



# **Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión**

**Facultad de Ciencias  
Escuela Profesional de Biología con Mención de Biotecnología**

## **Efecto de la concentración de sacarosa en el prendimiento del microinjerto de *Prunus pérsica* “durazno” variedad huayco rojo X Okinawa**

**Tesis**

**Para optar el Título Profesional de Biología con Mención en  
Biotecnología**

**Autoras**

**Brenda Rosangela Calderon Ojeda  
Grecia Elyani Justo Acosta**

**Asesor**

**Dr. Huberto Williams Noriega Córdova**

**Huacho – Perú**

**2024**



**Reconocimiento - No Comercial – Sin Derivadas - Sin restricciones adicionales**

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

**Reconocimiento:** Debe otorgar el crédito correspondiente, proporcionar un enlace a la licencia e indicar si se realizaron cambios. Puede hacerlo de cualquier manera razonable, pero no de ninguna manera que sugiera que el licenciante lo respalda a usted o su uso. **No Comercial:** No puede utilizar el material con fines comerciales. **Sin Derivadas:** Si remezcla, transforma o construye sobre el material, no puede distribuir el material modificado. **Sin restricciones adicionales:** No puede aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros de hacer cualquier cosa que permita la licencia.



# UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN

## LICENCIADA

(Resolución de Consejo Directivo N° 012-2020-SUNEDU/CD de fecha 27/01/2020)

### FACULTAD DE CIENCIAS

### ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA CON MECIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

### INFORMACIÓN

<b>DATOS DEL AUTOR (ES):</b>		
<b>NOMBRES Y APELLIDOS</b>	<b>DNI</b>	<b>FECHA DE SUSTENTACIÓN</b>
Grecia Elyani Justo Acosta	72858732	11/12/2023
Brenda Rosangela Calderon Ojeda	73982634	11/12/2023
<b>DATOS DEL ASESOR:</b>		
<b>NOMBRES Y APELLIDOS</b>	<b>DNI</b>	<b>CÓDIGO ORCID</b>
Huberto Williams Noriega Córdova	18172332	0000-0003-3082-0723
<b>DATOS DE LOS MIEMBROS DE JURADOS – PREGRADO/POSGRADO-MAESTRÍA-DOCTORADO:</b>		
<b>NOMBRES Y APELLIDOS</b>	<b>DNI</b>	<b>CÓDIGO ORCID</b>
Hermila Belba Díaz Pillasca	15601607	0000-0002-2491-3774
Luis Alberto La Cruz Arévalo	15612160	0009-0009-4576-5107
Gilberth Pesantes Calderón	18163042	0000-0002-3933-2737

# EFFECTO DE LA CONCENTRACION DE SACAROSA EN EL PRENDIMIENTO DEL MICROINJERTO DE Prunus persica "durazno" VARIEDAD HUAYCO ROJO X OKINAWA.

## INFORME DE ORIGINALIDAD

15%

INDICE DE SIMILITUD

15%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL  
ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://repositorio.unjfsc.edu.pe">repositorio.unjfsc.edu.pe</a> Fuente de Internet	2%
2	<a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	2%
3	<a href="https://biblioteca.usac.edu.gt">biblioteca.usac.edu.gt</a> Fuente de Internet	1%
4	Submitted to Universidad Nacional Jose Faustino Sanchez Carrion Trabajo del estudiante	1%
5	<a href="https://repositorio.lamolina.edu.pe">repositorio.lamolina.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
6	<a href="https://repositorio.unp.edu.pe">repositorio.unp.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1%
7	<a href="https://repositorio.uap.edu.pe">repositorio.uap.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1%
8	Submitted to Universidad San Francisco de Quito	<1%

## **DEDICATORIA**

*Dedico la tesis a mis padres; Dionicio Justo y Delina Acosta, quienes me dieron su apoyo incondicional, su paciencia y confianza en la culminación de este trabajo. También va para mis hermanos, quienes son mi motivación para seguir adelante y dejarle un ejemplo de la perseverancia y la paciencia en lo que se proponen.*

*Grecia Elyani, Justo Acosta.*

*Dedico esta tesis a mi papá Alberto Calderon Meza por su paciencia, a mi mamá Rosalina Ojeda que desde el cielo está orgullosa de este gran logro que concluyo y también a mis hermanos, en especial a mi hermana Karla por enseñarme que todo esfuerzo tiene su recompensa.*

*Brenda Rosangela, Calderon Ojeda.*

## AGRADECIMIENTO

*Estoy muy agradecida a Jehová Dios quien me dio las fuerzas y esperanza de seguir adelante en este camino que no fue fácil, pero no imposible. que también me haya permitido a cuidar de lo más importante, su amistad; que valoro muchísimo más que todas las cosas. También incluyo a mis queridos padres, que siempre me han mostrado su amor y ánimo en cada decisión favorable que he tomado. A mis hermanos; Mirtha y Sebastian Justo por mostrarme su cariño y respeto. Siempre están presente en mi corazón.*

*Ala estación experimental INIA DONOSO por permitirnos ejecutar la tesis de pregrado en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales bajo la dirección del Ing. Pedro Nicho que a su vez le agradecemos junto a la técnica Filomena por su supervisión hasta la culminación del presente trabajo.*

*Al instituto de educación tecnológico Huando por brindarnos sus equipos para los cortes histológicos, así como al ing. Yuri Calle por el apoyo y confianza brindada en el laboratorio.*

*Al profesor y amigo Alfredo Martin Alva por su basto conocimiento y guía en este estudio realizado.*

*Al asesor, Huberto Noriega Córdova por sus ideas y supervisión brindada en la ejecución de esta tesis.*

*Grecia Elyani, Justo Acosta.*

*A la estación experimental INIA DONOSO por permitirnos ejecutar la tesis de pregrado en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales bajo la dirección del Ing. Pedro Nicho que a su vez le agradecemos junto a la técnica Filomena Marcelo por su supervisión hasta la culminación del presente trabajo.*

*Al instituto de educación tecnológico Huando por brindarnos sus equipos para los cortes histológicos, así como al ing. Yuri Calle por el apoyo y confianza brindada en el laboratorio.*

*Al profesor y amigo Alfredo Martin Alva por su basto conocimiento y guía en este estudio realizado.*

*Al asesor, Huberto Noriega Córdova por sus ideas y supervisión brindada en la ejecución de esta tesis.*

*Brenda Rosangela, Calderón Ojeda.*

## ÍNDICE

<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>I</b>
<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>II</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>VIII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>IX</b>
<b>INTRODUCCION .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>2</b>
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2. Formulación del problema.....	3
1.2.1. Problema general .....	3
1.2.2. Problemas específicos.....	3
1.3. Objetivos .....	4
1.3.1. Objetivo general.....	4
1.3.2. Objetivos específicos.....	4
1.4. Justificación.....	4
1.5. Delimitación del estudio .....	5
1.6. Viabilidad del estudio .....	5
<b>CAPITULO II: MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>6</b>
2.1. Antecedentes de la investigación .....	6
2.1.1. Antecedentes internacionales .....	6
2.1.2. Antecedentes nacionales .....	8
2.2. Bases teóricas .....	9
2.2.1. Durazno .....	9
2.2.2. Microinjerto .....	11
2.2.3. Azúcar .....	12
2.3. Bases filosóficas .....	13
2.4. Definiciones conceptuales (definición de términos básicos).....	14
2.5. Hipótesis.....	16
2.5.1. Hipótesis general .....	16
2.5.2. Hipótesis específico .....	16
2.6. Operacionalización de las variables .....	17
<b>CAPITULO III: METODOLOGÍA.....</b>	<b>18</b>
3.1. Diseño metodológico .....	18
3.1.1. Tipo de investigación. ....	18

3.1.2. Nivel de investigación. ....	18
3.1.3. Diseño. ....	18
3.1.4. Enfoque. ....	18
3.2. Población y muestra .....	19
3.2.1. Población .....	19
3.2.2. Muestra .....	19
3.3. Técnicas de recolección de datos.....	19
3.3.1. Técnicas a emplear.....	19
3.3.2. Descripción de los instrumentos de datos.....	25
3.4. Técnica para el procesamiento de la información.....	26
<b>CAPITULO IV. RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
4.1. análisis de resultados .....	27
4.1.1. Estadística descriptiva para prendimiento, tamaño y numero de hojas por semanas y tratamiento. ....	27
4.1.2. Análisis de varianza unifactorial para prendimiento, tamaño y numero de hojas por semanas y tratamiento. ....	34
4.1.3. homogeneidad de promedios para prendimiento, tamaño y numero de hojas por semanas y tratamiento con la prueba de Fisher. 36	
4.1.4. Análisis de varianza y regresión Bifactorial de concentración de sacarosa y semanas para prendimiento, tamaño y numero de hojas. 43	
4.1.5. Evidencias histológicas .....	44
4.2 Contrastación de hipótesis.....	51
<b>CAPITULO V. DISCUSION .....</b>	<b>56</b>
5.1. Discusión de resultados.....	56
<b>CAPITULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>62</b>
6.1. Conclusiones .....	62
6.2. Recomendaciones .....	63
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>64</b>
7.1. Fuentes Bibliográficas .....	64
7.2. Fuentes Electrónicas .....	67
<b>ANEXOS.....</b>	<b>71</b>



## Índice de tablas

Tabla N°1:Operacionalización de las variables .....	17
Tabla N°2: Estadística descriptiva de prendimiento, tamaño y numero de hojas por semana y total. ....	29
Tabla N°3: Estadística descriptiva del prendimiento, tamaño y numero de hojas por tratamiento. ....	32
Tabla N°4: análisis de varianza unifactorial para prendimiento, tamaño y numero de hojas por semana y total. ....	35
Tabla N°5: Análisis de varianza del prendimiento, tamaño y numero de hojas por todos los tratamientos.....	35
Tabla N°6: La prueba de Fisher para la homogeneidad de promedios de prendimiento, tamaño y numero de hojas por semanas y total. ....	38
Tabla N°7: La prueba de Fisher para la homogeneidad de promedios de prendimiento, tamaño y numero de hojas por tratamiento.....	41
Tabla 8: Análisis de varianza y regresión bifactorial para prendimiento, tamaño y número de hojas vs sacarosa y semanas. ....	44

## Índice de graficas

Grafica N° 1: Medias de prendimiento del microinjerto.....	30
Grafica N° 2: Medias de tamaño de hojas del microinjerto .....	30
Grafica N° 3: Medias de numero de hojas del microinjerto.....	31
Grafica N° 4: Medias del prendimiento del microinjerto.....	33
Grafica N° 5: Medias del tamaño de hojas del microinjerto por tratamiento .....	33
Grafica N° 6: Medias del número de hojas del microinjerto por tratamiento .....	34
Grafica N° 7: Medias del Prendimiento del microinjerto en la prueba de Fisher .....	39
Grafica N° 8: Medias del tamaño e hojas del microinjerto en la prueba de Fisher.....	39
Grafica N° 9: Medias del número de hojas en la prueba de Fisher.....	40
Grafica N° 10: Medias del prendimiento del microinjerto en la prueba de Fisher por tratamiento .....	41
Grafica N° 11: Medias del tamaño de hojas en la prueba de Fisher por tratamiento.....	42
Grafica N° 12: Medias del número de hojas en la prueba de Fisher por tratamiento .....	42

## Índice de figuras

Figura N° 1: Microinjerto y tinción de los tejidos de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el tratamiento 1. ....	46
Figura N° 2: se observa la intersección entre la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el microscopio con aumento a 40X en el tratamiento 1.....	46
Figura N° 3: Microinjerto y tinción de los tejidos de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el tratamiento 2. ....	47
Figura N° 4: Corte longitudinal de la intersección entre la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el microscopio con aumento a 20X en el tratamiento 2.....	47

Figura N° 5: Microinjerto y tinción de los tejidos de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el tratamiento 3. ....	48
Figura N° 6: Corte longitudinal de la intersección entre los tejidos teñidos de fucsina acida de la variedad Okinawa y Huayco rojo en el microscopio con aumento a 40X y 20X respectivamente en el tratamiento 3.....	48
Figura N° 7: Microinjerto y tinción de los tejidos de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el tratamiento 4. ....	49
Figura N° 8: Corte longitudinal de la intersección entre los tejidos teñidos de fucsina acida de la variedad Okinawa y Huayco rojo en el microscopio con aumento a 40X (E) y 20X (F) respectivamente en el tratamiento 4.....	49
Figura N° 9: Microinjerto y tinción de los tejidos de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el tratamiento 5. ....	50
Figura N° 10: Corte longitudinal de la intersección entre los tejidos teñidos de fucsina acida de la variedad Okinawa y Huayco rojo en el microscopio con aumento a 40X (E) y 20X (F)y 40X(F1) respectivamente en el tratamiento 5.....	50

## RESUMEN

El cultivo de Durazno *Prunus persica* es de gran importancia en el Perú, propagándose a nivel de vivero mediante la injertación, esta técnica muestra problemas de transferencia de plagas, enfermedades y virus, así como una trazabilidad no uniforme. Una de las alternativas para aminorar el problema es el uso de una herramienta biotecnológica como lo es el microinjerto in vitro. En este proceso interviene el azúcar el cual es vital ya que este actúa como molécula de señalización en el ciclo celular generando la división y expansión celular, es por ellos que se plantea evaluar el efecto de la concentración de sacarosa sobre el prendimiento del microinjerto de la variedad Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica* Durazno, utilizando una metodología de tipo de investigación básica de diseño experimental en la que se evaluó cinco tratamientos de concentración de sacarosa, el cual nos mostró en los resultados diferencia significativa entre todos los tratamientos en cuanto a prendimiento, tamaño y números de hojas. Concluyendo que la concentración de sacarosa favorece en el prendimiento, tamaño y numero de hojas a un 9.36%, 8.90% y 8.33% respectivamente interactuando con las semanas.

Palabras clave:

Durazno, Huayco rojo, Okinawa, microinjertación, sacarosa, prendimiento del injerto, tamaño de hojas, numero de hojas.

## **ABSTRACT**

The cultivation of Peach *Prunus persica* is of great importance in Peru, propagating at the nursery level through grafting. This technique shows problems of transfer of pests, diseases and viruses, as well as non-uniform traceability. One of the alternatives to reduce the problem is the use of a biotechnological tool such as in vitro micrografting. In this process, sugar intervenes, which is vital since it acts as a signaling molecule in the cell cycle, generating cell division and expansion, which is why it is proposed to evaluate the effect of the sucrose concentration on the entrapment of the micrograft of the Huayco rojo and Okinawa variety of *Prunus persica* Peach, using a basic research type methodology of experimental design in which five sucrose concentration treatments were evaluated, which showed us in the results a significant difference between all the treatments in terms of taking , size and numbers of sheets. Concluding that there was a better result in treatment one (25gr) followed by treatment five (45gr/L).

Keywords:

Peach, red Huayco, Okinawa, micrografting, sucrose, grafting, leaf size, number of leaves.

## INTRODUCCION

El durazno es uno de los frutos con mayor importancia en el Perú. Según AGRODATAPERU, quien brinda información sobre Comercio Exterior Agropecuario del Perú, menciona que la exportación aumentó en el 2017 y disminuyó en el siguiente año (Koo, 2019); a pesar de los esfuerzos de los agricultores por alcanzar una mejor competitividad en la producción de este fruto; no son suficientes para satisfacer la demanda que percibe (Olmo, 2017).

Una de las razones de esta inconveniencia, es la propagación de plantas frutales a través del injerto realizados en viveros no certificados; que no realizan la trazabilidad del material vegetal en uso perdiendo la uniformidad genética (Dubón, 2017), ocasionando propagación de las enfermedades y que sean sensibles a factores abióticos y bióticos (Melnik, Schuster, Leyser, & Meyerowitz, 2015).

Entre las alternativas para afrontar este problema, es el uso de una técnica biotecnológica como el microinjerto in vitro, el cual permite obtener plantas libres de enfermedades, mejor desarrollo y rendimiento en la producción. Sin embargo, la comprensión del proceso de la unión del microinjerto en frutales, como el durazno, es limitada en casos como formación vascular y la cicatrización de tejidos, además los requerimientos en cada proceso varían según la especie, variabilidad génica, compatibilidad, entre otras, por ende, se requiere conocer y optimizar la técnica (Melnik, y otros, 2018).

Así, por ejemplo, en el proceso de prendimiento del microinjerto, se recomienda utilizar sacarosa como molécula de señalización para la activación de genes encargados de la división celular que intervienen en la diferenciación vascular para la unión del injerto (Melnik, y otros, 2018). Sin embargo, no se conoce si los niveles de sacarosa tienen relación con el porcentaje de prendimiento, tamaño y número de hojas.

Es por esa razón que en el presente trabajo se evaluará la concentración de sacarosa en la formación del floema y xilema en el prendimiento de la variedad Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*.

## **CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1.Descripción de la realidad problemática**

El durazno es uno de los frutos de gran importancia en nuestro país por la creciente demanda que presenta en la actualidad. En el año 2018 la producción nacional fue de 45100 t, lo que indica que para cubrir la demanda de la población nacional y los requerimientos de la exportación resulta insuficiente, impidiendo que compita con los países de mayor producción de este fruto; sin embargo, los campos de este cultivo presentan un ambiente y clima favorable para su siembra en el Perú (Albujar, 2019).

La provincia de Huaral-Lima, es una de las provincias que fomenta el cultivo de durazno de la variedad Huayco rojo, la que se masifica a nivel de vivero mediante la injertación, esta técnica es una práctica común que se lleva a cabo en la planta con el propósito de aumentar el rendimiento en la producción y proporcionar resistencia ante condiciones abióticos y bióticos (Melnyk, Schuster, Leyser, & Meyerowitz, 2015)

Esta técnica presenta problemas de transferencia de plagas, enfermedades y virus, que afecta a la planta a corto o largo plazo, disminuyendo el rendimiento de la producción y la calidad de la fruta, finalizando en su eliminación o muerte. (Herrera, 2014). La mayoría de los viveros frutales no se encuentran certificados por lo que no aplican la trazabilidad, es decir, un rastro o seguimiento en el proceso de la selección de los materiales vegetales utilizados, por lo tanto, los plantines obtenidos pierden la uniformidad genética (Dubón, 2017).

Una de las alternativas para aminorar el problema es el uso de una herramienta biotecnológica como lo es el microinjerto in vitro que busca soluciones en la propagación

tradicional reduciendo el periodo vegetativo, mejorando el rendimiento de la producción, uniformidad genética y lo destacable de esta técnica in vitro es la obtención, saneado, propagado y certificado del material biológico (Lihua, 2018).

La técnica del microinjerto exitoso es un proceso bioquímico y estructural complejo que empieza con la unión del vástago y el portainjerto mediante la formación de un sistema vascular funcional, y a nivel molecular requiere una considerable expresión de genes que van a traducir proteínas para interferir en este metabolismo injertado (Jane, y otros, 2013). Para este proceso la intervención del azúcar es vital ya que este actúa como molécula de señalización en el ciclo celular generando la división celular y expansión celular. (Wang & Ling, 2013)

Siendo esta molécula un factor fundamental en el prendimiento del microinjerto por su acción a nivel celular, en este trabajo se eligió establecer un tratamiento a diferentes niveles de concentraciones de sacarosa para evaluar el efecto en el prendimiento del microinjerto de la variedad Huayco rojo empleando el patrón Okinawa, ambos provenientes de la provincia de Huaral.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

¿Cuál es el efecto de la concentración de sacarosa en el prendimiento del microinjerto de *Prunus persica* “durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa?

### **1.2.2. Problemas específicos**

¿Cómo influyen las concentraciones de sacarosa en la unión del xilema y floema de las variedades Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*?

¿El prendimiento del xilema y floema se evidencia a través de cortes histológicos entre las variedades de Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*?



¿La variación en la concentración de sacarosa influye en el tamaño de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*?

¿La variación en la concentración de sacarosa influye en el máximo número de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*?

### **1.3. Objetivos**

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

Determinar el efecto de la concentración de sacarosa en el prendimiento del microinjerto de *Prunus persica* “Durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

Determinar la influencia de la concentración de sacarosa que induce la unión del xilema y floema entre variedades de Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*.

Evidenciar histológicamente el prendimiento del xilema y floema entre las variedades de Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*.

Determinar la influencia de la variación de la concentración de sacarosa sobre el tamaño de las hojas desarrolladas del microinjerto entre la variedad de Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*.

Determinar la influencia de la variación de la concentración de sacarosa sobre el máximo número de hojas desarrolladas del microinjerto entre la variedad de Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*.

### **1.4. Justificación**

El microinjerto es una herramienta tecnológica que restringe la diseminación de enfermedades; con repercusiones económicas y sociales que favorecen a los fruticultores

de Huaral y a la población en general, permitiendo mejorar la calidad, seguridad y sanidad de los productos agrícolas como el durazno.

El beneficio para los agricultores de esta nueva tecnología le garantizaría que las plántulas a utilizar tendrán un crecimiento y desarrollo favorable lo que mejoraría e incrementaría la producción, productividad y a la vez minimizar las pérdidas económicas, mejorando así su comercialización y la calidad de vida de ellos mismos.

Además, podría ser aplicable a nivel nacional ya que el microinjerto in vitro aún no se ha utilizado en plantaciones de durazno, por lo tanto, este estudio sería el primero en trabajar con esta técnica en esta especie, lo cual genera mucha expectativa hacia un futuro de que se logre algo prospero.

Asimismo, en la actualidad, el microinjerto es un procedimiento en el cual se busca material vegetal certificado que se puede llevar a las plantaciones comerciales, que garantice programas de mejoramiento, que no tan solo beneficiaría a los fruticultores de Huaral sino también a todos los fruticultores del país.

### **1.5. Delimitación del estudio**

El estudio se realizará en la Estación Experimental Agraria Donoso “Kiyotada y Miyagawa”-Huaral del Instituto Nacional de Innovación agraria-INIA en el área de cultivo de tejidos la cual durará 8 meses.

### **1.6. Viabilidad del estudio**

El estudio tendrá apoyo económico en lo que respecta en materiales, reactivos y equipos excepto lo que se muestra en la tabla de presupuesto que será autofinanciado. También se contará con el apoyo de los especialistas del laboratorio de cultivo de tejidos de INIA que vienen trabajando décadas en diferentes especies vegetales agrícolas de importancia económica. Además, se contará con el asesoramiento del docente Huberto

Williams Noriega Córdova de la escuela de Biología con mención en Biotecnología de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.

## **CAPITULO II: MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Antecedentes de la investigación**

#### **2.1.1. Antecedentes internacionales**

Arteaga (2009), investigó el efecto de la temperatura, medios nutritivos y reguladores de crecimiento en la germinación de los embriones cigóticos de durazno *Prunus pérsica* var. Diamante. En donde se utilizó dos temperaturas diferentes de 4°C Y 18°C, medios de cultivo y diferentes concentraciones de reguladores. La mejor germinación de embriones in vitro fue con un pretratamiento de frío (4°C) por 40 días en medio AM (1/2 concentración de sales de MS) suplementado con 1mg/l BAP, presentando 84% de germinación.

Mosella & Ascuin (2004), estudiaron como obtener frutales libres de virus a través del microinjerto partiendo de ápices meristemáticos. Uno de los frutales en este estudio fue *Prunus persica* de la variedad Cardinal y Dixired microinjertadas sobre plántulas de Nemarguard. Los resultados que se obtuvo para la microinjertación de Cardinal sobre Nemarguard fue de 45% de prendimiento, mientras para la microinjertación de la variedad Dixired sobre Nemarguard el porcentaje de prendimiento fue de 70%.

Marsch et al., (2013) desarrollaron un método eficiente de injerto sin collar de superficie plana para plántulas de *Arabidopsis thaliana*. Utilizaron el método de injerto para plántulas de diferentes edades a diferentes concentraciones de azúcar (0% y 0,5%) c/s cotiledones, sin el uso de collarín que vendría ser el soporte del injerto. El éxito del injerto en los resultados fue de 100%, lo cual se obtuvo con 0.5% azúcar con plantas más jóvenes de 6 a 7 días sin cotiledones.

Yin et al., (2012), investigaron la unión de los tejidos y el proceso de curación del injerto en *Arabidopsis thaliana*. En donde demostraron que las actividades de transporte de la vasculatura del floema se recuperaron a los 3 días después del injerto, mientras para la reconexión del xilema la recuperación fue de 7 días. Para observar la reconexión del floema utilizaron un marcador GFP (la proteína fluorescente verde) soluble que se expresa específicamente en células compañeras del floema mediante la tinción de GUS (Tinción de  $\beta$ -glucuronidasa) y para la detección de la reconexión del xilema la tinción que se utilizó fue fucsina acida.

Melnyk, Schuster, Leyser, & Meyerowitz (2015), observaron la dinámica de la adhesión de los tejidos, la conexión del floema, formación del xilema y los cambios en la expresión genética en la unión del injerto en *Arabidopsis thaliana*. La formación vascular se realizó mediante el uso de tinte soluble CFDA (diacetato de carboxifluorescina). Donde se comprobó que los tejidos separados al inicio del contacto mostraron una asimetría en la división celular, la diferenciación celular y en la expresión génica, pero esta desapareció cuando se reformó la conexión vascular.

Melnyk et al., (2018), determinaron la dinámica del transcriptoma en la unión de injerto de *Arabidopsis*. En la que se reveló un mecanismo de reconocimiento entre tejidos que activa la regeneración vascular. Para ello probaron un papel para el azúcar mediante injerto en presencia de sacarosa exógena, que previamente se informó que afecta el éxito del injerto, para eso se tiñeron las plantas injertadas con solución de lugol lo cual se expresó con más fuerza por encima del injerto a las 72h y 120h en la unión del floema y xilema respectivamente. concluyendo que la sacarosa tiene la capacidad de responder ante la unión de los tejidos del injerto.

Bonilla y Mesa (2018), evaluaron tres métodos de injertación in vitro en la especie *Erythrina edulis* (fabaceae). Los tres tipos de microinjertación fueron: aproximación

lateral (corte en forma de bisel en la parte basal), púa (corte de forma de “v” en la parte terminal) y T invertida (corte en forma de T invertida). El mejor método para la microinjertación de *Erythrina edulis* fue el método púa y aproximación lateral con un 23% y 29% respectivamente. El autor recomienda el uso de aproximación lateral por haber obtenido mayor prendimiento y por la facilidad de la ejecución.

### **2.1.2. Antecedentes nacionales**

Lihua (2018), determinó la influencia de la concentración de sacarosa en la microinjertación *in vitro* de los cítricos limón Eureka y naranja Washington Navel sobre el Citrange Troyer. En la que se realizó 6 tratamientos con: 45g/l y 75g/l de sacarosa y 0; 1 y 2 cotiledones del portainjerto), de los cuales se concluyó que para la microinjertación de limón Eureka sobre Citrange Troyer, el mejor tratamiento fue 45g/l de sacarosa y un cotiledón, obteniendo 16.67% de prendimiento. Mientras para la microinjertación de la naranja Washington Navel sobre Citrange Troyer el mejor tratamiento resulto ser 45g/l de sacarosa sin cotiledones, consiguiendo un prendimiento de 26.67%.

Tiraban te (2018), halló la influencia de la microinjertación de ápices caulinares *in vitro* para el saneamiento del “virus de la tristeza de cítricos” (CTV) en las variedades *Tangelo minneola* “tangelo” y *Citrus limon* var. eureka “limón” sobre *Citrange Troyer*. En la que se llevó a cabo 6 tratamientos (combinación de los factores: 30g/l y 75g/l de sacarosa con 0; 1 y 2 cotiledones del portainjerto). Finalmente llegó a la conclusión que el prendimiento de *Tangelo minneola* “tangelo” fue de 7.7 % con 30g/l de Sacarosa y cero cotiledon y de *Citrus limon* var. eureka “limón” fue de 7.2 % con 75g/l de sacarosa y cero cotiledones.

Gonzáles (2002), obtuvo plantas de *Myrciaria dubia*(H.B.K.) Me. Vaugh (camu camu) mediante la técnica de microinjertación. En la que se utilizó la accesión 15-01-10 como patrón y la accesión 14-05-09 como yema, que fueron seleccionadas del campo

experimental " El Dorado" INIA en Iquitos. En este estudio se llevó a cabo 8 tratamientos (combinación de los factores: c/s cotiledón con agua destilada, MS completo, 1/2MS y 1/4MS), de los cuales el tratamiento con cotiledón y MS completo resulto mejor obteniéndose un prendimiento de 25%.

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Durazno**

En la actualidad se conoce que el lugar de origen del durazno es China, algo que tiempos atrás, erróneamente se le considero que era Persia, por ende, el nombre científico es *Prunus persica*, este error se cree que ocurrió porque antiguamente china comercializaba sus productos a Persia. Actualmente se encuentra cultivándose en casi todo el mundo, el 50% de producción mundial se lo lleva Europa, produciendo alrededor de 3.5 millones de toneladas. Así mismo mencionamos a Perú que es uno de los países americanos que también produce el durazno en todo el basto de la sierra, por presentar un clima favorable para su crecimiento y desarrollo (Aquino, 2009).

El durazno pertenece a la familia Rosaceae que se clasifica en el género *Prunus* y a la especie *persica*. Se caracteriza por ser una especie caducifolia, perenne, de ciclo anual y tiene una vida productiva de 15-20años. El sistema radicular es muy ramificado; tiene 2 tipos de yemas, floral y vegetativa y las hojas son simples, lanceoladas con bordes acerrados; mientras que las flores pueden ser de diferentes tonos entre blanco y rosado con 5 pétalos, y por último el fruto es de drupa grande presentando una epidermis delgada, mesocarpo pulposo y endocarpo carozo que contiene las semillas (Quispe, 2016).

Las variedades que presenta el durazno a nivel mundial, son muchísimas y no todas se encuentran en todos los países, varían por la preferencia del productor y por las condiciones ambientales que requiere la planta (Gratacós, 2004). Incluso en un país las variedades son diferentes de acuerdo a la zona de cultivo. En el territorio peruano las

variedades que más se cultivan en la serranía de la provincia de Huaral es el Huayco rojo seguido de Blanquillo y el patrón más utilizado es la variedad Okinawa.

#### 2.2.1.1. Durazno huayco rojo

El ciclo vegetativo de esta variedad es en promedio de siete meses. Tiene un fruto de pequeño a mediano tamaño, con una forma redonda, exocarpo amarillo y con manchas rojas que la recubren casi por completo; una variedad que presenta mayor producción y productividad favorable para el agricultor. Además, tiene bastante aceptación por la industria y el mercado; por mostrar la pulpa consistente, fibrosa y muy jugosa, de sabor agradable, con ligera acidez. (Queirolo, 2010)

#### 2.2.1.2. Durazno Okinawa

Esta variedad fue obtenida en la estación experimental de Gainesville (Florida) a partir de una planta de semilla de variedad de origen japonés. El durazno Okinawa es la que más se utiliza como patrón en la agricultura peruana porque presenta bondades como la resistencia a nematodos, fundamentalmente a las especies *Meloydogine incógnita*, *Meloydogine javanica* y *Radopholus similis*. Además, es una planta que exige bajo requerimiento de horas frío, lo que influye en la fuerza de la brotación sea más rápida. Estas características lo hacen favorable para la zona del cultivo y el agricultor. (Onofre, 2015).



**Figura 1.** *Prunus persica* (Wilhelm, 1885)

### 2.2.2. Microinjerto

El microinjerto de plantas es una técnica que se realiza a nivel del laboratorio que involucra la unión física de dos plantas a través de una reconexión vascular para generar un organismo quimérico (formado por células procedentes de distintos individuos) (Melnyk C. , 2017). Se practica ampliamente en la horticultura con el objetivo de mejorar problemas asociados con juvenilidad, oxidación, pérdida de estabilidad genética, resistencia a enfermedades con patrones resistentes y resulta eficaz para obtener plantas libres de patógenos (Criollo, 2008).

Además, Melnyk (2017) menciona que el injerto in vitro se usa en la ciencia para estudiar el movimiento a larga distancia de las moléculas como la sacarosa y la expresión de los genes que participan en unión del microinjerto.

Por ello en la actualidad gracias a estos estudios se conoce el proceso de unión de las células de los distintos individuos que se van prendiendo entre ellos, donde está ocurriendo la reparación de los tejidos cortados que se han focalizado en la diferenciación y organización celular de los elementos vasculares (Ashanina, y otros, 2002), esta acción se da por la activación secuencial de genes asociados con la formación de cambium, floema y xilema (Melnyk, y otros, 2018) generando un proceso citológico, bioquímico y estructural complejo que comienza con la adhesión de los dos socios injertados (Pina & Errea, 2005).



**Figura 2.** Microinjertación (Fuente de Nagar, 2016)



### **2.2.3. Azúcar**

#### **2.2.3.1. Sacarosa**

Los azúcares, además de sus funciones importantes como fuentes de carbono y energía, también actúan como moléculas de señalización para regular la expresión génica, una de las cuales es la sacarosa disacárida (Suc) que se transporta a través del floema desde las hojas fotosintéticas hasta los órganos como la raíz, el meristemo, la flor, la fruta en desarrollo y la semilla. (Harting & Beck, 2006)

Una disminución en los niveles de sacarosa estimula las actividades de la fotosíntesis, la movilización de nutrientes y la exportación, mientras que los niveles más altos de sacarosa inhiben la fotosíntesis estimulando el crecimiento y almacenando reserva en los tejidos del sumidero. Por otra parte, su transporte puede ocurrir apoplásmicamente en la matriz de la pared celular o simplasmáticamente a través de plasmodesmo. (Skylar, Sung, Hong, Chory, & Wu, 2011).

Además, la sacarosa sirve como soluto y sustrato osmóticamente activos para la biosíntesis de diversos productos, incluido para la expansión celular de la pared celular. Lo cual se ha demostrado mediante la invertasa vacuolar (cataliza la sacarosa) que promueve la expansión de las células en la raíz de *Arabidopsis* a través de una vía osmótica independiente (Wang, y otros, 2010).

Asimismo esta molécula juega un papel clave en la formación vascular y la cicatrización de heridas inducido por la división celular y expansión celular, aquello se confirmó en un estudio realizado por Skylar et al. (2011) donde demostró que el azúcar metabólico activa la transcripción de componentes clave del ciclo celular para la transición de G2 a M, como CYCB 1;1 y CDKB 1;1. También se comprobó que la sacarosa exógena puede activar la expresión de los reguladores mitóticos con el hipocotilo extirpado.

Recientes estudios en *Arabidopsis thaliana* han demostrado que al inicio de la unión del injerto hay una expresión génica asimétrica, es decir, los genes expresados en la parte superior injertada son diferente a los genes expresados en parte inferior injertada. Este suceso está relacionado con la expresión de gen ApL3 (gen inducido por el azúcar), lo cual se demostró con la presencia del almidón mediante la tinción de las plantas injertadas con lugol, la tinción aumento con más fuerza por encima de la unión del injerto de 48 a 72 horas después de injerto, y las 120 h la tinción fue igual en ambos, dando paso a la simetría (Melnyk, y otros, 2018).

### **2.3. Bases filosóficas**

La filosofía está comprendida por la gnoseología y la epistemología, esta última estudia el conocimiento científico; en ella hay muchas corrientes filosóficas, como el relativismo de Kuhn el cual sostiene que la naturaleza de la evidencia cambia conforme cambian las teorías científicas al igual que cambian los hechos empíricos, por lo tanto, no alcanzan la verdad absoluta. Mientras que el realismo de Popper sostiene que la única teoría verdadera, es aquella que supera todos los intentos de falsación (Mercado, 2007).

No obstante, dentro del campo de ciencias biológicas la teoría celular incorpora a la teoría de la biología molecular la cual tiene su sustento en la experimentación, inducción y probabilidad (Rubio, 2009) rechazando lo mencionado por Kuhn y Popper ya que las teorías mencionadas presentan un mayor grado de complejidad, pluralista, sistemático y holista (Martínez, 2015).

Por otra parte, el avance científico ha hecho que el ser humano dependa en su mayor parte de la bioinformática y biotecnológica impidiendo su reflexión sobre su autonomía y naturaleza. Por ello, la ética permite el control social de la biotecnología racionalizando en los principios científicos para favorecer a la sociedad. Así pues, se impulsa dar al

público una mayor información científica para que se esclarezcan sus dudas sobre el pensamiento biotecnológico (Martínez, del Valle Lárez de Rodríguez, & Jesús, 2017).

La Declaración Bioética de Gijón 2000 compromete a los países desarrollados dar a conocer los aportes de las biociencias y sus tecnologías a los habitantes de los lugares menos favorecidas del planeta aportando a su bienestar; además, la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos de la UNESCO (2005) ha precisado que el bienestar de la persona se antepone a los intereses exclusivos de la ciencia o la sociedad (Ikeda, 2017).

Tal avance científico implica un potencial de efectos positivos, pero también negativos, tales efectos generan una expansión científica, por ello debe acompañarse de una ponderación bioética; la cual sólo será eficaz si logra generar mecanismos de recomendación y de resolución que ayuden a regular las actividades biotecnológicas en respeto del bien común (Schramm & Lang, 2001).

#### **2.4. Definiciones conceptuales (definición de términos básicos)**

**Microinjerto:** El microinjerto de plantas es una técnica que se realiza a nivel del laboratorio que involucra la unión física de dos plantas a través de una reconexión vascular para generar un organismo quimérico (formado por células procedentes de distintos individuos).

**Variación:** Es la parte superior del microinjerto. Generalmente es un tejido meristemático o un brote.

**Portainjerto:** Es la parte inferior del microinjerto que vendría ser el soporte. Típicamente un tallo o raíz.

**Prendimiento:** es un proceso donde las células de los distintos individuos se van prendiendo entre ellos, en la cual está ocurriendo la reparación de los tejidos cortados

que se han focalizado en la diferenciación y organización celular de los elementos vasculares en el proceso de conexión del tejido.

**Sacarosa:** es una molécula que está compuesta de los dos monosacáridos: la D-glucosa y la D-fructosa. Es esencial para que una planta tenga un buen crecimiento en los medios de cultivo “in vitro”, ya que la sacarosa es parte del proceso de la fotosíntesis de las plantas como del metabolismo de las mismas. Además, actúa como molécula de señalización en el ciclo celular y expansión celular.

**Floema:** tejido vascular compuesto por células conductoras vivas que transporta hormonas, azúcares, ácido nucleicos y proteínas por todas las partes de la planta.

**Xilema:** tejido vascular está compuesto de fibras muertas que da soporte mecánico, elementos traqueales muertos que transporta agua y nutrientes y células epidérmicas vivas.

**Cambium:** es un tejido indiferenciado parecido a las células madres que se dividen y se diferencian para dar a lugar a las células del floema y xilema. Para que ocurra la diferenciación de estos tejidos es necesario el desarrollo primario (crecimiento de brotes y punta de raíz) conocido como el procambium y el desarrollo secundario (engrosamiento del tallo y raíz) conocido como cambium.

## **2.5. Hipótesis**

### **2.5.1. Hipótesis general**

El aumento en la concentración de sacarosa favorece el prendimiento del microinjerto de *Prunus persica* “Durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa.

### **2.5.2. Hipótesis específico**

La variación de las concentraciones de sacarosa tiene efecto en la unión del xilema y floema de las variedades Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*.

El prendimiento del xilema y floema se evidencia a través cortes histológicos entre las variedades de Huayco rojo y Okinawa de *Prunus pérsica*.

A mayor concentración de sacarosa, mayor tamaño de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades huayco rojo y Okinawa de *Prunus pérsica*.

A mayor concentración de sacarosa, mayor número de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades huayco rojo y Okinawa de *Prunus pérsica*.

## 2.6. Operacionalización de las variables

Tabla 1:Operacionalización de las variables

VARIABLES	Dimensión	Indicadores	MEDICIÓN	
			Criterio	Escala
<p><b>INDEPENDIENTE</b></p> <p><b>Concentración de sacarosa:</b></p> <p><b>a) Definición Conceptual</b></p> <p>Es la proporción entre la cantidad de soluto y la cantidad de solvente en una solución química.</p> <p><b>b) Definición Operacional</b></p> <p>Valor g/L de sacarosa por volumen de agua destilada.</p>	concentración de sacarosa	La cantidad de sacarosa g/L, según niveles de concentración.	Niveles de sacarosa T <sub>1</sub> : 25g/L T <sub>2</sub> : 30g/L T <sub>3</sub> : 35g/L T <sub>4</sub> : 40g/L T <sub>5</sub> : 45g/L	RAZON O PROPORCIONAL
<p><b>DEPENDIENTE:</b></p> <p><b>Prendimiento del microinjerto</b></p> <p><b>a) Definición Conceptual</b></p> <p>Es un proceso donde las células vegetales de los distintos individuos se van prendiendo entre ellos para una reparación de tejidos</p> <p><b>b) Definición Operacional</b></p> <p>Es la unión de diferentes tejidos vegetales en un medio de cultivo con componentes requeribles para el prendimiento de las variedades de la planta</p>		-prendimiento de xilema y floema -Tamaño de hojas. -N° de hojas	<p>Nivel de prendimiento:</p> <p>Bajo:0 a 25%</p> <p>Medio:25 a 50%</p> <p>Alto: 50 a 75%</p> <p>Muy alto: 75 a 100%</p> <hr/> <p>Niveles de Tamaño de hojas(mm)</p> <p>Pequeño:1-13</p> <p>Mediano:14-27</p> <p>Grande 28-40</p> <hr/> <p>Niveles de N° de hojas:</p> <p>Escaso:0-1</p> <p>Regular:2-4</p> <p>Abundante:5 a mas</p>	

**Variable independiente:** efecto de las concentraciones de sacarosa.

**Variable dependiente:** Prendimiento del microinjerto de *Prunus persica* “durazno” entre var. Huayco rojo y var. Okinawa.

## **CAPITULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1. Diseño metodológico**

#### **3.1.1. Tipo de investigación.**

El tipo de investigación es aplicada. Este estudio busca obtener nuevos conocimientos a partir de descubrimientos y avances de la investigación básica. El conocimiento de la acción de la sacarosa en la regeneración de los tejidos permitirá obtener prendimiento del microinjerto de las variedades de *Prunus persica*

#### **3.1.2. Nivel de investigación.**

El nivel de investigación, es explicativo, ya que busca determinar la relación causa efecto entre las variables independientes y dependientes. En este estudio se explica la relación causal entre la las concentraciones de sacarosa y el prendimiento de las variedades de *Prunus persica* en la microinjertación.

#### **3.1.3. Diseño.**

El diseño de investigación es experimental. Esta investigación no solo se trata de identificar características que se estudian, sino que también las controla, las altera o manipula con el fin de observar los resultados en un tiempo determinado para que no influya otros factores que no corresponde en el estudio. En este estudio se manipula y controla las concentraciones de sacarosa con el fin de observar cuan efectivo es para el prendimiento de los microinjertos de las variedades de *Prunus persica*. Los Microinjertos son distribuidos en un Diseño Experimental Completamente al Azar (DCA) con 5 tratamiento (concentraciones de sacarosa en g/L) y 20 unidades (plántulas injertadas) por tratamiento. En total se utilizará 100 plántulas.

#### **3.1.4. Enfoque.**

El enfoque es cuantitativo. En este estudio se hace la recopilación de datos numéricos, la medición de fenómenos y prueba hipótesis y teorías. La parte cuantitativa de este

estudio es medir la cantidad de las concentraciones de sacarosa que se agregará en el medio de cultivo y cantidad del microinjerto de *Prunus persica*.

### **3.2. Población y muestra**

#### **3.2.1. Población**

La población es constituida por todas las repeticiones de evaluación de las unidades muestrales; por lo cual la población tiende al infinito.

#### **3.2.2. Muestra**

La confiabilidad de la muestra fue determinada por la representatividad y tamaño muestral de las unidades de análisis; la misma que se estimará a través del siguiente estadístico (Ostle, 1981).

$$n = \frac{Z^2 P \cdot Q}{(E)^2}$$

Donde:

n: Tamaño de muestra (n = 100)

Z: Estadístico de prueba (1.96; con  $\alpha = 0.05$  de significancia)

P = Q = 0.50

E = Error muestral (9.8 %).

### **3.3. Técnicas de recolección de datos**

#### **3.3.1. Técnicas a emplear**

##### **3.3.1.1. La técnica del Microinjerto**

El microinjerto es un acoplamiento físico a través de los tejidos tisulares entre dos individuos, donde se produce una unión y existe un crecimiento.

#### **Lugar de ejecución**

El presente trabajo de tesis se desarrolló en el laboratorio de biotecnología vegetal de cultivo de tejidos en el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA)-DONOSO,



Huaral-Lima, y los cortes histológicos se realizó en el laboratorio de fitopatología del Instituto Educación tecnológico Huando-Huaral.

### *3.3.1.2. Obtención de dos Var. Okinawa y Huayco rojo de durazno para microinjerto.*

**Patrón para el microinjerto:** las semillas de durazno de la var. Okinawa de cinco años de edad fueron obtenidas de los campos de la Estación Experimental Agraria INIA DONOSO-Huaral a una ubicación de 11°31'02''S 77°13'44''W.

**Variedad a injertar:** para la microinjertación se empleó plántulas de la etapa de multiplicación obtenida de nódulos axilares de las plantas de vivero variedad Huayco rojo de durazno, provenientes de la Av. Los Naturales de la provincia de Huaral-Lima.

### *3.3.1.3. Tratamiento de desinfección y siembra para la obtención de plántulas portainjerto Huayco Rojo en condiciones in vitro.*

#### **Desinfección y preservación del material vegetal Huayco Rojo**

Se cortaron 10 trozos de ramas de 20cm de longitud en el campo con tijera de podar, luego se llevó al laboratorio para su lavado con agua potable, para desprender partículas de suciedad; seguidamente se introdujeron en un recipiente conteniendo una solución de jabón líquido formando suficiente lavaza, esta solución cubrió las ramas por completo para su nuevo lavado dando paso a enjuagar con agua destilada estéril, una vez de ello se le agregó alcohol al 70° y se secó con papel toalla. Estos se colocaron en una solución desinfectante de fungicidas y bactericidas para contrarrestar la contaminación del material vegetal, las cuales fueron; sulfato de cobre pentahidratado a 1.5g/L, benomyl a 1g/L, cloranfenicol a 0.5g/L, oxitetraciclina a 0.95g/L, ácido ascórbico a 2g/L, ácido cítrico 4g/L. Inmediatamente se preservó en frío, en un refrigerador a 4°C por 24h (Cabrera, 2003).

#### **Desinfección de explantes a nivel de laboratorio.**

Una vez transcurrido el periodo de refrigeración se dejó remojando en agua esterilizada, luego se trasladó a un beacker conteniendo una solución de alcohol al 70% por 2 min, después del término de los minutos se enjuagó con agua esterilizada para quitar el exceso de alcohol. Seguidamente se pasó a una solución de cloro al 5% v/v por 5 min. Este mismo se trasladó a una cámara de flujo laminar previamente esterilizado, en donde se realizó tres lavados con agua estéril. En un recipiente conteniendo una solución de ácido cítrico de 0.15g/L ya esterilizada se introdujo el material vegetal y se cubrió con papel aluminio (Guevara, y otros, 2016)

### **Siembra de nódulos axilares de la variedad Huayco Rojo.**

Se utilizó los explantes que se preservaron en el ácido cítrico 0.15g/L del paso anterior. Estos trozos de explantes se traspasaron en una caja Petri conteniendo 5ml de una solución de ácido cítrico al 0.1g/L en donde se cortaron dos centímetros con la ayuda de un bisturí N°11. Luego de haber cortado el explante, se introdujo con una pinza dentro de un frasco de vidrio con Medio de cultivo Woody Plant (MWP) (contiene polivinilpilorridona un antioxidante 0,9g/L) de 30ml con un pH de 5.7, (Cabrera, 2003) teniendo mucho cuidado de colocarlo en el centro, se tapó y se identificó debidamente. Seguidamente se llevaron a la cámara de incubación a una temperatura de 24°C con 16 horas de luminosidad y ocho horas de oscuridad en donde se observó durante 20 días

### **Brotación de la variedad Huayco Rojo:**

En esta fase se utilizó plántulas no contaminadas obtenida de la fase anterior, que se trasladaron en frascos de vidrio con MWP de 30 ml en estado sólido con un pH de 5.7 en la cual se agregan las dosis siguientes: 3 mg/l de BAP (bencilaminopurina), 0.1 mg/l de IBA (ácido indol butírico) y 0.1mg/L GA. Los frascos con las plántulas brotadas son colocados en una cámara de incubación a una temperatura de 24°C con

16 horas de luminosidad y ocho horas de oscuridad en donde se observó durante 30 días (Azpeitia, Zapata, & Nava, 1993).

### **Multiplicación**

En esta etapa se llevó a cabo con las plántulas seleccionadas de la etapa anterior, con las que mostraron características favorables, sin contaminación, vigorosas y con buenos brotes. Luego fueron sembradas en un frasco de vidrio que contiene 30 ml de MWP con un pH de 5.7 conteniendo 4mg/l de BAP (Bencilaminopurina), 0.2 mg/l de IBA (ácido indol butírico) y 0.02mg/L ANA (Acido Naftalenacético), finalmente incubadas a una temperatura de 24°C con 16 horas de luminosidad y ocho horas de oscuridad en donde se observó durante 45 días (Azpeitia, Zapata, & Nava, 1993)

### **Elongación de la variedad Huayco Rojo**

En esta última etapa las plántulas que mostraron características favorables, sin contaminación, vigorosas y con buenos brotes en la etapa anterior fueron sembradas en un frasco de vidrio que contiene 30 ml de MWP 1mg/L de IAA (Acido Indolacético), 0,1mg/L de GA, 0.06mg/L de BAP con un pH de 5.7 y finalmente incubadas a una temperatura de 22°C con 16 horas de luminosidad y ocho horas de oscuridad en donde se observó durante 20 días (Balla & Mansvelt, 2013)

#### ***3.3.1.4. Desinfección y siembra de semillas de la variedad Okinawa en condiciones in vitro***

### **Desinfección de semillas de Okinawa**

El endocarpio del melocotón se lavó con una solución de detergente y con la ayuda de un cepillo se retiraron los residuos del mesocarpio para evitar contaminación, luego se enjuagó con abundante agua, seguidamente se desinfectó el endocarpio con una solución de NaClO al 15% por 15 minutos, se enjuagó tres veces con agua destilada y se pasaron a secar para su posterior rompimiento del endocarpio con la ayuda de un

martillo previamente desinfectado para liberar las semillas que luego fueron colocadas en una solución de NaClO al 1% y que se refrigeraron a 4°C por 48h (Conejeroa, y otros, 2012).

Después del tiempo fijado en una cámara de flujo laminar las semillas se pasaron a 70° de alcohol por 1 minuto, pasado este tiempo se enjuagó con agua destilada luego se sumergieron en una solución de NaClO al 15% durante 10 minutos, transcurrido el tiempo se enjuagó tres veces con agua destilada y en una placa con ayuda de pinzas se retiraron en su totalidad el tegumento de la semilla.

**Siembra:** las semillas sin tegumento son sembradas en un tubo de ensayo de 170 x30mm que contiene 40 ml de MWP. Los cuales se mantuvieron a 22°C con una intensidad lumínica de 16h luz/8h oscuridad hasta que el epicotilo llegue a un tamaño de 2 cm.

#### ***3.3.1.5. Microinjerto.***

Los portainjertos (Okinawa) en condiciones estériles se les hizo un corte a 2cm del cuello con la ayuda de un estereoscopio y un bisturí N°11. Luego la plántula de la variedad (Huayco rojo) seleccionada de la etapa de la elongación se colocó mediante la técnica de púa (Bonilla & Mesa, 2018) sobre la superficie decapitada y en contacto con la zona vascular. La operación se realizó sobre una caja Petri estéril. Una vez realizada el injerto in vitro se introdujo en tubos 25x 150mm que se preparó previamente con MWP con un pH de 5.7 además de las concentraciones de sacarosa (25, 30, 35, 40 y 45) g/l de manera que el sistema radicular quede en contacto con el medio nutritivo. Los microinjertos se incubaron en una cámara de ambiente controlado a 24 °C con 16h luz/d. El periodo de incubación fue de 35 días (Lihua, 2018).

#### **3.3.1.6. Conexión del xilema**

El microinjerto se introdujo en una solución de fucsina acida al 0.1% sumergiendo las raíces en la solución a temperatura ambiente, se toma en cuenta que el hipocotilo de la variedad injertada no entre en contacto manteniéndose por encima de la solución. El cotiledón de la variedad debe volverse rojo en las venas vasculares dentro de 1 a 2 h. Lo que indica que el xilema del huayco rojo y el Okinawa han sido conectados (Yin et al., 2012).

#### **3.3.1.7. Conexión del floema**

La conexión del floema se determinó mediante la prueba de yodo. La plántula de durazno se sumergió en una solución de fijación (3.7% formaldehído, 50% etanol y 5% de ácido acético) durante una hora a temperatura ambiente lo cual se transfirió a 70% de etanol por 10min. Posteriormente, las plantas se transfirieron a 96% de etanol que se almacenó a -20°C durante una semana. La rehidratación de las muestras se realizó en 50% de etanol durante una hora a temperatura ambiente luego se transfirieron en agua destilada por 30 min y posteriormente se teñirán en una solución de lugol durante 10 min a temperatura ambiente. Las plantas se enjuagaron en agua destilada y se montaron en portaobjetos para observar en el microscopio. Si se observa un color marrón oscuro uniforme en toda la planta indica que hay conexión del floema (Melnyk et al., 2018).

#### **3.3.1.8. Número y tamaño de las hojas**

El número y tamaño de las hojas se midió después del prendimiento con una regla de 20cm.

### 3.3.1.9. Evidencia Histológica

Se realizó un corte longitudinal con bisturí N°11 para evidenciar el grado de prendimiento del xilema y el floema en la región de la unión del microinjerto en la que se empleó el estereoscopio Euromex modelo EC-2215251 y el microscopio Motic modelo BA310E. Para las evidencias histológicas se utilizó el laboratorio de fitopatología del Instituto de Educación Superior Tecnológico Huando-Huaral

### 3.3.2. Descripción de los instrumentos de datos

**Potenciómetro modelo HANNA INSTRUMENTS modelo PH 211**

**Microprocessor pH meter:** que mide las unidades de pH del medio de cultivo a utilizar en cada proceso la validez para obtener buenos resultados es calibrar el instrumento.

**Balanza analítica marca OHAUS modelo PX3202/E:** se utilizó para determinar el peso de las sustancias para el medio. La validez se realizó mediante calibraciones del instrumento para obtener resultados confiables.

**Estereoscopio OLYMPUS modelo VMZ 1X-4X** se utilizó para realizar la unión del microinjerto de las variedades del *Prunus persica*. La validez del instrumento en las calibraciones del instrumento.

**Estereoscopio Euromex modelo EC-2215251** se utilizó evidenciar los cortes histológicos de la unión del microinjerto de las variedades del *Prunus persica*. La validez del instrumento en las calibraciones del instrumento.

**Microscopio Motic modelo BA310E** se utilizó para observar la estructura histológica y la conexión del floema y xilema. Para obtener la validez de los resultados se calibró el instrumento.

**La cámara de incubación** será el cuarto de incubación que se utilizó para darle las condiciones adecuadas, intensidad lumínica, temperatura, oscuridad entre otros hasta

que se desarrolla la plántula. Para obtener la validez de los resultados se calibró el instrumento.

**Cámara de flujo laminar TELSTAR modelo AV-30/70** se utilizó para trabajar con las muestras en condiciones asépticas sin contaminación. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.

**Autoclave marca SYSTEC modelo VB-40** se utilizó para esterilizar el medio de cultivo y materiales de vidrio a utilizar en cada proceso. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.

**Destilador marca RELES modelo DL/O 5L** se utilizó para obtener agua destilada a utilizar en cada proceso. Para obtener la validez de los resultados se calibró el instrumento.

**Refrigerador marca SAMSUNG modelo RS64R5311M9** se utilizó para refrigerar las muestras en cada proceso. Para obtener la validez de los resultados se calibró el instrumento.

**Agitador Magnético marca KOSSODO modelo F20500162** se utilizará para disolver los reactivos del medio de cultivo en cada proceso. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.

**Dispensador marca HIRASAWA modelo TYPE FH-10S** se utilizó para verter el medio de cultivo en los frascos de vidrio en cada proceso. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.

#### **3.4. Técnica para el procesamiento de la información**

El procesamiento de datos se realizó con la estadística descriptiva, análisis de varianza (ANOVA), análisis de varianza y regresión bifactorial para determinar si hay diferencias entre tratamientos con un límite de confianza del 95%, si existe esta diferencia se empleará una prueba de Fisher para realizar las comparaciones a 0.05.

## **CAPITULO IV. RESULTADOS**

### **4.1. análisis de resultados**

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal determinar el efecto de la concentración de sacarosa en el prendimiento del microinjerto de *Prunus persica* “durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa; teniendo como objetivos específicos evidenciar histológicamente el prendimiento del xilema y floema; así como determinar la influencia de sacarosa sobre la unión del xilema y floema, tamaño y número de hojas en el microinjerto. Por tal razón los datos obtenidos se han procesado mediante estadística descriptiva, análisis de varianza y la prueba de homogeneidad de medias de Fisher. Los que se presentan en las tablas y graficas pertinentes.

#### **4.1.1. Estadística descriptiva para prendimiento, tamaño y numero de hojas por semanas y tratamiento.**

En la **Tabla 2 y Grafica 1-3**, se presenta la **estadística descriptiva** de prendimiento, tamaño y numero de hojas por semana y total de las mismas. Al observar la Tabla y Grafica 1 se detecta que, para prendimiento, la media de la semana 4 tiene el valor más alto (2) en el tratamiento 1; seguido del tratamiento 5 (1.75); el cual es igual al tratamiento 1 de la semana 5; ocupando el tercer lugar (1.5) el tratamiento 3 de la semana 2 que es igual al tratamiento 1 y 5 de la semana 3; e igual al tratamiento 5 de la semana 5.

En la misma tabla las medidas de dispersión para el prendimiento indican que existe alta heterogeneidad como lo señala el coeficiente de variación ( $CV > 100\%$ ); con excepción de los tratamientos que no tienen prendimiento que tienden al valor 0 (tratamiento 1, 2, 4,5 de la semana 2 y el tratamiento 4 de la semana 3).

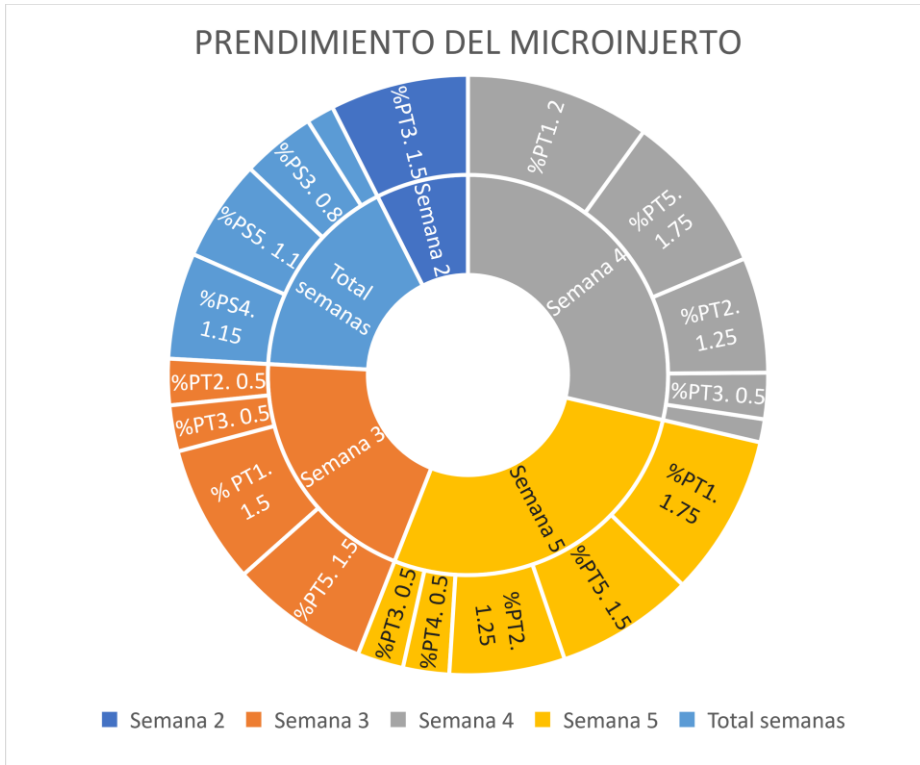


En la misma tabla y grafica 2 se detecta que, para el tamaño de hoja, la media de la semana 5 tiene el valor más alto (6.04) en el tratamiento 1; en segundo lugar (5.25) el tratamiento 5 de la semana 5; y en tercer lugar (5.23) el tratamiento 1 de la semana 4. Para esta variable las medidas de dispersión indican que existe altísima heterogeneidad ( $CV > 100\%$ ) con excepción de los tratamientos que tienen 0 (tratamiento 1, 2, 4,5 de la semana 2 y el tratamiento 4 de la semana 3)

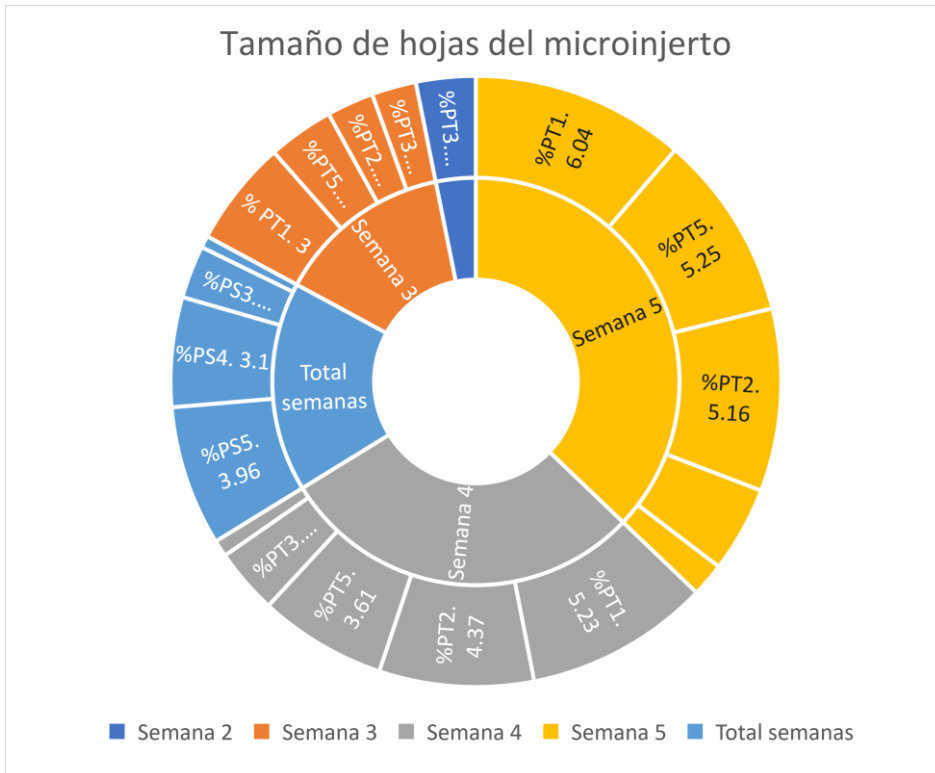
Para la variable de numero de hojas (Tabla 1 y Grafica 3), se detecta en la media el valor más alto (2.65) en el tratamiento 1 de la semana 5; en segundo lugar (1.60) el tratamiento 1 de la semana 4 y en tercer lugar (1.40) el tratamiento 5 de la semana 5. Para esta variable las medidas de dispersión indican que existe alta heterogeneidad ( $CV > 100\%$ ) con excepción de los tratamientos que no crecieron hojas que tiene 0 (tratamiento 1, 2, 4,5 de la semana 2 y el tratamiento 4 de la semana 3).

**Tabla N°2:** Estadística descriptiva de prendimiento, tamaño y numero de hojas por semana y total.

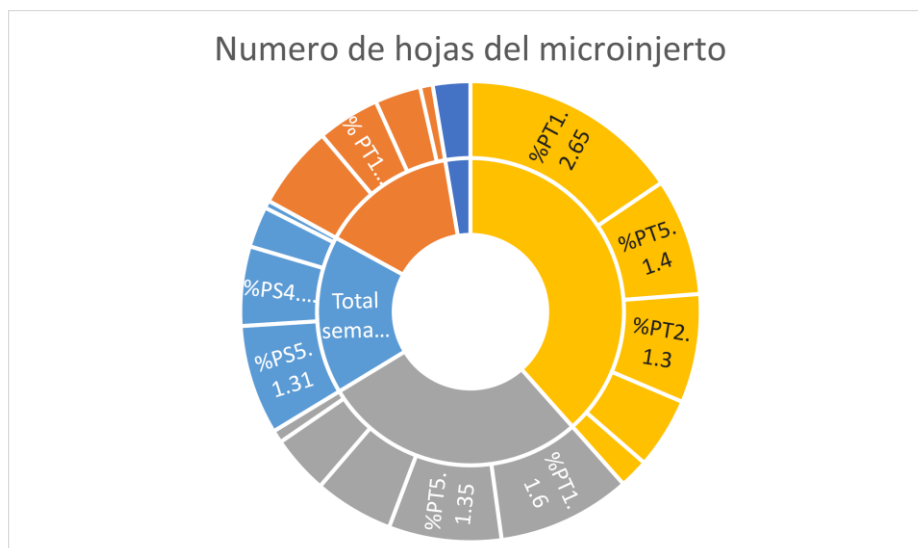
Estadística descriptiva	Prendimiento						Tamaño de hojas (TH)				Numero de hojas (NH)			
	Tratamientos	N	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	CoefVar	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	CoefVar	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	CoefVar
Semana 2	%PT1	20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	%PT2	20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	%PT3	20	1.50	0.53	2.35	156.72	1.69	0.63	2.80	165.42	0.45	0.19	0.83	183.46
	%PT4	20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	%PT5	20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Semana 3	%PT1	20	1.50	0.53	2.35	156.72	3.00	1.15	5.15	171.92	0.75	0.32	1.45	192.85
	%PT2	20	0.50	0.34	1.54	307.79	1.33	0.92	4.12	310.76	0.15	0.11	0.49	326.24
	%PT3	20	0.50	0.34	1.54	307.79	1.26	0.87	3.88	308.70	0.55	0.35	1.57	285.81
	%PT4	20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	%PT5	20	1.50	0.53	2.35	156.72	1.86	0.72	3.23	173.74	1.00	0.38	1.72	171.68
Semana 4	%PT1	20	2.00	0.56	2.51	125.66	5.23	1.51	6.76	129.19	1.60	0.58	2.58	161.46
	%PT2	20	1.25	0.50	2.22	177.70	4.37	1.80	8.04	183.92	0.95	0.39	1.76	185.41
	%PT3	20	0.50	0.34	1.54	307.79	1.85	1.29	5.75	310.90	0.70	0.49	2.18	311.26
	%PT4	20	0.25	0.25	1.12	447.21	0.47	0.47	2.09	447.21	0.15	0.15	0.67	447.21
	%PT5	20	1.75	0.55	2.45	139.82	3.61	1.18	5.26	145.72	1.35	0.48	2.16	159.91
Semana 5	%PT1	20	1.75	0.55	2.45	139.82	6.04	1.94	8.66	143.44	2.65	0.90	4.04	152.56
	%PT2	20	1.25	0.50	2.22	177.70	5.16	2.09	9.37	181.64	1.30	0.53	2.36	181.86
	%PT3	20	0.50	0.34	1.54	307.79	2.43	1.70	7.59	312.57	0.85	0.59	2.62	308.38
	%PT4	20	0.50	0.34	1.54	307.79	0.95	0.65	2.93	309.52	0.35	0.26	1.18	337.74
	%PT5	20	1.50	0.53	2.35	156.72	5.25	1.90	8.51	162.20	1.40	0.68	3.03	216.65
Total semanas	%PS2	100	0.30	0.12	1.19	397.81	0.34	0.14	1.40	414.37	0.09	0.04	0.40	449.33
	%PS3	100	0.80	0.18	1.84	230.28	1.49	0.38	3.77	253.25	0.49	0.13	1.28	260.25
	%PS4	100	1.15	0.21	2.12	183.89	3.10	0.61	6.05	195.01	0.95	0.20	2.01	211.26
	%PS5	100	1.10	0.21	2.08	189.24	3.96	0.79	7.85	198.22	1.31	0.29	2.86	218.00



**Grafica N° 1: Medias de prendimiento del microinjerto**



**Grafica N° 2: Medias de tamaño de hojas del microinjerto**



**Grafica N° 3: Medias de numero de hojas del microinjerto**

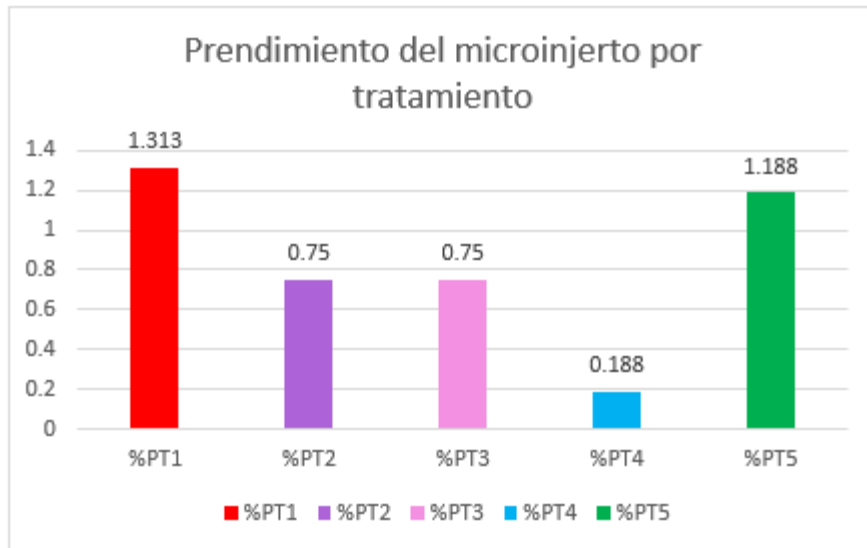
En la tabla N°3 y Grafica 4-6, se presenta la estadística descriptiva de prendimiento, tamaño y numero de hojas **por tratamiento**. Al observar la Tabla y Grafica 4, se detecta que, para prendimiento, la media con mayor valor (1,313) es el tratamiento uno; en segundo lugar (1.188) es el tratamiento cinco y el tercer lugar (0.750) son el tratamiento 2 y 3. En la misma tabla las medidas de dispersión para el prendimiento indican que existe alta heterogeneidad como lo señala el coeficiente de variación (CV > 100%) en todos los tratamientos.

En la misma tabla y Gráfica N° 5, en cuanto a tamaño de hoja, la media con el valor más alto (3.566) es el tratamiento 1; seguido del tratamiento dos (2.713) y en el tercer lugar (2.678) el tratamiento 5. Las medidas de dispersión para el tamaño de hojas indican que existe alta heterogeneidad en el coeficiente de variación (CV > 100%) en todos los tratamientos.

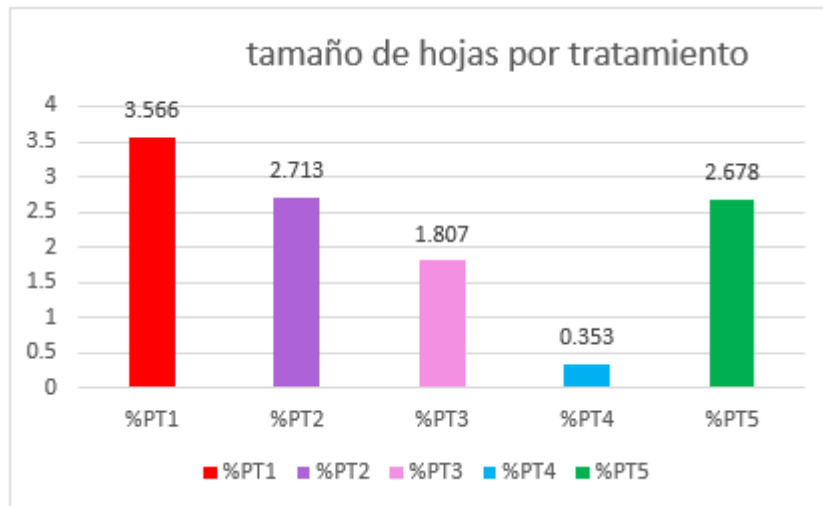
En la variable número de hojas (Tabla N° 3 y Gráfica N° 6), la media más alta corresponde al tratamiento uno (1.250), en segundo lugar, el tratamiento cinco (0.938) y en el tercer lugar el tratamiento tres (0.637). Las medidas de dispersión para el número de hojas muestran que existe altísima heterogeneidad en el coeficiente de variación (CV > 100%) en todos los tratamientos.

**Tabla N°3:** Estadística descriptiva del prendimiento, tamaño y número de hojas por tratamiento.

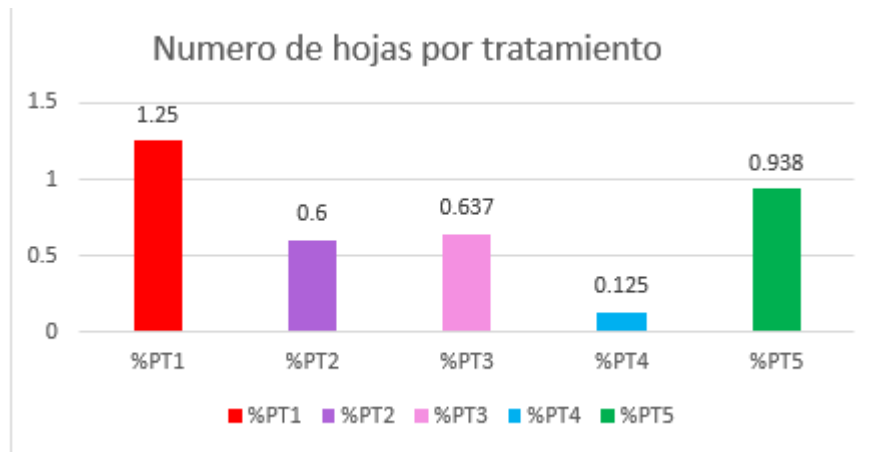
Factores	Prendimiento					Tamaño de hojas				Número de hojas			
	Variable	N	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	CoefVar	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	CoefVar	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.
%PT1	80	1.313	0.248	2.214	168.67	3.566	0.715	6.399	179.46	1.250	0.296	2.651	212.04
%PT2	80	0.750	0.201	1.797	239.55	2.713	0.752	6.728	248.01	0.600	0.175	1.564	260.64
%PT3	80	0.750	0.201	1.797	239.55	1.807	0.587	5.246	290.24	0.637	0.211	1.891	296.62
%PT4	80	0.188	0.107	0.956	509.82	0.353	0.202	1.806	511.62	0.1250	0.0763	0.6820	545.64
%PT5	80	1.188	0.239	2.141	180.31	2.678	0.617	5.517	206.04	0.938	0.234	2.089	222.81



**Grafica N° 4: Medias del prendimiento del microinjerto**



**Grafica N° 5: Medias del tamaño de hojas del microinjerto por tratamiento**



**Grafica N° 6: Medias del número de hojas del microinjerto por tratamiento**

**4.1.2. Análisis de varianza unifactorial para prendimiento, tamaño y numero de hojas por semanas y tratamiento.**

En la **Tabla N°4** se presentan los valores del **análisis de varianza unifactorial** para prendimiento, tamaño y numero de **hojas por semana y total**. al observar la tabla se detecta que para las semanas 3, 4 y 5 no existen diferencias significativas ( $p = 0.05$ ) entre tratamientos para tamaño y número de hojas; mientras que el resto de tratamientos tanto para prendimiento, tamaño y número de hojas de las semanas 2, 3, 4, 5 y total muestran diferencias significativas entre ellos.

En la **Tabla N°5** se presentan los valores del análisis de varianza unifactorial para prendimiento, tamaño y numero de hojas por el total de tratamientos. Al observar la tabla se revela que para todos los tratamientos hay diferencias significativas ( $p = 0.05$ ).

Tabla N°4: análisis de varianza unifactorial para prendimiento, tamaño y numero de hojas por semana y total

Análisis de varianza	Prendimiento						Tamaño de hojas (TH)					Numero de hojas (NH)				
	Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Semana 2	Factor	4	36.00	9.000	8.14	0.000	4	45.79	11.447	7.31	0.000	4	3.240	0.8100	5.94	0.000
	Error	95	105.00	1.105			95	148.79	1.566			95	12.950	0.1363		
	Total	99	141.00				99	194.58				99	16.190			
Semana 3	Factor	4	36.00	9.000	2.85	0.028	4	94.03	23.51	1.70	0.156	4	13.74	3.435	2.22	0.073
	Error	95	300.00	3.158			95	1310.61	13.80			95	147.25	1.550		
	Total	99	336.00				99	1404.64				99	160.99			
Semana 4	Factor	4	46.50	11.625	2.79	0.031	4	298.0	74.50	2.12	0.084	4	25.70	6.425	1.64	0.172
	Error	95	396.25	4.171			95	3330.6	35.06			95	373.05	3.927		
	Total	99	442.75				99	3628.6				99	398.75			
Semana 5	Factor	4	26.50	6.625	18.02	0.000	4	376.8	94.20	1.56	0.191	4	58.74	14.685	1.86	0.123
	Error	95	34.922	0.3676			95	5726.7	60.28			95	748.65	7.881		
	Total	99	61.422				99	6103.5				99	807.39			
Total semanas	Factor	3	45.69	15.229	4.47	0.004	3	789.3	263.10	9.19	0.000	3	85.04	28.347	8.11	0.000
	Error	396	1348.75	3.406			396	11332.6	28.62			396	1383.32	3.493		
	Total	399	1394.44				399	12121.9				399	1468.36			

Tabla N°5: Análisis de varianza del prendimiento, tamaño y numero de hojas por todos los tratamientos

factores	Prendimiento						Tamaño de hojas				Numero de hojas			
	Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Total tratamientos	Factor	4	62.87	15.719	4.66	0.001	473.6	118.40	4.02	0.003	56.24	14.059	3.93	0.004
	Error	395	1331.56	3.371			11647.6	29.49			1412.12	3.575		
	Total	399	1394.44				12121.2				1468.36			



#### **4.1.3. homogeneidad de promedios para prendimiento, tamaño y numero de hojas por semanas y tratamiento con la prueba de Fisher.**

En la **tabla N°6** y **Gráficas N°7-9**, se presentan los valores de la prueba de Fisher para la homogeneidad de promedios de prendimiento, tamaño y numero de hojas por semanas y total; donde se demuestra que el prendimiento del %PT3 de la semana dos es diferente a los %PT5, %PT4, %PT2 y %PT1; los cuales, estadísticamente, son iguales entre sí. Mientras que, en la semana tres el %PT5 es el más elevado, pero estadísticamente igual al %PT1, %PT3 y %PT2; y a la vez el %PT2 es igual a %PT3 y %PT4.

Por otro lado, en la semana cuatro el valor más elevado es el tratamiento %PT1, pero estadísticamente igual al %PT5 y %PT2. Además %PT5 es igual %PT2 y %PT3, asimismo %PT2 es igual %PT3 y %PT4. Respecto a la semana cinco el %PT1 se muestra por encima de los demás tratamientos, pero estadísticamente es igual al %PT5; es más, este mismo, es igual estadísticamente al %PT2. No obstante, el %PT4 y %PT3 son diferentes a las demás y la vez estadísticamente iguales entre sí.

Por último, en el total del prendimiento el valor más alto lo revela el %PS4, aunque estadísticamente igual %PS5 y al %PS3. Además %PS3 estadísticamente muestra equivalencia al %PS2.

En el caso de tamaño de hojas el TH3 de la semana dos es diferente a los TH5, TH4, TH2 y TH1; los cuales, estadísticamente, son iguales entre sí. Mientras que, en la semana tres el TH1 es el más elevado, pero estadísticamente igual al TH5, TH2 y TH3 y, a la vez el TH5 es igual a TH2, TH3 y al TH4. Por otro lado, en la semana cuatro el valor más elevado es el tratamiento TH1, pero estadísticamente igual al TH2, TH5 y TH3. Además, TH5 es igual a TH3 y al TH4.

En cuanto a la semana 5 el tratamiento TH1 muestra un valor por encima de los demás, no obstante, es igual estadísticamente TH5, TH2 y al TH3. Además, TH5 muestra

igualdad con TH2, TH3, TH4. Por último, en el total del tamaño de hoja el valor más alto lo revela el THS5, aunque estadísticamente es igual al THS4, mostrando una diferencia entre el THS3 y THS2; los cuales son iguales entre sí.

Respecto al número de hojas el NH3 de la semana dos es diferente a los tratamientos NH5, NH4, NH2 y NH1 los cuales, estadísticamente, son iguales entre sí. Mientras que, en la semana tres el NH5 es el más elevado, pero estadísticamente igual al NH1 y NH3 y, a la vez el NH1 es igual a NH3, NH2 y al NH4. Por otro lado, en la semana cuatro el NH1 muestra el mayor valor, pero estadísticamente igual al NH5, NH2 y NH3; asimismo el NH5 es igual a NH2, NH3 y NH4.

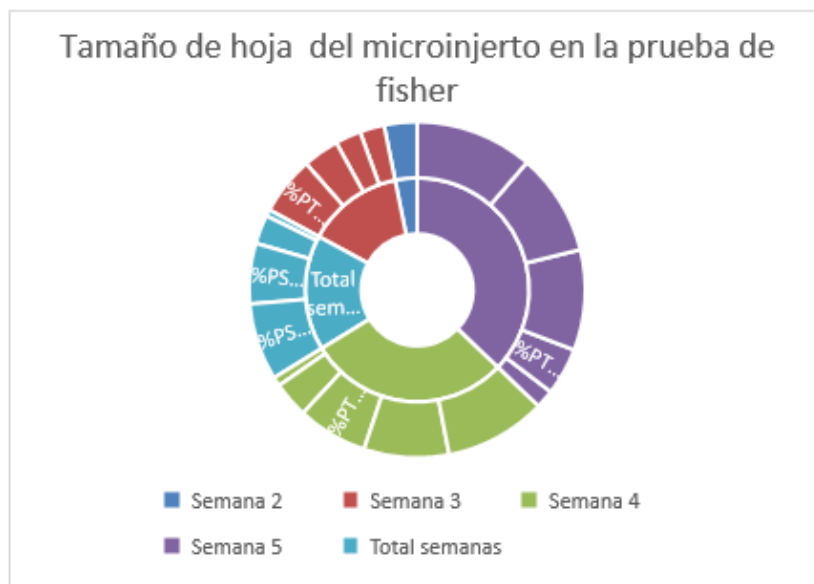
En cuanto a la semana 5 el tratamiento NH1 muestra un valor por encima de los demás, no obstante, es igual estadísticamente al NH5 y NH2. Además, el NH5 muestra igualdad con NH2, NH3, y NH4. Por último, en el total del número de hoja el valor alto lo revela el NHS5, aunque estadísticamente igual al NHS4; y este mismo, es igual al NHS3; y este último también muestra igualdad estadísticamente con el NHS2.

**Tabla N°6:** La prueba de Fisher para la homogeneidad de promedios de prendimiento, tamaño y numero de hojas por semanas y total.

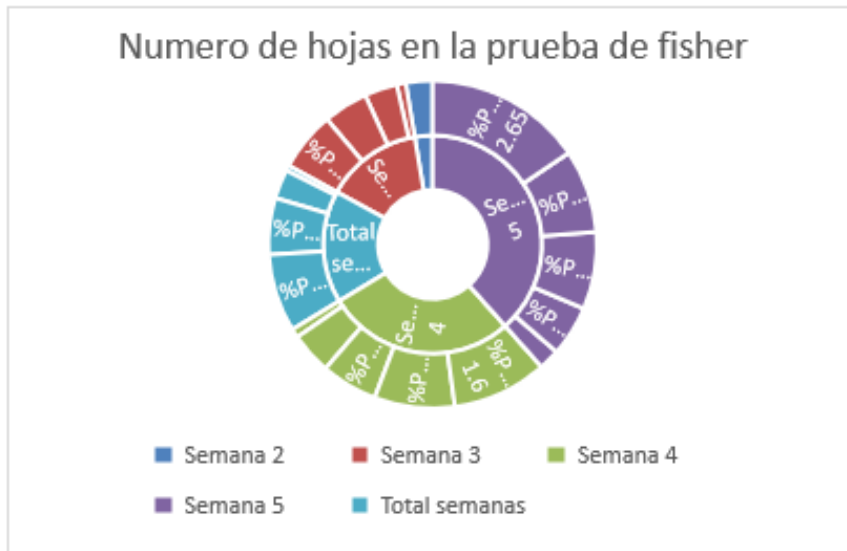
Factor	% Prendimiento						Tamaño de Hojas					Número de Hojas					
	Tratamientos	N	Media	Agrupación			Tratamientos	N	Media	Agrupación		Tratamientos	N	Media	Agrupación		
Semana 2	%PT3	20	1.50	A			TH3	20	1.692	A		NH3	20	0.450	A		
	%PT5	20	0.00		B		TH5	20	0.000		B	NH5	20	0.000		B	
	%PT4	20	0.00		B		TH4	20	0.000		B	NH4	20	0.000		B	
	%PT2	20	0.00		B		TH2	20	0.000		B	NH2	20	0.000		B	
	%PT1	20	0.00		B		TH1	20	0.000		B	NH1	20	0.000		B	
Semana 3	%PT5	20	1.50	A			TH1	20	3.00	A		NH5	20	1.000	A		
	%PT1	20	1.50	A			TH5	20	1.858	A	B	NH1	20	0.750	A	B	
	%PT3	20	0.50	A	B		TH2	20	1.325	A	B	NH3	20	0.550	A	B	
	%PT2	20	0.50	A	B		TH3	20	1.258	A	B	NH2	20	0.150		B	
	%PT4	20	0.00		B		TH4	20	0.000		B	NH4	20	0.000		B	
Semana 4	%PT1	20	2.00	A			TH1	20	5.23	A		NH1	20	1.600	A		
	%PT5	20	1.75	A	B		TH2	20	4.37	A		NH5	20	1.350	A	B	
	%PT2	20	1.25	A	B	C	TH5	20	3.61	A	B	NH2	20	0.950	A	B	
	%PT3	20	0.50		B	C	TH3	20	1.85	A	B	NH3	20	0.700	A	B	
	%PT4	20	0.25			C	TH4	20	0.467		B	NH4	20	0.150		B	
Semana 5	%PT1	20	1.75	A			TH1	20	6.04	A		NH1	20	2.650	A		
	%PT5	20	1.50	A	B		TH5	20	5.25	A	B	NH5	20	1.400	A	B	
	%PT2	20	1.25		B		TH2	20	5.16	A	B	NH2	20	1.300	A	B	
	%PT4	20	0.50			C	TH3	20	2.43	A	B	NH3	20	0.850		B	
	%PT3	20	0.50			C	TH4	20	0.945		B	NH4	20	0.350		B	
Total semanas	%PS4	100	1.15	A			TH S5	100	3.962	A		NH S5	100	1.310	A		
	%PS5	100	1.10	A			TH S4	100	3.104	A		NH S4	100	0.950	A	B	
	%PS3	100	0.80	A	B		TH S3	100	1.487		B	NH S3	100	0.490		B	C
	%PS2	100	0.30		B		TH S2	100	0.338		B	NH S 2	100	0.0900			C



**Grafica N° 7: Medias del Prendimiento del microinjerto en la prueba de Fisher**



**Grafica N° 8: Medias del tamaño e hojas del microinjerto en la prueba de Fisher**



**Grafica N° 9: Medias del número de hojas en la prueba de Fisher**

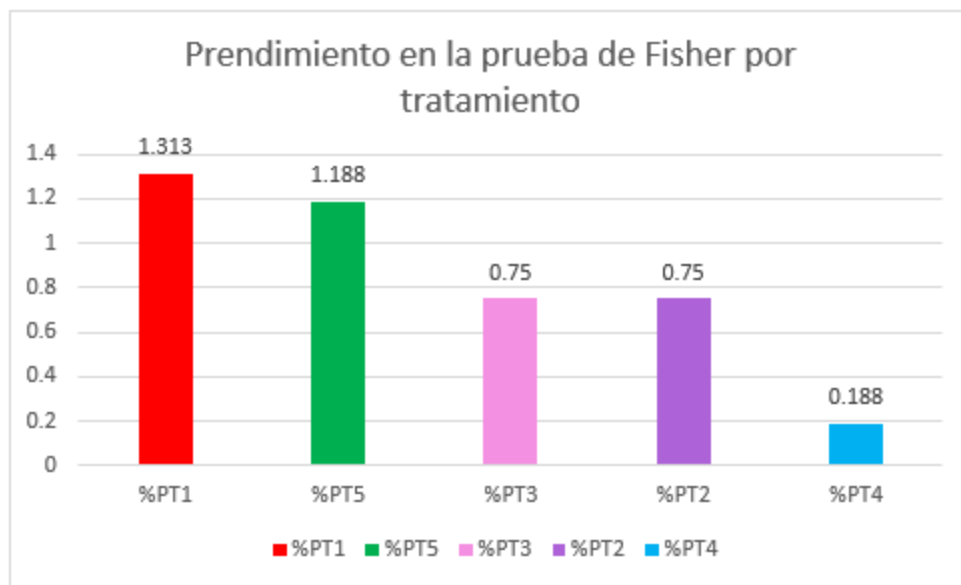
En la **tabla N°7** y **Gráficas N°10-12**, se presentan los valores de la prueba de Fisher para la homogeneidad de promedios de prendimiento, tamaño y numero de hojas por el total de tratamientos; donde se demuestra que el prendimiento del %PT1 muestra un valor alto mayor que los demás; sin embargo, es igual estadísticamente al %PT5, %PT3 y %PT2. Asimismo, se observa que el %PT3 es igual estadísticamente al %PT2 y al %PT4.

En cuanto al tamaño de hojas el valor más alto lo muestra TH1; pero estadísticamente igual TH2 y al TH5. Mientras que TH2 es estadísticamente igual a TH5 y a TH3 y a la vez, TH3 es igual a TH4.

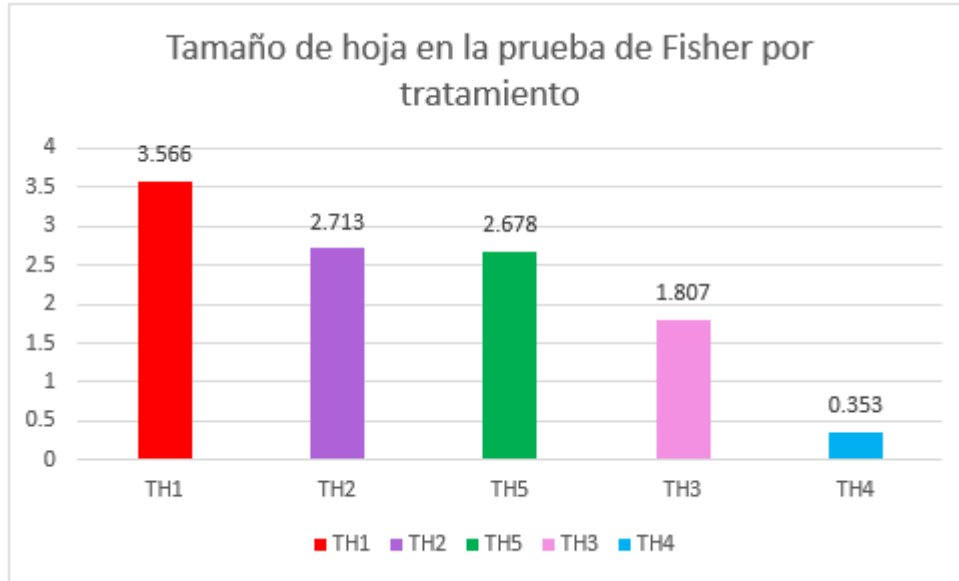
En el caso de número de hojas el NH1 es el valor más elevado que el resto de los tratamientos; no obstante, es igual estadísticamente al NH5; a la vez este mismo es igual estadísticamente al NH3, NH2 y al NH4. Por otra parte, el NH3 es igual al NH2 y NH4 como se muestra en la tabla ya mencionada.

**Tabla N°7:** La prueba de Fisher para la homogeneidad de promedios de prendimiento, tamaño y numero de hojas por tratamiento

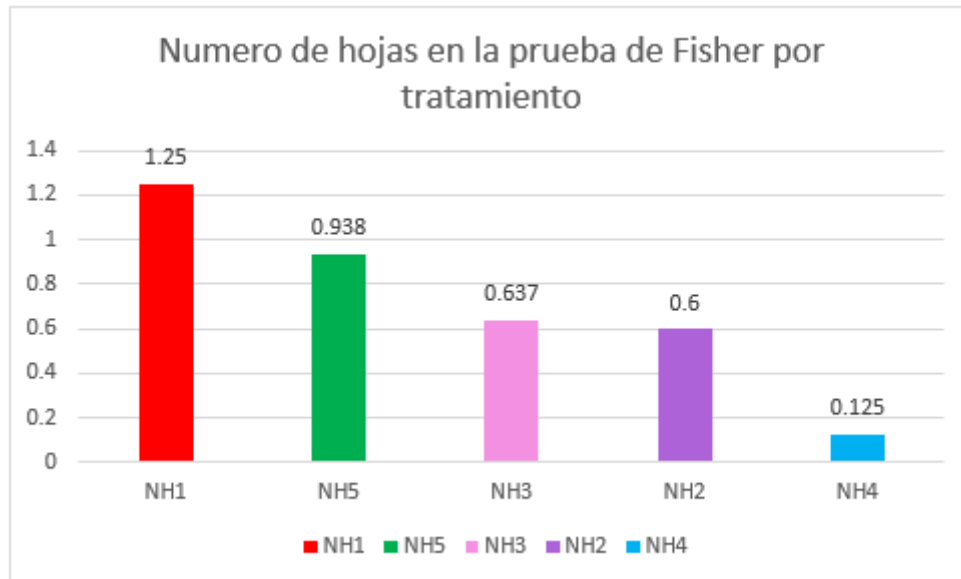
% prendimiento				Tamaño de hojas				Numero de hojas						
Factor	N	Media	Agrupación	Factor	Media	Agrupación		Factor	Media	Agrupación				
%PT1	80	1.313	A	TH1	3.566	A		NH1	1.250	A				
%PT5	80	1.188	A	TH2	2.713	A	B	NH5	0.938	A	B			
%PT3	80	0.750	A	B	TH5	2.678	A	B	NH3	0.637		B	C	
%PT2	80	0.750	A	B	TH3	1.807		B	C	NH2	0.600		B	C
%PT4	80	0.188	B	TH4	0.353			C	NH4	0.1250			C	



**Grafica N° 10:** Medias del prendimiento del microinjerto en la prueba de Fisher por tratamiento



**Grafica N° 11: Medias del tamaño de hojas en la prueba de Fisher por tratamiento**



**Grafica N° 12: Medias del número de hojas en la prueba de Fisher por tratamiento**

#### **4.1.4. Análisis de varianza y regresión Bifactorial de concentración de sacarosa y semanas para prendimiento, tamaño y número de hojas.**

En la **Tabla N°8**, Se presentan los valores del análisis de varianza y regresión bifactorial de concentración de sacarosa y semanas para prendimiento, tamaño y número de hojas. Al observar la tabla se detecta que hay diferencias significativas entre tratamientos, incluyendo la interacción de ambos factores en cuanto a prendimiento; sin embargo para el tamaño y número de hojas no hay diferencias significativas en la interacción de sacarosa y semanas; es decir, no influye la interacción de la concentración de sacarosa y el tiempo (semanas) en el tamaño y número de hojas.

En la misma tabla, en cuanto al coeficiente de regresión, se determina la concentración de sacarosa y semanas influyen en las variables prendimiento, tamaño y número de hojas; debido a que hay diferencias significativas ( $p= 0.05$ ). Y, el coeficiente de determinación indica que, el porcentaje de influencia de la concentración de sacarosa y semanas sobre las variables es bajo; puesto que en ningún caso alcanza el 10%; lo que nos demuestra que existen otros factores intervinientes que influyen en más del 90% sobre las variables evaluadas; lo cual es ratificado por la gran heterogeneidad de valores obtenidos (Tablas 2 y 3); donde los valores del coeficiente de variación es  $>$  al 100%, en todos los casos.



**Tabla 8: Análisis de varianza y regresión bifactorial para prendimiento, tamaño y número de hojas vs sacarosa y semanas.**

VARIABLES	ANÁLISIS							
Prendimiento	Varianza Bifactorial	Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	
		Lineal	7	108.56	15.509	4.90	0.000	
		Sacarosa	4	62.87	15.719	4.96	0.001	
		Semanas	3	45.69	15.229	4.81	0.003	
		Sacarosa*Semanas	12	82.13	6.844	2.16	0.013	
	Regresión	Coeficiente (Coef.)	EE del Coef. de regresión		Valor T	Valor p		
		0.8375	0.0890		9.41	0.000		
	Coeficiente de determinación	S	R-cuadrado	R-cuadrado (ajustado)				
		1.77982	13.67%	9.36%				
	Tamaño de hojas	Varianza Bifactorial	Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Lineal			7	1263.5	180.50	6.52	0.000	
Sacarosa			4	473.6	118.40	4.28	0.002	
Semanas			3	789.9	263.30	9.51	0.000	
Sacarosa*Semanas			12	341.0	28.42	1.03	0.423	
Regresión		Coeficiente (Coef.)	EE del Coef. de regresión		Valor T	Valor p		
		2.223	0.263		8.45	0.000		
Coeficiente de determinación		S	R-cuadrado	R-cuadrado (ajustado)				
		5.26075	13.24%	8.90%				
Número de hojas		Varianza Bifactorial	Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
	Lineal		7	141.27	20.182	5.98	0.000	
	Sacarosa		4	56.23	14.059	4.17	0.003	
	Semanas		3	85.04	28.347	8.40	0.000	
	Sacarosa*Semanas		12	45.19	3.765	1.12	0.345	
	Regresión	Coeficiente (Coef.)	EE del Coef. de regresión		Valor T	Valor p		
		0.7100	0.0918		7.73	0.000		
	Coeficiente de determinación	S	R-cuadrado	R-cuadrado (ajustado)				
		1.83669	12.70%	8.33%				

#### 4.1.5. Evidencias histológicas

La evidencia histológica muestra que si hubo prendimiento evidenciado por la tinción de fucsina acida al 1% y Lugol, como se puede observar en las figuras (1-10) del tratamiento 1 al 5; también se observa la formación de tejido xilematico en las figuras 2, 4, 6, 8 y 10.

En todas las imágenes A de las figuras 1, 3, 5, 7 y 9; se observa prendimiento del microinjerto, mediante la técnica púa a las 5 semanas (35 días) de haberse injertado, dándose a notar el prendimiento por la brotación y crecimiento de hojas; y, el indicativo para ello fue la formación de callos en la intersección de la variedad huayco rojo sobre el patrón Okinawa. En el caso de las imágenes B, estas mismas plantas se muestran teñidas por completo con la tinción de Lugol, lo cual revela que hubo una buena conexión por su uniformidad de color marrón claro.

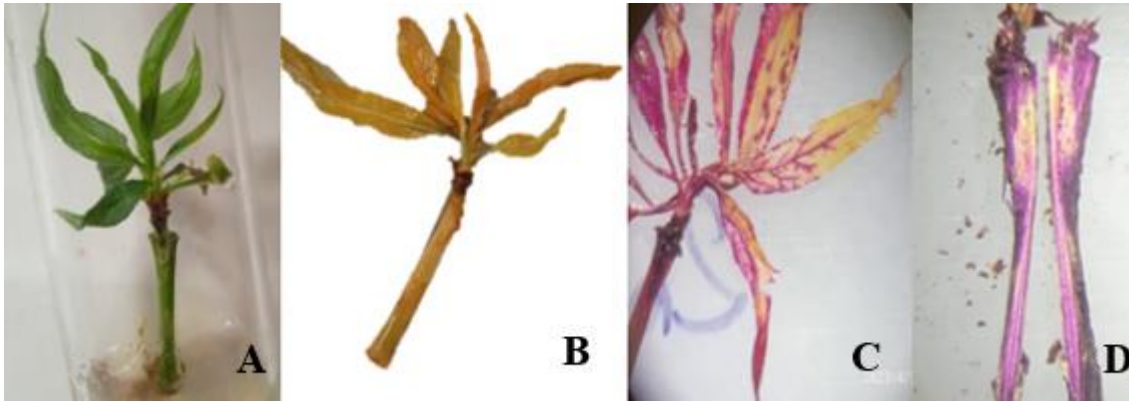
Asimismo, en las imágenes C se observa al mismo microinjerto teñido con fucsina acida al 0.1% en un determinado tiempo de 2 horas, dando una coloración fucsia en las nervaduras de las hojas, indicando el prendimiento del microinjerto. En las imágenes D se puede observar el corte longitudinal del microinjerto en la cual se demuestra que también hubo conexión de los haces vasculares por su tinción en toda la planta de forma interna.

Por otro lado, en las figuras 2, 4, 6, 8 y 10 de los cortes histológicos de las imágenes E y F (excepto figura 2; imagen F), se evidencia con mayor claridad la conectividad del xilema y la formación del mismo entre la variedad de huayco rojo y Okinawa, ya que se puede observar el tejido xilemático en desorden justo en la intersección del microinjerto, lo cual apunta cicatrización del tejido.

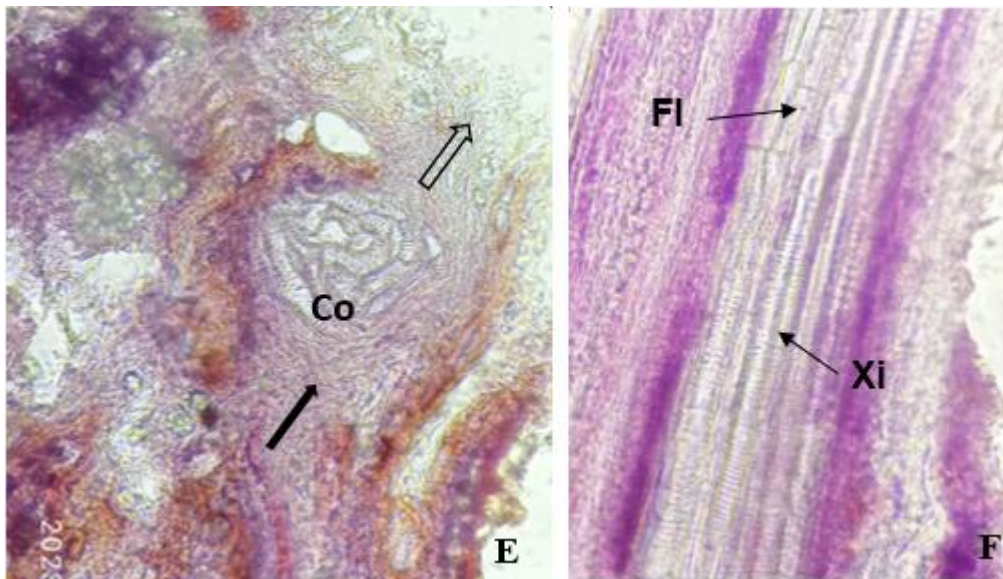
Mientras tanto, con la excepción de la figura 2F se muestra un corte histológico fuera de la intersección, para evidenciar los tejidos vasculares que son el floema y xilema como indica la imagen. En los demás cortes en la intersección del microinjerto no se pudo observar el floema por su difícil ubicación.

En el caso del T4 y T5, en las imágenes C se observa que la tinción fucsina acida no tiñó todas las hojas completamente, esto se debe a que tuvo una cicatrización lenta dejándose ver en los tejidos de corte longitudinal ciertos orificios o huecos, además esto es corroborado por las

imágenes A y B de la figura 9 y 10 que muestran pocas y pequeñas hojas, demostrando que su crecimiento fue tardío. Asimismo, lo comprueban las imágenes E de las figuras 8 y 10 donde se observan espacios vacíos en el tejido.



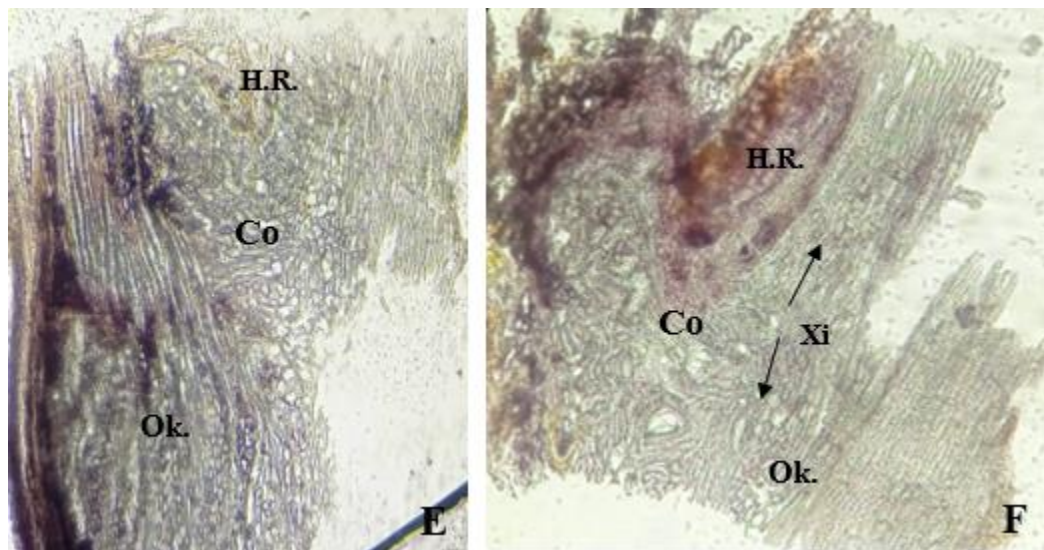
**Figura N° 1:** Microinjerto y tinción de los tejidos de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el tratamiento 1. A. prendimiento del microinjerto de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa. B. microinjerto en tinción de Lugol visto en el estereoscopio. C. microinjerto en tinción de fucsina acida vista en el estereoscopio. D. Corte longitudinal al tallo del microinjerto en tinción de fucsina acida vista en el estereoscopio.



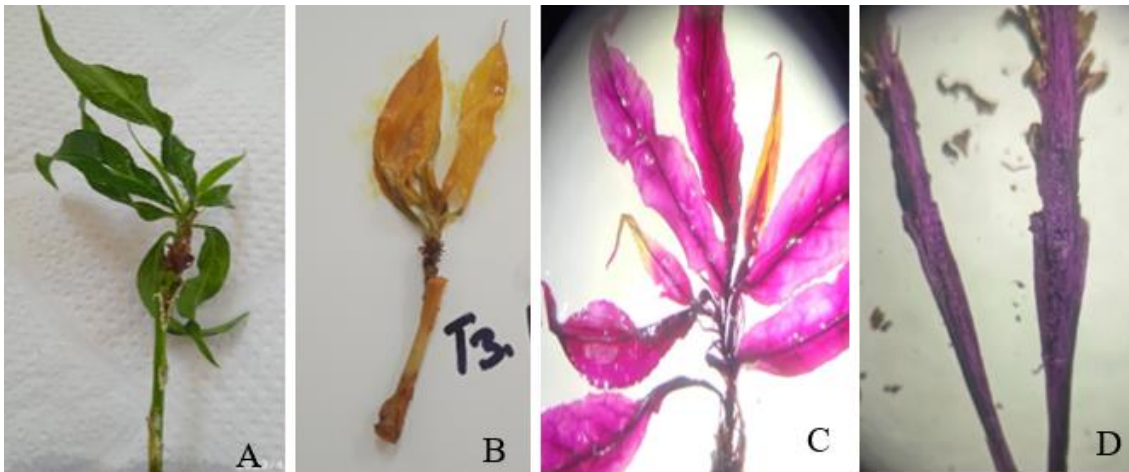
**Figura N° 2:** se observa la intersección entre la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el microscopio con aumento a 40X en el tratamiento 1. E. En la flecha negra se indica la formación de tejido del xilema en el patrón Okinawa. En la flecha vacía se indica la formación de tejido xilemático de la variedad Huayco rojo. Co. indica la conectividad del xilema entre las variedades de durazno. F. Corte longitudinal del tallo del microinjerto donde se visualiza los tejidos del xilema (Xi) y floema (Fl) en tinción de fucsina acida en microscopio óptico con un aumento del 40X.



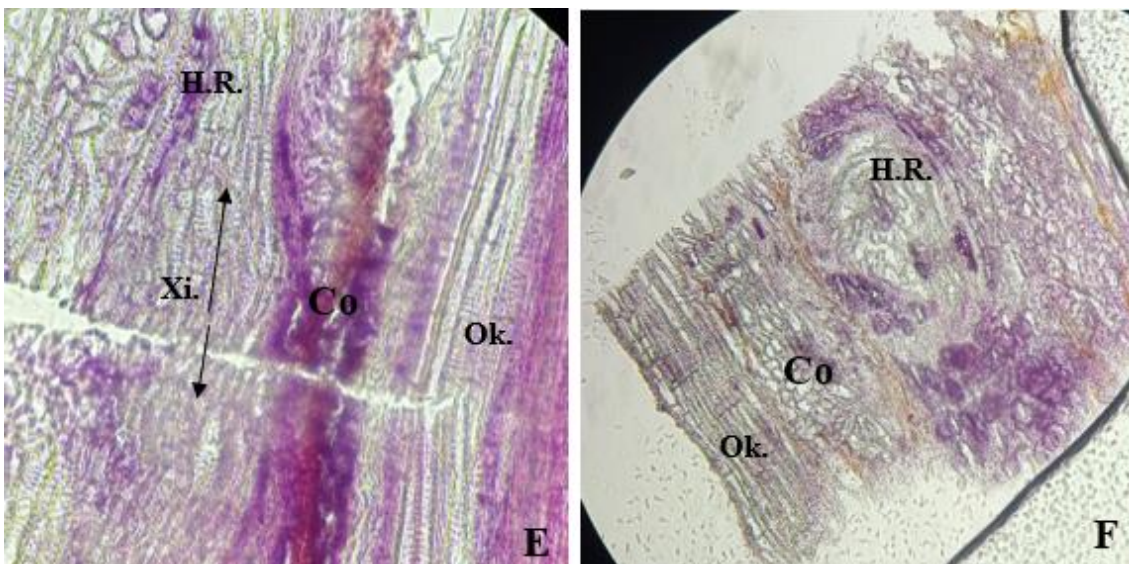
**Figura N° 3:** Microinjerto y tinción de los tejidos de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el tratamiento 2. A. prendimiento del microinjerto de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa. B. microinjerto en tinción de Lugol. C. microinjerto en tinción de fucsina acida vista en el estereoscopio. D. Corte longitudinal al tallo del microinjerto en tinción de fucsina acida vista en el estereoscopio.



**Figura N° 4:** Corte longitudinal de la intersección entre la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el microscopio con aumento a 20X en el tratamiento 2. E y F. Se observa la conectividad (Co) de la variedad Huayco Rojo (H.R.) sobre el patrón Okinawa (Ok.), en las flechas se indica los tejidos vasculares de la xilema (Xi) en formación.



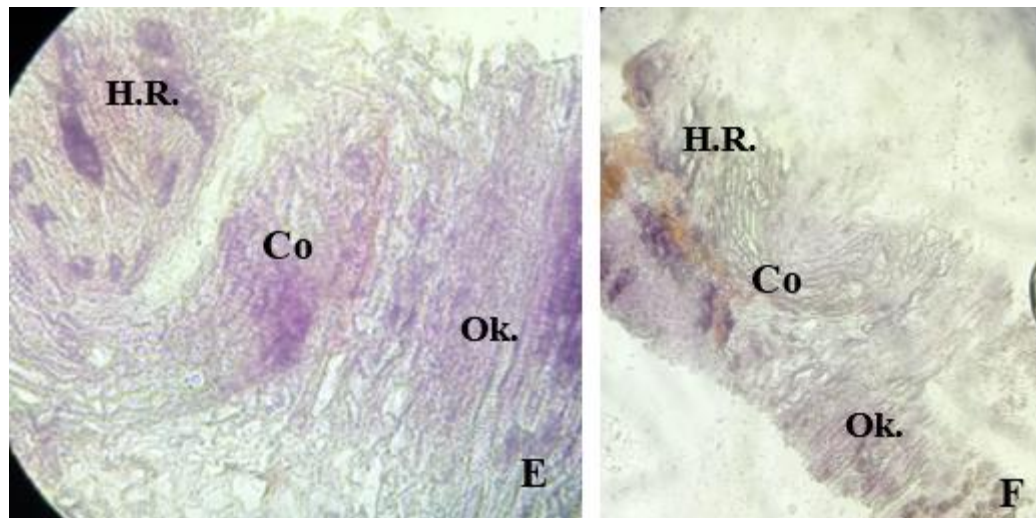
**Figura N° 5:** Microinjerto y tinción de los tejidos de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el tratamiento 3. A. Prendimiento del microinjerto de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa. B. Microinjerto en tinción de Lugol. C. Microinjerto en tinción de fucsina acida vista en el estereoscopio. D. Corte longitudinal al tallo del microinjerto en tinción de fucsina acida vista en el estereoscopio.



**Figura N° 6:** Corte longitudinal de la intersección entre los tejidos teñidos de fucsina acida de la variedad Okinawa y Huayco rojo en el microscopio con aumento a 40X y 20X respectivamente en el tratamiento 3. E y F. Se observa la conectividad (Co) de la variedad Huayco Rojo (H.R.) sobre el patrón Okinawa (Ok.), en las flechas se indica los tejidos vasculares de la xilema (Xi) en formación.



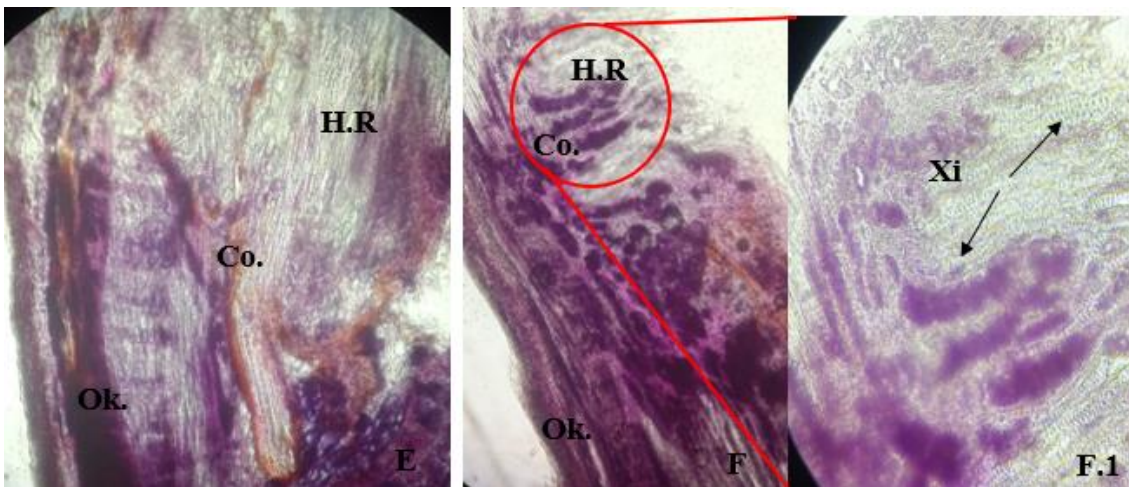
**Figura N° 7:** Microinjerto y tinción de los tejidos de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el tratamiento 4. A. Prendimiento del microinjerto de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa. B. Microinjerto en tinción de Lugol. C. Microinjerto en tinción de fucsina acida vista en el estereoscopio. D. Corte longitudinal al tallo del microinjerto en tinción de fucsina acida vista en el estereoscopio.



**Figura N° 8:** Corte longitudinal de la intersección entre los tejidos teñidos de fucsina acida de la variedad Okinawa y Huayco rojo en el microscopio con aumento a 40X (E) y 20X (F) respectivamente en el tratamiento 4. E y F. Se observa la conectividad (Co) de la variedad Huayco Rojo (H.R.) sobre el patrón Okinawa (Ok.).



**Figura N° 9:** Microinjerto y tinción de los tejidos de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa en el tratamiento 5. A. Prendimiento del microinjerto de la variedad Huayco rojo sobre el patrón Okinawa. B. Microinjerto en tinción de Lugol. C. Microinjerto en tinción de fucsina acida vista en el estereoscopio. D. Corte longitudinal al tallo del microinjerto en tinción de fucsina acida vista en el estereoscopio.



**Figura N° 10:** Corte longitudinal de la intersección entre los tejidos teñidos de fucsina acida de la variedad Okinawa y Huayco rojo en el microscopio con aumento a 40X (E) y 20X (F) y 40X (F1) respectivamente en el tratamiento 5. E y F. Se observa la conectividad (Co) de la variedad Huayco Rojo (H.R.) sobre el patrón Okinawa (Ok.). F1. En las flechas se indica los tejidos vasculares del xilema (Xi) en formación.

## 4.2 Contrastación de hipótesis

### Hipótesis General:

El aumento en la concentración de sacarosa favorece el prendimiento del microinjerto de *Prunus persica* “durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Lineal	7	108.56	15.509	4.90	0.000
Sacarosa	4	62.87	15.719	4.96	0.001
Semanas	3	45.69	15.229	4.81	0.003
Sacarosa*Semanas	12	82.13	6.844	2.16	0.013
-----	----	----	----	----	-----
Error	380	1203.75	3.168		
Total	399	1394.44			

Fuente tabla N°8.

- Relación de variables independientes con el % de prendimiento:
  - Hipótesis nula: la relación no es lineal
  - Hipótesis alternativa: la relación es lineal
  - $p = 0.000$
- Concentración de sacarosa y % de prendimiento
  - Hipótesis nula: Todos los tratamientos son iguales
  - Hipótesis alternativa: Por lo menos un tratamiento es diferente
  - $p = 0.001$
- Semanas y % de prendimiento
  - Hipótesis nula: todas las medias son iguales
  - Hipótesis alternativa: Por lo menos una media es diferente
  - $p = 0.003$
- Interacción de sacarosa y semanas en el % de prendimiento
  - Hipótesis nula: no existe interacción
  - Hipótesis alternativa: existe interacción
  - $p = 0.013$

Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

Se propuso igualdad de varianzas para el análisis.

Valor crítico: Si “p” es mayor que 0.05 no se rechaza hipótesis nula.



Decisión: en todos los casos se rechaza hipótesis nula

Conclusión:

Estadísticamente, con un nivel de confianza de 95 %, se infiere que:

- La concentración de sacarosa y las semanas tienen una relación lineal con el % de prendimiento.
- Por lo menos, un tratamiento de la concentración de sacarosa, es diferente a los demás, con respecto al % de prendimiento.
- Por lo menos, el promedio de % de prendimiento de una semana es diferente a las demás.
- Existe influencia de la interacción combinada de concentración de sacarosa y semanas en el % de prendimiento.

Por tanto, se confirma la hipótesis general, la cual sostiene que “El aumento en la concentración de sacarosa favorece el prendimiento del microinjerto de *Prunus persica* “durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa”

### **Hipótesis específicas**

**Hipótesis específica 1 (H.E.1):** La variación de las concentraciones de sacarosa tiene efecto en la unión del xilema y floema de las variedades Huayco rojo y Okinawa de *Prunus pérsica*

**Conclusión:** Se confirma esta hipótesis con las evidencias histológicas de la unión del floema y xilema de las variedades Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica* en las figuras: 2, 4, 6, 8 y 10 indicando que si hubo influencia de la concentración de sacarosa sobre la unión del microinjerto.

**H.E.2:** El prendimiento del xilema y floema se evidencia a través de cortes histológicos entre las variedades de Huayco rojo y Okinawa de *Prunus pérsica*.

**Conclusión:** Se evidencia el prendimiento de la unión del floema y xilema a través de los cortes histológicos observados por el microscopio a un aumento de 20X y 40X como se aprecia en las figuras del 1 al 10.

**H.E.3:** A mayor concentración de sacarosa, mayor tamaño de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades huayco rojo y Okinawa de *Prunus pérsica*.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Lineal	7	1263.5	180.50	6.52	0.000
Sacarosa	4	473.6	118.40	4.28	0.002
Semanas	3	789.9	263.30	9.51	0.000
Sacarosa*Semanas	12	341.0	28.42	1.03	0.423

Fuente de la tabla N°8

- Relación de variables independientes con el tamaño de hojas:
  - Hipótesis nula: la relación no es lineal
  - Hipótesis alternativa: la relación es lineal
  - $p = 0.000$
- Concentración de sacarosa y el tamaño de hojas
  - Hipótesis nula: Todos los tratamientos son iguales
  - Hipótesis alternativa: Por lo menos un tratamiento es diferente
  - $p = 0.002$
- Semanas y el tamaño de hojas
  - Hipótesis nula: todas las medias son iguales
  - Hipótesis alternativa: Por lo menos una media es diferente
  - $p = 0.000$
- Interacción de sacarosa y semanas en el tamaño de hojas
  - Hipótesis nula: no existe interacción
  - Hipótesis alternativa: existe interacción
  - $p = 0.423$

Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

Se propuso igualdad de varianzas para el análisis

Valor crítico: Si “p” es mayor que 0.05 no se rechaza hipótesis nula.

Decisión: en todos los casos se rechaza hipótesis nula, excepto para la interacción de concentración de sacarosa y semanas en el tamaño de hojas

### Conclusión:

Estadísticamente, con un nivel de confianza de 95 %, se infiere que:

- La concentración de sacarosa y las semanas tienen una relación lineal con el tamaño de hojas.
- Por lo menos, un tratamiento de la concentración de sacarosa, es diferente a los demás, con respecto al tamaño de hojas.
- Por lo menos, el promedio de tamaño de hojas de una semana es diferente a las demás.
- No existe influencia de la interacción combinada de concentración de sacarosa y semanas en el tamaño de hojas.

Por tanto, estadísticamente ( $\alpha = 0.05$ ), se confirma la hipótesis planteada, la cual sostiene que “A mayor concentración de sacarosa, mayor tamaño de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*”.

**H.E.4:** A mayor concentración de sacarosa, mayor número de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Lineal	7	141.27	20.182	5.98	0.000
Sacarosa	4	56.23	14.059	4.17	0.003
Semanas	3	85.04	28.347	8.40	0.000
Sacarosa*Semanas	12	45.19	3.765	1.12	0.345

Fuente de la tabla N°8

- Relación de variables independientes con el número de hojas:
  - Hipótesis nula: la relación no es lineal
  - Hipótesis alternativa: la relación es lineal
  - $p = 0.000$
- Concentración de sacarosa y el número de hojas

- Hipótesis nula: Todos los tratamientos son iguales
- Hipótesis alternativa: Por lo menos un tratamiento es diferente
- $p = 0.003$
- Semanas y el número de hojas
  - Hipótesis nula: todas las medias son iguales
  - Hipótesis alternativa: Por lo menos una media es diferente
  - $p = 0.000$
- Interacción de sacarosa y semanas en el número de hojas
  - Hipótesis nula: no existe interacción
  - Hipótesis alternativa: existe interacción
  - $p = 0.345$

Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

Se propuso igualdad de varianzas para el análisis

Valor crítico: Si “p” es mayor que 0.05 no se rechaza hipótesis nula.

Decisión: en todos los casos se rechaza hipótesis nula, excepto para la interacción de concentración de sacarosa y semanas en el número de hojas

Conclusión:

Estadísticamente, con un nivel de confianza de 95 %, se infiere que:

- La concentración de sacarosa y las semanas tienen una relación lineal con el número de hojas.
- Por lo menos, un tratamiento de la concentración de sacarosa, es diferente a los demás, con respecto al número de hojas.
- Por lo menos, el promedio de número de hojas de una semana es diferente a las demás.
- No existe influencia de la interacción combinada de concentración de sacarosa y semanas en el número de hojas.

Por tanto, estadísticamente ( $\alpha = 0.05$ ), se confirma la hipótesis planteada, la cual sostiene que “A mayor concentración de sacarosa, mayor tamaño número de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*”.

## CAPITULO V. DISCUSION

### 5.1. Discusión de resultados

Los resultados obtenidos muestran que, luego de haberse evidenciado, histológicamente, el prendimiento del xilema y floema entre dos variedades de *Prunus pérsica*; y, establecida la influencia de la concentración de sacarosa en la unión del xilema y floema, así como en el tamaño y número de hojas; se puede afirmar que la concentración de sacarosa tiene efecto en el prendimiento del microinjerto de *Prunus persica*.

Por lo expresado, se aceptan las hipótesis específicas del presente trabajo, las cuales sostienen que: “La variación de las concentraciones de sacarosa tiene efecto en la unión del xilema y floema de las variedades Huayco rojo y Okinawa de *Prunus pérsica*”; “El prendimiento del xilema y floema se evidencia a través de cortes histológicos entre las variedades de Huayco rojo y Okinawa de *Prunus pérsica*”; “A mayor concentración de sacarosa, mayor tamaño de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades huayco rojo y Okinawa de *Prunus pérsica*”; y, “A mayor concentración de sacarosa, mayor número de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades huayco rojo y Okinawa de *Prunus pérsica*”.

Como consecuencia de las afirmaciones del párrafo anterior, se admite la hipótesis general planteada, en la cual se afirma que “El aumento en la concentración de sacarosa favorece el prendimiento del microinjerto de *Prunus persica* “durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa”.

Al respecto, es oportuno resaltar que, desde el punto de vista biotecnológico, un microinjerto se define como la unión física de dos plantas a través de una reconexión vascular para generar un organismo quimérico; es decir; formado por células procedentes de distintos

individuos (Melnyk C. , 2017); tal como se demuestra histológicamente en el presente trabajo (Figuras 1-10), donde se ve que hubo prendimiento, evidenciado por la tinción de fucsina ácida y lugol, de los tratamientos 1 al 5.

Cabe recalcar que el efecto regulador de la sacarosa en la división celular y diferenciación celular se debe fundamentalmente a la señalización, más que en la disposición de nutrientes y el estado energético (Harting & Beck, 2006). Asimismo, la señalización de la sacarosa podría ser la responsable de la expansión celular regulando la extensibilidad de la pared celular (Wang, y otros, 2010).

Teniendo presente lo mencionado, el prendimiento de un microinjerto, implica procesos de división celular y diferenciación para la formación vascular; xilema y floema (Skylar, Sung, Hong, Chory, & Wu, 2011); por lo cual, el medio de cultivo debe ser complementado con sacarosa, para que el proceso de microinjertación prosiga; toda vez que, en esta fase, se necesite el efecto regulador de la sacarosa, como moléculas de señalización, para regular la expresión de los genes implicados en el proceso de la microinjertación (Melnyk, y otros, 2018).

Precisamente, lo afirmado en el párrafo anterior, explicaría la razón por la cual, en el presente trabajo, inicialmente en todos los tratamientos se registró prendimiento, por lo menos histológicamente, mostrados en las figuras 2, 4, 6, 8 y 10. Donde se observa la conectividad de la xilema y la formación del mismo entre la variedad de Huayco rojo y Okinawa, justo en la intersección del microinjerto, lo cual apunta la cicatrización del tejido; cuyo proceso se interrumpió o prosiguió, en directa relación con la cantidad de sacarosa disponible en el medio de cultivo (Marsch, y otros, 2013)

Esto se debe a que la señalización de la sacarosa regula el proceso del ciclo celular, activando la expresión de componentes claves como las ciclinas CYCB1;1 y CDKB1;1 para la

transición de G2 a M; lugar donde ocurre la división celular y proliferación celular (Skylar, Sung, Hong, Chory, & Wu, 2011).

Además, el tiempo y la concentración de sacarosa han influido en la formación vascular del microinjerto de huayco rojo y Okinawa; ya que a los tres o cuatro días la sacarosa reactiva la expresión del indicador CYCB1;1 responsable de la transición de G2 a M del ciclo celular (Skylar, Sung, Hong, Chory, & Wu, 2011); donde ocurre la iniciación de la división celular en el cambium, endodermis y la corteza que rodean el floema y xilema dando formación al callo (Melnyk C. , 2017).

En más de una semana el callo sigue proliferando y diferenciándose a cambium y más tarde el floema y xilema se diferencian, restableciendo las conexiones vasculares (Melnyk C. , 2017). Por consiguiente, la señalización de sacarosa también es responsable de la expansión celular, la explicación se basa en que vac-Inv (invertasa que degrada la sacarosa en la vacuola) interactúa con las quinasas asociadas a la pared (WAK) que regulan la extensibilidad de la pared celular (Wang, y otros, 2010).

Esto se confirma con el estudio realizado por Melnyk et al. (2018) en *Arabidopsis thaliana* donde menciona que la sacarosa induce la expresión de genes asimétricos, es decir, que los genes expresados en la variedad y patrón son diferentes, que son responsables de la reconexión de floema y xilema al inicio de la microinjertación, unos días más tarde se consigue la simetría de los genes expresados dando paso a la reanudación del transporte de nutrientes, azúcares y hormonas.

De acuerdo a lo descrito anteriormente, se comprueba que la sacarosa ha influenciado en el buen prendimiento, desarrollo y crecimiento del tamaño y número de hojas, en el cual, estadísticamente según la tabla 7, se observa que los valores obtenidos por el PT1, PT2, PT3 y PT5 son iguales entre sí, pero difieren del PT4; esto es en el caso del prendimiento. Para el tamaño de

hojas los valores alcanzados por el TH1, TH2 y TH5 muestran igualdad entre sí, pero son diferentes al TH3 y TH4; y estos a su vez difieren entre sí, y para el caso del número de hojas los valores logrados de NH1 y NH5 son iguales entre sí, pero diferentes al NH2 y NH3 y estas a la vez son iguales, pero diferentes al NH4.

Los resultados obtenidos de la microinjertación con la concentración de sacarosa, se asemeja a la investigación realizada por Tirabante (2018) en cítricos; *Tangelo minneola* “tangelo” sobre *Citrange Troyer*. quien demostró que tuvo resultados favorables de prendimiento con 30g/l de sacarosa. Concentración que forma parte de nuestro tratamiento.

De igual modo, Singh, Meetei, Kundu, Salma, & Mandal, (2019) evaluaron las concentraciones de sacarosa en la microinjertación de cítricos de la mandarina Khasi sobre el patrón autóctono Nemutenga obteniendo resultados favorables en dos semanas con la concentración de sacarosa de 50g/L; el indicativo fue los brotes como en este trabajo.

Asimismo, Llihua (2018) demostró prendimiento favorable para la microinjertación de limón Eureka sobre *Citrange Troyer* a una concentración de sacarosa de 45g/L. Quien concuerda con lo obtenido por los resultados del presente trabajo con el tratamiento cinco (45g/L) aunque, no necesariamente concuerdan en el proceso de microinjertación, en porcentaje y tiempo; por las razones expuestas en párrafos anteriores.

En el caso de los tratamientos cuatro y cinco en la figura 7 y 9 de las imágenes A se observa que el microinjerto muestra pocas hojas y de menor tamaño. Además, en las imágenes C se ve que la tinción de fucsina acida no tiñó todas las nervaduras de las hojas indicando que no hubo una buena conexión de floema y xilema y esto se comprueba por los espacios vacíos observados en la intersección de los tejidos entre las variedades Huayco rojo y Okinawa (figura 8 y 10, imagen E) verificando que no hubo una buena formación vascular (Yin, y otros, 2012).



También se menciona en la tabla N°8 que globalmente, la [sacarosa] y semanas han influido en un 9.36 % sobre el prendimiento; 8.90% y 8.33% en el tamaño y número de hojas, respectivamente; demostrando que algo más del 90% ha sido influenciado por variables intermitentes, dado a su gran heterogeneidad de valores obtenidos.

Lo mencionado en los tres párrafos anteriores, puede deberse a que la señal del azúcar no es suficiente para desencadenar la división celular. ya que los estudios revelan que, la señalización de azúcar necesita interactuar con la auxina para el desarrollo de la planta (Skylar, Sung, Hong, Chory, & Wu, 2011).

Además, las auxinas tiene un papel importante en la formación vascular, dado que, estudios recientes muestran que al momento de hacer los cortes hay una acumulación de estas mismas por encima del corte activando la expresión del gen *ANAC071* y por debajo del corte se muestra un agotamiento de auxina activando la expresión del gen *RAP2.6L*. ambas inducen la conexión vascular, floema y xilema y estos genes disminuyen cuando cicatriza el microinjerto dando paso a la respuesta simétrica de los genes de la auxina (Melnyk, y otros, 2018).

También se podría deber a la saturación de sacarosa. Al respecto Lihua (2018) sostiene que a bajas concentraciones de azúcar (15 a 25g/L) hay formación de xilema, en altas concentraciones (30 a 40g/L) hay formación de floema; y las concentraciones intermedias (25-30 g/L) inducen por lo general a la formación de xilema, floema y cambium entre ambos. En el presente trabajo se utilizó 40g/L y 45g/L de sacarosa, como alta concentración, y por ello se habría formado floema mas no xilema, causando un desequilibrio en el sistema vascular y afectando el desarrollo de las hojas.

Además, ello explicaría los resultados obtenidos (tabla 7) con el test de homogeneidad de promedios (prueba de Fisher); donde se observa que, estadísticamente, existe homogeneidad de

prendimiento entre PT1, PT2, PT3 y PT5; siendo diferentes con PT4. del mismo modo en tamaño de hojas muestran igualdad TH1, TH2, TH5, pero diferentes al TH3 y TH4; y, en número de hojas NH1 y NH5 difieren NH2 y NH3 y estas a la vez son diferentes al NH4.

aunado a lo anterior, los resultados obtenidos (tabla 7), también podrían estar influenciados por la incompatibilidad generada por estrés del injerto; esto se debe a que hay más altos valores de compuestos fenólicos, especies reactivas de oxígeno y en algunos casos, disminución de niveles de transcripción de genes antioxidante (Aloni et al. 2008; Irisarri, Binczycki, Errea, Martens y Piña, 2015). Haciendo que los vasos conductores no se formen a través del microinjerto, incluso puede que haya formación de callo hasta formación vascular como en el caso de ciruelo y albaricoque; pero, la diferenciación de callo a cambium es muy lenta haciendo que estos microinjertos lleguen a sobrevivir menos de dos semanas (Errea, Felipe, & Herrero, 1994; Piña, Errea, & Martens, 2012 ).

Esta incompatibilidad a menudo se presenta en especies leñosas como, por ejemplo, el membrillo que es utilizado como patrón para el vástago de pera donde se espera que la conectividad floemática se muestre dentro de los 10 a 20 días después del injerto, pero si se aplaza a los 30 días la conexión del floema es limitada haciendo que se retrase la diferenciación del xilema, estos injertos son fáciles de reconocer porque tienen un crecimiento deficiente o el deceso del injerto como se muestra en este trabajo (Melnik C. , 2017) .

También se debe mencionar que la solución de Lugol determina la presencia de almidón (cadenas de azúcares y glucosa) en plantas injertadas. Si la tinción es mayor en la parte superior del microinjerto indica que la expresión de genes inducidos por la sacarosa es mayor que en la parte inferior. Pero según va pasando el tiempo mediante unión vascular el color se va uniformizando en ambos lados mostrando simetría de genes. En el caso de este trabajo se tiñó la

planta después de un mes, mostrando un color marrón oscuro, la cual indica una simetría de genes en ambas variedades denotando conexión de floema (Melnyk, y otros, 2018).

Mientras que la tinción de fucsina acida es un marcador del flujo de agua que interactúa a través del tejido vascular entre células parenquimáticas del xilema, es por ello su tinción fucsia en los tejidos xilemático que se observa en las nervaduras de las hojas Del microinjerto (huayco rojo sobre Okinawa). Se recomienda una concentración no mayor al 0.1% por que su ascenso de la tinción es más lento si es más concentrado (Maceda, 2019).

En este trabajo la concentración de sacarosa es directamente proporcional al número y crecimiento de hojas, pero en cierto punto, según lo que haya ocurrido, como la necesidad de la auxina, saturación de la sacarosa o la incompatibilidad se detuvo el desarrollo y crecimiento de las hojas y la cantidad.

## **CAPITULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **6.1. Conclusiones**

El aumento en la concentración de sacarosa favorece en un 9.36 %, conjuntamente con el número de semanas, el porcentaje de prendimiento del microinjerto de *Prunus persica* “Durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa; siendo el porcentaje restante motivado por variables no controladas.

Se logró evidenciar histológicamente el prendimiento del xilema y floema entre las variedades de Huayco rojo y Okinawa de *Prunus persica*. En donde el tratamiento uno, dos y tres mostraron una buena formación vascular de los tejidos y los indicadores para ello fue las tinciones.

A mayor concentración de sacarosa, el tamaño de hojas desarrolladas del microinjerto de *Prunus persica* “durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa, influye en un 8.90%

simultáneamente con el número de semanas. Siendo el porcentaje restante causado por variables intervinientes.

A mayor concentración de sacarosa, el número de hojas desarrolladas de los microinjerto de *Prunus persica* “Durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa, influye en un 8.33% juntamente con el número de semanas. Siendo el resto del porcentaje propiciado por variables intervinientes.

## **6.2. Recomendaciones**

Para futuras investigaciones se recomienda evaluar otros parámetros del microinjerto como la velocidad de crecimiento de hojas por día, efecto de las auxinas y clips (sujetadores de los microinjertos) para la mejor unión del injerto.

Se recomienda evaluar el desequilibrio hormonal entre las variedades Okinawa y Huayco rojo provenientes de la ciudad de Huaral. Asimismo, medir el grado de compatibilidad de un microinjerto entre las variedades de Huayco rojo sobre Okinawa.

Se recomienda determinar mecanismos de prevención en la oxidación de la variedad que va sobre el patrón, comparar la edad fenológica en que se extrae los explantes del campo al laboratorio para el microinjerto y multiplicar el patrón a partir de nódulos axilares, también evaluar su comportamiento en el microinjerto.

## REFERENCIAS

### 7.1. Fuentes Bibliográficas

Albujar, E. (17 de abril de 2019). *Anuario estadístico de producción agrícola 2018*.

Lima: Ministerio de Agricultura y Riego  
Aquino, F. (2009). *Injerto de yema dormida en cinco variedades precoces de durazno (Prunus persica L.) en la localidad de Tacna*. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna: Tesis de grado.

Arteaga, H. (2009). *Efecto de la temperatura, medios nutritivos y reguladores de crecimiento en la germinación de embriones cigotos de durazno Prunus persica var. Diamante*. Universidad San Francisco de Quito. Quito: Tesis de grado.

Azpeitia, A., Zapata, R., & Nava, A. (junio de 1993). Propagación in vitro de durazno, Prunus persica (L.) Batsch a partir de yemas axilares. *Comité Editorial de la NIFAP Alea Agrícola*, 19(1), 41-50.

Bonilla, A., & Mesa, N. (2018). Evaluación de tres métodos de injertación in vitro en la especie Erythrina edulis (Fabaceae). *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 14 (2), 2-6.

Cabrera, A. (2003). *Efecto de antioxidantes, desinfectantes, medios de cultivo y reguladores de crecimiento, en la propagación in vitro del cultivo de yemas axilares de melocotón prunus persica (L.) Batsch var. Salcajá*. Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala: tesis de grado.

Criollo, D. (2008). *“Evaluación de dos técnicas para la microinjertación de babaco (Vasconcella heilbornii cv. pentagona) y chihualcán (Vasconcella heilbornii cv. chrysopetala) en patrones de papaya (Carica papaya) bajo condiciones de laboratorio, Santa Catalina -INIAP”*. Universidad de las Fuerzas Armadas. Sangolquí: Tesis de grado.

- González, R. (2002). *Microinjertación de Camu Camu Myrciaria dubia (H.B.K.) Me. Vaugh en dos Patrones y Cuatro Medios de Cultivo. Loreto-Perú*. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Loreto: Tesis de grado.
- Gratacós, E. (2004). *ELcultivo de durazno Prunus persica (L.) Batch*. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso . Valparaíso: Apuntes para la Cátedra de fruticultura de hoja caduca.
- Guevara, L., Arancibia, G., Sala, S., Aguilar, A., Tirado, F., & Gómez, R. (2016). Establecimiento in vitro del portainjertos híbrido ‘Garfi x Nemared’ para durazno. *Biotecnología Vegetal*, 16, 73-82.
- Herrera, G. (2014). Virus en corazos, pomaceas y vides. *INIA*, 102-170.
- Ikeda, M. (2017). Biología Molecular aplicada a la Estomatología en el siglo XXI: avances, bioética y educación científica. *Rev Estomatol Herediana*, 59-63.
- Koo, W. (2019). *Duraznos frescos Perú Exportacion - AGRODATAPERÚ*. Lima.
- Lihua, L. (2018). “*Efecto de la sacarosa y cotiledones sobre el prendimiento de microinjertos in vitro de naranja y limón (Citrus sp.)*”. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima: Tesis de grado.
- Maceda, A. (2019). *Composicion quimica del xilema primario y secundario de Cactaceae*. Montecillo, Texcoco, Estado de Mexico: Colegio de postgraduados.
- Martínez, J., del Valle Lárez de Rodríguez, Y., & Jesús, C. (2017). Transhumanismo. Visiones y contextos. *Revista Guayana Virtual*, 1-24.
- Martínez, P. (2015). *Consecuencias epistémicas y ontológicas para la definición de gen y de Dogma Central de la Biología Molecular derivadas de las nuevas técnicas de secuenciación masiva en la Etapa Post-Genómica*. Salamanca: Universidad de Salamanca.

- Mercado, P. (2007). *La Medicina Darwiniana como Teoría Científica dentro del campo de la Teoría de la Selección Natural*. Trujillo: Univ. Nac. de Trujillo.
- Mosella, L., & Ascuin, L. (2004). frutales libres de virus partiendo de ápices meristemáticos cultivados in vitro. *cultivo de tejidos en la agricultura* , 12-20.
- Olmo, A. (2017). *Estadísticas agrícolas de durazno: producción, superficie y rendimiento*.
- Onofre, R. (2015). *Niveles de concentración de sustancias orgánicas BAP (Bencilamina purina), para el cultivo in vitro de embriones de durazno (Prunus persica L.) para la obtención de patrones"*. Huancavelica: Tesis de grado.
- Ostle, J. (1981). *Estadística aplicada*. México: Limusa.
- Parada, D., & Villegas, Á. (2009). Propagación in vitro del híbrido almendro x durazno H1. *Fitotec. Mex.*, 103-109.
- Queirolo, J. (2010). *Industrialización del mlocotón y su incidencia económica en la valle de Huaura-Región Lima*. Universidad San Martín de Porres . Lima: tesis de grado.
- Quispe, L. (2016). *Diagnóstico de sistema de producción frutícola en las comunidades de Yacupampa y Chorocona del municipio de Inquisivi, Dpto. La paz*. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz: Tesis de grado.
- Rubio, J. E. (2009). El surgimiento de la biología molecular. *Ciencia UANL*, 135-142.
- Schramm, F., & Lang, M. (2001). Bioética y Biotecnología: Lo humano entre dos Paradigmas. *Acta Bioethica*, 259-267.
- Tirabante, N. (2018). *microinjerto de ápices caulinares in vitro para el saneamiento de virus de la tristeza de cítricos (CTV) en Tangelo minneola "tangelo" y Citrus limon variedad eureka "limón"*. Universidad Nacional de Piura. piura: Tesis de grado.

Yin, H., Yan, B., Sung, J., Jia, P., Zhang, Z., Yan, X., . . . Liu, H. (2012). Graft-union development: a delicate process that involves cell–cell communication between scion and stock for local auxin accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 4-14.

## 7.2. Fuentes Electrónicas

Aloni, B., Karni, L., Deventurero, G., Levin, Z., Cohen, R., Katzir, N., . . . Aktas, H. (2008). Physiological and biochemical changes at the rootstock–scion interface in graft combinations between Cucurbita rootstocks and a melon scion. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 777–783.

doi:10.1080/14620316.2008.11512460

Ashanina, M., Iwai, H., Yamaguchi, S., Kamiya, Y., Kamada, H., & Satoh, S. (2002).

LGibberellin Produced in the Cotyledon Is Required for Cell Division during Tissue Reunion in the Cortex of Cut Cucumber and Tomato Hypocotyls. *plant physiology*. doi:10.1104/pp.010886

Balla, I., & Mansvelt, L. (2013). Micropropagation of Peach Rootstocks and Cultivars.

*Methods in Molecular Biology*, 137-148. doi:10.1007/978-1-62703-074-8\_10

Dubón, A. (Octubre de 2017). *Infocacao ciencia y tecnologia al servicio del sector cacaotero*. Obtenido de

[http://www.fhia.org.hn/descargas/proyecto\\_procacao/infocacao/InfoCacao\\_No15\\_Oct\\_2017.pdf](http://www.fhia.org.hn/descargas/proyecto_procacao/infocacao/InfoCacao_No15_Oct_2017.pdf)

Errea, P., Felipe, A., & Herrero, M. (1994). Graft establishment between compatible and incompatible Prunus spp. *Journal of Experimental Botany*, 393–401.

doi:10.1093/jxb/45.3.393



- Harting, K., & Beck, E. (2006). Crosstalk between auxin, cytokinins, and sugars in the plant cell cycle. *Biol vegetal (Stuttg)*, 8(3), 1-12. doi:10.1055 / s-2006-923797. PMID: 16807832.
- Irisarri, P., Binczycki, P., Errea, P., Martens, H., & Piña, A. (2015). Oxidative stress associated with rootstock–scion interactions in pear/quince combinations during early stages of graft development. *Journal of Plant Physiology*, 25-35. doi:10.1016/j.jplph.2014.10.015
- Jane, S., Clemente, M., Hevin, C., Nyamba, L., Delrot, S., Trossat, C., & Ollat, N. (2013). Graft union formation in grapevine induces transcriptional changes related to cell wall modification, wounding, hormone signalling, end secondary metabolism. *Journal of Experimental Botany*, 64(10), 1-12. doi:10.1093 / jxb / ert144
- Kanjana, W., Suzuki, T., Ishii, K., Kozaki, T., Ligo, M., & Yamane, K. (2016). Transcriptome analysis of seed dormancy after rinsing and chilling in ornamental peaches (*Prunus persica* (L.) Batsch). *BMC Genomics*, 8-11. doi:10.1186/s12864-016-2973-y
- Marsch, N., Franken, J., Gonzales, K., de Folter, S., Angenent, G., & Alvares, E. (2013). An efficient flat-surface collar-free grafting method for *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Methods*. doi: 10.1186 / 1746-4811-9-14
- Melnyk, C. (2017). Plant grafting: insights into tissue regeneration. *Regeneración (Oxf)*, 5-12. doi:10.1002/reg2.71
- Melnyk, C., Gabel, A., Hardcastle, T., Robinson, S., Miyashima, S., Grosse, I., & Meyerowitz, E. (2018). Transcriptome dynamics at *Arabidopsis* graft junctions reveal an intertissue recognition mechanism that activates vascular regeneration. *Articles from Proceedings of the National Academy of Sciences of the United*

*States of America are provided here courtesy of National Academy of Sciences, 115(10), 3-10. doi:10.1073/pnas.1718263115*

Melnyk, C., Schuster, C., Leyser, O., & Meyerowitz, E. (2015). A Developmental framework for graft formation and vascular reconnection in *Arabidopsis thaliana*. *Howard Hughes medical institute, 25(10), 5-11.*  
doi:0.1016/j.cub.2015.03.032

Nagar, P. (25 de Mayo de 2016). *SlideShare*. Recuperado el 25 de Febrero de 2020, de <https://www.slideshare.net/pawannagar8/direct-organogenesis-embryogenesis-micro-grafting-meristem-culture-and-its-importance-for-fruit-crops>

Piña, A., & Errea, P. (2005). A review of new advances in the graft compatibility-incompatibility mechanism. Elsevier, 106(1), 1-11. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.04.003>

Piña, A., Errea, P., & Martens, H. (2012). Graft union formation and cell-to-cell communication via plasmodesmata in compatible and incompatible stem unions of *Prunus* spp. *Scientia Horticulturae*, 144-150.  
doi:10.1016/j.scienta.2012.06.017

Singh, A., Meetei, N., Kundu, S., Salma, U., & Mandal, N. (2019). In vitro micrografting using three diverse indigenous rootstocks for the production of Citrus tristeza virus-free plants of Khasi mandarin. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 180-189. doi:10.1007/s11627-018-9946-6

Skyilar, A., Sung, F., Hong, F., Chory, J., & Wu, X. (2011). Metabolic sugar signal promotes *Arabidopsis* meristematic proliferation via G2. *NIH Public Access, 351(1), 4-18.* doi:10.1016/j.ydbio.2010.12.019

Wang, L., & Ling, Y. (2013). Regulation of cell division and expansion by sugar and auxin signaling. *Front in Plant Science*, 4(163), 3-9.

doi:10.3389/fpls.2013.00163

Wang, L., Li, X., Lian, H., Ni, D., He, Y., Chen, X., & Ruan, Y. (2010). Evidence that high activity of vacuolar invertase is required for cotton fiber and Arabidopsis root elongation through osmotic dependent and independent pathways,

respectively. *Plant Physiol*, 154(2), 1-13. doi:10.1104 / pp.110.162487

Wilhelm, O. (1885). *Flora von Deutschland Österreich und der Schweiz*. Obtenido de <http://www.biolib.de/thome/index.html>

## ANEXOS



Anexo N°1: planta de Okinawa seleccionada para el estudio



Anexo N°2: Recolección de varetas de Huayco rojo en la estación experimental de Donoso.



Anexo N°3: Rompimiento de la drupa de las semillas se Okinawa y desinfección de las semillas en hipoclorito de sodio.



Anexo N°4: Desinfección de varetas de huayco rojo en una solución de fungicida y bactericida.



Anexo N°5: Plantas de Huayco rojo micropropagadas in vitro



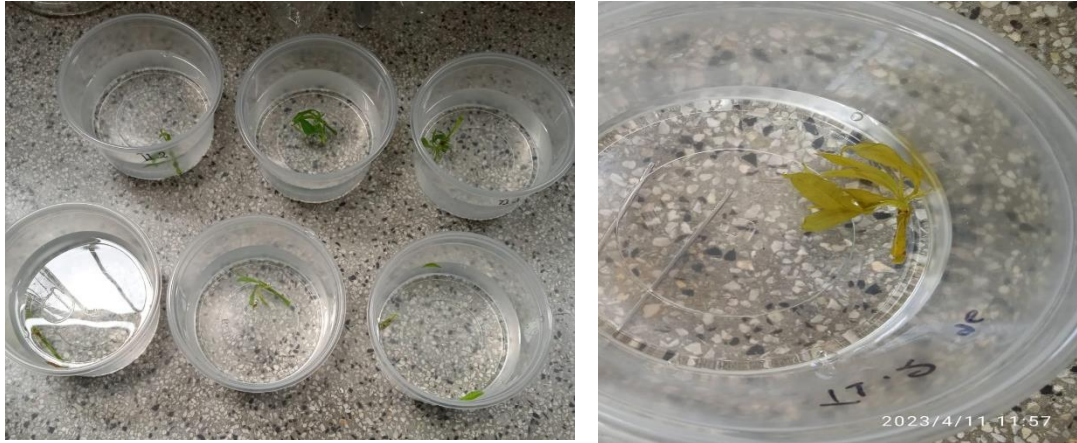
Anexo N°6: plantas de Okinawa sembradas de semilla para la microinjertación



Anexo N°7: Técnica de una para la microinjertación de la variedad Huayco rojo sobre Okinawa



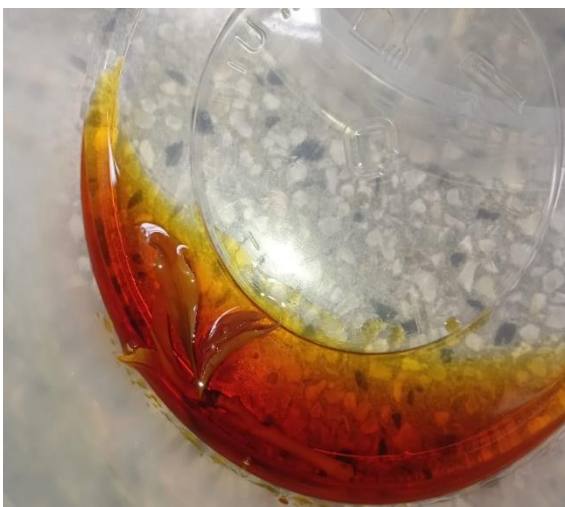
Anexo N°8: Microinjerto de una semana



Anexo N°9: proceso de la fijación.



Anexo N°10: proceso de la fijación, después de la congelación.



Anexo N°11: tinción con Lugol y fucsina ácida.

Anexo N°10: Matriz de consistencia

Matriz de Consistencia						
<b>Título:</b> Efecto de la concentración de sacarosa en el prendimiento del microinjerto de <i>Prunus persica</i> “durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa.						
<b>Autores:</b> Brenda Rosangela, Calderón Ojeda; Grecia Elyani, Justo Acosta						
Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables e indicadores			
<p><b>Problema General:</b> ¿Cuál es el efecto de la concentración de sacarosa en el prendimiento del microinjerto de <i>Prunus persica</i> “durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa?</p> <p><b>Problemas Específicos:</b> <b>PE1:</b> ¿Cómo influyen las concentraciones de sacarosa en la unión del xilema y floema de las variedades Huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>?</p> <p><b>PE2:</b> ¿El prendimiento del xilema y floema se evidencia a través de cortes histológicos entre las variedades de Huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>?</p>	<p><b>Objetivo general:</b> Determinar el efecto de la concentración de sacarosa en el prendimiento del microinjerto de <i>Prunus persica</i> “Durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b> <b>OE1:</b> Determinar la influencia de la concentración de sacarosa que induce la unión del xilema y floema entre variedades de Huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>.</p> <p><b>OE2:</b> Evidenciar histológicamente el prendimiento del xilema y floema entre las variedades de Huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>.</p> <p><b>OE3:</b> Determinar la influencia de la variación de la</p>	<p><b>Hipótesis general:</b> El aumento en la concentración de sacarosa favorece el prendimiento del microinjerto de <i>Prunus persica</i> “Durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa.</p> <p><b>Hipótesis específicas:</b> <b>H1:</b> La variación de las concentraciones de sacarosa tiene efecto en la unión del xilema y floema de las variedades Huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>.</p> <p><b>H2:</b> El prendimiento del xilema y floema se evidencia a través de cortes histológicos entre las</p>	<b>Variable 1:</b> Efecto de la concentración de sacarosa			
			<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Escala de medición</b>	<b>Niveles y rangos</b>
			-Concentración de sacarosa	-Cantidad en g/L	Razón o proporción	Niveles de sacarosa T <sub>1</sub> : 25g/L T <sub>2</sub> : 30g/L T <sub>3</sub> : 35g/L T <sub>4</sub> : 40g/L T <sub>5</sub> : 45g/L
			<b>Variable 2:</b> El prendimiento del microinjerto <i>Prunus persica</i> “durazno” variedad Huayco rojo x Okinawa			
			<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Escala de medición</b>	<b>Niveles y rangos</b>
-calidad del prendimiento	-Desarrollo de xilema -Desarrollo de floema -Tamaño de hojas -Número de hojas	Razón o proporción	<b>Nivel de prendimiento:</b> Bajo:0 a 25% Medio:25 a 50% Alto: 50 a 75% Muy alto: 75 a 100% <b>Niveles de Tamaño de hojas(mm)</b> Pequeño:1-13 Mediano:14-27 Grande 28-40 <b>Niveles de N° de hojas:</b>			



<p><b>PE3:</b> ¿La variación en la concentración de sacarosa influye en el tamaño de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades Huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>?</p> <p><b>P.E4:</b> ¿La variación en la concentración de sacarosa influye en el máximo número de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades Huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>?</p>	<p>concentración de sacarosa sobre el tamaño de las hojas desarrolladas del microinjerto entre la variedad de Huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>.</p> <p><b>OE4:</b> Determinar la influencia de la variación de la concentración de sacarosa sobre el máximo número de hojas desarrolladas del microinjerto entre la variedad de Huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>.</p>	<p>variedades de Huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>.</p> <p><b>H3:</b> A mayor concentración de sacarosa, mayor tamaño de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>.</p> <p><b>H4:</b> A mayor concentración de sacarosa, mayor número de hojas desarrolladas de los microinjertos de las variedades huayco rojo y Okinawa de <i>Prunus persica</i>.</p>				<p>Escaso:0-1 Regular:2-4 Abundante:5 a mas</p>
<p><b>Nivel - diseño de investigación</b></p>	<p><b>Población y muestra</b></p>	<p><b>Técnicas e instrumentos</b></p>	<p><b>Estadística a utilizar</b></p>			
<p><b>Tipo:</b> experimental</p>	<p><b>Población:</b></p>	<p><b>Variable 1:</b> Efecto de la concentración de sacarosa</p>	<p>El procesamiento de datos se realizará con el análisis de varianza (ANVA) para determinar si hay diferencias entre tratamientos con un límite de</p>			

<p><b>Diseño:</b> Explicativa con un diseño experimental</p>	<p>La población estará constituida por todas las repeticiones de evaluación de las unidades muestrales; por lo cual la población tiende al infinito.</p> <p><b>Tipo de muestreo:</b> La confiabilidad de la muestra estará determinada por la representatividad y tamaño muestral de las unidades de análisis; la misma que se estimará a través del siguiente estadístico (Ostle, 1981).</p> $n = \frac{Z^2 P.Q}{(E)^2}$ <p>Donde: n: Tamaño de muestra (n = 100) Z: Estadístico de prueba (1.96; con <math>\alpha = 0.05</math> de significancia) P = Q = 0.50 E = Error muestral (9.8 %).</p>	<p><b>Técnicas:</b> Inducción de sacarosa a diferentes concentraciones en un medio establecido.</p> <p><b>Variable 2:</b> el prendimiento del microinjerto <i>Prunus persica</i> “durazno” entre var. Huayco rojo y var. Okinawa</p> <p><b>técnicas:</b> microinjerto</p> <p><b>Instrumentos:</b> <b>Potenciómetro modelo HANNA INSTRUMENTS modelo PH 211</b> <b>Microprocessor pH meter:</b> que medirá las unidades de pH del medio de cultivo a utilizar en cada proceso la validez para obtener buenos resultados es calibrar el instrumento.</p> <p><b>Balanza analítica marca OHAUS modelo PX3202/E:</b> se utilizará para determinar el peso de las sustancias para el medio. La validez se realizará mediante calibraciones del instrumento para obtener resultados confiables.</p> <p><b>Estereoscopio OLYMPUS modelo VMZ 1X-4X se utilizará en INIA, DONOSO</b> para extraer explantes de las variedades de <i>Prunus persica</i>. La validez del instrumento en las calibraciones del instrumento.</p>	<p>confianza del 95%, si existe esta diferencia se empleará una prueba de rangos múltiples de Tukey para realizar las comparaciones a 0.05.</p>
--	--	---	---

		<p><b>Microscopio NIKON modelo DSfil se utilizará en INIA, DONOSO</b> para extraer explantes de las variedades de <i>Prunus persica</i>. La validez del instrumento en las calibraciones del instrumento.</p> <p><b>Estereoscopio OLYMPUS modelo VMZ 1X-4X</b> se utilizará para realizar la unión del microinjerto de las variedades del <i>Prunus persica</i>. La validez del instrumento en las calibraciones del instrumento.</p> <p><b>Microscopio NIKON modelo DSfil</b> se utilizará para observar la estructura y la conexión del floema. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.</p> <p><b>La cámara de incubación</b> será el cuarto de incubación que se utilizará para darle las condiciones adecuadas, intensidad lumínica, temperatura, oscuridad entre otros hasta que se desarrolla la plántula. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.</p> <p><b>Cámara de flujo laminar TELSTAR modelo AV-30/70</b> se utilizará para trabajar con las muestras en condiciones asépticas sin contaminación. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.</p>	
--	--	---	--

		<p><b>Autoclave marca SYSTEC modelo VB-40</b> se utilizará para esterilizar el medio de cultivo y materiales de vidrio a utilizar en cada proceso. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.</p> <p><b>Destilador marca RELES modelo DL/O 5L</b> se utilizará para obtener agua destilada a utilizar en cada proceso. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.</p> <p><b>Refrigerador marca SAMSUNG modelo RS64R5311M9</b> se utilizará para refrigerar las muestras en cada proceso. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.</p> <p><b>Agitador Magnético marca KOSSODO modelo F20500162</b> se utilizará para disolver los reactivos del medio de cultivo en cada proceso. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.</p> <p><b>Dispensador marca HIRASAWA modelo TYPE FH-10S</b> se utilizará para verter el medio de cultivo en los frascos de vidrio en cada proceso. Para obtener la validez de los resultados se calibrará el instrumento.</p>	
--	--	---	--

