales se disolvieron empleando una mínima cantidad de hidróxido de sodio (NaOH), aproximadamente 10 gotas, con el fin de facilitar su solubilización.

Una vez disueltas, se completó el volumen con agua destilada estéril hasta 25 mL y 10 mL, respectivamente, de manera gradual para evitar la precipitación. Finalmente, cada solución fue rotulada, cubierta con papel aluminio y almacenada en refrigeración hasta su uso.

C.- Elaboración del medio de cultivo para la fase de multiplicación

Para esta fase, se prepararon 1,25 L de agua destilada en un matraz esterilizado sobre una hornilla eléctrica, a los cuales se adicionó medio Murashige y Skoog (MS) (52.6 g), que contiene sales minerales, vitaminas y sacarosa. Después se agitó hasta su completa disolución. Posteriormente, se distribuyó la solución en cinco matraces esterilizados de 250 mL cada uno.

En cada matraz se ajustaron las concentraciones de reguladores de crecimiento: para BA 0,5 mg·L⁻¹ se adicionaron 125 µL de BA y 250 µL de IBA (0,1 mg·L⁻¹); para BA 1

mg·L⁻¹, 250 µL de BA y 250 µL de IBA; para BA 1,5 mg·L⁻¹, 375 µL de BA y 250 µL de IBA; y para BA 2 mg·L⁻¹, 500 µL de BA y 250 µL de IBA. El quinto matraz se mantuvo como testigo, conteniendo únicamente el medio MS con 250 µL de IBA.

Una vez preparados, los medios fueron dispensados en 50 frascos de vidrio esterilizados, a razón de 25 mL por frasco según su tratamiento. Finalmente, los frascos se esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 40 minutos y se conservaron sellados en condiciones estériles, en un ambiente seco y refrigerado hasta la inoculación de los explantos.

Figura 18

Distribución de BA



D.- Desinfección superficial del material vegetal

De las varetas con brotación, se extrajeron brotes apicales y axilares mayores a 2 cm, los cuales fueron extirpados con bisturí esterilizado. El extremo basal se selló con parafina para evitar el ingreso de hipoclorito de sodio. Posteriormente, los explantos se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 10% durante 15 minutos, con agitación lenta y constante.

Figura 19

Desinfección superficial del material vegetal



E.- Multiplicación del material vegetal

Esta fase se realizó en fecha 10 de setiembre del 2023. Para esta fase, se establecieron 150 explantos, distribuyendo 30 explantos por tratamiento. Cada tratamiento se organizó en 6 frascos de vidrio esterilizados, con 5 explantos por frasco (2 frascos por unidad experimental), a fin de reducir el estrés y minimizar la contaminación. Las repeticiones se dispusieron de manera aleatoria, considerando 10 explantos por repetición y un total de 3 repeticiones por tratamiento. Los cultivos se mantuvieron durante un mes en el ambiente de crecimiento, evaluando la contaminación a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la inoculación.

Figura 20

Fase de la multiplicación

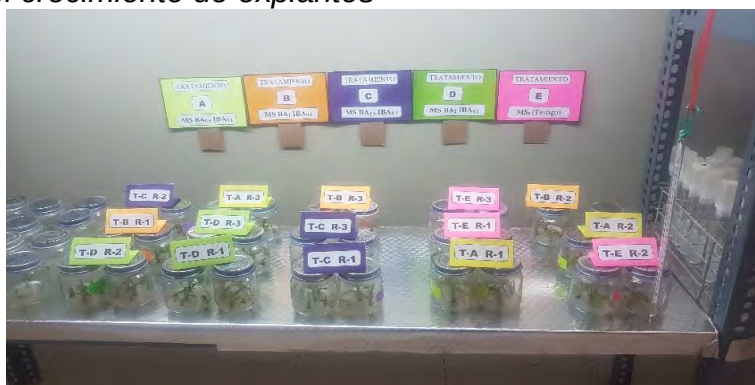


F.- Condiciones ambientales para el crecimiento

Todos los explantos fueron transferidos a una cámara de crecimiento, mantenida a una temperatura de 18–24 °C, con una intensidad lumínica de 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ proporcionada por lámparas fluorescentes blancas y un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

Figura 21

Ambiente para el crecimiento de explantos



5.4.4. Variables a evaluar

5.4.4.1.1. Para la fase de establecimiento

Porcentaje de prendimiento

La evaluación se realizó el 17 de julio del 2023. Para esta evaluación, se cuantificó el número total de explantos que lograron sobrevivir frente a contaminaciones externas y endógenas, así como al cambio de condiciones de campo a laboratorio, en los tres medios basales: MS0, MS + BA 1 y MS + BA 1 + IBA 0,1.

El porcentaje de prendimiento se determinó mediante la relación entre el número de explantos sobrevivientes y la población total, multiplicado por 100.

5.4.4.1.2. Para la fase de multiplicación

Para la fase de multiplicación, todas las categorías fueron evaluadas a los 30 días después del establecimiento. La fecha de evaluación fue el 07 de octubre del 2023.

Número de explantos formados

Se ha contabilizado el número de explantos formados por unidad experimental.

Número de explantos desarrollados

Para determinar el número de explantos desarrollados, se extrajeron cuidadosamente los explantos de los recipientes de cultivo y posteriormente se contabilizó la cantidad de brotes prendidos y con adecuado desarrollo morfológico.

Longitud de explanto desarrollado

Para calcular este indicador, fue necesario extraer los explantos de los frascos de vidrio.

Para medir la longitud de cada explanto, se ha empleado una hoja milimétrica.

Número de hojas formadas por explanto

Para determinar el número de hojas por explanto, fue necesario extraer los explantos del frasco de vidrio. Posteriormente se contabilizó las hojas por cada explanto.

Número de hojas desarrolladas por explanto

Se cuantificó solo las hojas más desarrolladas de cada brote del explanto.

Tamaño de callos

Se midió el tamaño de callo de la siguiente manera: volumen = largo*ancho*altura empleando un papel milimetrado.

Hiperhidratación

Se cuantificaron los explantos que presentaron desórdenes morfológicos y fisiológicos característicos de hiperhidratación, evidenciados por alteraciones en hojas, tallos y raíces, las cuales adquirieron una apariencia cristalina, acuosa, húmeda y translúcida.

Defoliación

Se contabilizó el número de hojas desprendidas o caídas de los explantos durante el periodo de evaluación.

Clorosis

Se cuantificó las hojas cloróticas (hojas de color amarillo).

Necrosis

Se evaluó aquellos explantos que presentaban lesiones oscuras que aparecieron en las hojas, yema y tallo.

5.4.4.2. Aplicación estadística

Para procesar y analizar los datos, se empleó el *software* estadístico InfoStat (Balzarini et al., 2008).

Tabla 4

Fórmulas aplicadas en el software estadístico infoStat

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	E (CM)		F _c
				Modelo I	Modelo II	
Tratamientos	(t - 1)	$\frac{\sum_{i=1}^t y^2 i.}{r}$	$\frac{SC_{tratamientos}}{(t - 1)}$	$\sigma_e^2 + \frac{\sum_{i=1}^t \tau^2 i}{t - 1}$	σ_e^2	$\frac{CM_{TRATAM.}}{CM_{ERROR}}$
		$- \frac{y^2}{rt}$			$+ r\sigma_{ti}^2$	
Error	(r - 1)	$\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y^2 ij$	$\frac{SC_{error}}{(r - 1)(t - 1)}$	σ_e^2	σ_e^2	
	(t - 1)	$- \frac{\sum_{j=1}^t y^2 i.}{r}$				
		$- \frac{\sum_{j=1}^r y^2}{t}$				
		$+ \frac{y^2}{rt}$				
Total	(rt - 1)	$\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y^2 ij$				
		$- \frac{y^2}{rt}$				

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1.Fase de establecimiento

Tabla 5

Porcentaje de prendimiento

	T1	T2	T3
R1	50 %	70 %	70 %
R2	40 %	60 %	80 %
R3	40 %	60 %	70 %
Prom.	43.33 %	63.33 %	73.33 %

Tabla 6

Anova para el porcentaje de prendimiento

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	1400	2	700	21	0.002
Error	200	6	33.33		
Total	1600	8	CV: 9.62		

El análisis de varianza evidenció que el factor tratamiento presentó diferencias estadísticamente significativas sobre la variable evaluada ($p = 0.002 < \alpha = 0.05$), lo que indica que al menos uno de los tratamientos difiere del resto; además, el coeficiente de variación (9.62 %) refleja una adecuada precisión experimental, con baja variabilidad y alta confiabilidad de los datos. Por lo tanto, se recomienda realizar la prueba estadística de Tukey con la finalidad de identificar las diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 7

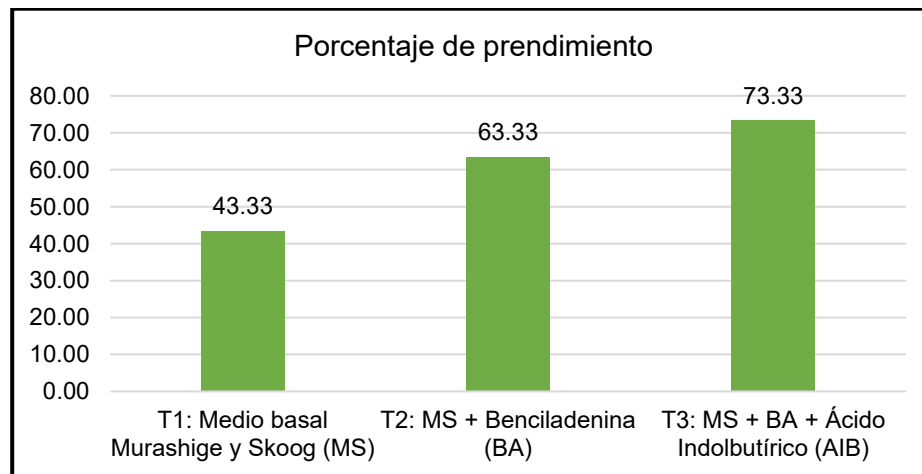
Tukey al 95 % de confianza

Tratamiento	Medias		
MS + BA + Ácido Indolbutírico (AIB)	73.33 %	A	
MS + Benciladenina (BA).	63.33 %	A	
Medio basal Murashige.	43.33 %		B

La comparación de medias indica que los tratamientos MS + BA + AIB (73.33 %) es mejor, seguido de MS + BA (63.33 %), pero no presentan diferencias estadísticas significativas entre sí (grupo A), pero ambos superan significativamente al medio basal MS (43.33 %), que se ubica en un grupo distinto (B). Estos resultados confirman que la adición de citoquininas, solas o en combinación con auxinas, mejora significativamente el prendimiento de los explantes en comparación con el medio basal, lo cual se observa también en la figura.

Figura 22

Porcentaje de prendimiento



Los resultados evidenciaron que el establecimiento in vitro de *Pyrus communis* L. estuvo influenciado por la composición hormonal del medio de cultivo. El tratamiento

MS + BA (1 mg L^{-1}) + AIB (0.1 mg L^{-1}) alcanzó el mayor porcentaje de prendimiento (73.33%), seguido de MS + BA (1 mg L^{-1}) con 63.33%; ambos fueron estadísticamente similares y superiores al medio MS sin reguladores (43.33%). Este comportamiento evidencia la importancia de los reguladores de crecimiento durante el establecimiento in vitro, particularmente de las citoquininas, que intervienen en la división celular y promoción del desarrollo de brotes (Mehbub et al., 2022).

La respuesta obtenida con BA concuerda con lo reportado para la micropropagación de especies de *Pyrus*. Kucher et al. (2024) determinaron que la modificación del medio MS con 2.0 mg L^{-1} de 6-BAP y 0.01 mg L^{-1} de AIB favoreció la proliferación de *P. communis*, alcanzando 9.5 microclones por subcultivo. Estos resultados respaldan la importancia de ajustar tanto el medio basal como las concentraciones y combinaciones de reguladores de crecimiento, debido a que la respuesta in vitro depende del genotipo y de las condiciones de cultivo.

Aunque la incorporación de AIB produjo el mayor valor numérico de prendimiento en el presente estudio, la ausencia de diferencias significativas entre MS + BA + AIB y MS + BA indica que no puede afirmarse estadísticamente que el AIB incrementó el prendimiento. Por tanto, bajo las condiciones evaluadas, la BA sería el componente hormonal asociado principalmente con la mejora del establecimiento, mientras que el posible efecto complementario del AIB requeriría evaluarse mediante concentraciones adicionales. En términos generales, la respuesta observada concuerda con el principio de que el éxito de la micropropagación depende de la interacción entre genotipo, explante, composición del medio y reguladores de crecimiento (Kulus & Tymoszuik, 2024).

6.2.Fase de multiplicación

6.2.1. Número de brotes formados

Tabla 8

Número de brotes formados

T1	T2	T3	T4	Testigo
1.20	1.70	1.50	1.90	1.20
1.40	1.10	1.50	2.00	1.30
1.30	2.10	1.70	2.10	1.50
1.30	1.63	1.57	2.00	1.33

Tabla 9

Anava para el número de brotes formados

FV	gl	SC	CM	Fc	p-valor
Tratamientos	4	0.95	0.24	3.84	0.04
Error	10	0.62	0.06		
Total	14	1.57		CV: 15.89	

El análisis de varianza evidencia que los tratamientos presentan diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.04 < 0.05$), lo que indica que al menos uno de los tratamientos difiere de los demás. El coeficiente de variación ($CV = 15.89\%$) se considera moderado, lo cual refleja una precisión experimental aceptable, aunque con cierta dispersión biológica. Por lo tanto, se recomienda realizar otra prueba estadística como Tukey para mostrar las diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 10

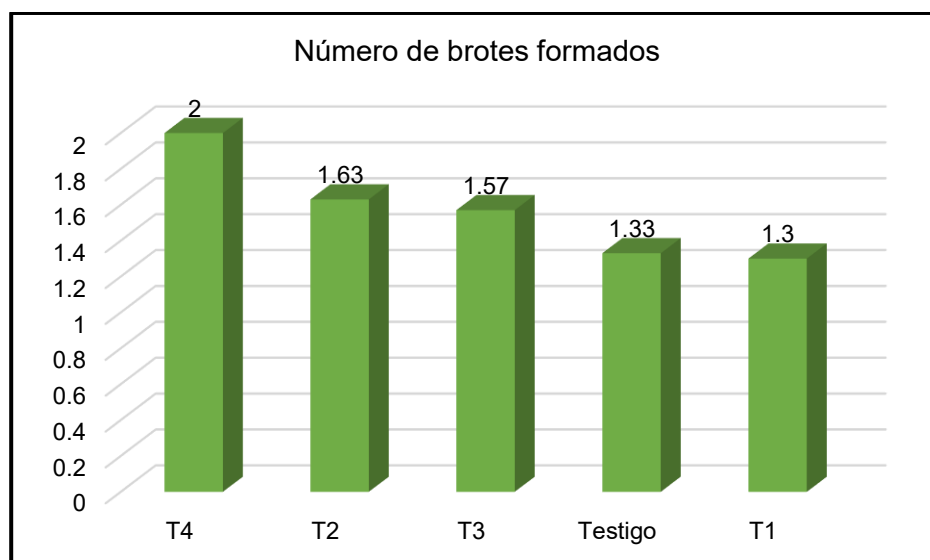
Tukey al 95% de confianza

Tratamientos	Medias		
T4 citoquinina (2 mg) y auxina (0.1 mg)	2.00	A	
T2 citoquinina (1 mg) y auxina (0.1 mg)	1.63	A	B
T3 citoquinina (1.5) y auxina (0.1)	1.57	A	B
T5 testigo y auxina (0.1 mg)	1.33	A	B
T1 citoquinina (0.5 mg) y auxina (0.1 mg)	1.30		B

La prueba de Tukey al 95% de confianza evidencia que el tratamiento T4 (2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) alcanzó la mayor media (2.00), por lo que se ubica en el grupo “A” y se destaca como el más eficiente; sin embargo, no presenta diferencias estadísticas con T2 (1 mg/L), T3 (1.5 mg/L) y T5 (solo auxina), los cuales se agrupan en el grupo “AB”, excepto el T1.

Figura 23

Media de número de brotes formados



La figura 23 muestra una tendencia coherente con los resultados estadísticos, donde el tratamiento T4 presenta el valor más alto, evidenciando su mayor efectividad en la categoría evaluada; seguido por T2 y T3, que exhiben valores intermedios y relativamente próximos entre sí; mientras que el testigo (solo auxina) y T1 (0.5 mg/L de citoquinina) registran las medias más bajas, confirmando que concentraciones reducidas de citoquinina o su ausencia limitan la formación de brotes.

6.2.2. Número de brotes desarrollados

Tabla 11

Número de brotes desarrollados

T1	T2	T3	T4	Testigo
1.20	1.10	1.00	1.40	1.00
1.10	1.00	1.10	1.70	1.00
1.00	1.60	1.20	1.50	1.10
1.10	1.23	1.10	1.53	1.03

Tabla 12

Anava para el número de brotes desarrollados

FV	gl	SC	CM	Fc	p-valor
Tratamientos	4	0.48	0.12	4	0.034
Error	10	0.3	0.03		
Total	14	0.78		14.43	

El análisis de varianza evidencia que los tratamientos tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el número de brotes desarrollados ($p = 0.034 < 0.05$), lo que indica que al menos uno de los tratamientos difiere del resto; además, el coeficiente de variación ($CV = 14.43\%$) sugiere una variabilidad experimental aceptable. Por lo tanto, se recomienda realizar la prueba estadística de Tukey para mostrar las diferencias estadísticas entre los tratamientos.

Tabla 13

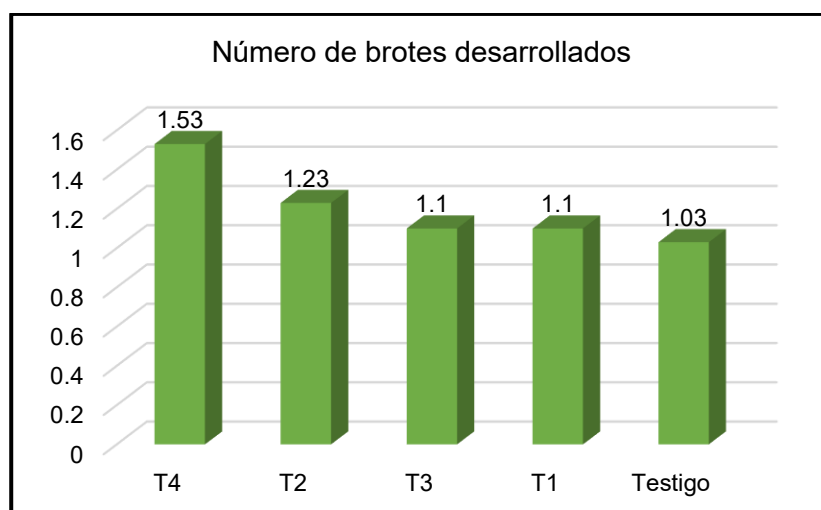
Tukey al 95% de confianza

Tratamientos	Medias		
T4 citoquinina (2 mg) y auxina (0.1 mg)	1.53	A	
T2 citoquinina (1 mg) y auxina (0.1 mg)	1.23	A	B
T3 citoquinina (1.5) y auxina (0.1)	1.10	A	B
T1 citoquinina (0.5 mg) y auxina (0.1 mg)	1.10	A	B
Testigo y auxina (0.1 mg)	1.03		B

La prueba de Tukey al 95% de confianza mostró que el tratamiento T4 (2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) alcanzó la mayor media (1.53 brotes), ubicándose en el grupo “A” y destacándose como el más eficiente en la inducción de brotes; sin embargo, no presentó diferencias estadísticas con T2 (1 mg/L), T3 (1.5 mg/L) y T1 (0.5 mg/L), los cuales se agrupan en la categoría “AB”, evidenciando un comportamiento intermedio y similar entre ellos.

Figura 24

Número de brotes desarrollados



La figura 24 también confirma esta tendencia, donde T4 presenta el valor más alto, seguido de los tratamientos intermedios, mientras que el testigo evidencia la menor respuesta, lo que demuestra que la incorporación de citoquininas, especialmente a mayores concentraciones, incrementa la proliferación de brotes en comparación con la aplicación exclusiva de auxina.

6.2.3. Longitud de explanto desarrollado

Tabla 14

Longitud de explanto

T1	T2	T3	T4	Testigo
25.20	22.40	27.50	21.40	17.30
18.20	20.70	24.50	24.20	18.67
19.50	15.20	25.30	18.40	13.00
20.97	19.43	25.77	21.33	16.32

Tabla 15

Análisis de varianza

FV	gl	SC	CM	Fc	p-valor
Tratamientos	4	140.65	35.16	3.69	0.04
Error	10	95.21	9.52		
Total	14	235.86		CV: 14.86	

El análisis de varianza muestra que los tratamientos tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la variable evaluada ($p = 0.04 < 0.05$), lo que indica la existencia de diferencias reales los tratamientos; asimismo, el coeficiente de variación ($CV = 14.86\%$) evidencia una adecuada precisión experimental para una investigación de naturaleza in vitro. Por lo que se recomienda realizar otra prueba estadística como Tukey para evidenciar las diferencias estadísticas entre los tratamientos.

Tabla 16

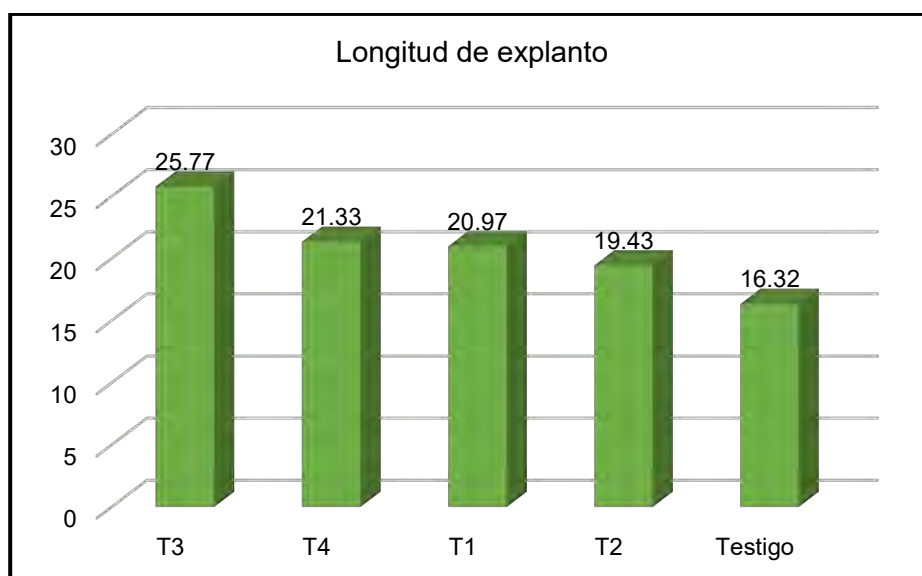
Tukey al 95% de confianza

Tratamientos	Medias		
T3 citoquinina (1.5 mg) y auxina (0.1 mg)	25.77	A	
T4 citoquinina (2 mg) y auxina (0.1 mg)	21.33	A	B
T1 citoquinina (0.5 mg) y auxina (0.1 mg)	20.97	A	B
T2 citoquinina (1 mg) y auxina (0.1 mg)	19.43	A	B
Testigo y auxina (0.1 mg)	16.32		B

La prueba de Tukey al 95% de confianza evidencia que el tratamiento T3 (1.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) alcanzó la mayor media (25.77), ubicándose en el grupo “A” y destacándose como el tratamiento más eficiente; sin embargo, no presentó diferencias estadísticas significativas con T4 (2 mg/L), T1 (0.5 mg/L) ni T2 (1 mg/L), los cuales se agrupan en la categoría “AB”, lo que indica que estadísticamente son similares entre ellos.

Figura 25

Longitud de explanto



La figura 25, respecto a la longitud de explanto, muestra una tendencia consistente con los resultados estadísticos obtenidos en la prueba de Tukey, evidenciando que el tratamiento T3 (1.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) presentó la mayor longitud promedio del explanto (25.77 mm), destacándose visualmente sobre los demás tratamientos.

6.2.4. Número de hojas formados por brote

Tabla 17

Número de hojas formadas

T1	T2	T3	T4	Testigo
9.89	5.56	8.56	13.60	7.10
8.50	7.11	7.25	10.89	5.10
6.00	10.60	9.83	11.11	5.80
8.13	7.76	8.55	11.87	6.00

Tabla 18

Análisis de varianza

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Tratamientos	4	38.71	9.68	3.63	0.04
Error	10	26.66	2.67		
Total	14	65.38		CV: 19.71	

El análisis de varianza muestra que los tratamientos son estadísticamente significativos ($p = 0.04 < 0.05$), indicando la existencia de diferencias reales entre los tratamientos aplicados. Asimismo, el coeficiente de variación ($CV = 19.71\%$) evidencia una variabilidad moderada dentro del experimento, considerada aceptable para condiciones de cultivo in vitro. Por tanto, se recomienda realizar la prueba de Tukey para identificar y comparar las diferencias estadísticas entre los tratamientos.

Tabla 19

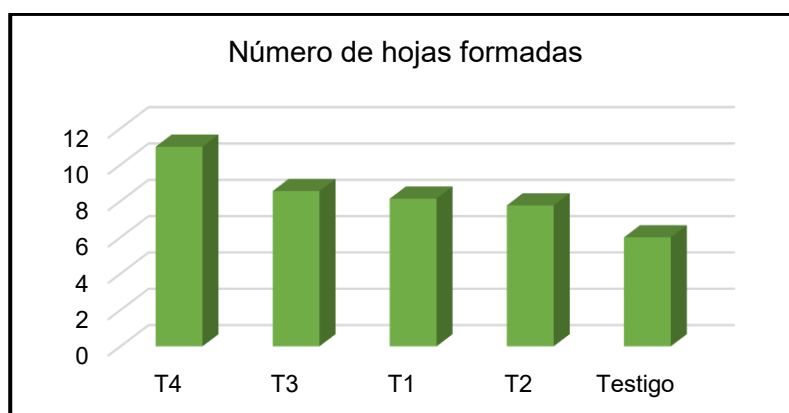
Tukey al 95% de confianza

Tratamientos	Medias		
T4 citoquinina (2 mg) y auxina (0.1 mg)	10.99	A	
T3 citoquinina (1.5 mg) y auxina (0.1 mg)	8.55	A	B
T1 citoquinina (0.5 mg) y auxina (0.1 mg)	8.13	A	B
T2 citoquinina (1 mg) y auxina (0.1 mg)	7.76	A	B
Testigo y auxina (0.1 mg)	6		B

La prueba de Tukey al 95% de confianza evidenció que el tratamiento T4 (2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) presentó la mayor media (10.99), ubicándose en el grupo “A” y destacándose como el tratamiento más eficiente; sin embargo, no mostró diferencias estadísticas significativas con T3 (8.55), T1 (8.13) y T2 (7.76), los cuales se agrupan en la categoría “AB”, indicando un comportamiento intermedio y relativamente similar entre ellos.

Figura 26

Número de hojas formadas



La figura 26 para el número de hojas formadas, evidencia que el tratamiento T4 (2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) alcanzó el mayor número promedio de hojas (10.99), siendo el mejor visualmente sobre los demás tratamientos.

6.2.5. Número de hojas desarrollados

Tabla 20

Hojas desarrolladas

T1	T2	T3	T4	Testigo
1.00	0.90	1.70	0.90	1.00
1.50	1.60	2.00	1.40	1.33
0.67	0.70	2.10	1.20	0.75
1.06	1.07	1.93	1.17	1.03

Tabla 21

Análisis de varianza

F.V.	gl	SC	CM	Fc	p-valor
Tratamientos	4	1.78	0.45	3.77	0.04
Error	10	1.18	0.12		
Total	14	2.97		CV: 27.52	

El análisis de varianza evidencia que a nivel de los tratamientos presenta diferencias estadísticamente significativas entre los mismos, lo que indica que al menos un tratamiento difiere significativamente de los demás. Asimismo, el coeficiente de variación (CV = 27.52%) refleja una variabilidad relativamente alta dentro del experimento, aunque aún aceptable para estudios biológicos y de cultivo in vitro, donde la respuesta de los tejidos puede verse influenciada por factores fisiológicos y del ambiente. Por lo tanto, se recomienda realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey al 95% de confianza para identificar específicamente cuál de los tratamientos presentan diferencias estadísticas entre sí.

Tabla 22

Tukey al 95% de confianza

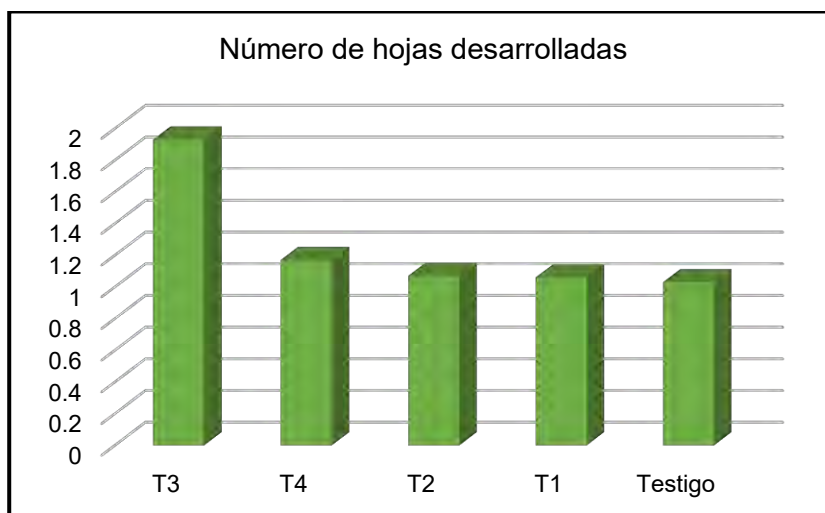
Tratamientos	Medias		
T3 citoquinina (1.5 mg) y auxina (0.1 mg)	1.93	A	
T4 citoquinina (2 mg) y auxina (0.1 mg)	1.17		B
T2 citoquinina (1 mg) y auxina (0.1 mg)	1.07		B
T1 citoquinina (0.5 mg) y auxina (0.1 mg)	1.06		B
Testigo y auxina (0.1 mg)	1.03		B

La prueba de Tukey al 95% mostró diferencias significativas entre tratamientos, destacando T3 (1.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) con la mayor media (1.93), ubicado de forma independiente en el grupo "A". Los tratamientos T4, T2, T1 y

el testigo presentaron medias menores y estadísticamente similares entre sí, agrupándose en el grupo “B”.

Figura 27

Media de número de hojas



La figura 27 evidencia que el tratamiento T3 (1.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) presentó el mayor número de hojas desarrolladas, superando a los demás tratamientos, los cuales mostraron valores similares entre sí. Esto indica que una concentración intermedia de citoquinina favorece el desarrollo foliar durante la multiplicación in vitro.

6.2.6. Tamaño de callos

Tabla 23

Tamaño de callos

T1	T2	T3	T4	Testigo
182.00	96.70	144.75	125.71	97.00
121.56	80.10	176.89	211.22	91.50
120.50	93.50	119.83	133.89	75.20
141.35	90.10	147.16	156.94	87.90

Tabla 24

Análisis de varianza

F.V.	gl	SC	CM	Fc	p-valor
Tratamientos	4	13117.66	3279.41	3.65	0.04
Error	10	8980.47	898.05		
Total	14	22098.12		CV: 24.03	

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre tratamientos para el tamaño de callos ($p = 0.04 < 0.05$), evidenciando que los reguladores de crecimiento influyeron en su desarrollo. El coeficiente de variación ($CV = 24.03\%$) indicó una variabilidad moderada y aceptable, por lo que se recomienda aplicar la prueba de Tukey al 95% para identificar las diferencias estadísticas entre tratamientos.

Tabla 25

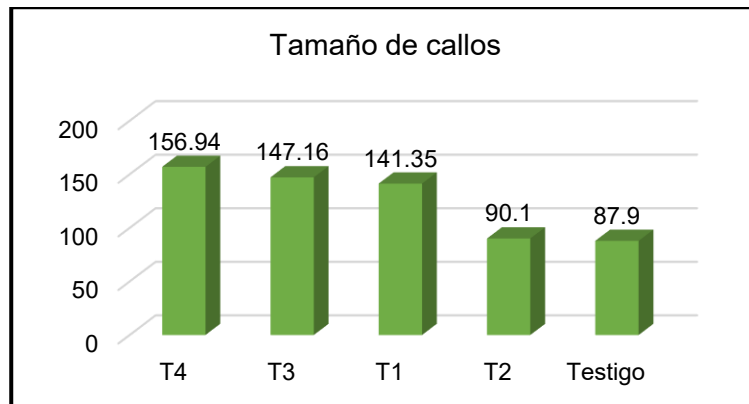
Tukey al 95% de confianza

Tratamientos	Medias		
T4 citoquinina (2 mg) y auxina (0.1 mg)	156.94	A	
T3 citoquinina (1.5 mg) y auxina (0.1 mg)	147.16	A	B
T1 citoquinina (0.5 mg) y auxina (0.1 mg)	141.35	A	B
T2 citoquinina (1 mg) y auxina (0.1 mg)	90.1		B
Testigo y auxina (0.1 mg)	87.9		B

La prueba de Tukey al 95% mostró diferencias significativas en el tamaño de callos, destacando el tratamiento T4 (2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) con la mayor media (156.94), ubicado en el grupo “A”. Los tratamientos T3 y T1 presentaron valores intermedios, compartiendo los grupos “A” y “B”, mientras que T2 y el testigo registraron los menores tamaños de callo, agrupándose en el grupo “B”. Estos resultados indican que concentraciones elevadas de citoquinina favorecen el crecimiento de callos en cultivo in vitro.

Figura 28

Tamaño de callos



La figura 28 muestra que el tratamiento T4 (2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) presentó el mayor tamaño de callo, seguido de T3 y T1, evidenciando una mayor proliferación celular con concentraciones elevadas de citoquinina. En contraste, T2 y el testigo registraron los menores valores, reflejando los resultados de la prueba de Tukey al 95% de confianza.

6.2.7. Número Brotes hiperhídricos

Tabla 26

Brotes hiperhídricos

T1	T2	T3	T4	Testigo
0.10	0.22	0.10	0.00	0.60
0.20	0.20	0.20	0.10	0.60
0.30	0.10	0.20	0.00	0.60
0.20	0.17	0.17	0.03	0.60

Tabla 27

Análisis de varianza

F.V.	gl	SC	CM	Fc	p-valor
Tratamientos	4	0.55	0.14	32.92	<0.0001
Error	10	0.04	0.0042		
Total	14	0.59		CV: 27.54	

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos ($p < 0.0001$); mientras que el CV = 27.54% indicó una variabilidad moderada y aceptable en cultivo de tejidos. Por lo tanto, se recomienda realizar la prueba estadística de Tukey para observar las diferencias estadísticas existentes entre los tratamientos.

Tabla 28

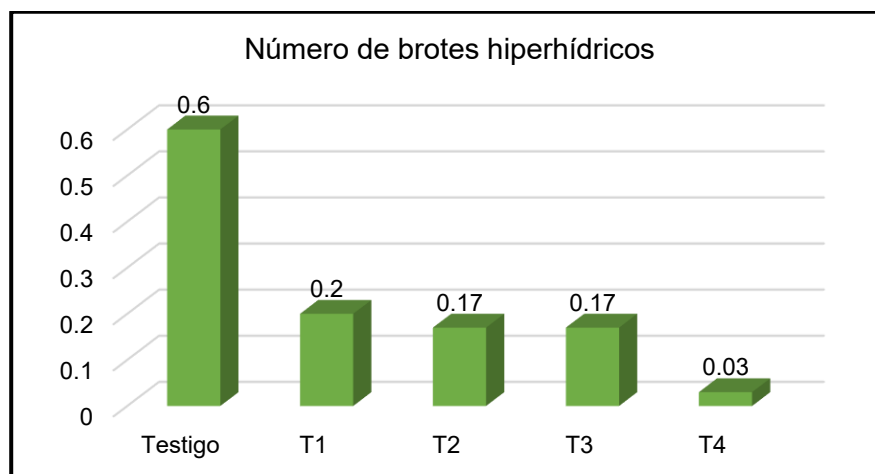
Tukey al 95% de confianza

Tratamientos	Medias			
Testigo y auxina (0.1 mg)	0.6	A		
T1 citoquinina (0.5 mg) y auxina (0.1 mg)	0.2		B	
T2 citoquinina (1 mg) y auxina (0.1 mg)	0.17		B	
T3 citoquinina (1.5 mg) y auxina (0.1 mg)	0.17		B	
T4 citoquinina (2 mg) y auxina (0.1 mg)	0.03			C

La prueba Tukey mostró que el testigo con auxina (0.1 mg/L) presentó la mayor media (0.6), ubicándose en el grupo “A” y superando significativamente a los tratamientos con citoquinina.

Figura 29

Brotes hiperhídricos.



La figura 29 muestra que el testigo con auxina (0.1 mg/L) presentó la mayor incidencia de brotes hiperhídricos (0.60), evidenciando mayor susceptibilidad a este desorden fisiológico. En contraste, los tratamientos con citoquinina redujeron la hiperhidricidad, destacando T4 (2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) con la menor media (0.03), seguido de T2 y T3 con valores intermedios.

6.2.8. Número de hojas defoliados

Tabla 29

Hojas defoliadas

T1	T2	T3	T4	Testigo
2.10	1.30	0.60	1.00	1.33
2.00	1.30	0.50	1.43	1.20
2.10	1.00	0.90	1.00	1.20
2.07	1.20	0.67	1.14	1.24

Tabla 30

Análisis de varianza para hojas defoliadas

F.V.	gl	SC	CM	Fc	p-valor
Tratamientos	4	3.06	0.77	26.6	<0.0001
Error	10	0.29	0.03		
Total	14	3.35		CV: 13.42	

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos para hojas defoliadas ($p < 0.0001$), evidenciando que las concentraciones de citoquinina y auxina influyeron en la defoliación de los explantes. Además, el CV = 13.42% indicó baja variabilidad experimental. Por tanto, recomienda realizar la prueba estadística de Tukey.

Tabla 31

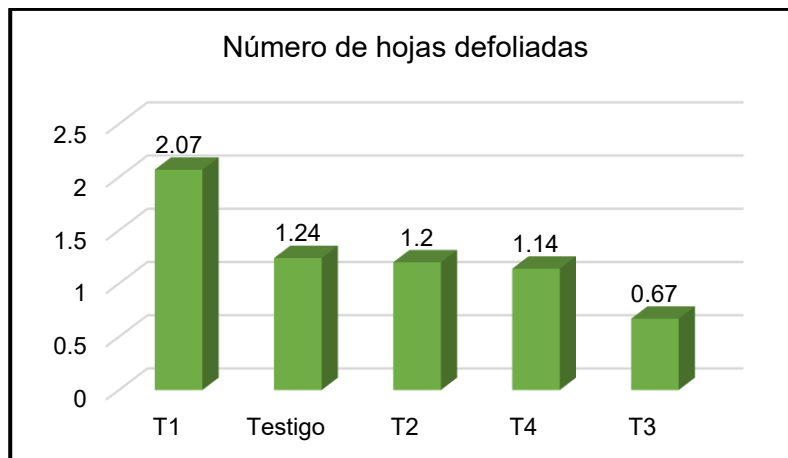
Tukey al 95% de confianza

Tratamientos	Medias			
T1 citoquinina (0.5 mg) y auxina (0.1 mg)	2.07	A		
Testigo y auxina (0.1 mg)	1.24		B	
T2 citoquinina (1 mg) y auxina (0.1 mg)	1.2		B	
T4 citoquinina (2 mg) y auxina (0.1 mg)	1.14		B	
T3 citoquinina (1.5 mg) y auxina (0.1 mg)	0.67			C

La prueba de Tukey al 95% mostró que el tratamiento T1 (0.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) presentó la mayor media de hojas defoliadas (2.07), ubicándose en el grupo “A” y evidenciando mayor pérdida foliar bajo bajas concentraciones de citoquinina.

Figura 30

Número de hojas defoliadas



La figura 30 muestra que el tratamiento T1 (0.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) presentó la mayor defoliación (2.07), mientras que T3 (1.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) registró la menor media (0.67), evidenciando mayor estabilidad foliar. Los tratamientos testigo, T2 y T4 mostraron valores intermedios, indicando que

concentraciones óptimas de citoquinina favorecen la conservación del follaje durante la multiplicación *in vitro*.

6.2.9. Número de hojas cloróticas

Tabla 32

Hojas cloróticas

T1	T2	T3	T4	Testigo
0.80	0.30	0.50	0.10	0.70
0.90	0.20	0.40	0.40	0.40
0.67	0.30	0.60	0.29	0.70
0.79	0.27	0.50	0.26	0.60

Tabla 33

Análisis de varianza para hojas cloróticas

F.V.	gl	SC	CM	Fc	p-valor
Tratamientos	4	0.61	0.15	9.53	0.0019
Error	10	0.16	0.02		
Total	14	0.77		CV: 26.16	

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre tratamientos para hojas cloróticas ($p = 0.0019 < 0.05$), evidenciando que las concentraciones de citoquinina y auxina influyeron en la aparición de clorosis en los explantes *in vitro*. Asimismo, el CV = 26.16% indicó una variabilidad moderada y aceptable, por lo que se recomienda aplicar la prueba de Tukey al 95% para identificar las diferencias estadísticas entre tratamientos.

Tabla 34

Tukey al 95% de confianza

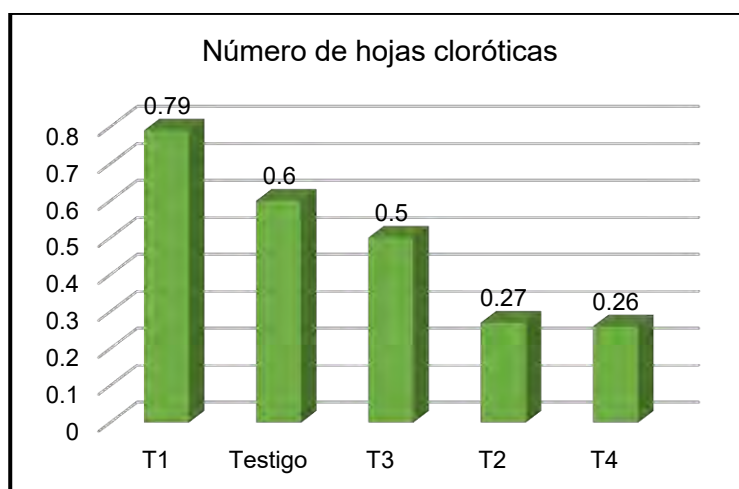
Tratamientos	Medias			
T1 citoquinina (0.5 mg) y auxina (0.1 mg)	0.79	A		
T5 Testigo y auxina (0.1 mg)	0.6	A	B	

T3 citoquinina (1.5 mg) y auxina (0.1 mg)	0.5		B	C
T2 citoquinina (1 mg) y auxina (0.1 mg)	0.27			C
T4 citoquinina (2 mg) y auxina (0.1 mg)	0.26			C

La prueba de Tukey al 95% mostró que T1 (0.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) presentó la mayor media de hojas cloróticas (0.79), ubicándose en el grupo “A”. En contraste, T2 y T4 registraron las menores medias (0.27 y 0.26), agrupándose en “C”, lo que evidencia una reducción significativa de la clorosis. Estos resultados indican que concentraciones moderadas y altas de citoquinina favorecen un mejor estado fisiológico de los explantes durante la multiplicación in vitro.

Figura 31

Hojas cloróticas



La figura 31 muestra que el tratamiento T1 (0.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) presentó la mayor incidencia de hojas cloróticas, mientras que T2 y T4 registraron los menores valores. Estos resultados indican que concentraciones moderadas y altas de citoquinina reducen la clorosis y favorecen un mejor estado fisiológico de los explantes durante la multiplicación in vitro.

6.2.10. Número de hojas necróticas

Tabla 35

Hojas necróticas

T1	T2	T3	T4	Testigo
0.40	0.30	0.10	0.13	0.44
0.40	0.20	0.13	0.17	0.43
0.30	0.30	0.33	0.11	0.38
0.37	0.27	0.19	0.13	0.42

Tabla 36

Análisis de varianza hojas necróticas

F.V.	gl	SC	CM	Fc	p-valor
Tratamientos	4	0.17	0.04	8.33	0.0032
Error	10	0.05	0.01		
Total	14	0.22		CV: 25.94	

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre tratamientos para hojas necróticas ($p = 0.0032 < 0.05$). Asimismo, el $CV = 25.94\%$ indicó una variabilidad moderada y aceptable, por lo que se recomienda aplicar la prueba de Tukey al 95% para identificar las diferencias estadísticas entre tratamientos.

Tabla 37

Tukey al 95% de confianza

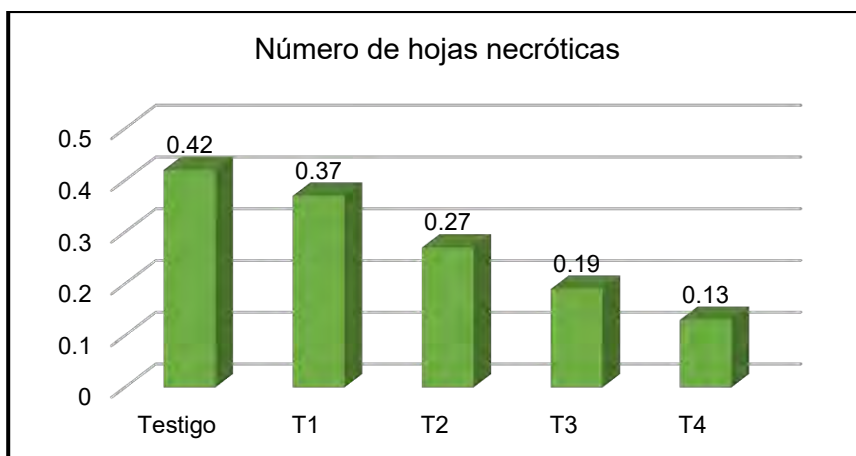
Tratamientos	Medias			
Testigo y auxina (0.1 mg)	0.42	A		
T1 citoquinina (0.5 mg) y auxina (0.1 mg)	0.37	A	B	
T2 citoquinina (1 mg) y auxina (0.1 mg)	0.27		B	C
T3 citoquinina (1.5 mg) y auxina (0.1 mg)	0.19			C
T4 citoquinina (2 mg) y auxina (0.1 mg)	0.13			C

La prueba de Tukey al 95% mostró que el testigo con auxina (0.1 mg/L) presentó la mayor media de hojas necróticas (0.42), mientras que T3 y T4 registraron las menores

medias (0.19 y 0.13, respectivamente), agrupándose en la categoría “C”. Estos resultados indican que concentraciones moderadas y altas de citoquinina reducen la necrosis foliar y favorecen una mayor estabilidad de los explantes in vitro.

Figura 32

Hojas cloróticas



La figura 32 muestra que el testigo con auxina (0.1 mg/L) y T1 presentaron la mayor incidencia de hojas necróticas, mientras que T3 y T4 registraron los menores valores. Estos resultados evidencian que mayores concentraciones de citoquinina reducen la necrosis y favorecen una mejor estabilidad fisiológica de los explantes.

La fase de multiplicación in vitro mostró que la concentración de citoquinina, en combinación con una baja concentración de auxina, influyó significativamente en la respuesta morfogénica de los explantes de *Pyrus communis* L. El tratamiento T4 (2 mg L⁻¹ de citoquinina + 0.1 mg L⁻¹ de auxina) presentó los mayores valores de brotes formados (2.00), brotes desarrollados (1.53), hojas formadas (10.99) y tamaño de callo (156.94), además de menores valores de hiperhidricidad (0.03), clorosis (0.26) y necrosis (0.13). Este comportamiento es consistente con la función de las citoquininas en la división celular, activación de yemas y proliferación de brotes, aunque la respuesta

depende de su concentración, el genotipo y las características del explante (George et al., 2008; Mehbub et al., 2022). En pera, la modificación del medio MS mediante reguladores de crecimiento, particularmente 6-BAP combinada con bajas concentraciones de AIB, también ha mostrado resultados favorables para la multiplicación in vitro (Kucher et al., 2024).

Sin embargo, el mayor número de brotes no necesariamente implica el mejor crecimiento de estos. El tratamiento T3 (1.5 mg L^{-1} de citoquinina + 0.1 mg L^{-1} de auxina) produjo la mayor longitud del explante (25.77 mm) y el mayor número de hojas desarrolladas (1.93), evidenciando una respuesta diferenciada entre proliferación y elongación. Esto resulta relevante porque la respuesta in vitro está determinada por la interacción entre reguladores de crecimiento, composición del medio y material vegetal, por lo que la concentración óptima para inducir brotes puede no coincidir con aquella que favorece su elongación y calidad morfológica (Mehbub et al., 2022; Kucher et al., 2024; Kulus & Tymoszuik, 2024).

Otro resultado destacable fue la disminución de los desórdenes observados en los tratamientos con reguladores de crecimiento. El testigo presentó la mayor hiperhidricidad (0.60), mientras que T4 registró solo 0.03; asimismo, T1 presentó mayor clorosis (0.79) y defoliación (2.07), mientras que el testigo alcanzó la mayor necrosis (0.42). No obstante, estos resultados deben interpretarse con cautela, ya que la hiperhidricidad y otros desórdenes in vitro no dependen exclusivamente del balance hormonal, sino también de factores como la composición del medio, humedad, ventilación y condiciones físicas del sistema de cultivo (George et al., 2008; Kulus & Tymoszuik, 2024).

El mayor tamaño de callo registrado en T4 y T3 evidencia que la combinación hormonal también favoreció la proliferación celular. Sin embargo, un mayor crecimiento de callo no debería interpretarse automáticamente como un resultado favorable cuando el objetivo es la multiplicación clonal mediante brotes, debido a que la regeneración indirecta puede incrementar el riesgo de variación somaclonal. Por ello, la selección del tratamiento debe considerar conjuntamente la proliferación, elongación y calidad de los brotes, y no únicamente el número de estructuras formadas (Mehbub et al., 2022; Kulus & Tymoszuik, 2024).

En conjunto, T4 presentó el mejor desempeño para la proliferación, seguido del tratamiento T2, mientras que T3 favoreció principalmente la elongación y desarrollo foliar. Por tanto, los resultados sugieren que 2 mg L⁻¹ de citoquinina + 0.1 mg L⁻¹ de auxina sería la combinación más apropiada entre las evaluadas para maximizar la multiplicación de *P. communis* L.; sin embargo, no existe evidencia suficiente para afirmar que T3 deba utilizarse posteriormente para mejorar el enraizamiento o la aclimatación, ya que estas fases no fueron evaluadas. La optimización de un protocolo de micropropagación requiere equilibrar la tasa de multiplicación con la calidad de los brotes obtenidos (Kucher et al., 2024; Kulus & Tymoszuik, 2024).

VII. CONCLUSIONES

Objetivo 1: Los resultados evidenciaron que los tratamientos suplementados con citoquinina BA presentaron mayores porcentajes de prendimiento en comparación con el medio basal sin reguladores de crecimiento. El mayor valor se obtuvo con el tratamiento MS + BA (1 mg/L) + AIB (0.1 mg/L), alcanzando 73.33 % de prendimiento que representa en porcentajes el 100%; sin embargo, este no presentó diferencias estadísticas respecto al tratamiento MS + BA (1 mg/L) alcanzando el 63.33 % de prendimiento que representa en porcentajes el 86.36 %, lo que indica que la BA fue el principal regulador responsable de estimular la activación y el desarrollo inicial de los explantes. Por su parte, la adición de AIB tuvo un efecto complementario, favoreciendo la respuesta fisiológica y estabilidad de los tejidos cultivados; el tratamiento MS alcanzó el 43.33 % de prendimiento que representa en porcentajes el 59.08%.

Objetivo 2: La multiplicación in vitro de *Pyrus communis* L. evidenció que el equilibrio hormonal entre citoquinina y auxina influye significativamente en la respuesta morfogénica y fisiológica de los explantes. El tratamiento T4 (MS + 2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) fue el más eficiente para estimular la formación de brotes y hojas, además de reducir desórdenes fisiológicos como hiperhidricidad y necrosis, demostrando una mayor capacidad de proliferación y estabilidad; seguido del tratamiento T2 (MS + 1 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina). En contraste, el tratamiento T3 (MS + 1.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) favoreció principalmente la elongación y calidad estructural de los brotes, seguido por el testigo T5 (MS + 0.1 mg/L de auxina) y el tratamiento T1 (MS + 0.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina).

VIII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda emplear el tratamiento T4 (2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) en la fase inicial de multiplicación in vitro de *Pyrus communis* L. por su mayor capacidad de proliferación de brotes y hojas; mientras que el tratamiento T3 (1.5 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) resulta más adecuado para etapas previas al enraizamiento y aclimatación, debido a que favorece la elongación y calidad morfológica de los brotes.
- Se sugiere evaluar diferentes concentraciones y combinaciones de reguladores de crecimiento, especialmente mediante la variación de las dosis de BA y AIB, con el fin de determinar el nivel óptimo que maximice el prendimiento y reduzca posibles efectos fisiológicos adversos.
- Se recomienda utilizar el tratamiento T4 (2 mg/L de citoquinina + 0.1 mg/L de auxina) como base del protocolo de multiplicación, debido a su mayor eficiencia en la proliferación de brotes y menor incidencia de desórdenes fisiológicos.
- Realizar estudios complementarios en fases de enraizamiento y aclimatación para garantizar la obtención de vitroplantas vigorosas y fisiológicamente estables.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Academia Lab. (28 de noviembre de 2024). Obtenido de <https://academia-lab.com/enciclopedia/medio-murashige-y-skoog/>
- Ascón, J., & Talón, B. M. (2000). *Fisiología Vegetal*. Barcelona: Mc graw hill interamericana.
- Azofeifa, A. (2009). *Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados invitro (en línea)*. San Jose - Costa Rica: Agronomía Mesoamericana.
- Bell, D. (1996). *Pears*. Nueva York - Estados Unidos: Nueva York - Libros básicos.
- Bell, R. L., & Quamme, H. A. (2011). *Pears*. In J. F. Hancock (Ed.), *Temperate Fruit Crop Breeding*. Springer.
- Bhojwani, S. S., & Razdan, M. K. (1996). *Plant tissue culture: Theory and practice (Rev. ed.)*. Elsevier.
- Brickell, C. D., Alexander, C., David, J. C., Hetterscheid, W. L. A., Leslie, A. C., Malecot, V., Jin, X., & Cubey, J. J. (2016). *International code of nomenclature for cultivated plants (9th ed.)*. International Society for Horticultural Science.
- Caballido, E. (2024). *Variedades de pera*.
- Calabrese, F. (2012). *Pear varieties and orchard management*. Acta Horticulturae.
- Calva, G., & Pérez, J. (2005). *Cultivo de células y tejidos: fuente de alimentos para el futuro*. Chiapas - Mexico: Revista Digital Universitaria.
- Cassells, A. (2012). *Manejo en cultivo de tejidos vegetales: Fitopatógenos, patógenos in vitro y plagas in vitro*. New York - Estados Unidos: Research Gate.
- Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. Montevideo - Uruguay: INIA Las Brujas.

- Castillo, A., Cabrera, D., Rodriguez, P., & Zoppolo, R. (2018). Propagación de portainjertos de pera en biorreactores de inmersión temporal. Montevideo - Uruguay: INIA (LB).
- Chappa, S. M., Mendoza., C. E., & Sugeire., E. (2017). Efecto de tres dosis de 6 - benciladenina en el incremento de la floracion de piñon blanco (*Jatropha curcas* L.) - Juan Guerra. San Martin - Perú: Universidad Nacional de San Martín.
- Cronquist, A. (1988). The Evolution and Classification of Flowering Plants (2nd ed.). New York: The New York Botanical Garden.
- Debnath, S. C. (2005). Morphogenesis and improvement of berry quality in lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.) through tissue culture. Scientia Horticulturae, 106(3), 289–298. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.04.002>
- Du, K., Yuan, F., Huo, M., Mao, N., Zhao, S., Yang, X., Sang, Y., & Tian, G. (2025). Nutrients, bioactives, health-promoting effects, and related products of pears: Different varieties, growth stages and parts. Journal of Functional Foods, 129, 106844. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2025.106844>
- Espinoza, B. P. (2021). Extracto de vermicompost como medio basal en la etapa de multiplicación y enraizamiento in vitro de *Dasyllirion cedrosanum*. Terra Latinoamericana, 31.
- Evans, R. (2002). Evidencia molecular sobre el origen de la subfamilia Amygdaloideae. New york - Estados Unidos: American Journal of Botany.
- FAO. (2020). Fruit production and varietal diversity in temperate crops.
- Favilla, F. (2019). *Pyrus communis* – estructura y descripción. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

- Freire, I. C. G., Coelho, C. P. S., & Barros, M. T. F. (2002). Improved culture media for the in vitro establishment of pear from nodal cuttings. *Acta Horticulturae*, 596, 457–461. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.596.75>
- Galvez, M. (2022). Caso de estudio: análisis de la dinámica de las exportaciones de frutas de Perú y Chile en el periodo 2006-2022. 66.
- Garay, L. J., & Quinteno, L. F. (1998). Colombia: estructura comercial e internacionalización, 1967-1996. Santa Fe de Bogotá, Colombia: Departamento Nacional de Planeación.
- García, F. (2004). Fitorreguladores. Madrid - España: Universidad Politécnica de Valencia.
- Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M., & Thorpe, T. A. (1996). Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 32(4), 272–289. <https://doi.org/10.1007/BF02822700>
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G.-J. (2008). Plant propagation by tissue culture (3rd ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3>
- Gomulski, L. M., Vera, M. T., Lanzavecchia, S. B., Piccinno, R., Fiorenza, G., De Luca, D., Carrizo, B. N., Bouvet, J. P. R., Viana, V. A., Cárceres, C., Enkerlin, W., Malacrida, A. R., & Gasperi, G. (2024). Molecular markers for analyses of genetic diversity within the *Anastrepha fraterculus* complex with emphasis on Argentine populations. *Insects*, 15(10), 748. <https://doi.org/10.3390/insects15100748>
- Hancock, J. (2008). Mejoramiento de cultivos frutales en zonas templadas. Bogotá - Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., Jr., & Geneve, R. L. (2011). Hartmann & Kester's plant propagation: Principles and practices (8th ed.). Prentice Hall.
- Holdridge, L. R. (1978). Ecología basada en zonas de vida. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA).
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant callus: Mechanisms of induction and repression. The Plant Cell, 25(9), 3159–3173. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053>
- Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2023). Compendio estadístico del Perú 2023. Lima, Perú.
- INTA. (2010). Clasificación taxonómica de *Pyrus communis* L. en la familia Rosaceae. Castelar - Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Inta. (2010). Pera Williams manual para el productor y emparador. Buenos Aires - Argentina: Área Comunicaciones del INTA Alto Valle.
- Jackson, D. (1999). Frutas en pepita: Producción de frutas en zonas templadas y subtropicales. Zaragoza - España: Acribia S.A.
- Jackson, J. E. (2003). Biology of Apples and Pears. Cambridge University Press.
- Jordán, M., & Casaretto, J. (2006). Hormonas y reguladores del crecimiento : auxinas , giberelinas y citocininas. Santiago - Chile: Universidad de La Serena.
- Kaviani B, B. A. (2023). Optimizacion de la propagacion in vitro del portainjerto de la pera (*pyrus communis*). 13.
- Kaviani, B., Barandan, A., Tymoszuk, A. y Kulus, D. (2023). Optimización de la propagación in vitro del portainjerto de peral (*Pyrus communis* L.) 'Pyrodwarf® (S)'. Agronomía, 13 (1), 268. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010268>.

- Kucher, N., Hrabovyi, V., Opalko, O., Zamorskyi, V., & Opalko, A. (2024). In vitro propagation of pear (*Pyrus* L.). *Studia Biologica*, 18(4). <https://doi.org/10.30970/sbi.1804.797>
- Kulus, D., & Tymoszek, A. (2024). Advancements in in vitro technology: A comprehensive exploration of micropropagated plants. *Horticulturae*, 10(1), 88. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10010088>
- Lizárraga, A. e. (2017). Propagation and Recovery of Eight Apple and Two Pear Cultivars Held in a Germplasm Bank. *American Journal of Plant Sciences*, 16.
- Mehbub, H., Akter, A., Akter, M. A., Mandal, M. S. H., Hoque, M. A., Tuleja, M., & Mehraj, H. (2022). Tissue culture in ornamentals: Cultivation factors, propagation techniques, and its application. *Plants*, 11(23), 3208. <https://doi.org/10.3390/plants11233208>
- Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI]. (2016). Anuario estadístico de la producción agrícola y ganadera 2015. Dirección General de Seguimiento y Evaluación de Políticas, Sistema Integrado de Estadística Agraria (SIEA), Lima, Perú.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2022). FAOSTAT statistical database. <https://www.fao.org/faostat/>
- Orué, L. C. (2017). Multiplicación mediante propagación in vitro a partir de meristemos en los cultivares de bellaco AAB (*Musa balbisiana* C.) y FHIA 23 AAA (*Musa acuminata* C.) en Santa Ana - La Convención - Cusco. Cusco - Perú: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

- Paganova, V. (2003). Fiabilidad taxonómica de las características morfológicas de hojas y frutos de *Pyrus L.* Bratislava - Eslovaquia: Hort ciencia.
- Palomeque, E. B. (2021). Extracto de vermicompost como medio basal en la etapa de establecimiento y multiplicación. Torreón - México. Terra Latinoamericana, 31.
- Parra, C. (1997). Diseño de una metodología para la determinación de las características físicas y fisiológicas necesarias para el adecuado manejo cosecha y postcosecha de pera en el municipio de Nuevo Colón. Bogotá - Colombia: Pontificia Universidad Javeriana.
- Phytoma, M. (2023). Peral: plagas y enfermedades. Valencia - España: Phytoma.
- Pierik, R. (1990). Cultivo in vitro de las plantas superiores. Valencia - España: Mundi Prensa.
- Raffo, M., Ponce, N., Sozzi, G., & Stortz, A. (2011). Cambios en los polisacáridos de la pared celular de la pera 'Bartlett' (*Pyrus communis L.*) afectados por condiciones de luz solar. Buenos Aires - Argentina: Química de los alimentos.
- Ramos, A. J. (2012). Avances de la micropagación in vitro de plantas leñosas. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), Bogotá, 64.
- Real Academia Española. (2023). Explante. En Diccionario de la Lengua Española (edición de tricentenario). Recuperado el 28/11/2024 de Noviembre de 2024, de <https://dle.rae.es/explante>
- Roca, W., & Mroginski, L. (1991). Establecimiento de un laboratorio de cultivo de tejidos vegetales. Cali - Colombia: Ciat.
- Rodríguez, A. (2009). Influencia de la temperatura del aire y del raleo sobre el tamaño del fruto de peral (*Pyrus communis*) cv William's durante sus distintas fases de

- desarrollo. Córdoba - Argentina: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba.
- Rodríguez, A. B., Muñoz, A. R., Curetti, M., & Raffo, M. D. (2020). Impacto de la variabilidad climática estacional en la fenología de pera (*Pyrus communis* L.) cv. Williams en Río Negro-Argentina. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 36(2), 129–139. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS36-11IA40011>
- Rout, G. R., Samantaray, S., & Das, P. (2000). In vitro manipulation and propagation of medicinal plants. *Biotechnology Advances*, 18(2), 91–120. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(99\)00026-7](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00026-7)
- Rubtsov, G. (1944). Distribución geográfica del género *Pyrus* y tendencias y factores en su evolución. Chicago - Estados Unidos: Naturalista americano.
- Sánchez, E. (2017). Principales reguladores de crecimiento empleados en frutales. Ciudad de México - México: Info Agro.
- Sandí, D. A. (2019). ¿Que es un árbol? Blog Revista de biología tropical, 3. <https://doi.org/10.15517/rbt.v0i3.37682>.
- SIEA. (2021). Ministerio de desarrollo agrario y riego. Lima - Perú: Portal Siea.
- Silva, G. (2014). Origen, domesticación y dispersión de la pera (*Pyrus* spp.). Brasília - Brasil: Indawi.
- Sozzi, G. (2007). Árboles frutales : Ecofisiología, cultivo y aprovechamiento. Buenos Aires - Argentina: Universidad de Buenos Aires.
- Thorpe, T. A. (2007). History of plant tissue culture. *Molecular Biotechnology*, 37(2), 169–180. <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0031-3>
- USDA. (2022). Pear varieties and production guide.

- Volk, G. (2006). Diversidad de *Pyrus communis* salvaje basada en análisis de microsatélites. Chicago - Estados Unidos: Revista de la Sociedad Estadounidense de Ciencias Hortícolas.
- Webster, A. D. (2005). Temperate Fruit Tree Crop Production. CABI Publishing.
- Westwood, M. (1982). Fruticultura de zonas templadas. Valencia - España: Mundi-Prensa.
- Westwood, M. N. (1993). Temperate-zone pomology: Physiology and culture (3rd ed.). Timber Press.
- ZIV, M. (1991). Vitrificación: trastornos morfológicos y fisiológicos del in vitro. Zaragoza - España: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

X. ANEXOS

Anexo 01. Panel de figuras.

Figura 33. Proceso de introducción de las varetas del campo al laboratorio.



Figura 34. Proceso de hendir los brotes para la limpieza superficial.



Figura 35. Establecimiento de explantos en área de crecimiento



Figura 36. Explantos para la multiplicación

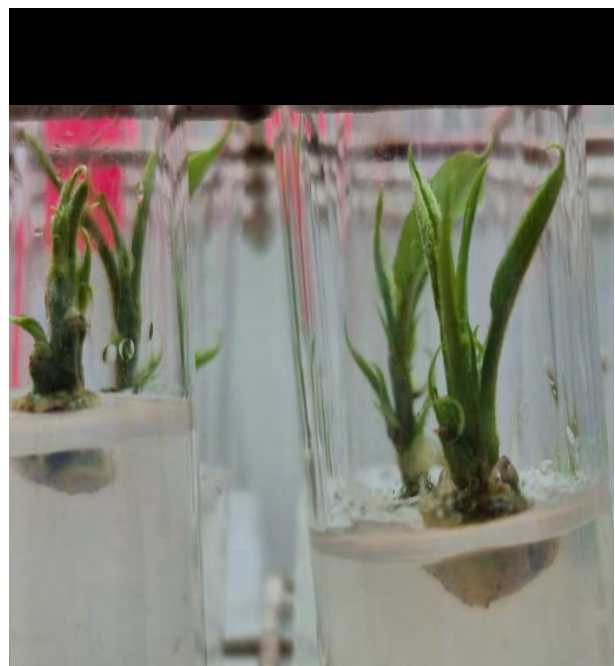
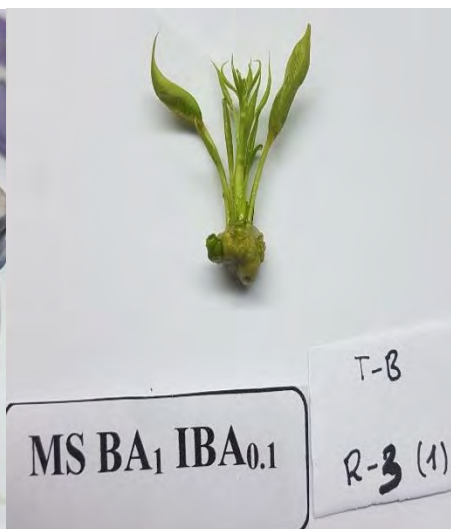
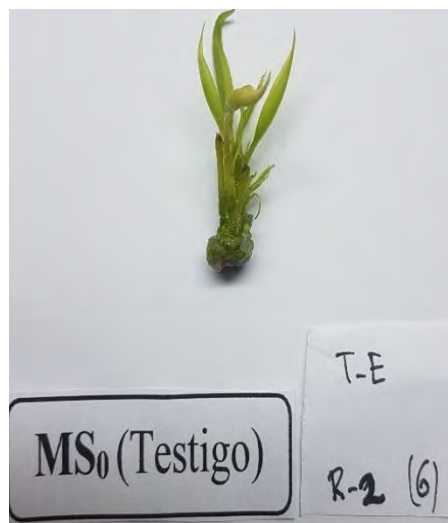
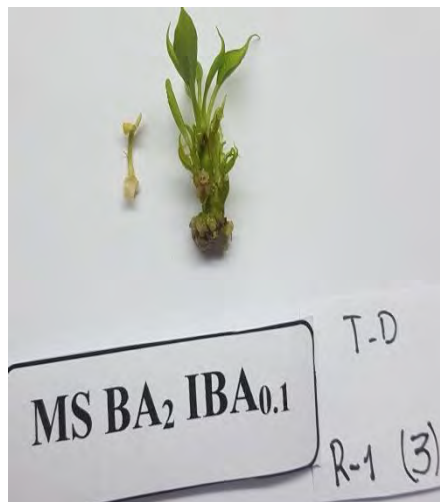
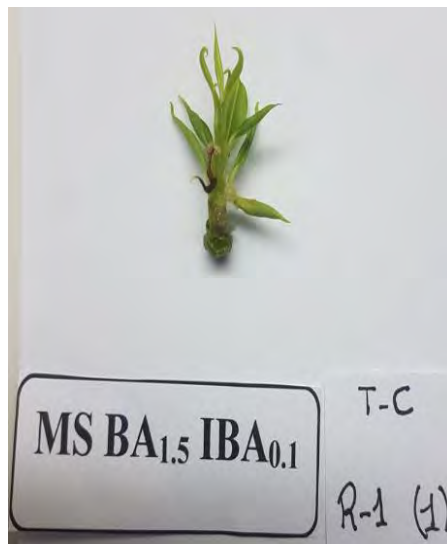


Figura 37. Evaluación de la fase de multiplicación.





Anexo 2. Datos recopilados en el experimento.

Tabla 38. Porcentaje de prendimiento

T1: Medio basal Murashige y Skoog	T2: MS + Benciladenina	T3: MS + BA + Ácido Indolbutírico
5	6	7
4	5	8
4	6	7

Tabla 39. Número de brotes formados

	T1	T2	T3	T4	TESTIGO
R1	1.00	3.00	1.00	3.00	1.00
	1.00	2.00	1.00	1.00	1.00
	2.00	3.00	2.00	4.00	1.00
	1.00	1.00	1.00	2.00	1.00
	1.00	1.00	2.00	1.00	1.00
	1.00	1.00	4.00	1.00	1.00
	2.00	1.00	1.00	3.00	3.00
	1.00	3.00	1.00	2.00	1.00
	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
R2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	1.00	1.00	2.00	1.00	1.00
	1.00	1.00	4.00	2.00	1.00
	2.00	1.00	1.00	2.00	1.00
	3.00	1.00	1.00	2.00	1.00
	1.00	1.00	1.00	3.00	3.00
	1.00	2.00	1.00	2.00	2.00
	1.00	1.00	2.00	1.00	1.00
	2.00	1.00	1.00	4.00	1.00
	1.00	1.00	1.00	2.00	1.00
R3	1.00	1.00	1.00	3.00	2.00
	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	1.00	2.00	1.00	1.00	1.00
	1.00	3.00	1.00	1.00	1.00
	1.00	3.00	1.00	2.00	1.00
	1.00	3.00	2.00	2.00	4.00
	1.00	2.00	4.00	1.00	2.00
	1.00	1.00	1.00	3.00	1.00
	1.00	4.00	2.00	4.00	1.00
	4.00	1.00	3.00	3.00	1.00

Tabla 40. Número de brotes desarrollados

	T1	T2	T3	T4	TESTIGO
R1	1	2	1	1	1
	1	1	1	1	1
	2	1	1	2	1
	1	1	1	2	1
	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1
	2	1	1	2	1
	1	1	1	1	1
	1	1	1	2	1
	1	1	1	1	1
R2	1	1	1	1	1
	1	1	1	2	1
	1	1	2	1	1
	1	1	1	2	1
	1	1	1	3	1
	1	1	1	1	1
	1	1	1	2	1
	1	1	1	2	1
	2	1	1	2	1
	1	1	1	1	1
R3	1	1	1	2	2
	1	1	1	1	1
	1	2	1	1	1
	1	2	1	2	1
	1	2	1	1	1
	1	3	1	1	1
	1	1	2	1	1
	1	1	1	1	1
	1	2	2	3	1
	1	1	1	2	1

Tabla 41. Longitud de explanto desarrollado (mm)

	T1	T2	T3	T4	TESTIGO
R1	20	9	33	16	18
	15	18	35	25	16
	32	23	18	20	25
	31	29	25	20	12
	30	32	15	18	10
	24	15	23	33	18
	20	26	36	23	24
	25	16	33	24	14
	30	25	28	21	11
	25	31	29	14	25
R2	20	10	24	14	19
	13	16	29	27	24
	28	33	18	33	13
	6	19	24	18	8
	19	26	25	36	15
	36	24	23	20	21
	18	25	28	15	17
	7	18	20	37	19
	15	23	24	26	25
	20	13	30	16	15
R3	38	12	39	14	17
	21	28	18	18	14
	14	10	26	16	9
	13	7	22	16	7
	33	10	20	15	20
	19	6	28	28	16
	17	25	22	18	18
	12	21	24	17	7
	23	5	25	20	7
	5	28	29	22	11

Tabla 42. Número de hojas formados por brote

	T1	T2	T3	T4	TESTIGO
R1	12	6	12	10	8
	6	5	10	8	9
	12	10	4	12	6
	12	5	5	12	14
	6	6	12	8	5
	4	5	4	15	5
	14	4	9	14	6
	11	6	9	12	7
	14	4	12	12	8
	10	5	8	10	3
R2	7	5	8	11	3
	2	4	10	10	8
	6	4	15	8	5
	17	6	20	16	0
	4	5	1	9	2
	14	17	7	12	8
	11	13	14	8	6
	7	6	2	6	8
	14	5	4	17	9
	3	3	4	11	2
R3	9	20	13	10	17
	2	4	9	12	5
	3	8	4	10	1
	5	15	3	9	2
	1	17	4	12	5
	1	12	12	9	16
	5	12	6	12	7
	5	10	14	12	1
	14	6	14	10	2
	6	2	0	10	2

Tabla 43. Número de hojas desarrollados

	T1	T2	T3	T4	TESTIGO
R1	0	1	2	0	1
	1	0	2	2	1
	0	0	1	0	1
	1	1	1	0	1
	1	0	2	0	1
	1	1	3	4	2
	2	2	2	0	1
	0	3	2	2	1
	3	0	1	1	1
	1	1	1	0	0
R2	4	1	2	0	0
	0	0	0	0	1
	0	3	1	3	2
	0	3	3	0	0
	3	1	1	3	1
	5	3	2	2	2
	1	2	6	1	1
	1	1	2	1	2
	0	1	1	4	2
	1	1	2	0	1
R3	1	2	4	2	1
	0	1	2	0	2
	0	1	2	0	0
	1	0	2	0	0
	1	0	1	3	1
	0	0	5	1	1
	1	0	2	0	1
	0	2	1	2	0
	2	0	1	2	0
	0	1	1	2	0

Tabla 44. Tamaño de callos

	T1	T2	T3	T4	TESTIGO
R1	0	150	108	120	0
	0	100	216	0	72
	0	168	224	224	70
	126	144	0	192	180
	210	75	0	0	84
	192	40	120	128	126
	126	60	75	72	50
	270	40	72	60	0
	168	120	196	0	196
	648	70	147	84	0
R2	0	126	90	50	98
	200	80	0	640	0
	0	50	80	0	0
	210	120	0	0	0
	96	48	324	168	0
	72	84	462	504	90
	240	70	450	0	80
	144	85	126	0	0
	60	90	60	539	98
	168	48	0	0	0
R3	280	540	0	405	100
	180	0	0	60	60
	100	147	400	200	0
	0	0	0	72	0
	0	0	0	0	84
	100	112	175	72	72
	160	0	0	40	0
	144	0	144	192	0
	0	40	0	80	0
	125	96	0	84	60

Tabla 45. Número de brotes hiperhidricos

	T1	T2	T3	T4	TESTIGO
R1	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	1
	0	0	0	0	0
	0	1	0	0	0
	1	0	1	0	1
	0	0	0	0	1
	0	1	0	0	1
	0	0	0	0	1
	0	1	0	0	1
	0	0	0	0	0
R2	0	0	0	0	1
	1	0	0	1	1
	0	0	0	0	1
	0	0	0	0	1
	0	1	0	0	0
	0	0	0	0	0
	0	1	1	0	0
	0	0	0	0	1
	1	0	0	0	0
	0	0	1	0	1
R3	0	0	0	0	1
	1	1	0	0	0
	1	0	1	0	1
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	1
	0	0	0	0	0
	1	0	1	1	1
	0	0	0	0	1
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	1

Tabla 46. Número de hojas defoliados

	T1	T2	T3	T4	TESTIGO
R1	3.00	1.00	2.00	1.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	2.00	2.00
	0.00	1.00	0.00	0.00	2.00
	3.00	1.00	1.00	3	1.00
	4.00	3.00	2.00	2.00	1.00
	2.00	2.00	1.00	0.00	2.00
	2.00	0.00	0.00	1.00	2.00
	3.00	3.00	0.00	1.00	0.00
	4.00	2.00	0.00	0.00	2.00
	0.00	0.00	0.00	2.00	1
R2	1.00	0.00	0.00	1	0.00
	2.00	0.00	0.00	2	1.00
	3	0.00	1.00	1.00	2.00
	4.00	3.00	0.00	2.00	0.00
	0.00	1.00	1.00	2.00	2.00
	4.00	5.00	0.00	1.00	1.00
	0.00	1.00	0.00	0	2.00
	3.00	1.00	3.00	2.00	2.00
	1.00	2.00	0.00	1.00	0.00
	3.00	0.00	0.00	1.00	2.00
R3	3.00	0.00	0.00	3.00	0.00
	4.00	0.00	1.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	1.00	1.00	0.00	1	3.00
	0.00	1.00	2.00	0.00	1.00
	1.00	2.00	2.00	1.00	0.00
	3.00	0.00	2.00	2.00	2.00
	5.00	4.00	1.00	1.00	1.00
	4.00	2.00	0.00	2.00	2.00
	0.00	0.00	1.00	0.00	3.00

Tabla 47. Número de hojas cloróticas

	T1	T2	T3	T4	TESTIGO
R1	0	1	0	0	0
	0	0	2	0	0
	4	0	0	0	0
	0	1	0	0	3
	2	0	0	1	1
	0	0	1	0	2
	2	0	0	0	0
	0	1	0	0	0
	0	0	0	0	1
	0	0	2	0	0
R2	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
	2	0	2	1	0
	3	0	0	1	0
	0	0	1	0	1
	2	0	0	1	1
	0	2	0	0	0
	0	0	1	0	0
	0	0	0	0	0
	2	0	0	1	2
R3	2	0	0	2	0
	0	0	2	0	0
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	0
	1	0	2	1	0
	1	1	1	0	1
	1	0	0	1	6
	6	0	0	1	0
	0	1	0	0	0

Tabla 48. Número de hojas necróticas

	T1	T2	T3	T4	TESTIGO
R1	0	0	1	0	0
	0	1	0	0	1
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	2
	2	1	0	2	1
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
	1	1	0	1	0
	0	0	0	0	1
	1	0	0	1	0
R2	1	0	0	2	1
	0	0	0	0	0
	0	0	0	1	1
	1	0	1	1	0
	0	0	0	0	1
	0	1	0	0	0
	0	1	0	0	0
	1	0	1	1	2
	0	0	1	0	0
	1	0	0	2	1
R3	1	0	1	0	0
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	1
	0	1	0	0	0
	0	1	1	0	1
	0	1	0	0	0
	1	0	1	1	0
	1	0	0	1	1
	0	0	1	0	0
	0	0	0	0	2