

DETERMINACION DE UN TRATAMIENTO QUE PREVenga *Agrobacterium tumefaciens* EN PLANTAS DE ROSAS (*Rosa sp.*) Var Cantata, HASTA EL NOVENO MES DE SIEMBRA UBICADO EN LA PARROQUIA EL QUINCHE - CANTON QUITO - PROVINCIA DE PICHINCHA.

HUGO JORGE CIFUENTES BARRENO

TESIS

**PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO
DE INGENIERO AGRÓNOMO**

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

RIOBAMBA – ECUADOR

2010

El tribunal de tesis certifica que el trabajo de investigación titulado:

“DETERMINACION DE UN TRATAMIENTO QUE PREVenga *Agrobacterium tumefaciens* EN PLANTAS DE ROSAS (*Rosa sp.*) Var Cantata, HASTA EL NOVENO MES DE SIEMBRA UBICADO EN LA PARROQUIA EL QUINCHE - CANTON QUITO - PROVINCIA DE PICHINCHA”. De responsabilidad del egresado Hugo Jorge Cifuentes Barreno ha sido prolijamente revisado, quedando autorizada su presentación.

EL TRIBUNALDE TESIS

Ing. Luis Hidalgo.

DIRECTOR DETESIS

Ing. Norma Erazo.

MIEMBRO

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

RIOBAMBA – ECUADOR

2010

DEDICATORIA

A mi madre que durante toda su vida ha sido un ejemplo de lucha y sacrificio, quien con sus conocimientos y fuerza de carácter logró hacer de todos sus hijos personas de bien.

AGRADECIMIENTO

A Dios y a mi madre por haberme guiado y permitido culminar con este gran sueño.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Recursos Naturales y a cada uno de los docentes que con su sabiduría y paciencia inculcaron todas las herramientas para lograr ser un buen profesional.

A Hilsea Invesment, Unidad de Negocio Esmeralda Breeding por abrirme las puertas y brindarme todo el apoyo para el desarrollo de la investigación.

A todas aquellas personas que de una u otra forma estuvieron presentes con sus consejos y aportes que contribuyeron a la realización de esta investigación.

TABLA DE CONTENIDOS

Capítulo		<u>Página</u>
	Lista de Cuadros	
	Lista de Gráficos	
	Lista de Anexos	
I.	Título	1
II.	Introducción	1
III.	Revisión de Literatura	4
IV.	Materiales y Métodos	16
V.	Resultados y Discusión	30
VI.	Conclusiones	98
VII.	Recomendaciones	100
VIII.	Resumen	101
IX.	Summary	102
X.	Bibliografía	103

LISTA DE CUADROS

Número	Descripción	Página
1	Tratamientos en estudio	22
2	Especificaciones del campo experimental	24
3	Esquema del análisis de varianza.	26
4	Análisis de varianza para la presencia de la agalla <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> a los 15 días después de trasplante	31
5	Prueba de Tukey al 5 % para el factor B a los 15 días después del trasplante	32
6	Prueba de Tukey al 5 % para el factor C a los 15 días después del trasplante	32
7	Prueba de Tukey al 5 % para el factor D a los 15 días después del trasplante	33
8	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxC a los 15 días después del trasplante	33
9	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxD a los 15 días después del trasplante	34
10	Prueba de Tukey al 5 % para el factor CxD a los 15 días después del trasplante	35
11	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxCxD a los 15 días después del trasplante	36
12	Análisis de varianza para la presencia de la agalla <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> a los 30 días después de trasplante	38
13	Prueba de Tukey al 5 % para el factor AxB a los 30 días después del trasplante	39

14	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Ax _C a los 30 días después del trasplante	40
15	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Bx _D a los 30 días después del trasplante	40
16	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Cx _D a los 30 días después del trasplante	41
17	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Ax _{BxC} a los 30 días después del trasplante	42
18	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Bx _{CxD} a los 30 días después del trasplante	43
19	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Bx _C a los 30 días después del trasplante	43
20	Análisis de varianza para la presencia de la agalla <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> a los 45 días después de trasplante	46
21	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Cx _D a los 45 días después del trasplante	47
22	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Bx _C a los 45 días después del trasplante	48
23	Análisis de varianza para la presencia de la agalla <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> a los 60 días después de trasplante	51
24	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Bx _C a los 60 días después del trasplante	52
25	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Bx _D a los 60 días después del trasplante	53
26	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Cx _D a los 60 días después del trasplante	54
27	Prueba de Tukey al 5 % para el factor Bx _{CxD} a los 60 días después del trasplante	55

28	Análisis de varianza para la presencia de la agalla <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> a los 75 días después de trasplante	57
29	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxC a los 75 días después del trasplante	58
30	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxD a los 75 días después del trasplante	59
31	Prueba de Tukey al 5 % para el factor CxD a los 75 días después del trasplante	60
32	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxCxD a los 75 días después del trasplante	61
33	Análisis de varianza para la presencia de la agalla <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> a los 90 y 105 días después de trasplante	63
34	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxC a los 90 y 105 días después del trasplante	64
35	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxD a los 90 y 105 días después del trasplante	65
36	Prueba de Tukey al 5 % para el factor CxD a los 90 y 105 días después del trasplante	65
37	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxCxD a los 90 y 105 días después del trasplante	66
38	Análisis de varianza para la presencia de la agalla <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> a los 120 días después de trasplante	68
39	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxCxD a los 120 días después del trasplante	70
40	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxC a los 120 días después del trasplante	71
41	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxD a los 120 días después del trasplante	72

42	Prueba de Tukey al 5 % para el factor CxD a los 120 días después del trasplante	72
43	Análisis de varianza para la presencia de la agalla <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> a los 135 días después de trasplante	75
44	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxC a los 135 días después del trasplante	76
45	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxD a los 135 días después del trasplante	77
46	Prueba de Tukey al 5 % para el factor CxD a los 135 días después del trasplante	77
47	Análisis de varianza para la presencia de la agalla <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> a los 150 y 165 días después de trasplante	80
48	Prueba de Tukey al 5 % para el factor AxByD a los 150 y 165 días después del trasplante	81
49	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxC a los 150 y 165 días después del trasplante	82
50	Análisis de varianza para la presencia de la agalla <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> a los 180 y 240 días después de trasplante	84
51	Prueba de Tukey al 5 % para el factor A a los 180 y 240 días después del trasplante	85
52	Prueba de Tukey al 5 % para el factor B a los 180 y 240 días después del trasplante	85
53	Prueba de Tukey al 5 % para el factor BxC a los 180 y 240 días después del trasplante	86
54	Regresión lineal para la interacción BxC	92
55	Porcentaje de incidencia de la enfermedad	93

56	Cálculo de la mediana para los tratamientos en los que se utilizó porta yemas con síntomas	94
58	Cálculo de la mediana para los tratamientos en los que se utilizó porta yemas sin síntomas	95
59	Costos por hectárea del ensayo	96
60	Relación Beneficio/Costo	97

LISTA DE GRÁFICOS

Número	Descripción	Página
1	Número de plantas sanas a los 15 DDT	36
2	Número de plantas sanas a los 30 DDT	44
3	Número de plantas sanas a los 45 DDT	48
4	Número de plantas sanas a los 60 DDT	55
5	Número de plantas sanas a los 15 DDT	61
6	Número de plantas sanas a los 90 y 105 DDT	67
7	Número de plantas sanas a los 120 DDT	73
8	Número de plantas sanas a los 135 DDT	78
9	Número de plantas sanas a los 150 y 165 DDT	82
10	Número de plantas sanas a los 180 y 240 DDT	86
11	Regresión lineal para el factor A	88
12	Regresión lineal para el factor B	89
13	Regresión lineal para el factor C	90
14	Regresión lineal para el factor D	91
15	Regresión lineal para la interacción BxC	92
16	Incidencia de la enfermedad al final de la investigación	94

I. DETERMINACION DE UN TRATAMIENTO QUE PREVENGA *Agrobacterium tumefaciens* EN PLANTAS DE ROSAS (*Rosa sp.*) Var Cantata, HASTA EL NOVENO MES DE SIEMBRA UBICADO EN LA PARROQUIA EL QUINCHE - CANTON QUITO - PROVINCIA DE PICHINCHA.

II. INTRODUCCIÓN

Las rosas ecuatorianas son muy reconocidas en el extranjero por su calidad de botón, tallo y durabilidad en florero inigualables, todo esto se debe a factores como clima, suelo, luminosidad que son favorables.

La floricultura ecuatoriana tuvo su inicio en la década de los setenta cuando las compañías Flolexport y Jardines del Ecuador, pioneras en el cultivo tecnificado de flores para exportación, enviaron los primeros claveles y crisantemos al exterior.

El proceso de expansión se inicia a partir del año 1983, con el cultivo de dos hectáreas de producción de rosas de alta calidad, que se ha seguido incrementando hasta llegar, en el año 2001, a las 1988 hectáreas de rosas, de un total de 3208 hectáreas dedicadas al cultivo de flores, lo que convierte al Ecuador en el país con el mayor número de hectáreas de cultivo de flores en invernadero.

Según Expoflores (2010) el año 2009 fue considerado como el peor ya que hubo un decrecimiento en las exportaciones cerrando con una tasa negativa de -10,2 % en su monto de exportaciones lo que ocasionó el cierre de muchas fincas.

Más del 60% del total de las exportaciones florícolas se destinan a Estados Unidos, entre otras razones, debido a la gran demanda del producto, las facilidades de transporte y las cortas distancias, a tal punto que Ecuador se ha convertido en el segundo proveedor de este mercado, después de Colombia, con 46.355,31 toneladas métricas.

Según la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la calidad del Agro (2010), Agrocalidad, entre el 2008 y 2009 se cerraron 337 hectáreas de cultivo a nivel nacional, es decir la superficie cultivada de flores se redujo en un 7,3% durante el período de análisis 2009 con un total de 3821,22 hectáreas cultivadas. De igual manera, el número de empleados, según la misma fuente, pasó de 46626 en 2008 a 39339 trabajadores en el 2009, decreciendo un 15,6 % en un solo año.

La floricultura emplea actualmente, como mano de obra directa, más de 10.000 personas, todas habitantes del área rural, lo que nos da una idea del número de campesinos que no han emigrado a la ciudad.

Igual de importante es destacar que de ese gran total, el 70% es población femenina, integrada en su gran mayoría por jóvenes, que han encontrado en este trabajo una forma de obtener su autonomía económica, lo que les permite alcanzar una vida más digna y menos dependiente del hombre, cosa habitual en el medio rural.

Para HILSEA INVESTMENT la presencia de *Agrobacterium tumefaciens* en mini plantas ha sido un problema para la comercialización de éstas a terceros ya que la empresa ha tenido que pagar el lucro cesante a fincas productivas que no pertenecen al grupo.

De la misma se vuelve un problema al momento de exportar plántulas, al ser ésta considerada por Agrocalidad una enfermedad cuarentenaria impide su venta a terceros ya que es de fácil proliferación y puede vivir en el suelo en estado de latencia por varios años para manifestar su infección.

El género *Agrobacterium* agrupa a la bacteria fitopatógena *A. tumefaciens*, causante de tumores en cuello y raíces (agalla de la corona) en muchas especies vegetales, de interés agrícola y comercial.

Esta es una enfermedad de gran importancia a nivel de vivero, ya que al presentarse se hace imposible su comercialización. En plantaciones ya establecidas la enfermedad causa pérdidas de producción que ya provoca un descenso en el vigor en casos extremos puede causar la muerte.

La presencia de tumores merma la calidad y cantidad del material vegetativo para propagación y en numerosos países del norte de África y Sudamérica, está considerado un patógeno de cuarentena.

En la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- a. Establecer como la ubicación de la yema al momento de propagar incide en el apareamiento de *Agrobacterium tumefaciens* en plantas jóvenes de Rosas (*Rosa sp. Var Cantata*).
- b. Evaluar *Agrobacterium radiobacter* K84 en el control de *Agrobacterium tumefaciens* en plantas jóvenes de Rosas (*Rosa sp Var Cantata.*)
- c. Determinar la influencia del origen del patrón (In vitro e In vivo) en el apareamiento de *Agrobacterium tumefaciens* en plantas jóvenes de Rosas (*Rosa sp Var Cantata.*)
- d. Determinar la influencia del origen del injerto (con síntoma o sin síntoma visible de la agalla) en el apareamiento de *Agrobacterium tumefaciens* en plantas jóvenes de Rosas (*Rosa sp Var Cantata.*)
- e. Realizar el análisis económico de los tratamientos en estudio.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

A. *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS*

1. Concepto

LYNN. G, 2006 menciona que: *Agrobacterium tumefaciens* es una bacteria Gram negativa capaz de infectar plantas a través de heridas, e inducir la formación de “tumores” en las plantas infectadas.

2. Síntomas de la presencia de la enfermedad

La agalla de la corona es una enfermedad que se desarrolla en el tejido parenquimático, empezando con una rápida proliferación de células del meristemo formando unas pequeñas hinchazones o tumores. (Horst, 1979).

Las agallas o tumores se ubican a menudo en la superficie del suelo o en las raíces de las plantas, donde es más frecuente y rara vez se presentan en las partes aéreas. (Horst, 1979).

II INTERNATIONAL ROSE SYMPOSIUM, 2007 nos indica que: “La agalla de la corona es una enfermedad difundida en regiones templadas del mundo causada por cepas virulentas de *Agrobacterium* (Smith & Townsend, 1907)”.

Esta bacteria es común en el suelo y puede atacar a más de 93 familias de plantas. Sin embargo muchas opiniones coinciden que esta enfermedad es diferente en cada especie. II (INTERNATIONAL ROSE SYMPOSIUM, 2007.)

En el caso de rosas, expertos franceses consideran que *Agrobacterium tumefaciens* es la principal enfermedad en vivero. Y este es el principal problema al momento de comercializar mini plantas. (INTERNATIONAL ROSE SYMPOSIUM, 2007.)

Sin embargo hay un importante incremento de *Agrobacterium t.* en invernaderos, por malas prácticas de asepsia al momento de injertar y descuidos en la propagación. (INTERNATIONAL ROSE SYMPOSIUM, 2007.)

CABRERA, M. 2006 indica que: “La enfermedad se caracteriza por presencia de tumores, de forma y tamaño variables, globosos o alargados, localizados en el cuello y raíces principales de las plantas, y tumores secundarios en ramas. La formación de los tumores produce la obstrucción de la circulación de agua y se dificulta el normal abastecimiento de savia hacia el follaje, sobreviniendo un decaimiento creciente, marchitamiento y finalmente la muerte de la planta al cabo de tres o cuatro años. La presencia de esta enfermedad en una planta la hacen más sensible a otros microorganismos patógenos”.

PROAÑO.A, 2002 Menciona que: “Las agallas usualmente son redondas, con una superficie irregular y rugosa que inicialmente se presentan como pequeñas protuberancias en la superficie de la planta, así como del tiempo desde la infección.

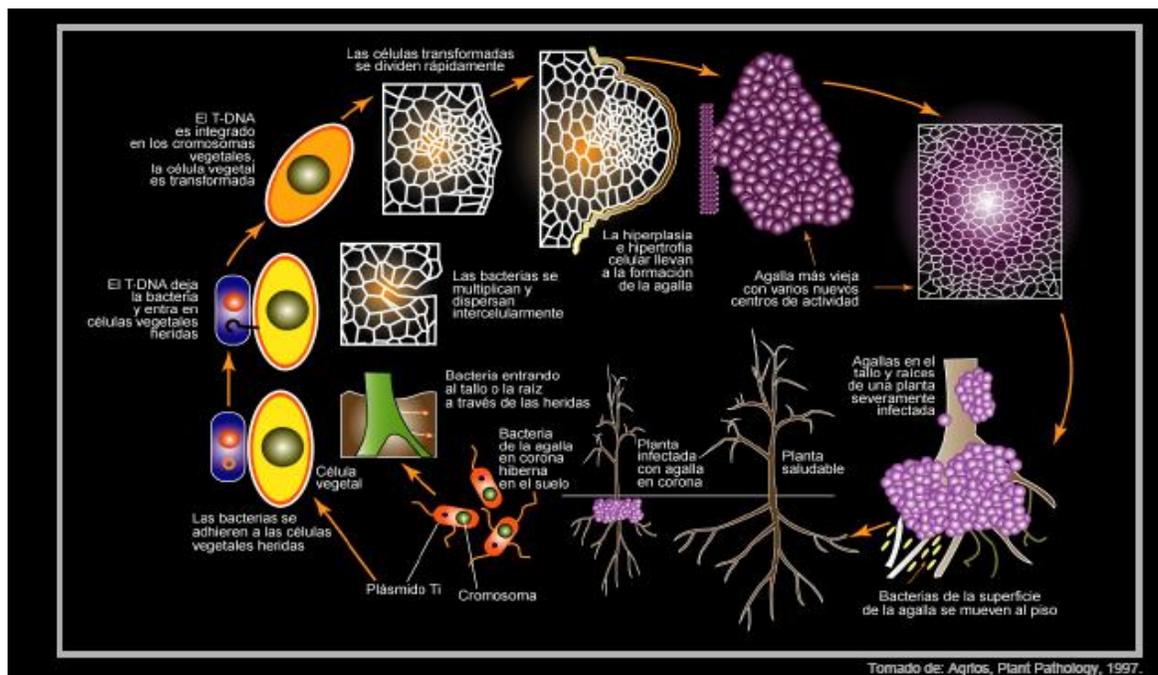
Las agallas jóvenes, en estado muy activo de crecimiento, tienen un color verde claro o blanco y son blandos. Conforme envejecen se oscurecen y se hacen leñosos. El tejido externo de la agalla puede desprenderse con la edad por descomposición normal del tejido, por acción del tiempo u otros microorganismos”.

3. Clasificación taxonómica

Dominio:	Bacteria
Filo:	<u>Proteobacteria</u>
Clase:	Proteobacteria alfa
Orden:	<u>Rhizobiales</u>
Familia:	<u>Rhizobiaceae</u>
Género:	<u>Agrobacterium</u>
Especie:	<i>Tumefaciens</i>

Fuente: (http://es.wikipedia.org/wiki/Agrobacterium_tumefaciens consultado agosto 2009)

4. Ciclo de la enfermedad



5. Mecanismo de infección de *Agrobacterium tumefaciens*

LLOP PEREZ. P, 2003 manifiesta que: Las cepas de *Agrobacterium* patógenas contienen un plásmido inductor de tumores (Ti) que determina en primera instancia la patogenicidad de una cepa, la enfermedad se desencadena cuando determinados genes de este plásmido Ti son transferidos al genoma del huésped. Estos genes codifican las enzimas requeridas para la síntesis de fitohormonas que se sobre expresan en la célula vegetal provocando un incremento en la división celular (hiperplasia) y en el tamaño de las células (hipertrofia) dando lugar al fenotipo tumor.

LYNN. G, 2006 menciona que: Las cepas virulentas de *Agrobacterium* contienen el plásmido Ti, de un tamaño que varía entre los 130-230 kb. El plásmido Ti determina las características de los tumores y la producción de aminoácidos poco comunes denominados opinas (aminoácidos raros que produce la planta al ser infectada por *Agrobacterium*, y que son la fuente de energía de esta bacteria).

El mecanismo de infección de *Agrobacterium* involucra la transferencia e integración de una región del plásmido Ti al genoma de la célula vegetal. Para que esta región sea transferida a la planta, los genes virulentos necesitan ser activados por "acetosyringone"(compuesto que produce la planta cuando tiene una herida). Esta región se denomina T-DNA (Transfer-DNA) la cual contiene los genes oncogénicos (onc) cuya expresión provoca una mayor producción de hormonas de crecimiento, creando así los tumores en las plantas. Además, contiene genes que codifican para algunas fitohormonas (auxinas y citoquininas) y para la síntesis de opinas. (LYNN, 2006)

Estos genes se expresan únicamente al ser integrados al genoma de la planta. Las regiones terminales (que constan de 25pb) son necesarias para transferir la región T-DNA. (LYNN, 2006)

Invade heridas, la bacteria se pasa sobre las células sanas, alrededor de las heridas e introduce su material cromosómico (induce los tumores) T – DNA se incorpora al cromosoma de la planta, T gen T DNA codifica la producción de citoquinina ac. Indolacético. Sintetiza las opinas las cuales las toma las bacterias con la ayuda de la opina permeasa, esta hace que tome las opinas. (LYNN, 2006)

6. Condiciones para el desarrollo de la enfermedad

PROAÑO.A, 2002 Menciona que: “La actividad de la bacteria es mayor en los meses de verano. El patógeno ingresa a la planta a través de heridas naturales o producidas por la poda, injertación, manejo cultural, presión de suelos congelados, picaduras de insectos o emergencia de raíces laterales. Las agallas se observan desde una semana a meses después de que se ha producido la infección. “

La bacteria hiberna en suelos infectados, donde vive como organismo saprófito durante varios años. Cuando las plantas hospedantes se desarrollan en estos, las bacterias penetran las raíces o tallos que se encuentran cerca del suelo o a través de heridas muy recientes producidas por labores de cultivo, injertos, insectos, etc. Y una vez en el interior de los tejidos, las bacterias se liberan principalmente a nivel intercelular y estimulan a las células circundantes para que se dividan. (PROAÑO, 2002)

En la corteza o capa del cambium aparecen uno o varios grupos de células hiper plásticas, las cuales pueden contener de uno a varios núcleos que se dividen con rapidez, produciendo células que no muestran ni diferenciación ni orientación, y se observa a simple vista a manera de pequeña hinchazón. Conforme la división y crecimiento irregular de las células continúa sin interrupción, la hinchazón se agranda y se desarrolla un tumor joven. En la parte del central de los tumores no hay bacterias pero estas pueden encontrarse intercelularmente en su periferia ya en vasos o traqueidas que sin embargo no muestran organización alguna y mantiene poca o ninguna conexión con el sistema vascular de la planta hospedante. (PROAÑO, 2002)

Conforme aumenta el tamaño y la cantidad células tumorosas, estas ejercen cierta presión sobre los tejidos normales circundantes y subyacentes, los cuales pueden deformarse o aplastarse. La compresión de los vasos xilemáticos a causa de los tumores en ocasiones disminuye la cantidad de agua que llega a la parte superior de la planta hasta de un 20 % del nivel normal. (PROAÑO, 2002)

La degradación de los tejidos tumorosos periféricos libera en el suelo a las bacterias, que producen la agalla de la corona y posteriormente son transportados por el agua e infecta a otras plantas. (PROAÑO, 2002)

Según el Boletín Informativo # 141 del INIA Quilamapu, 2008 indica que: “Las agalla son visibles después de 2 a 4 semanas de la infección cuando la temperatura fluctúa entre 20°C y 30°C”.

Con temperaturas inferiores a 15°C los síntomas demoran en manifestarse, y algunas infecciones pueden permanecer latentes hasta la segunda o tercera temporada de crecimiento. Las temperaturas superiores a 32 ° C inhiben la infección. (Informativo # 141 del INIA Quilamapu, 2008)

B. CONTROL DE *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS*

Generalmente se hacen varias recomendaciones para reducir la presencia de la agalla de la corona. (Horst, 1979).

Se debe usar plantas libres del síntoma de la enfermedad, sin embargo la bacteria puede encontrarse latente y el patógeno presenta alguna resistencia. (Horst, 1979).

No realizar heridas en la raíces y coronas durante las labores diaria del cultivo. (Horst, 1979).

Implantar el cultivo en suelo esterilizado. (Horst, 1979).

A veces en el cultivo de rosas existe infección durante las fumigaciones por daños mecánicos ya que las heridas son una entrada de enfermedades entre ellas *Agrobacterium tumefaciens*. (Horst, 1979).

Remoción de las plantas infectadas tan pronto como se observen agallas. Si fuera posible remover el suelo que rodea el área de las raíces infectadas, para estar seguro de que se descarte agallas y raíces infectadas. (Horst, 1979).

Utilización de antagonistas como *Agrobacterium radiobacter* cepa K 84. (Horst, 1979).

Lavar minuciosamente las herramientas se recomienda introducirlas en alcohol y flamearlas. (Horst, 1979).

En www.diagnosticosvegetales.com indica que: No se puede curar a las plantas con engrosamiento y ésta es la razón por la que la prevención es tan esencial.

No deben utilizarse para cultivar plantas provenientes de zonas infectadas con la bacteria. El comercio de plantas con engrosamiento está prohibido y no deben filtrarse en los viveros. (www.diagnosticosvegetales.com)

MONTEALEGRE, 1996 menciona que: Para el control de esta bacteria no existen métodos curativos; por lo tanto, la prevención es la medida fundamental de control; ello debido a que una vez que la bacteria ataca a su hospedero inyecta a las células del hospedero un plásmido inductor de tumores (Tip), el cual las transforma y les otorga la capacidad de sintetizar auxinas y citoquininas.

Estas hormonas son las responsables del crecimiento y multiplicación celular excesiva y, por lo mismo, de las agallas y el desorden fisiológico correspondiente. (Montealegre, 1996)

Una de las alternativas de control preventivo de *A. tumefaciens* es la utilización del bioantagonista *Agrobacterium radiobacter*. (Montealegre, 1996).

1. Movimiento de la bacteria en el interior de los tejidos

Según el artículo SYSTEMIC MOVEMENT OF AGROBACTERIUM TUMEFACIENS IN SEVERAL PLANT SPECIES nos dice que: El análisis estadístico mostró que en el tallo, a los 20 centímetros de la corona, la probabilidad de detectar la agrobacteria fue 4 veces menor que en la corona. En el tallo a 20 y 10 centímetros, la probabilidad fue 5 y 8 veces menos, respectivamente, cuando compararon con la raíz. No existen diferencias significativas encontradas entre la corona y raíz, y, entre los dos segmentos del tallo analizados.

LINARES, H, 2004 dice que: Las agallas o tumores producidos por *Agrobacterium tumefaciens* se forman en el tallo hasta una altura de 50 cm sobre el suelo o en las raíces, penetrando por las heridas cuando la planta se desarrolla sobre suelo infectado.

TZFIRA Y CITOVSKY, 2007 sobre las maneras de obtener material libre de *Agrobacterium* menciona que: “Al realizar cultivos de meristemas se puede obtener plantas libres de *Agrobacterium*. Aunque una propagación *In vitro* es muy confiable al mismo tiempo es muy costosa por que se necesita equipar laboratorios. Como una alternativa al cultivo *In vitro* o de meristemas, se puede usar nuevos brotes o material tierno y de esta manera se puede tener material libre de *Agrobacterium*.”

En <http://www.etsea2.udl.es/invitro/meristem.htm> nos indica que: El cultivo de meristemas es un método efectivo para la eliminación de infecciones virales y es el material preferido para la conservación de germoplasma. La razón principal por la cual las células meristemáticas son indemnes a los virus es que el meristemo carece de tejidos vasculares, que es por donde se propagan los virus que van contaminando a la planta.

Existen otros factores:

El meristemo apical tiene una mayor velocidad de crecimiento y en consecuencia el virus "no alcanza" al meristemo. (www.etsea2.udl.es/invitro/meristem.htm)

En una célula meristemática el virus tiene mayor dificultad de acoplamiento con los ribosomas, debido a que estas células tienen un código de trabajo muy definido. (www.etsea2.udl.es/invitro/meristem.htm)

Existe una competencia por uso de algunos metabolitos entre células y virus. (www.etsea2.udl.es/invitro/meristem.htm)

El tamaño óptimo a utilizar se decide tomando en cuenta dos factores: tamaño óptimo para la liberación del virus y tamaño óptimo para facilitar el cultivo. Existe una mayor posibilidad de obtener plantas libres de virus si sólo se aísla el meristemo, pero la posibilidad de que el meristemo sobreviva sin primordios foliares es muy pequeña. Por otro lado, utilizar meristemos más grandes (con más primordios foliares) hace que la probabilidad de obtener plantas libres de virus sea pequeña. (www.etsea2.udl.es/invitro/meristem.htm)

De manera general se puede decir que los meristemos apicales tienen más probabilidad de estar libres de virus que los meristemos axilares, y que si los meristemos provienen de una planta en plena actividad hay mayor probabilidad de obtener plantas libres de virus. (www.etsea2.udl.es/invitro/meristem.htm)

2. Características fisiológicas de *Agrobacterium radiobacter*

El control biológico de la agalla de la corona con la utilización de la bacteria antagónica *Agrobacterium radiobacter* cepa K 84 despertó interés en los últimos años. *Agrobacterium radiobacter* cepa K 84 previene *A. Tumefaciens* cuando el antagonista ingresa por una herida y éste se encuentra en mayor cantidad que el patógeno. El uso de este antagonista es de

manera preventiva mas no como un método de erradicación del patógeno. Varios experimentos de campo en Canadá, Francia, Grecia, Hungría, Nueva Zelanda, Sudáfrica y Estados Unidos han confirmado la efectividad de *A. radiobacter* controlando la agalla de la corona en varias especies de plantas. (Horst, 1979.)

LOPEZ, 1989 dice que: *A. radiobacter* es una bacteria saprófita que posee la particularidad de producir un bactericida .Este bactericida, cuyo nombre es agrocina 84, es sintetizada por la bacteria y tiene la capacidad de afectar a *A. tumefaciens*. La síntesis de esta bactericida está dada por información genética llevada en un plásmido.

FERNANDEZ, C, 2002. Nos indica que: empezó a comercializarse en 1973 para el control del tumor de cuello causado por *Agrobacterium tumefaciens*. Su control se debía a la presencia de agrocina 84 y 434. La producción de agrocina 84 es codificada por un plásmido (pAgK84) que también contiene genes que codifican para la resistencia a la agrocina 84 y a la transferencia por conjugación (Tra). Con el fin de prever la conjugación y transferencia del gen que de la resistencia a agrocina al patógeno, transformándolo en resistente.

3. Formulaciones comerciales de *A. Radiobacter*

Existen al menos dos cepas de *A. radiobacter* formuladas comercialmente; Éstas son *A. radiobacter* K84 (Agrogall-30, Galltroll, Norbac) y *A. radiobacter* K1026 (No Gall). Esta ultima obtenida a través de ingeniería genética que tiene la particularidad de impedir donar sus genes productores de agrocina a otras bacterias, dentro de las cuales se encuentra *A. tumefaciens* la cual se hará resistente a *A. radiobacter*. (Montealegre, 1996)

4. Forma de aplicación y precauciones de *A. radiobacter*

Efectuar una inmersión del sistema radicular, semillas o estacas de las plantas en una suspensión de *A. radiobacter* de 1×10^8 unidades formadoras de colonia/ml. Se debe tener la precaución de no haber tratado antes el sistema radicular o el órgano a tratar, con algún

bactericida u otro producto que afecte la viabilidad de la bacteria .Además se debe tener cuidado de no exponer el producto a temperaturas que le alteren la viabilidad, lo mismo a la radiación solar. (Montealegre, 1996)

Precauciones: Existen antecedentes que pueden desarrollarse cepas de *A. tumefaciens* resistentes a *A. radiobacter* K84, no así a *A. radiobacter* K1026. (Montealegre, 1996)

5. Agua primacide

Para la producción de Agua Primacide se utiliza sal industrial con 99.6% de pureza y sal en grano con un 99.3% de pureza. Químicamente, la sal es 60.7% cloruro elemental (Cl) y 39.3% sodio (Na). (HILSEA INVESTMENT 2010).

El Generador cuenta con una celda, que es un dispositivo eléctrico en el cual se realiza la electrólisis con la utilización de energía. (HILSEA INVESTMENT 2010)

La corriente en amperios que circula a través de la celda está directamente relacionada con la cantidad de ppm de Cloro (HOCl) que tiene la solución Primacide A y C. (HILSEA INVESTMENT 2010)

Los procesos de oxidación y de reducción se definen en términos de migraciones electrónicas entre compuestos químicos. La oxidación es la pérdida de electrones mientras que la reducción es la ganancia de electrones. (HILSEA INVESTMENT 2010)

6. Características del agua primacide

Tipo de agua	pH	ORP
A	2,5-3,2	1120
C	4,5-6	950

Fuente: HILSEA INVESTMENT 2010

En la reacción electrolítica, los iones han perdido su electrón de estabilización, y por lo tanto roban electrones de otras moléculas para volver a un estado estable. Estos electrones pueden ser robados fácilmente de las membranas de patógenos, así pinchando la célula y permitiendo la salida del fluido para entrar precipitadamente. (HILSEA INVESTMENT 2010)

Como el flujo de fluido que entra en la célula es más rápido del que la célula es capaz de bombear hacia afuera, entonces ocurre una sobrecarga osmótica y las células se rompen. (HILSEA INVESTMENT 2010)

El componente activo antimicrobiano de Primacide A y C es el ácido hipocloroso (HOCl). La cualidad de éste ácido es la cantidad de “Cloro disponible” que tiene en la solución. (HILSEA INVESTMENT 2010)

El Agua Primacide no es perjudicial para humanos, plantas o animales. Durante almacenamiento de Primacide, puede presentarse un ligero olor a gas cloro. (HILSEA INVESTMENT 2010)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

A. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR

1. Localización

Para la presente investigación se llevó a cabo en la Finca EL CHIVAN del grupo HILSEA INVESTMENTS LTD. Ubicada en la población San Miguel de Atalpamba Cantón Quito-Provincia de Pichincha.

2. Ubicación Geográfica¹

Altitud: 2420 m.s.n.m.

Latitud: 00°00'27" S

Longitud: 78°17'39" W

3. Características Climáticas²

Temperatura media anual: 16 ° C

Precipitación anual: 819 mm

Humedad relativa media anual: 72%

Heliofania media anual: 2176.4 horas con brillo solar

Velocidad promedio anual del viento: 2.2 m/s

¹ Datos tomados Instituto Geográfico Militar

² Estación meteorológica de la finca

4. Clasificación ecológica³

Según Holdridge, 1967, el área en estudio pertenecen a la zona de vida estepa espinosa Montano Bajo (eeMB).

5. Características del agua de riego⁴

Resultados de Análisis de Laboratorio No. PSL3349-*A. tumefaciens*

Fecha toma de muestra: 21.04.08	Fecha laboratorio: 02.05.08
Solicitado por: Hilsea	Responsable: Ing. Diandra Jurado
Localidad: El Quinche	Localización geográfica: Prov. Pichincha
Cultivo: Varios	Edad del cultivo: Vegetativo
Estadio Fisiológico: Inicial	Ciclo Productivo: Primario
Variedad: Algunas	
Incidencia: 100%	Infección: 100%

RESULTADOS DE LABORATORIO

AGENTE CAUSAL

Agrobacterium tumefaciens (Smith & Townsend) Conn.

³<http://www.fao.org/docrep/W7445S/w7445s03.htm>

⁴ PSL-Laboratories 2008

6. Características del material vegetativo⁵

Pagina 1

nak!tuinbouw

INS-09-00925
15-01-2009

Esmeralda Farms B.V.
De heer R. Bergkamp
Noordpolderweg 17
1432 JH AALSMEER
Nederland

Hierbij treft u de uitslag aan van de monsters die in uw opdracht in het laboratorium van de Naktuinbouw zijn getest.

02-02-2009

Paraaf Teammanager

Monsteraanduiding	Monsternr. klant	Aantal monsters	Aantal toetsingen	Toetscode	Uitslag
Rosa	3	1	1	Agrobacterium tumefaciens PCR	Aangetoond
Rosa	4	1	1	Agrobacterium tumefaciens PCR	Niet aangetoond
Rosa	5	1	1	Agrobacterium tumefaciens PCR	Aangetoond
Rosa	6	1	1	Agrobacterium tumefaciens PCR	Aangetoond
Rosa	7 t/m 11	5	5	Agrobacterium tumefaciens PCR	Niet aangetoond
Solidago	1 t/m 2	2	2	Agrobacterium tumefaciens PCR	Niet aangetoond

FUENTE: Laboratoriumk Naktuinbouw Nederland

⁵ Laboratoriumk Naktuinbouw Nederland

B. MATERIALES

1. Materiales de campo

a. Materiales para la preparación del terreno

Para la preparación del terreno se utilizó, azadón, rastrillo, piolas, estacas, pala cuadrada, Flexómetro y martillo. Materiales que fueron empleados para delimitar y preparar los distintos tratamientos y caminos.

b. Materiales de manejo

Para el manejo se utilizó: Tijera de podar, Atomizador, guantes, mascarilla, bomba de fumigación, traje de fumigación, escarificadores, pambiles, alambre de tutoreo, tarjetas y rotulo de identificación.

c. Materiales de oficina

Se utilizó: Libreta de apuntes, cámara fotográfica, marcadores, computador personal y material de oficina en general.

d. Material experimental

Como material experimental se utilizó: 1024 patrones de rosas a ser injertados var. Natal Briar, 1024 yemas de rosas para injertar var, Cantata y 8 platos petri con *Agrobacterium radiobacter K84* para la inoculación.

C. METODOLOGÍA Y DATOS REGISTRADOS

Se analizó cual es la interacción que ayudó a prevenir la presencia de *Agrobacterium Tumefaciens* en rosas Var. Cantata hasta el noveno mes de siembra. Para lo cual se realizó conteos de plantas infectadas por tratamiento y repetición cada 15 días de esta manera se determinó época de aparición e incidencia de la enfermedad por tratamiento.

1.- Factores en estudio.

a.- Factor A.

Origen del patrón.

Patrón de origen In vitro. **A 1**

Patrón de origen In vivo. **A2**

b.- Factor B.

Origen del injerto.

Injerto con síntoma visible **B1**

Injerto sin síntoma Visible **B2**

c.- Factor C.

Ubicación de la yema.

Entre la primera y tercera yema **C1**

Entre la cuarta y sexta yema **C2**

d.- Factor D.

Con *Agrobacterium Radiobacter* K 84 **D1**

Sin *Agrobacterium Radiobacter* K 84 **D2**

2.- Tratamientos en estudio

Los tratamientos en estudio fueron 16, resultante de la combinación de los factores; Origen del patrón (In vitro e In vivo), origen del injerto (con síntoma visible de la agalla y sin síntoma visible de la agalla), ubicación de la yema (primera-tercera yema, cuarta-sexta yema) e inoculación del material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84 (con inoculación de K 84 y sin inoculación de K 84).

Con cuatro repeticiones por tratamiento e incluido el control que es el tratamiento número 10 que se utilizó patrón de origen vivo, injerto que proviene de una planta con síntoma, la yema se ubicó entre la primera y tercera hoja verdadera y no se inoculo en material vegetal con K 84.(Cuadro 1)

CUADRO 1. TRATAMIENTOS EN ESTUDIO.

Tratamiento	Patrón	Origen Injerto	Ubicación yemas	Inoculación Radiobacter
T1	In Vitro	Con síntoma	1era a 3era yema	Si
T2	In Vitro	Con síntoma	1era a 3era yema	No
T3	In Vitro	Con síntoma	4ta a 6ta yema	Si
T4	In Vitro	Con síntoma	4ta a 6ta yema	no
T5	In Vitro	Sin síntoma	1era a 3era yema	Si
T6	In Vitro	Sin síntoma	1era a 3era yema	No
T7	In Vitro	Sin síntoma	4ta a 6ta yema	Si
T8	In Vitro	Sin síntoma	4ta a 6ta yema	no
T9	In Vivo	Con síntoma	1era a 3era yema	Si
T10 (control)	In Vivo	Con síntoma	1era a 3era yema	No
T11	In Vivo	Con síntoma	4ta a 6ta yema	Si
T12	In Vivo	Con síntoma	4ta a 6ta yema	no
T13	In Vivo	Sin síntoma	1era a 3era yema	Si
T14	In Vivo	Sin síntoma	1era a 3era yema	No
T15	In Vivo	Sin síntoma	4ta a 6ta yema	Si
T16	In Vivo	Sin síntoma	4ta a 6ta yema	no

Fuente: HILSEA INVESTMENTS LTD, 2009

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

3.- Especificaciones del campo experimental

a.- Número de tratamientos.

Se evaluó origen del patrón(In vitro,In vivo), origen del injerto(con síntoma y sin síntoma), ubicación de la yema (primera-tercera, cuarta-sexta) e inoculación de material vegetal (con K 84 y sin K84); se obtuvo un diseño tetra factorial en el que incluyó un testigo, el mismo que

tuvo las siguientes características patrón de origen vivo, injerto que proviene de una planta con síntoma, yema entre la primera y tercera hoja verdadera y no se inoculó en material vegetal con K 84 con la finalidad de comprobar la teoría de que si se toma material tierno se puede llegar a obtener plantas libres de *Agrobacterium tumefaciens* y que la bacteria puede ubicarse hasta 20 cm de la agalla.

Teniendo como resultado 16 tratamientos en estudio, el monitoreo se realizó cada 15 días, se analizó la época de aparición e incidencia de la enfermedad por tratamiento.

b.- Número de repeticiones.

Se realizaron cuatro repeticiones.

c.- Número total de unidades experimentales.

El número de unidades experimentales fue de sesenta y cuatro.

d. Especificaciones del campo experimental

CUADRO 2. ESPECIFICACIONES DEL CAMPO EXPERIMENTAL

Forma de la parcela	Rectangular
Área total	144m ²
Área neta del ensayo	84m ²
Número de camas	4
Ancho de la cama	0.70m
Longitud de la cama	30 m.
Ancho del camino entre camas	0,50m
Número de hileras por cama	2
Distancia entre mini plantas	0,16m
Número de mini plantas /cama	256
Número de mini plantas/tratamiento	16
Número de tratamientos	16
Número de repeticiones	4

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

e.- Número de plantas por tratamiento

El número de plantas por tratamiento fue de 16.

f.- Número de plantas evaluadas por tratamiento

Dentro de los tratamientos se evaluaron las 16 plantas con el fin de poder analizar época de aparición, incidencia y severidad de la enfermedad mientras que para el análisis PCR se tomaron muestras al final de la investigación de los tratamientos en los que hubo mayor, menor e incidencia nula de la enfermedad para validación del ensayo.

g. Número total de plantas evaluadas

El número total de plantas evaluadas fue de 1024.

4.- Análisis de la incidencia de la enfermedad

Se realizó el conteo de plantas enfermas por tratamiento y para el análisis se utilizaron la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia} = \left(\frac{\text{Número de plantas afectadas}}{\text{Número total de plantas}} \right) \times 100$$

5.- Análisis estadístico.**a. Tipo de diseño.**

Se utilizará el diseño de Bloques Completos al Azar (BCA), en arreglo tetra factorial combinatorio, con 4 repeticiones.

b. Esquema del análisis de varianza.

CUADRO 3. ANALISIS DE VARIANZA ADEVA

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Bloques	3
Tratamientos	15
A	1
B	1
C	1
D	1
A*B	1
A*C	1
A*D	1
B*C	1
B*D	1
C*D	1
A*B*C	1
A*B*D	1
A*C*D	1
B*C*D	1
A*B*C*D	1
ERROR	45
TOTAL	63

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

c. Análisis funcional.

Prueba de Tukey al 5%, para el factor A

Se calculó el coeficiente de variación C.V.

6.- Análisis económico de los tratamientos.

Se determinó el cálculo económico mediante el método de Perrin *et al.*

D. MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN.

El manejo agronómico del ensayo fue el mismo que se llevó la finca, poniendo estricto énfasis en la asepsia de las herramientas y el personal al momento de cada labor para evitar la contaminación de los tratamientos.

La toma del material para la injertación se realizó de la siguiente manera:

1. Cosecha de patrones

Se cosecharon los patrones In vitro e In vivo y luego de cada corte se atomizó la tijera felco con agua tipo C para desinfectar y de esa manera evitar la contaminación del resto del material.

2. Cosecha de yemas.

Se marcó plantas que tenían síntomas visibles de *Agrobacterium tumefaciens* y las que no presentaban síntoma visible de la agalla.

Teniendo en cuenta que los porta yemas cosechadas tengan más de 6 yemas a partir de la primera hoja verdadera o penta foliada para los fines de la investigación.

Siguiendo el mismo protocolo luego de cada corte se desinfectó las tijeras atomizando agua C 50.

3. Clasificación e inmersión en K 84 del material.

En el área de propagación se clasificó en bandejas los patrones de acuerdo a su origen, las yemas con y sin síntoma teniendo en cuenta la ubicación es decir a partir de la primera a la tercera hoja verdadera y de la cuarta a la sexta respectivamente.

De igual manera luego de cada corte las tijeras se desinfectaron con agua C50.

Se realizó una inmersión por unos 5 minutos de yemas y patrones en una suspensión 1×10^9 de *Agrobacterium Radiobacter* K 84 en los tratamientos propuestos.

4. Injertación

El tipo de injerto que se realizó fue el de pinza el mismo que consiste en realizar un corte longitudinal en el patrón y tocón que contiene la yema para luego proceder a unir con una pinza.

Este método se utilizó porque es más rápido y fácil de realizar.

Las navajas son esterilizadas en autoclave por 10 minutos a 90°C luego de cada tratamiento y en una inmersión en agua C 50 luego de cada corte.

5. Enraizamiento y unión patrón – yema.

Luego de tener la mini planta se procedió a colocar en bandejas que contienen sustrato desinfectado para enraizar y unir la yema con el patrón, este proceso tiene una duración de 5 semanas.

6. Control de calidad de la mini planta

Al final de las 5 semanas se realizó un control de calidad de la mini planta antes de despachar al campo poniendo énfasis en la parte fitosanitario especialmente que no presente *Agrobacterium tumefaciens*.

Finalmente se procedió a implantar la investigación en campo y el manejo agronómico normal de una finca de producción.

Teniendo en cuenta que en las labores culturales como escarificada, pinch y cosechas se desinfectaron las herramientas luego de cada corte con agua C 50.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. PRESENCIA DE LA AGALLA.

1. Presencia de la agalla a los 15 días después del trasplante.

A los 15 días después del trasplante la presencia de la agalla alcanzó una media general de 15,83 plantas sanas por tratamiento. (Anexo 1)

El coeficiente de variación fue 1,48 %.

En el análisis de varianza para la presencia de la agalla a los 15 días después del trasplante (Cuadro 4) para el factor A (Origen del patrón) presentó diferencias significativas entre patrón In vitro e In vivo; para el factor B (Origen del injerto), factor C (Ubicación de la yema) y factor D (Con y sin inoculación de *Agrobacterium Radiobacter* K 84), presentaron diferencias altamente significativas para las mini plantas al momento del trasplante. Para los tratamientos AxD (origen de patrón e inoculación del material con K 84); AxBxD (Origen del patrón x origen del injerto x inoculación del material con K 84) y AxBxCxD (origen del patrón x origen del injerto x ubicación de la yema x inoculación del material con K 84) podemos observar diferencias no significativas

Presentaron diferencias significativas para los tratamientos; AxB (Origen del patrón x origen del injerto); AxC (Origen del patrón x ubicación de la yema) y AxBxC (Origen del patrón x origen del injerto x ubicación de la yema). Mostraron diferencias altamente significativas para los tratamientos; BxC (Origen del injerto x ubicación de la yema); BxD (Origen del injerto x inoculación del material vegetal con K 84); CxD (Ubicación de la yema x inoculación del

material vegetal con K 84) y BxCxD (Origen de injerto x ubicación de la yema x inoculación del material vegetal con K 84).

CUADRO 4. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA PRESENCIA DE AGALLA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* A LOS 15 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Factor de varianza	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significancia
Total	63	13,11		
Repeticiones	3	0,30	0,10	ns
Factor A	1	0,39	0,39	*
Factor B	1	1,89	1,89	**
Factor C	1	1,89	1,89	**
Factor D	1	0,77	0,77	**
Int. AxB	1	0,39	0,39	*
Int. AxC	1	0,39	0,39	*
Int. AxD	1	0,02	0,02	ns
Int. BxC	1	1,89	1,89	**
Int. BxD	1	0,77	0,77	**
Int. CxD	1	0,77	0,77	**
Int. AxBxC	1	0,39	0,39	*
Int. AxBxD	1	0,02	0,02	ns
Int. AxCxD	1	0,02	0,02	ns
Int. BxCxD	1	0,77	0,77	**
Int AxBxCxD	1	0,02	0,02	ns
Error	45	2,45	0,05	
CV %			1,48	
Media			15,83	

Elaboración: Cifuentes, H, 2009

ns: no significativo

*: Significativo ($P < 0.05$)

** : Altamente significativo ($P < 0.01$)

CV %: Coeficiente de variación

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para el factor B (Origen del injerto), (Cuadro 5), el mayor número de plantas “sin síntomas” fue cuando tomamos la yema para injertar de una planta libre o sin síntoma de *Agrobacterium Tumefaciens* se ubicó en el rango “A” con un valor de 16, mientras que plantas injertadas con yemas provenientes de plantas con síntoma de la agalla se ubicó en el rango “B” con un valor de 15,66.

CUADRO 5. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % DEL FACTOR B A LOS 15 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

FACTOR B (ORIGEN DEL INJERTO)

Factor B	Media	Rango
Sin síntoma	16	A
Con síntoma	15,66	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para el factor C (Ubicación de la yema), (Cuadro 6), se ubicó en el rango “A” con mayor número de plantas sin síntomas cuando se tomó la yema para injertar entre la primera y tercera posición a partir de la primera hoja verdadera o penta foliada con un valor de 16; mientras se ubicó en el rango “B” con un valor de 15.66 cuando se tomó la yema para injertar entre la cuarta y sexta posición.

CUADRO 6. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % DEL FACTOR C A LOS 15 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

FACTOR C (UBICACIÓN DE LA YEMA)

Factor C	Media	Rango
1 era- 3 era	16	A

4ta- 5ta	15,66	B
----------	-------	---

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para el factor D (Inoculación con K 84), (Cuadro 7); se ubicó en el rango “A” con un valor de 15.94 cuando se realizó la inmersión del material vegetal en la suspensión de *Agrobacterium Radiobacter* K 84; mientras que la variable sin K 84 se ubicó en el rango “B” con un valor de 15.72.

CUADRO 7. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % DEL FACTOR D A LOS 15 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

FACTOR D (INOCULACIÓN CON K 84)

Factor D	Media	Rango
Con K 84	15,94	A
Sin K 84	15,72	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 % (P 0,05) para la interacción BxC (Origen del injerto x ubicación de la yema), (Cuadro 8), presentó mayor número de plantas sanas cuando tuvimos la interacción injerto sin síntoma y la yema entre la primera y tercera se ubicó en el rango “A” con una media de 16; mientras cuando tomamos porta yemas con síntomas y explantes ubicados entre la cuarta-sexta yema se presentaron menor número de plantas sanas se ubicó en el rango “B” con una media 15,31.

CUADRO 8. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxC A LOS 15 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxC

Int. BxC	Media	Rango
B1xC1	16	A
B2xC1	16	A

B2xC2	16	A
B1xC2	15,31	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 % (P 0,05) para la interacción BxD (origen del injerto X inoculación con K84), (Cuadro 9) presentó mayor número de plantas sanas cuando tuvimos la interacción injerto sin síntoma, y, con y sin inoculación de K 84 se ubicó en el rango “A” con una media de 16; mientras que la interacción injerto con síntoma y sin inoculación con K 84 se ubicó en el rango “B” con un valor de 15.45.

CUADRO 9. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxD A LOS 15 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxD

Int. BxD	Media	Rango
B2xD1	16	A
B2xD2	16	A
B1xD1	15,88	B
B1xD2	15,45	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción CxD (Ubicación de la yema X inoculación con K 84), (Cuadro 10), presentó mayor número de plantas sanas cuando se tomó yemas entre la primera y tercera para injertar independientemente si inoculamos o no el material vegetal con K 84 se ubicándose en el rango “A” con un valor de 16; mientras que presentó menor número de plantas sanas cuando se tomó yemas ubicadas entre la cuarta-sexta posición y el material vegetal con no se inoculó con K 84 ubicándose en el rango “B” con un valor de 15.44.

CUADRO 10. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN CxD A LOS 15 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN CxD

Int. CxD	Media	Rango
C1xD1	16	A
C1xD2	16	A
C2xD1	15,88	B
C2xD2	15,44	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxCxD (Origen del injerto x Ubicación de la yema x Inoculación con K 84), (Cuadro 11), presentó mayor número de plantas sanas en aquellos tratamientos en las que estuvo presente la variable injerto sin síntoma y yemas entre la primera y tercera, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16 independiente de la inoculación del material vegetal con K 84; mientras que menor número de plantas sanas en aquella interacción en la que se tomó injerto con síntoma visible yemas entre la cuarta-sexta posición y no se inoculó en material vegetal con K 84 ubicándose en el rango “B” con un valor de 14,88.

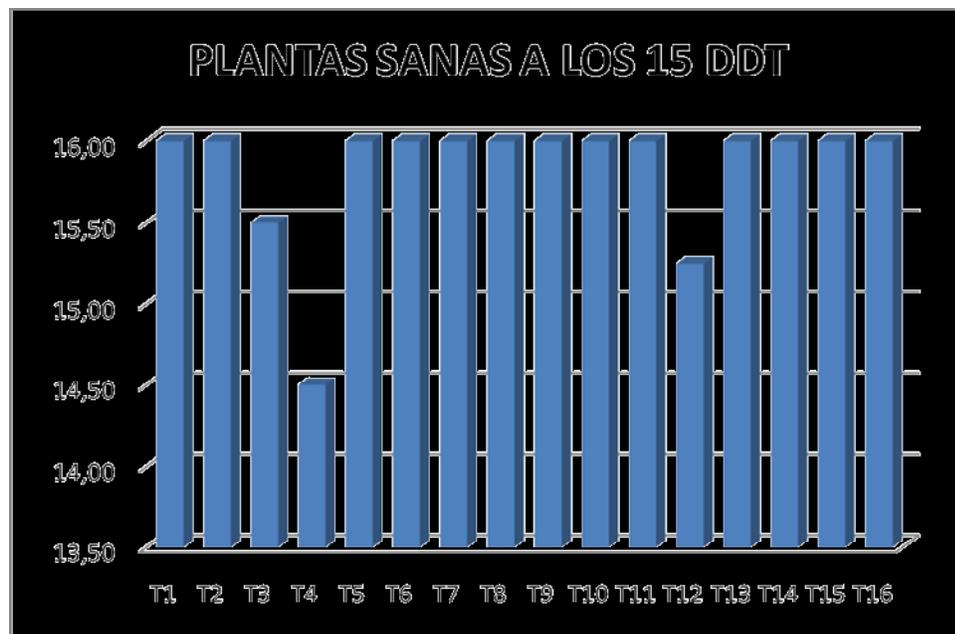
Cuadro 11. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxCxD A LOS 15 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxCxD

Int. BxCxD	Media	Rango
B1xC1xD1	16	A
B1xC1xD2	16	A
B2xC1xD1	16	A
B2xC1xD2	16	A
B2xC2xD1	16	A
B2xC2xD2	16	A
B1xC2xD1	15,75	AB
B1xC2xD2	14,88	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

GRÁFICO 1. NÚMERO DE PLANTAS SANAS A LOS 15 DDT



Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Discusión:

Los tratamientos que presentaron menor número de plantas sanas a los 15 días después de la siembra fueron: Tratamiento 4 patrón in vitro, yema tomada de una planta con síntoma visible, ubicada entre la cuarta y sexta yema y sin inoculación del material vegetal con K 84 con una media de 14,5 plantas sanas. Al igual que tratamiento T12 patrón in vivo, yema tomada de una planta con síntoma visible, ubicada entre la cuarta - sexta yema y sin inoculación del material vegetal con K 84 con una media de 15,25 plantas sanas; Mientras que el T 10 (control) patrón vivo, yema tomada de una planta con síntoma visible, ubicada entre la primera – tercera yema y sin inoculación del material vegetal en K 84 no presentó plantas con el síntoma de *Agrobacterium* con una media de 16 plantas sanas.(Gráfico 1)

De esta manera podemos decir que los resultados concuerdan con lo que menciona TZFIRA Y CITOVSKY, 2007 para tener material libre de *Agrobacterium* se debe utilizar brotes tiernos.

2. Presencia de la agalla a los 30 días después del trasplante.

A los 30 días después del trasplante la presencia de la agalla presentó una media general para los tratamientos de 15.85 y el coeficiente de variación de 1,48 %. (Anexo2).

El análisis de varianza, para la presencia de la agalla a los 30 días después del trasplante (cuadro 12) no presentó diferencias significativas para las repeticiones.

En el análisis de factores; para el factor A (Origen del patrón) presentó diferencias significativas entre patrón In vitro e In vivo; de igual manera para el factor D (Con y sin inoculación de *Agrobacterium Radiobacter* K 84) para el factor B (Origen del injerto), y factor C (Ubicación de la yema) presentó diferencias estadísticas altamente significativas.

Presentaron diferencias significativas para las tratamientos; AxB (Origen del patrón x Origen del injerto); Ax C (Origen del patrón x Ubicación de la yema); BxD (Origen del injerto x inoculación del material con K 84); CxD (Ubicación de la yema x Inoculación del material con K 84); AxBxC (Origen del patrón x origen del injerto x ubicación de la yema) y BxCxD (Origen del injerto x Ubicación de la yema x Inoculación del material con K 84).

Presentó diferencias altamente significativas la interacción; BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema).

CUADRO 12. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA PRESENCIA DE AGALLA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* A LOS 30 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Factor de varianza	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significancia
Total	63	18,94		
Repeticiones	3	0,31	0,10	ns
Factor A	1	0,56	0,56	*
Factor B	1	3,06	3,06	**
Factor C	1	3,06	3,06	**
Factor D	1	0,56	0,56	*
Int. Ax B	1	0,56	0,56	*
Int. Ax C	1	0,56	0,56	*
Int. Ax D	1	0,06	0,06	ns
Int. Bx C	1	3,06	3,06	**
Int. Bx D	1	0,56	0,56	*
Int. Cx D	1	0,56	0,56	*
Int. Ax Bx C	1	0,56	0,56	*
Int. Ax Bx D	1	0,06	0,06	ns
Int. Ax Cx D	1	0,06	0,06	ns
Int. Bx Cx D	1	0,56	0,56	*
Int Ax Bx Cx D	1	0,06	0,06	ns
Error	45	4,69	0,10	
CV %			2,05	
Media			15,78	

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

ns: no significativo

*: Significativo ($P < 0.05$)

** : Altamente significativo ($P < 0.01$)

CV %: Coeficiente de variación.

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción AxB (Origen del patrón x Origen del injerto), (Cuadro 13) presentó mayor número de plantas sin síntomas visibles de la agalla en aquellos tratamientos en las que se tomo el injerto sin síntoma independientemente del origen del patrón se ubicó en el rango “A” con un valor de 16; mientras que en aquellos tratamientos en las que se tomó el injerto de origen con síntoma y el patrón fue In vitro presentaron mayor número de plantas con síntomas, se ubicó en el rango “B” con un valor de 15,38.

CUADRO 13. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN AxB A LOS 30 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN AxB

Int. AxB	Media	Rango
A1xB2	16	A
A2xB2	16	A
A2xB1	15,75	B
A1xB1	15,38	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción AxC (Origen del patrón x Ubicación de la yema), (Cuadro 14) presento mayor número de plantas sin síntomas en aquellos tratamientos en las que se tomó el explante entre la primera y tercera yema independientemente del origen del patrón, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16; mientras que en aquellos tratamientos en las que se tomó yemas entre la cuarta-sexta posición y el patrón fue de origen In vitro presentaron mayor número de plantas con síntomas, se ubicó en el rango “B” con un valor de 15,38.

CUADRO 14. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN AxC A LOS 30 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN AxC

Int. AxC	Media	Rango
A1xC1	16	A
A2xC1	16	A
A2xC2	15,75	B
A1xC2	15,38	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxD (Origen del injerto xInoculación con K 84), (Cuadro 15), presentó mayor número de plantas sin síntomas en aquellos tratamientos en las que se tomó el explante de porta yemas sin síntoma visible de la agalla independiente si se inoculo o no el material con K 84, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16; mientras que en aquellos tratamientos en las que se tomó explantes de porta yemas con síntoma visible de la agalla y no se inoculó en material vegetal con K 84 presentaron mayor número de plantas con síntoma, ubicándose en el rango “B” con un valor de 15.38.

CUADRO 15. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxD A LOS 30 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxD

Int. BxD	Media	Rango
B2xD1	16	A
B2xD2	16	A
B1xD1	15,75	B
B1xD2	15,38	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción CxD (Ubicación de la yema x Inoculación con K 84), (Cuadro 16) presentó mayor número de plantas sin síntomas en aquellos tratamientos en las que se tomó el explante entre la primera y tercera yema independiente si se inoculo o no el material vegetal con K 84, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16; mientras que en aquellos tratamientos en las que se tomó yemas entre la cuarta y sexta posición y no se inoculo el material vegetal con K84, se ubicó en el rango “B” con un valor de 15.38.

CUADRO 16. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN CxD A LOS 30 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN CxD

Int. CxD	Media	Rango
C1xD1	16	A
C1xD2	16	A
C2xD1	15,75	B
C2xD2	15,38	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción AxBxC (Origen del patrón x Origen del injerto x Ubicación de la yema), (Cuadro 17) presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó el explante de porta yemas sin síntomas visibles, las yemas ubicadas entre la primera-tercera posición a partir de la primera hoja penta foliada y el patrón fue de origen In vivo, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16; mientras que presentó mayor numero de plantas con síntomas cuando se tomó el explante de porta yemas con síntoma visible de la agalla, ubicada entre la cuarta-secta yema y el patrón de origen In vitro, se ubicó en el rango “B” con un valor de 14.75.

CUADRO 17. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN AxBxC A LOS 30 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN AxBxC

Int. AxBxC	Media	Rango
A1xB1xC1	16	A
A1xB2xC1	16	A
A1xB2xC2	16	A
A2xB1xC1	16	A
A2xB2xC1	16	A
A2xB2xC2	16	A
A2xB1xC2	15,5	B
A1xB1xC2	14,75	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxCxD (Origen del injerto x Ubicación de la yema x Inoculación con K 84), (Cuadro 18), presentó mayor número de plantas sin síntomas en aquellos tratamientos en las que se tomó el explante entre la primera-tercera yema, injerto con síntoma e independientemente si se inoculo o no el material vegetal, ubicándose en el rango “A” con un valor de 16; mientras que mayor número de plantas con síntomas en aquellos tratamientos que se tomó la yema ubicada entre la cuarto-sexta posición, porta yemas de origen con síntoma visible y no se inoculó en material vegetal con K 84, se ubicó en el rango “B” con un valor de 14,75.

CUADRO 18. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxCxD A LOS 30 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxCxD

Int. BxCxD	Media	Rango
B1xC1xD1	16	A
B1xC1xD2	16	A
B2xC1xD1	16	A
B2xC1xD2	16	A
B2xC2xD1	16	A
B2xC2xD2	16	A
B1xC2xD1	15,5	B
B1xC2xD2	14,75	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), (Cuadro 19) presentó mayor número de plantas sin síntomas en aquellos tratamientos en las que se tomó el explante entre la primera y tercera yema independientemente del origen del injerto, ubicándose en el rango “A” con un valor de 16; mientras que mayor número de plantas con síntomas cuando se tomó el explante entre la cuarta-sexta posición y porta yemas de origen con síntomas, se ubicó en el rango “B” con un valor de 15.13.

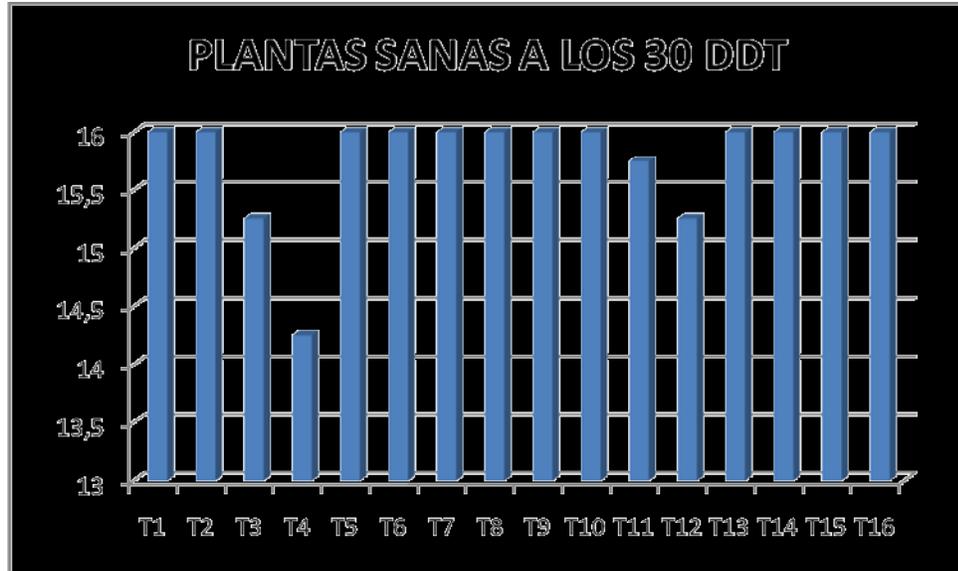
CUADRO 19. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxC A LOS 30 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxC

Int. BxC	Media	Rango
B1xC1	16	A
B2xC1	16	A
B2xC2	16	A
B1xC2	15,13	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

GRÁFICO 2.- NÚMERO DE PLANTAS SANAS A LOS 30 DDT



Discusión:

Al realizar el respectivo análisis comparativo entre las diferentes tratamientos (gráfico 2) podemos decir que encontramos mayor número de plantas enfermas o con síntomas visibles de la enfermedad en los tratamientos T3, T4, T11 y T12 los mismos que utilizamos porta injertos con síntomas, yemas en la cuarta-sexta posición independiente del origen del patrón o si fueron o no inoculado el material vegetal comprado con el tratamiento T10 que hasta el momento no presenta plantas enfermas, de esta manera coincide el ensayo con lo que menciona TZFIRA Y CITOVSKY, 2007 que para obtener plantas libres de Agrobacteria debemos utilizar brotes tiernos y con lo que menciona www.etsea2.udl.es/invitro/meristem.htm que el meristemo apical tiene una mayor velocidad de crecimiento y en consecuencia la bacteria "no alcanza" al meristemo.

3. Presencia de la agalla a los 45 días después del trasplante

La presencia de la agalla a los 45 días después del trasplante alcanzó una media general de 15,75 (Anexo 2) y el coeficiente de variación de 2,39 % .

El análisis de varianza (cuadro 20) establece que no existe diferencia significativa para las repeticiones. Para el factor D (Inoculación del material vegetal con K 84) presentó diferencias estadísticas significativas así como para la interacción CxD (Ubicación de la yema x Inoculación del material vegetal con K 84); mientras que para el factor B (Origen del injerto), factor C (Ubicación de la yema) e interacción BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema) presentaron diferencias estadísticas altamente significativas.

CUADRO 20. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA PRESENCIA DE AGALLA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* A LOS 45 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Factor de varianza	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significancia
Total	63	20		
Repeticiones	3	0,13	0,04	ns
Factor A	1	0,56	0,56	ns
Factor B	1	2,25	2,25	**
Factor C	1	4,00	4,00	**
Factor D	1	1,00	1,00	*
Int. AxB	1	0,56	0,56	ns
Int. AxC	1	0,56	0,56	ns
Int. AxD	1	0,06	0,06	ns
Int. BxC	1	2,25	2,25	**
Int. BxD	1	0,25	0,25	ns
Int. CxD	1	1,00	1,00	*
Int. AxBxC	1	0,56	0,56	ns
Int. AxBxD	1	0,06	0,06	ns
Int. AxCxD	1	0,06	0,06	ns
Int. BxCxD	1	0,25	0,25	ns
Int AxBxCxD	1	0,06	0,06	ns
Error	45	6,38	0,14	
CV %			2,39	
Media			15,75	

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

ns: no significativo

*: Significativo ($P < 0.05$)

** : Altamente significativo ($P < 0.01$)

CV %: Coeficiente de variación.

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción CxD (Ubicación de la yema x Inoculación con K 84), (Cuadro 21), presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó entre la primera-tercera yema para injertar independiente de la inoculación del material vegetal con K 84, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16; mientras que presentó mayor número de plantas con síntomas cuando tomamos la yema para injertar entre la cuarta-sexta posición y no se inoculó en material vegetal con K 84, se ubicó en el rango “B” con un valor de 15,25.

CUADRO 21. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN CxD A LOS 45 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN CxD

Int. CxD	Media	Rango
C1xD1	16	A
C1xD2	16	A
C2xD1	15,75	B
C2xD2	15,25	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxC (origen del injerto x Ubicación de la yema), (Cuadro 22) presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó el explante ubicado entre la primera-tercera posición a partir de la primera hoja verdadera independiente si el porta yema estuvo o no con síntoma visible de *Agrobacterium*, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16; mientras que presento mayor número de plantas con síntomas cuando se tomo el explante entre la cuarta-sexta posición y provenía de porta yemas con síntomas visibles de la agalla, ubicándose en el rango “B” con un valor de 15,13.

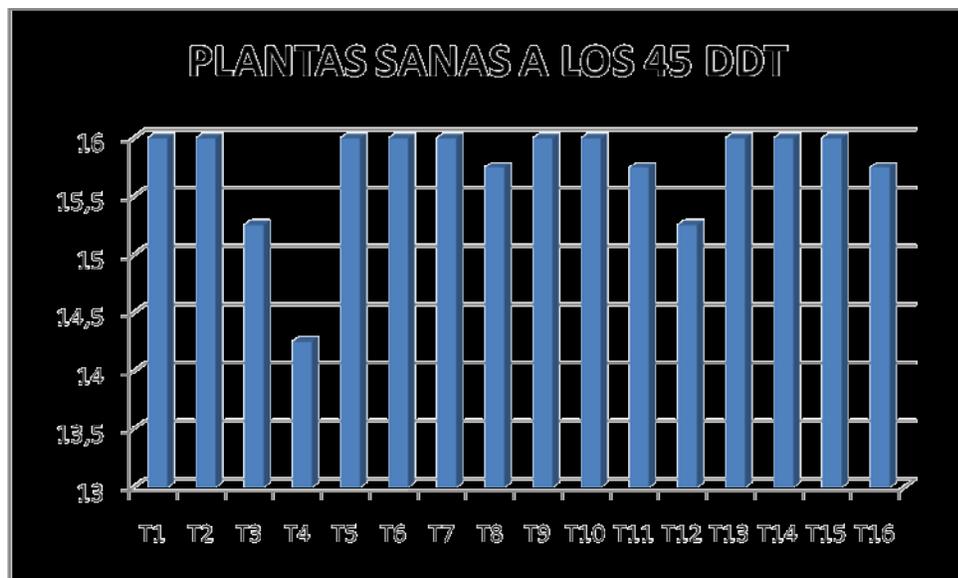
CUADRO 22. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxC A LOS 45 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxC

Int. BxC	Media	Rango
B1xC1	16,00	A
B2xC1	16,00	A
B2xC2	15,88	B
B1xC2	15,13	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

GRÁFICO 3. NÚMERO DE PLANTAS SANAS A LOS 45 DDT



Discusión:

A los 45 días después del trasplante se observó que existe mayor cantidad de plantas con síntomas de agrobacteria en los tratamientos T3, T4, T8, T11, T12, T16 que son aquellos en los

que tomamos yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición de manera independiente de la interacción de los otros factores.

Mientras en aquellos tratamientos en los que se tomó las yemas para injertar entre la primera y tercera yema no se han presentado hasta el momento plantas con el síntoma visible de la agalla. (Gráfico 3)

De esta manera coincidimos con lo que menciona www.etsea2.udl.es/invitro/meristem.htm que el meristemo apical tiene una mayor velocidad de crecimiento y en consecuencia la bacteria "no alcanza" al meristemo.

Por otro lado también menciona que la razón principal por la cual las células meristemáticas son indemnes a los virus es que el meristemo carece de tejidos vasculares, que es por donde se propagan los virus que van contaminando a la planta.

De la misma manera MONTEALEGRE, 1996 menciona que: Para el control de esta bacteria no existen métodos curativos; por lo tanto, la prevención es la medida fundamental de control mediante la inoculación de antagonistas como en este caso fue *Agrobacterium Radiobacter* K 84.

4. Presencia de la agalla a los 60 días después del trasplante.

Para la presencia de la agalla a los 60 días después del trasplante el coeficiente de variación fue 3,57% y la media general de 15,52. (Anexo 4)

El análisis de varianza (cuadro 23) no existe diferencia significativa para las repeticiones.

Para el factor B (origen del injerto), C (ubicación de la yema), D (inoculación del material vegetal con K 84), tratamientos BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), BxD (Origen del patrón x Inoculación del material vegetal con K84), CxD (Ubicación de la yema Inoculación del material vegetal con K84), y BxCxD (Origen del injerto x Ubicación de la yema x Inoculación del material vegetal) presentaron diferencias estadísticas altamente significativas.

CUADRO 23. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA PRESENCIA DE AGALLA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* A LOS 60 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Factor de varianza	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significancia
Total	63	67,98		
Repeticiones	3	0,92	0,31	ns
Factor A	1	0,14	0,14	ns
Factor B	1	9,77	9,77	**
Factor C	1	15,02	15,02	**
Factor D	1	5,64	5,64	**
Int. AxB	1	0,39	0,39	ns
Int. AxC	1	0,14	0,14	ns
Int. AxD	1	0,39	0,39	ns
Int. BxC	1	9,77	9,77	**
Int. BxD	1	2,64	2,64	**
Int. CxD	1	5,64	5,64	**
Int. AxBxC	1	0,39	0,39	ns
Int. AxBxD	1	0,14	0,14	ns
Int. AxCxD	1	0,39	0,39	ns
Int. BxCxD	1	2,64	2,64	**
Int AxBxCxD	1	0,14	0,14	ns
Error	45	13,83	0,31	
CV %			3,57	
Media			15,52	

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

ns: no significativo

*: Significativo ($P < 0.05$)

** : Altamente significativo ($P < 0.01$)

CV %: Coeficiente de variación.

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), (Cuadro 24), presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó el explante entre la primera-tercera yema a partir de la primera hoja verdadera independientemente si el porta yema fue de obtenido de una plantas con o sin síntoma visible de la agalla, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16; presentó mayor número de plantas con síntomas cuando tomamos el explante ubicado entre la cuarta y sexta posición proveniente de porta yemas con síntoma visible, ubicándose en el rango “B” con un valor de 14,25.

CUADRO 24. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxC A LOS 60 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxC

Int. BxC	Media	Rango
B1xC1	16	A
B2xC1	16	A
B2xC2	15,81	B
B1xC2	14,25	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxD (Origen del injerto x Inoculación con K 84), (Cuadro 25), presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó el porta yemas de una planta sin síntoma visible de la agalla y se inoculo el material vegetal con K 84, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16. El tratamiento B2xD2 es decir porta yemas obtenidos de plantas sin síntomas visibles de la agalla y sin inoculación del material vegetal con K 84, se ubicó en el rango “B” con un valor de 15.81; mientras que presentaron mayor numero de plantas con síntomas cuando se tomó explantes de porta yemas con síntomas visibles de la agalla y no se inoculó en material vegetal con K 84, Ubicándose en el rango “C” con un valor de 14, 63.

CUADRO 25. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxD A LOS 60 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxD

Int. BxD	Media	Rango
B2xD1	16	A
B2xD2	15,81	B
B1xD1	15,63	B
B1xD2	14,63	C

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción CxD (Ubicación de la Yema x Inoculación con K 84),(Cuadro 26), presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó la yema entre la primera-tercera ubicación a partir de la primera hoja verdadera independiente de la inoculación o no del material vegetal en *Agrobacterium Radiobacter* K 84, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16. Presentaron mayor número de plantas con síntomas cuando se utilizó explantes ubicados entre la cuarta-sexta posición partir de la primera hoja verdadera o pentafoliada si se inoculó el material vegetal en *Agrobacterium Radiobacter* K 84, se ubicó en el rango “C” con un valor de 14,44.

CUADRO 26. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN CxD A LOS 60 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN CxD

Int. CxD	Media	Rango
C1xD1	16	A
C1xD2	16	A
C2xD1	15,63	B
C2xD2	14,44	C

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxCxD (Origen del injerto x Ubicación de la yema x Inoculación con K 84),(Cuadro 27), presentó el mayor número de plantas sin síntomas cuando se tomo yemas ubicadas entre la primera-tercera posición a partir de la primera hoja verdadera, independientemente de los factores como son origen del injerto e inoculación del material vegetal con K 84, ubicándose en el rango “A” con un valor de 16; mientras que el mayor número de plantas con síntomas presentó aquella interacción en la que se tomó yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición, el injerto se tomo de una planta con síntoma con síntoma visible de la agalla y no se inoculó el material vegetal con K 84, se ubicó en el rango “C” con un valor de 13,25.

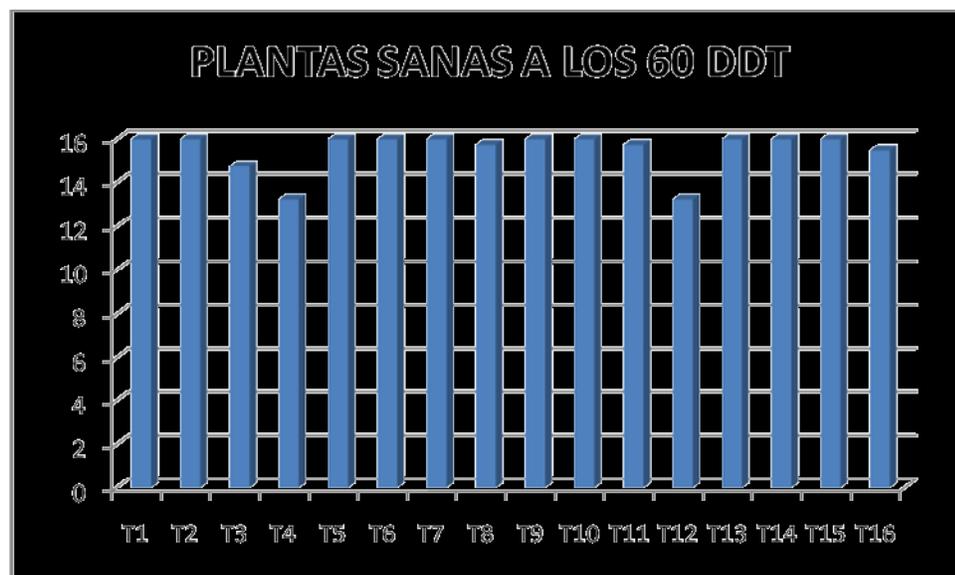
CUADRO 27. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxCxD A LOS 60 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxCxD

Int. BxCxD	Media	Rango
B1xC1xD1	16	A
B1xC1xD2	16	A
B2xC1xD1	16	A
B2xC1xD2	16	A
B2xC2xD1	16	A
B2xC2xD2	15,63	B
B1xC2xD1	15,25	B
B1xC2xD2	13,25	C

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

GRÁFICO 4. NÚMERO DE PLANTAS SANAS A LOS 60 DDT



Discusión:

A los 60 días después del trasplante se observó que la tendencia se mantiene presentando mayor número de plantas enfermas en los tratamientos T3, T4, T8, T11, T12, T16, son aquellos tratamientos que se tomó yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición (gráfico 4) a partir de la primera hoja pentafoliada y comparado con el testigo que el T10, se mantiene la hipótesis que para obtener plantas libres de *Agrobacterium tumefaciens* se debe tomar yemas tiernas. Y concuerda con LINARES, H, 2004 y TZFIRA Y CITOVSKY, 2007 que mencionan que las agallas o tumores producidos por *Agrobacterium tumefaciens* se forman en el tallo hasta una altura de 50 cm sobre el suelo o en las raíces. Y que se puede usar nuevos brotes o material tierno y de esta manera se puede tener material libre de *Agrobacterium*, respectivamente.

5. Presencia de la agalla a los 75 días después del trasplante

Los resultados de la presencia de la agalla a los 75 días después del trasplante (Anexo 5) fue 15,47 y el coeficiente de variación 3,47%.

El análisis de varianza (cuadro28) no presentó diferencias significativas para las repeticiones.

Para el factor B (Origen del injerto), C (Ubicación de la yema), D (Inoculación del material vegetal con K 84), tratamientos BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), BxD (Origen del patrón x Inoculación del material vegetal con K84), CxD (Ubicación de la yema x Inoculación del material vegetal con K84), y BxCxD (Origen del injerto x Ubicación de la yema x inoculación del material vegetal) presentaron diferencias estadísticas altamente significativas.

CUADRO 28. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA PRESENCIA DE AGALLA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* A LOS 75 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE

Factor de varianza	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significancia
Total	63	75,94		
Repeticiones	3	0,56	0,19	Ns
Factor A	1	0,00	0,00	Ns
Factor B	1	10,56	10,56	**
Factor C	1	16,00	16,00	**
Factor D	1	6,25	6,25	**
Int. Ax B	1	0,25	0,25	Ns
Int. Ax C	1	0,06	0,06	Ns
Int. Ax D	1	0,56	0,56	Ns
Int. Bx C	1	12,25	12,25	**
Int. Bx D	1	4,00	4,00	**
Int. Cx D	1	7,56	7,56	**
Int. Ax Bx C	1	0,06	0,06	Ns
Int. Ax Bx D	1	0,56	0,56	Ns
Int. Ax Cx D	1	1,00	1,00	Ns
Int. Bx Cx D	1	3,06	3,06	**
Int Ax Bx Cx D	1	0,25	0,25	Ns
Error	45	12,94	0,29	
CV %			3,47	
Media			15,47	

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

ns: no significativo

*: Significativo ($P < 0.05$)

** : Altamente significativo ($P < 0.01$)

CV %: Coeficiente de variación.

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxC(Origen del injerto x Ubicación de la yema),(Cuadro 29), presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó yemas para injertar entre la primera-tercera posición y de porta yemas provenientes de plantas son síntomas visibles de la agalla, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16; Presentó mayor número de plantas con síntomas cuando se tomó yemas para injertar ubicadas entre la cuarta-sexta yema y el porta yemas fue tomado de una planta con síntoma visible de agrobacteria, ubicándose en el rango “B” con un valor de 14,13.

CUADRO 29. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxC A LOS 75 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxC

Int. BxC	Media	Rango
B1xC1	16	A
B2xC1	15,94	A
B2xC2	15,81	A
B1xC2	14,13	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxD(Origen del injerto xInoculación con K 84),(Cuadro 30), presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó porta yemas de plantas sin síntoma visible de la agalla, independiente de la inoculación o no del material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84, se ubicó en el rango “A” con un valor de 15,94; Presentó mayor número de plantas con síntomas de la agalla cuando se tomó yemas provenientes de plantas con síntomas visibles de la agalla y no se inoculó en material vegetal con K 84, ubicándose en el rango “B” con un valor de 14,50.

CUADRO 30. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxD A LOS 75 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxD

Int. BxD	Media	Rango
B2xD1	15,94	A
B2xD2	15,81	A
B1xD1	15,63	A
B1xD2	14,5	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción CxD (Ubicación de la yema x inoculación con K 84), (Cuadro 31). Presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó la yema entre la primera y tercera ubicación a partir de la primera hoja verdadera y no se inoculo *Agrobacterium Radiobacter* K 84, ubicándose en el rango “A” con una media de 16; También presentó mayor número de plantas sin síntomas la interacción en la que se inoculo el material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84, independientemente de la posición de la yema, se ubicó en el rango “B” con un valor de 15.63;mientras que presentaron mayor número de plantas con síntomas en las que se tomó yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición; y no se inoculó en material vegetal con K 84, se ubico en el rango C con un valor de 14,31.

**CUADRO 31. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN CxD A LOS 75
DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.
INTERACCIÓN CxD**

Int. CxD	Media	Rango
C1xD2	16,00	A
C1xD1	15,94	B
C2xD1	15,63	B
C2xD2	14,31	C

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxCxD (Origen del injerto x Ubicación de la yema x Inoculación con K 84),(Cuadro 32), presentó el mayor número de plantas sin síntomas en las que se utilizo yemas entre la primera y tercera ubicación a partir de la primera hoja penta foliada o verdadera, independientemente si el injerto se tomó de una planta con síntoma o sin síntoma visible de la agalla y si se inoculó o no el material vegetal con K 84, ubicándose en el rango “A” con un valor de 16; Presentó mayor número de plantas con agallas aquella interacción en la que se tomo yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición, yemas provenientes de plantas con síntoma visible de la agalla y no se inoculó el material vegetal con K 84, ubicándose en el rango “C” con un valor de 13.

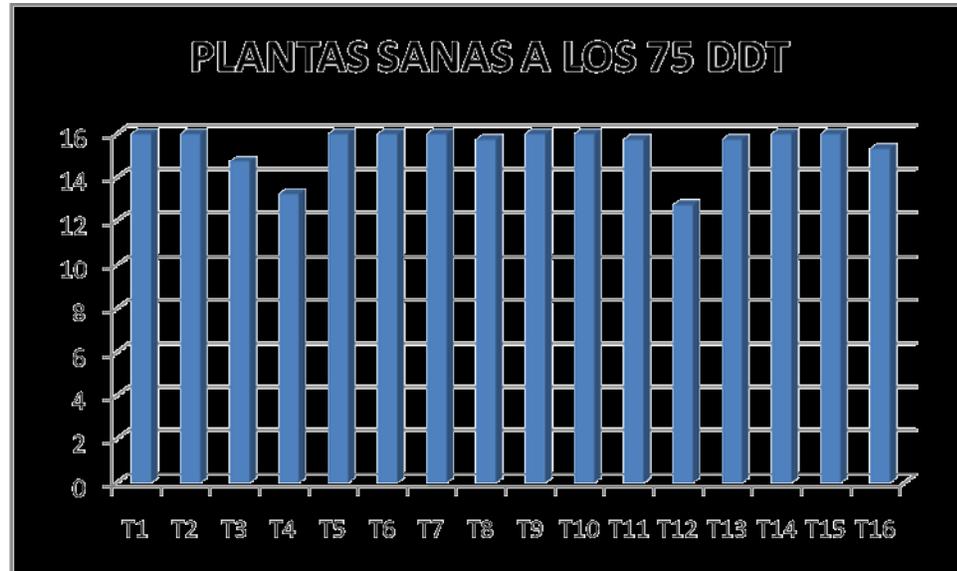
CUADRO 32. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxCxD A LOS 75 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxCxD

Int. BxCxD	Media	Rango
B1xC1xD1	16,00	A
B1xC1xD2	16,00	A
B2xC1xD2	16,00	A
B2xC2xD1	16,00	A
B2xC1xD1	15,88	A
B2xC2xD2	15,63	B
B1xC2xD1	15,25	B
B1xC2xD2	13,00	C

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

GRÁFICO 5. NÚMERO DE PLANTAS SANAS A LOS 75 DDT.



Discusión:

A los 75 días después del trasplante (gráfico 5) observó que la tendencia se mantiene presentando mayor número de plantas enfermas en los tratamientos T3, T4, T8, T11, T12, T16

que son aquellos que se tomaron yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición a partir de la primera hoja pentafoliada y comparado con el testigo que es T10, que para obtener plantas libres de *Agrobacterium tumefaciens* se debe tomar yemas tiernas y que *Agrobacterium radiobacter* se utiliza como un método preventivo para el apareamiento de la agalla de la corona provocada por *Agrobacterium tumefaciens* como menciona MONTEALEGRE, 1996: Para el control de esta bacteria no existen métodos curativos; por lo tanto, la prevención es la medida fundamental de control; ello debido a que una vez que la bacteria ataca a su hospedero inyecta a las células del hospedero un plásmido inductor de tumores (Tip), el cual las transforma y les otorga la capacidad de sintetizar auxinas y citoquininas.

6. Presencia de la agalla a los 90 y 105 días después del trasplante

Los resultados para la presencia de la agalla a los 90 y 105 días después del trasplante (Anexo 6) el coeficiente de variación fue 3.88% y una media general de 15.36.

El análisis de varianza, para la presencia de la agalla a los 90 días y 105 después del trasplante (cuadro 33). Para el factor B (Origen del injerto), C (Ubicación de la yema), D (Inoculación del material vegetal con K 84), tratamientos BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), BxD (Origen del patrón x Inoculación del material vegetal con K84), CxD (Ubicación de la yema x Inoculación del material vegetal con K84), y BxCxD (Origen del injerto x Ubicación de la yema x Inoculación del material vegetal) presentaron diferencias estadísticas altamente significativas.

CUADRO 33. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA PRESENCIA DE AGALLA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* A LOS 90 y 105 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Factor de varianza	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significancia
Total	63	98,73		
Repeticiones	3	0,80	0,27	ns
Factor A	1	0,39	0,39	ns
Factor B	1	13,14	13,14	**
Factor C	1	21,39	21,39	**
Factor D	1	9,77	9,77	**
Int. AxB	1	1,27	1,27	ns
Int. AxC	1	0,39	0,39	ns
Int. AxD	1	0,14	0,14	ns
Int. BxC	1	13,14	13,14	**
Int. BxD	1	6,89	6,89	**
Int. CxD	1	9,77	9,77	**
Int. AxBxC	1	0,39	0,39	ns
Int. AxBxD	1	0,02	0,02	ns
Int. AxCxD	1	0,77	0,77	ns
Int. BxCxD	1	4,52	4,52	**
Int AxBxCxD	1	0,02	0,02	ns
Error	45	15,95	0,35	
CV %			3,88	
Media			15,36	

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

ns: no significativo

*: Significativo (P < 0.05)

** : Altamente significativo (P < 0.01)

CV %: Coeficiente de variación.

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), (Cuadro 34), presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomo la yema entre la primera y tercera ubicación independiente del origen del porta yema, ubicándose en el rango “A” con un valor de 15,94; mientras que presentó mayor número de plantas con síntomas cuando se tomó yemas entre la cuarta y sexta posición y los porta yemas provenientes de plantas con síntoma visible de la enfermedad, ubicándose en el rango “B” con un valor de 13.88.

CUADRO 34. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxC A LOS 90 y 105 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxC

Int. BC	Media	Rango
B1xC1	15,94	A
B2xC1	15,94	A
B2xC2	15,69	A
B1xC2	13,88	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxD (Origen del injerto x Inoculación con K 84), (Cuadro 35). Presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó el injerto de una planta sin síntoma visible independiente si se inoculó o no el material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84, ubicándose en el rango “A” con un valor de 15.88; mientras que presentó mayor número de plantas con síntomas cuando tomamos el injerto de una planta con síntoma visible *Agrobacterium tumefaciens* y no se inoculó en material vegetal con K 84, ubicándose en el rango “B” con un valor de 14,19.

CUADRO 35. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxD A LOS 90 y 105 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxD

Int. BD	Media	Rango
B2xD1	15,88	A
B2xD2	15,75	A
B1xD1	15,63	A
B1xD2	14,19	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción CxD(Ubicación de la yema x Inoculación con K 84),(Cuadro 36), presentó mayor número de plantas sin síntoma aquellos tratamientos en las que se tomó la yema entre la primera y tercera ubicación a partir de la primera hoja verdadera y se inoculó el material vegetal con K 84, se ubicó en el rango “A” con un valor de 15.94; Presentó mayor número de plantas con síntomas cuando se tomaron yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición y no se inoculó en material vegetal con K 84, ubicándose en el rango “B” con un valor de 14.00.

CUADRO 36. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN CxD A LOS 90 y 105 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN CxD

Int. CxD	Media	Rango
C1xD1	15,94	A
C1xD2	15,94	A
C2xD1	15,56	A
C2xD2	14,00	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxCxD(Origen del injerto x Ubicación de la yema x Inoculación con K 84), (Cuadro 37), presentó el mayor número de plantas sin síntomas en las que se utilizo yemas entre la primera y tercera ubicación a partir de la primera hoja penta foliada o verdadera independientemente si el injerto se tomo de una planta con síntoma o sin síntoma visible de la agalla y si se inoculo o no el material vegetal con K 84, se ubicó en el rango “A” con un valor de 16; mientras que presentó el mayor número de plantas con síntomas aquella interacción en la que se tomo yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición, los porta yemas fueron tomados de plantas con síntoma visible de la agalla y no se inoculó el material vegetal con K 84ubicandose en el rango C con un valor de 12.50.

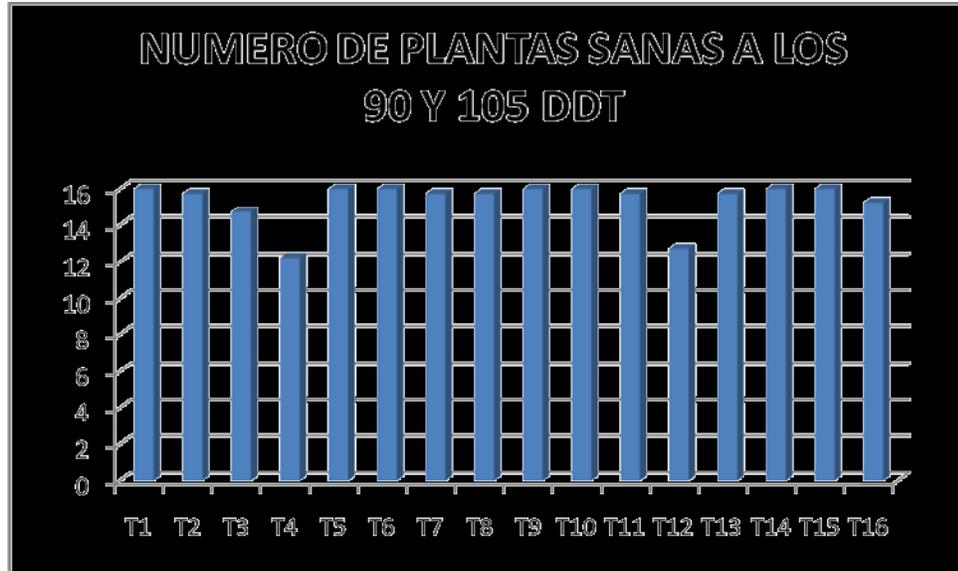
CUADRO 37. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxCxD A LOS 90 Y 105 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxCxD

Int. BxCxD	Media	Rango
B1xC1xD1	16,00	A
B2xC1xD2	16,00	A
B1xC1xD2	15,88	B
B2xC1xD1	15,88	B
B2xC2xD1	15,88	B
B2xC2xD2	15,50	B
B1xC2xD1	15,25	B
B1xC2xD2	12,50	C

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

GRÁFICO 6. NÚMERO DE PLANTAS SANAS A LOS 90 Y 105 DDT



Discusión:

A los 90 y 105 días después del trasplante (gráfico 6) se observó que la tendencia se mantiene presentando mayor número de plantas con síntomas en los tratamientos T3, T4, T8, T11, T12, T16 que son aquellos que se tomó yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición a partir de la primera hoja pentafoliada que para obtener plantas libres de *Agrobacterium tumefaciens* se debe tomar yemas tiernas y que *Agrobacterium radiobacter* se utiliza como un método preventivo para el apareamiento de la agalla de la corona provocada por *Agrobacterium tumefaciens* como menciona MONTEALEGRE, 1996: Para el control de esta bacteria no existen métodos curativos; por lo tanto, la prevención es la medida fundamental de control; ello debido a que una vez que la bacteria ataca a su hospedero inyecta a las células del hospedero un plásmido inductor de tumores (Tip), el cual las transforma y les otorga la capacidad de sintetizar auxinas y citoquininas.

7. Presencia de la agalla a los 120 días después del trasplante

Los resultados de la presencia de la agalla a los 120 (Anexo 7) el coeficiente de variación fue 4,87 %.

Análisis de varianza, para la presencia de la agalla a los 120 días después del trasplante (Cuadro 38). Para la interacción BxCxD (Origen del injerto x ubicación de la yema x inoculación con K 84 del material vegetal) presentaron diferencias estadísticas significativas.

Para el factor B (Origen del injerto), C (Ubicación de la yema), D (Inoculación del material vegetal con K 84), tratamientos BxC (Origen del injerto x ubicación de la yema), BxD (Origen del patrón x inoculación del material vegetal con K84) y CxD (Ubicación de la yema x inoculación del material vegetal con K84) presentaron diferencias estadísticas altamente significativas.

CUADRO 38. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA PRESENCIA DE AGALLA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* A LOS 120 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Factor de varianza	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significancia
Total	63	114,48		
Repeticiones	3	0,42	0,14	ns
Factor A	1	0,77	0,77	ns
Factor B	1	17,02	17,02	**
Factor C	1	26,27	26,27	**
Factor D	1	9,77	9,77	**
Int. AxB	1	1,27	1,27	ns
Int. AxC	1	1,27	1,27	ns
Int. AxD	1	0,14	0,14	ns
Int. BxC	1	15,02	15,02	**
Int. BxD	1	5,64	5,64	**
Int. CxD	1	8,27	8,27	**
Int. AxBxC	1	0,77	0,77	ns
Int. AxBxD	1	0,02	0,02	ns
Int. AxCxD	1	0,39	0,39	ns
Int. BxCxD	1	2,64	2,64	*
Int AxBCxD	1	0,02	0,02	ns
Error	45	24,83	0,55	
CV %			4,87	
Media			15,27	

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

ns: no significativo

*: Significativo ($P < 0.05$)

** : Altamente significativo ($P < 0.01$)

CV % : Coeficiente de variación

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxCxD(Origen del injerto x Ubicación de la yema x Inoculación con K 84), (Cuadro 39), presentó el mayor número de plantas sin síntomas cuando se utilizó yemas entre la primera y tercera ubicación a partir de la primera hoja penta foliada o verdadera independientemente si el injerto se tomo de una planta con síntoma o sin síntoma visible de la agalla y si se inoculó o no el material vegetal con K 84, ubicándose en el rango “A” con un valor de 16; Presentaron el mayor número de plantas con síntomas aquella interacción en la que se tomo yemas ubicadas entre la cuarta-sexta posición, los porta yemas tomados de plantas con síntoma visible de la agalla y no se inoculó el material vegetal con K 84, se ubicó en el rango “C” con un valor de 12,38 .

CUADRO 39. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxCxD A LOS 120 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxCxD

Int. BxCxD	Media	Rango
B1xC1xD1	16,00	A
B2xC1xD2	16,00	A
B2xC1xD1	15,88	B
B2xC2xD1	15,88	B
B1xC1xD2	15,75	B
B2xC2xD2	15,38	B
B1xC2xD1	14,88	B
B1xC2xD2	12,38	C

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), (Cuadro 40). Presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó entre la primera y tercera yema independientemente si el porta yemas provino de una planta con o sin síntoma visible de la agalla, ubicándose en el rango “A” con un valor de 15,94; Lo contrario se presentó cuando tomamos yemas para injertar ubicadas

entre la cuarta y sexta posición y los porta yemas se tomaron de una planta con síntoma visible, se ubicó en el rango “B” con un valor de 13,63.

CUADRO 40. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxC A LOS 120 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxC

Int. BXC	Media	Rango
B2XC1	15,94	A
B1XC1	15,88	A
B2XC2	15,63	A
B1XC2	13,63	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxD (Origen del injerto x inoculación con K 84), (Cuadro 41). Presentaron mayor número de plantas sin síntomas en aquellos tratamientos en las que se tomó el injerto de una planta sin síntoma visible y se inoculó el material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84, se ubicó en el rango “A” con un valor de 15,88; Presentó mayor número de plantas con síntomas visibles de la agalla cuando se tomó yemas provenientes de plantas con síntomas visibles de la agalla y no se inoculo el material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84, se ubicó en el rango “B” con un valor de 14,06.

CUADRO 41. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxD A LOS 120 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxD

Int. BxD	Media	Rango
B2xD1	15,88	A
B2xD2	15,69	A
B1xD1	15,44	A
B1xD2	14,06	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción CxD (Ubicación de la yema x Inoculación con K 84), (Cuadro 42). Presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomo la yema entre la primera y tercera posición a partir de la primera hoja verdadera, independiente de la inoculación o no del material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84, se ubicó en el rango “A” con un valor de 15,94; Presentó mayor número de plantas con síntomas cuando se tomó yemas ubicadas entre la cuarta y sexta yema, y no se inoculó el material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84, se ubicó en el rango “B” con un valor de 13,88.

CUADRO 42. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN CxD A LOS 120 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN CxD

Int. CxD	Media	Rango
C1xD1	15,94	A
C1xD2	15,88	A
C2xD1	15,38	A
C2xD2	13,88	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

GRÁFICO 7. NÚMERO DE PLANTAS SANAS A LOS 120 DDT



Discusión:

A los 120 días después del trasplante (gráfico 7), se observó que la tendencia se mantiene existió mayor número de plantas con síntomas en los tratamientos T3, T4, T8, T11, T12, T16 aquellos que se tomó yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición a partir de la primera hoja pentafoliada y comparado con el testigo que el T10 y de esta manera la investigación concuerda con lo que nos indica www.etsea2.udl.es/invitro/meristem.htm los meristemas apicales tienen más probabilidad de estar libres de virus que los meristemas axilares, y que si los meristemas provienen de una planta en plena actividad hay mayor probabilidad de obtener plantas libres de virus. Ya que tomamos yemas que tiernas que están en plena actividad. Mientras que mayor número de plantas enfermas en aquellos tratamientos en las que se utilizó yemas ubicadas entre la cuarta y sexta yema y no se inoculó el material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84.

Lo que concuerda con los resultados publicados por la Universidad de Madrid- España en su investigación sobre el Movimiento Sistémico de *Agrobacterium tumefaciens* en diferentes

especies vegetales que menciona que existe mayor probabilidad de detectar Agrobacteria cuando se toma el material de propagación lo más cercano a la agalla.

8. Presencia de la agalla a los 135 días después del trasplante

Los resultados para la presencia de la agalla a los 135 días después del trasplante (Anexo 8) el coeficiente de variación fue 5.26 y la media general para todos los tratamiento de 15.20.

El análisis de varianza, para la presencia de la agalla a los 135 días después del trasplante (cuadro 43). Para el factor B (Origen del injerto), C (Ubicación de la yema), D (Inoculación del material vegetal con K 84), tratamientos BxC (Origen del injerto x ubicación de la yema), BxD (Origen del patrón x Inoculación del material vegetal con K84) y CxD (Ubicación de la yema x Inoculación del material vegetal con K84) presentaron diferencias estadísticas altamente significativas.

CUADRO 43. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA PRESENCIA DE AGALLA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* A LOS 135 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Factor de varianza	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significancia
Total	63	122,36		
Repeticiones	3	1,42	0,47	ns
Factor A	1	0,39	0,39	ns
Factor B	1	19,14	19,14	**
Factor C	1	26,27	26,27	**
Factor D	1	9,77	9,77	**
Int. AxB	1	0,39	0,39	ns
Int. AxC	1	0,77	0,77	ns
Int. AxD	1	0,39	0,39	ns
Int. BxC	1	17,02	17,02	**
Int. BxD	1	6,89	6,89	**
Int. CxD	1	8,27	8,27	**
Int. AxBxC	1	0,77	0,77	ns
Int. AxBxD	1	0,02	0,02	ns
Int. AxCxD	1	0,14	0,14	ns
Int. BxCxD	1	1,89	1,89	ns
Int AxBxCxD	1	0,02	0,02	ns
Error	45	28,83	0,64	
CV %			5,26	
Media			15,20	

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

ns: no significativo

*: Significativo ($P < 0.05$)

** : Altamente significativo ($P < 0.01$)

CV %: Coeficiente de variación

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), (Cuadro 44). Presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó el explante entre la primera-tercera yema y porta yemas de una planta sin síntoma visible de la enfermedad, ubicándose en el rango “A” con valor de 15,88; mientras que cuando se tomo el injerto de una planta con síntoma visible de la enfermedad y las yemas entre la cuarta-sexta posición presentó mayor número de plantas con síntomas, ubicándose en el rango “B” con un valor de 13,50.

CUADRO 44. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxC A LOS 135 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxC

Int. BXC	Media	Rango
B2XC1	15,88	A
B1XC1	15,81	A
B2XC2	15,63	A
B1XC2	13,50	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxD (Origen del injerto x Inoculación con K 84), (Cuadro 45). Presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó el injerto de una planta sin síntoma visible, independiente si inoculamos o no el material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84, ubicándose en el rango “A” con un valor 15,81; mientras que en cuando tomamos el injerto de una planta con síntoma visible y no se inoculó el material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84 presento el mayor número de plantas con síntomas, ubicándose en el rango “B” con un valor de 13,94.

CUADRO 45. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxD A LOS 135 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxD

Int. BxD	Media	Rango
B2xD1	15,81	A
B2xD2	15,69	A
B1xD1	15,38	A
B1xD2	13,94	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción CxD (Ubicación de la yema x Inoculación con K 84), (Cuadro 46). Presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó la yema entre la primera y tercera ubicación a partir de la primera hoja verdadera y se inoculo *Agrobacterium Radiobacter* K 84, ubicándose en el rango “A” con un valor de 15,88; mientras que presentaron mayor número de plantas con síntomas aquellos tratamientos en las que se utilizó yemas ubicadas entre la cuarta y sexta yema y no se inoculó el material vegetal con *Agrobacterium Radiobacter* K 84, ubicándose en el rango “B” con un valor de 13,81.

CUADRO 46. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN CxD A LOS 135 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN CxD

Int. CxD	Media	Rango
C1xD1	15,88	A
C1xD2	15,81	A
C2xD1	15,31	A
C2xD2	13,81	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2009

GRÁFICO 8. NÚMERO DE PLANTAS SANAS A LOS 135 DDT



Discusión:

A los 135 días después del trasplante (gráfico 8), se observó que la tendencia se mantiene presentando mayor número de plantas enfermas en los tratamientos T3, T4, T8, T11, T12, T16 que son aquellos que se tomó yemas ubicadas entre la cuarta y sexta posición a partir de la primera hoja pentafoliada, comparado con el testigo que el T10 éste tuvo un pequeño descenso en el número de plantas sanas a una media de 15,50 los mismos que se debe a factores externos como contaminación al momento del realizar las labores de manejo del cultivo.

Lo que concuerda con los resultados publicados por la Universidad de Madrid- España en su investigación sobre el Movimiento Sistémico de *Agrobacterium tumefaciens* en diferentes especies vegetales que menciona que existe mayor probabilidad de detectar Agrobacteria cuando se toma el material de propagación lo más cercano a la agalla.

9. Presencia de la agalla a los 150 y 165 días después del trasplante

Los resultados para la presencia de la agalla a los 150 y 165 días después del trasplante (Anexo 9) el coeficiente de variación fue 10,40%.

El análisis de varianza, para la presencia de la agalla a los 150 y 165 días después del trasplante (Cuadro 47), para el factor B (Origen del injerto), C (Ubicación de la yema) e interacción BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), presentaron diferencias estadísticas altamente significativas

CUADRO 47. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA PRESENCIA DE AGALLA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* A LOS 150 Y 165 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Factor de varianza	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significancia
Total	63	237,44		
Repeticiones	3	9,31	3,10	ns
Factor A	1	3,06	3,06	ns
Factor B	1	25,00	25,00	**
Factor C	1	36,00	36,00	**
Factor D	1	16,00	16,00	*
Int. AxB	1	2,25	2,25	ns
Int. AxC	1	6,25	6,25	ns
Int. AxD	1	0,00	0,00	ns
Int. BxC	1	18,06	18,06	**
Int. BxD	1	0,06	0,06	ns
Int. CxD	1	1,56	1,56	ns
Int. AxBxC	1	3,06	3,06	ns
Int. AxBxD	1	10,56	10,56	*
Int. AxCxD	1	0,06	0,06	ns
Int. BxCxD	1	2,25	2,25	ns
Int AxBxCxD	1	0,25	0,25	ns
Error	45	103,69	2,30	
CV %			10,40	
Media			14,59	

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

ns: no significativo

*: Significativo (P < 0.05)

** : Altamente significativo (P < 0.01)

CV %: Coeficiente de variación

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción AxBxD (Origen del patrón x Origen del injerto x Inoculación con K 84), (Cuadro 48). Presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó el explante de porta yemas sin síntoma independiente del origen del patrón e inoculación del material vegetal en K 84, ubicándose en el rango “A” con un valor de 15,75; mientras que presentaron mayor número de plantas con síntomas cuando se tomó el explante de porta yemas con síntomas visibles de agalla, independiente del origen del patrón e inoculación del material vegetal en K 84, ubicándose en el rango “B” con un valor de 13,13.

CUADRO 48. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN AxBxD A LOS 150 y 165 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN AxBxD

Int. AxBxD	Media	Rango
A1xB2xD1	15,75	A
A2xB2xD1	15,75	A
A2xB2xD2	15,50	A
A2xB1xD1	14,88	B
A1xB1xD1	14,00	B
A1xB1xD2	13,88	C
A1xB2xD2	13,88	C
A2xB1xD2	13,13	C

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), (Cuadro 50). Presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en las que se tomó el injerto de una planta sin síntoma visible de la agalla y yema ubicada entre la primera y tercera posición a partir de la primera hoja verdadera, ubicándose en el rango “A” con un valor de 15,44; mientras que presentó mayor número de plantas con síntomas cuando se tomo el injerto de una planta con síntoma visible de la enfermedad y las yemas entre la cuarta y sexta posición, ubicándose en el rango “B” con un valor de 12,69.

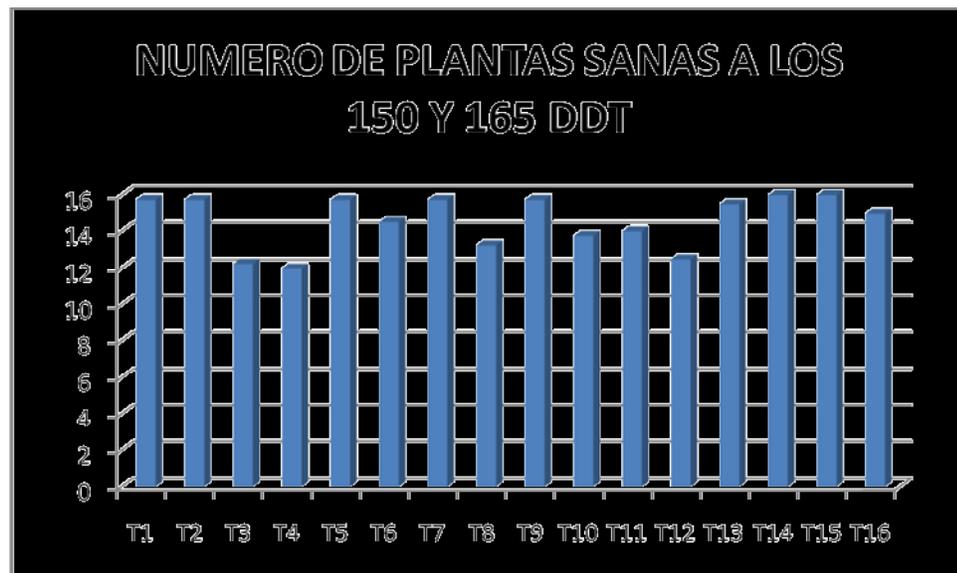
CUADRO 49. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA LA INTERACCIÓN BxC A LOS 150 y 165 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxC

Int. BC	Media	Rango
B2xC1	15,44	A
B1xC1	15,25	A
B2xC2	15,00	A
B1xC2	12,69	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

GRÁFICO 9. NÚMERO DE PLANTAS SANAS A LOS 150 y 165 DDT



Discusión:

A los 150 y 165 días después del trasplante (gráfico10) se mantuvo la tendencia de los tratamientos que se había tomado yemas entre la cuarta y sexta yema presentaron mayor

número de plantas enfermas independientemente del origen del patrón, origen de la yema o injerto y si se inoculó o no el material vegetal con K 84.

Los tratamientos en los que se utilizaron yemas entre la primera y tercera yema presentaron menor número de plantas enfermas y las que se presentaron se debió a factores de manejo del cultivo que escaparon al protocolo de asepsia que seguimos durante el ensayo.

10. Presencia de la agalla a los 180 y 240 días después del trasplante

Los resultados para la presencia de la agalla a los 180 y 240 días después del trasplante (Anexo 10) el coeficiente de variación fue 11,39%.

El análisis de varianza, para la presencia de la agalla a los 180 y 240 días después del trasplante (Cuadro 50). Para el C (ubicación de la yema) e interacción BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), presentaron diferencias estadísticas altamente significativas.

CUADRO 50. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA PRESENCIA DE AGALLA *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* A LOS 180 y 240 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

F. Var	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significancia
Total	63	237,36		
Repeticiones	3	4,67	1,56	ns
Factor A	1	15,02	15,02	*
Factor B	1	17,02	17,02	*
Factor C	1	31,64	31,64	**
Factor D	1	13,14	13,14	*
Int. AxB	1	0,14	0,14	ns
Int. AxC	1	2,64	2,64	ns
Int. AxD	1	0,14	0,14	ns
Int. BxC	1	28,89	28,89	**
Int. BxD	1	0,02	0,02	ns
Int. CxD	1	1,89	1,89	ns
Int. AxBxC	1	1,89	1,89	ns
Int. AxBxD	1	4,52	4,52	ns
Int. AxCxD	1	3,52	3,52	ns
Int. BxCxD	1	1,89	1,89	ns
Int AxBxCxD	1	0,77	0,77	ns
Error	45	109,58	2,44	
CV %			11,39	
Media			13,70	

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

ns: no significativo

*: Significativo (P < 0.05)

** : Altamente significativo (P < 0.01)

CV %: Coeficiente de variación

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para el factor A (Origen del patrón), (Cuadro 51), presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en los que se tomó el patrón de origen In vivo, se ubicó en el rango “A” con un valor de 14,19.

CUADRO 51. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA EL FACTOR A LOS 180 Y 240 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

FACTOR A

Factor A	Media	Rango
A2	14,19	A
A1	13,22	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para el factor B (Origen del injerto), (Cuadro 52), presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en los que se utilizó yemas obtenidas a partir de material sin síntomas visible de la enfermedad, ubicándose en el rango “A” con un valor de 14,22.

CUADRO 52. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA EL FACTOR B A LOS 180 Y 240 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

FACTOR B

Factor B	Media	Rango
B2	14,22	A
B1	13,19	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

Al realizar la prueba Tukey al 5 %, para la interacción BxC (Origen del injerto x Ubicación de la yema), (Cuadro 53), presentó diferencias estadísticas altamente significativas. Presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en los que se tomó yemas

ubicadas entre la primera y tercera posición a partir de la primera hoja verdadera o penta foliada independientemente si se tomaron de porta yemas con o sin síntoma visible de la enfermedad, ubicándose en el rango “A” con un valor de 14,56.

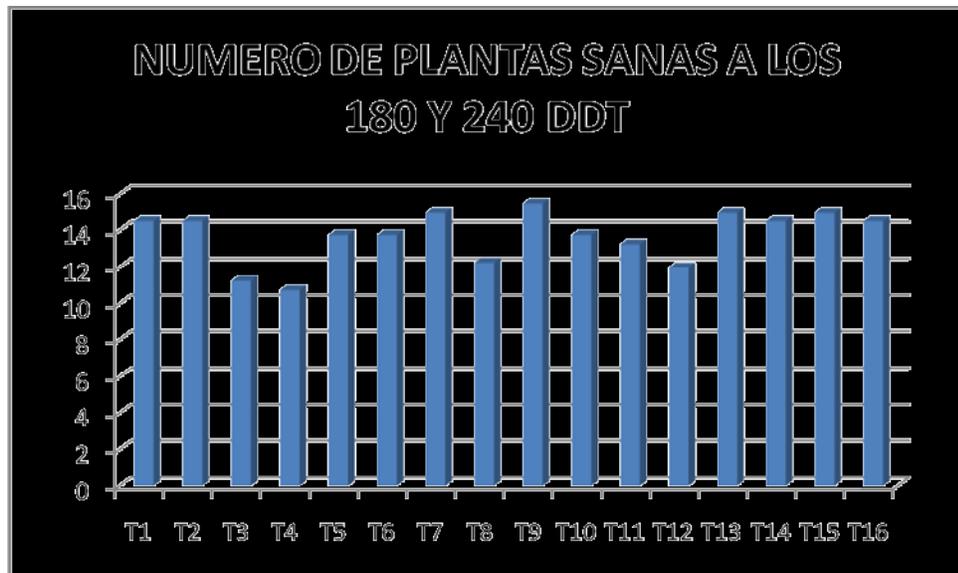
CUADRO 53. PRUEBA DE TUKEY AL 5 % PARA INTERACCIÓN BxC A LOS 180 240 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

INTERACCIÓN BxC

Int. BxC	Media	Rango
B1xC1	14,56	A
B2xC1	14,25	A
B2xC2	14,19	A
B1xC2	11,81	B

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

GRÁFICO 10. NÚMERO DE PLANTAS SANAS A LOS 180 Y 240 DDT



Discusión:

A los 180 y 240 días de implantada la investigación podemos decir que la tendencia se mantiene presentando menor número de plantas enfermas o que no presentaron síntomas visibles de la agalla en los tratamientos en los que se tomaron yemas ubicadas entre la primera y tercera posición a partir de la primera hoja verdadera o pentafoliada. (Gráfico 11)

De esta manera podemos decir que los resultados tienen analogía con los resultados obtenidos en la investigación realizada por la Universidad de Madrid- España publicado en su artículo Movimiento Sistémico de *Agrobacterium tumefaciens* en diferentes especies de plantas que demostró que en el tallo, a los 20 centímetros de la corona, la probabilidad de detectar la agrobacteria fue 4 veces menor que en la corona. En el tallo a 20 y 10 centímetros, la probabilidad fue 5 y 8 veces menos, respectivamente, cuando compararon con la raíz.

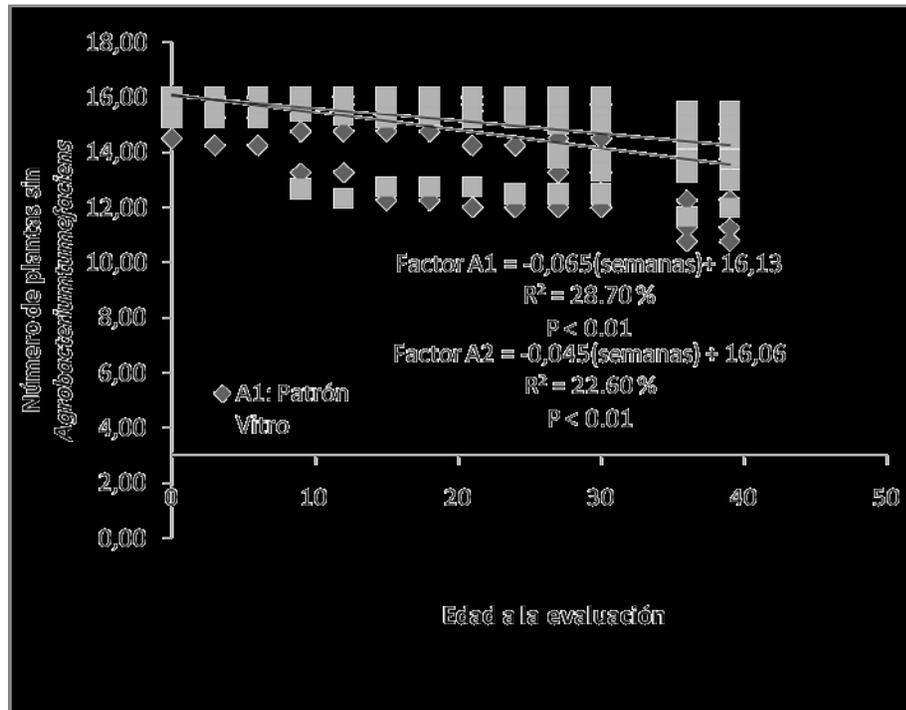
Del mismo modo TZFIRA Y CITOVSKY, 2007 en su libro from Biology to Biotechnonoly que dice al realizar cultivos de meristemas se puede obtener plantas libres de *Agrobacterium*. Aunque una propagación *In vitro* es muy confiable al mismo tiempo es muy costosa por que se necesita equipar laboratorios.

Como una alternativa al cultivo *In vitro* o de meristemas, se puede usar nuevos brotes o material tierno y de esta manera se puede tener material libre de *Agrobacterium*.

11. Análisis de regresión lineal para el factor A

En el análisis de regresión lineal para el Factor A (Origen del patrón), (gráfico 12) podemos decir que presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en los que se utilizaron patrones de origen *In vitro* obteniendo un coeficiente de determinación del 28.70%.

GRÁFICO 11. REGRESIÓN LINEAL PARA EL FACTOR A (ORIGEN DEL PATRÓN)

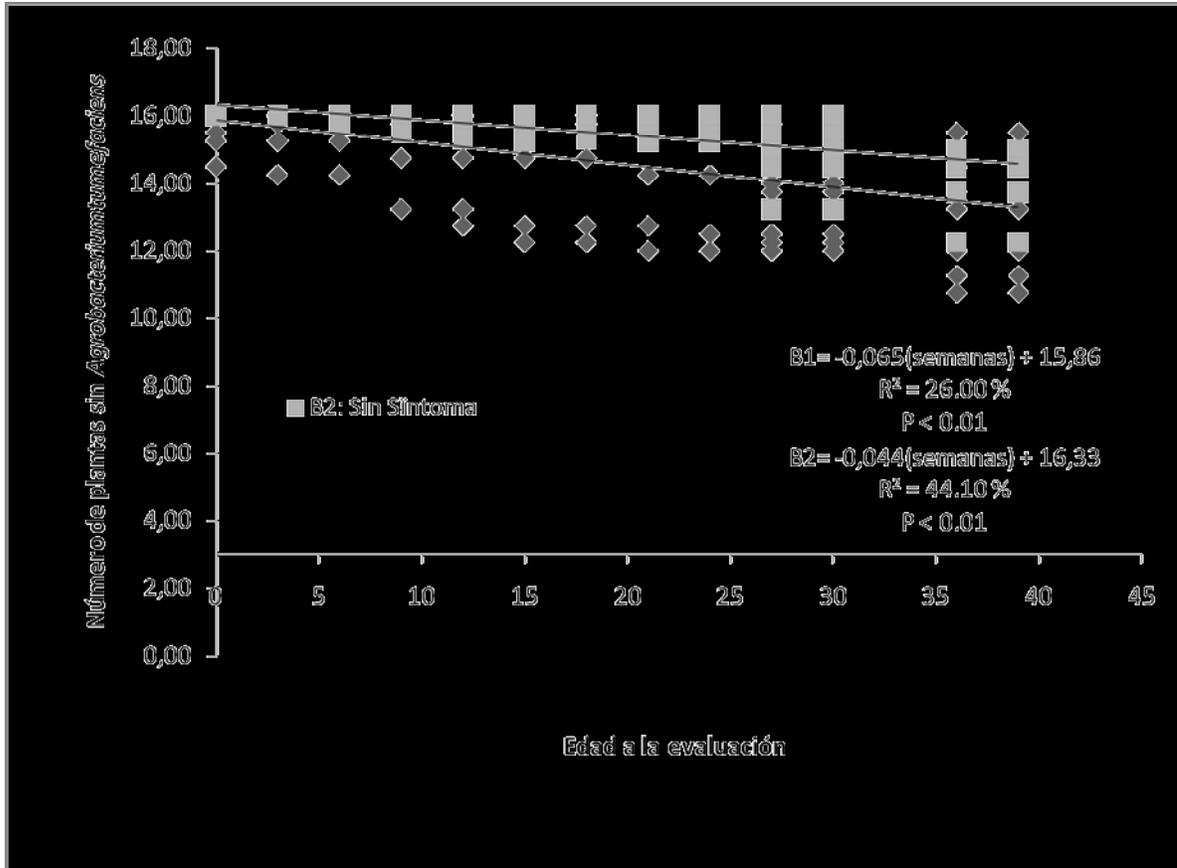


Elaboración: Cifuentes. H, 2010

12. Análisis de regresión lineal para el factor B

En el análisis de regresión lineal para el Factor B (origen del injerto), (gráfico 13) podemos decir que presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en los que se utilizaron patrones de origen sin síntoma de la enfermedad obteniendo un coeficiente de determinación del 44.10%.

GRÁFICO 12. REGRESIÓN LINEAL PARA EL FACTOR B (ORIGEN DEL INJERTO)

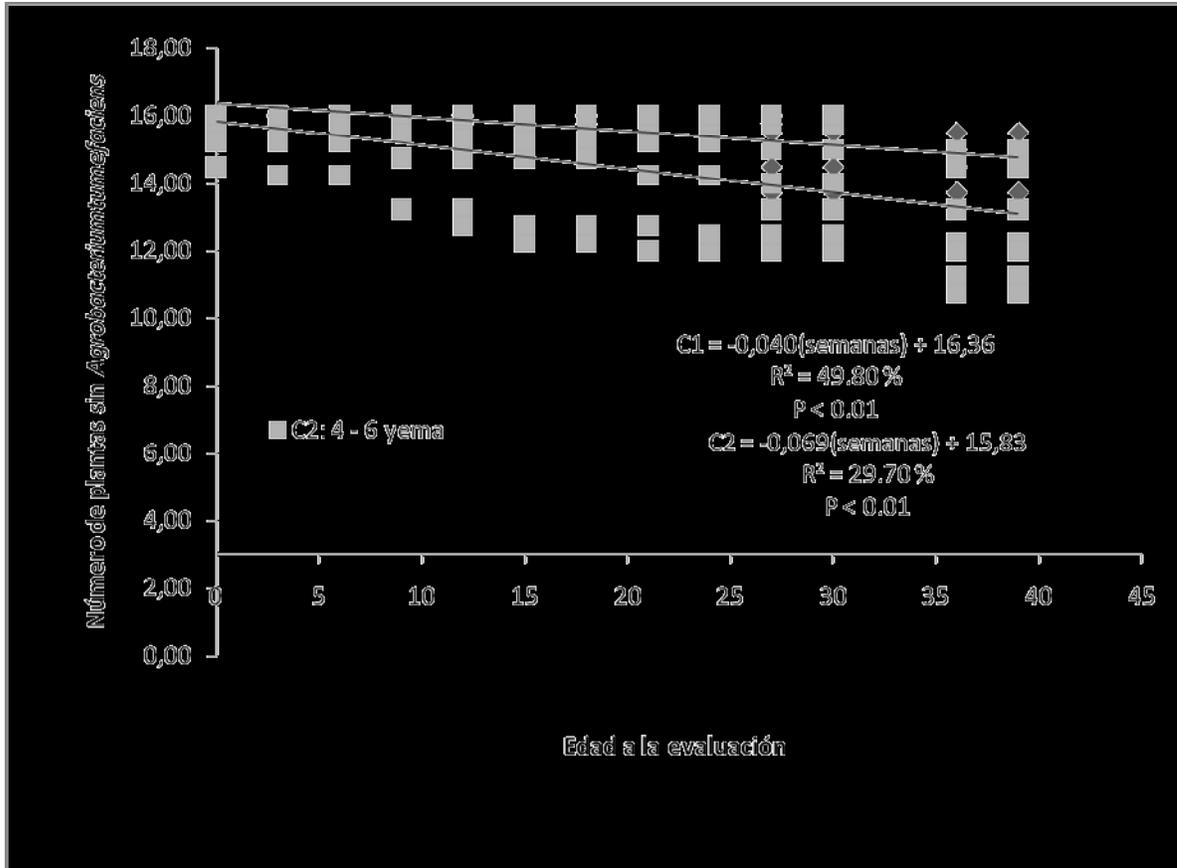


Elaboración: Cifuentes. H, 2010

13. Análisis de regresión lineal para el factor C

En el análisis de regresión lineal para el Factor C (Origen del injerto), (gráfico 14) podemos decir que presentaron mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en los que se utilizaron yemas entre la primera y tercera posición a partir de la primera hoja verdadera de la enfermedad obteniendo un coeficiente de determinación del 49.80%.

GRÁFICO 13. REGRESIÓN LINEAL PARA EL FACTOR C (UBICACIÓN DE LA YEMA)

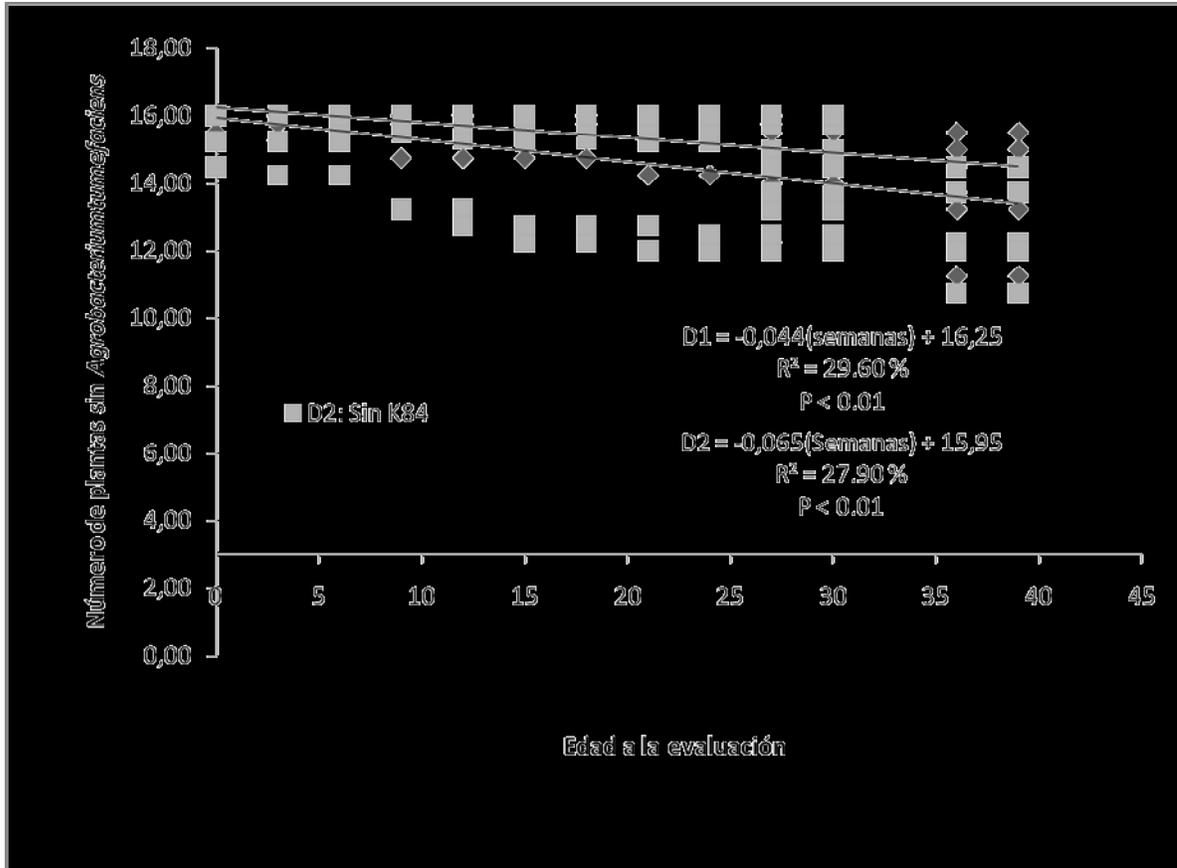


Elaboración: Cifuentes. H, 2010

14. Análisis de regresión lineal para el factor D

En el análisis de regresión lineal para el Factor D (Inoculación de material vegetal con *A. radiobacter* K 84), (Gráfico 15) presentó mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en los que se realizó la inmersión del material vegetal en *A. radiobacter* K 84 obteniendo un coeficiente de determinación del 29.60%.

GRÁFICO 14. REGRESIÓN LINEAL PARA EL FACTOR D (INOCULACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL CON K 84)



Elaboración: Cifuentes. H, 2010

Al realizar una regresión lineal para la interacción altamente significativa B2xC1 (Cuadro 54), presentó en toda la investigación mayor número de plantas sin síntomas aquellos tratamientos en los que se utilizó porta yemas sin síntoma visible de la agalla y yemas ubicadas entre la primera y tercera posición, un coeficiente de determinación de 0,58. (Gráfico 16)

Al realizar una analogía con los resultados obtenidos por el laboratorio Holandés Naktuinbouw que nos arrojaron como resultados luego de realizar una análisis del material vegetal mediante

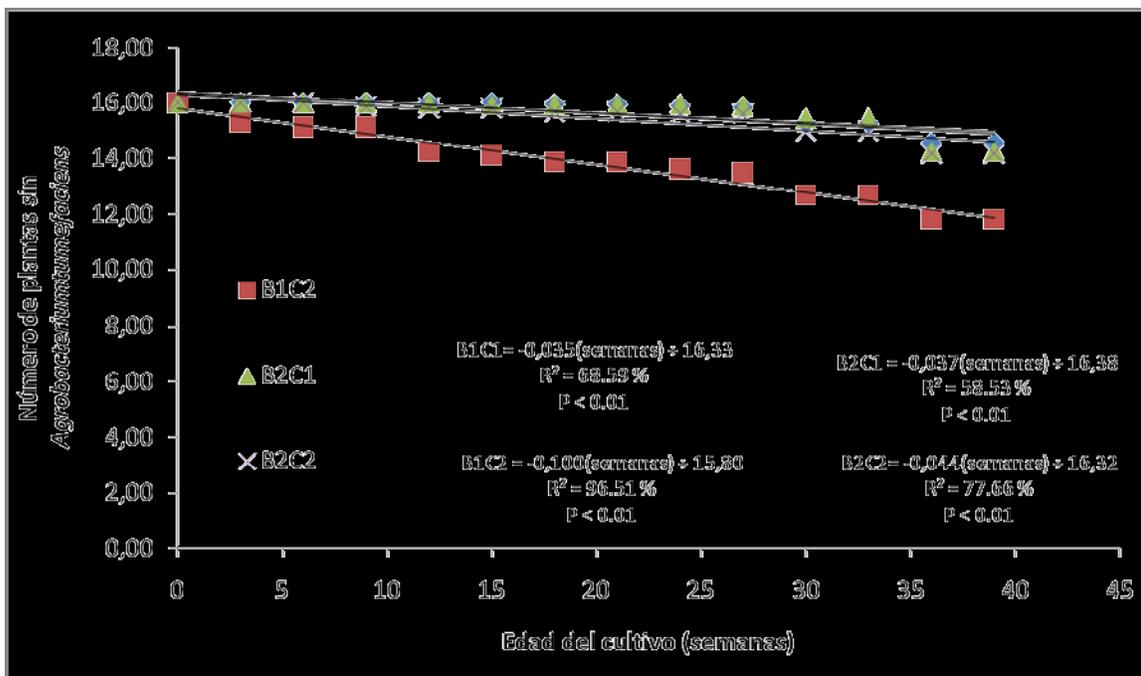
PCR que tratamientos en los que se uso material vegetal con síntoma y yemas ubicadas entre la primera y tercera posición estas plantas se encontraron libres de *Agrobacterium tumefaciens*.

CUADRO 54. REGRESIÓN LINEAL PARA LA INTERACCIÓN Bx C

Estadísticas de la regresión	B1C1	B1C2	B2C1	B2C2
Coeficiente de correlación múltiple	0,8282379	0,98243928	0,7650838	0,8812791
Coeficiente de determinación R ²	0,68597802	0,96518694	0,58535321	0,77665285
Valor crítico de F	0,00025328	4,0771E-10	0,0014312	3,1155E-05
Intercepción	16,3392857	15,8035714	16,3803571	16,3232143
Regresión	0,03502747	0,10050366	0,03782051	0,04404762

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

GRÁFICO 15. REGRESIÓN LINEAL PARA LA INTERACCIÓN Bx C



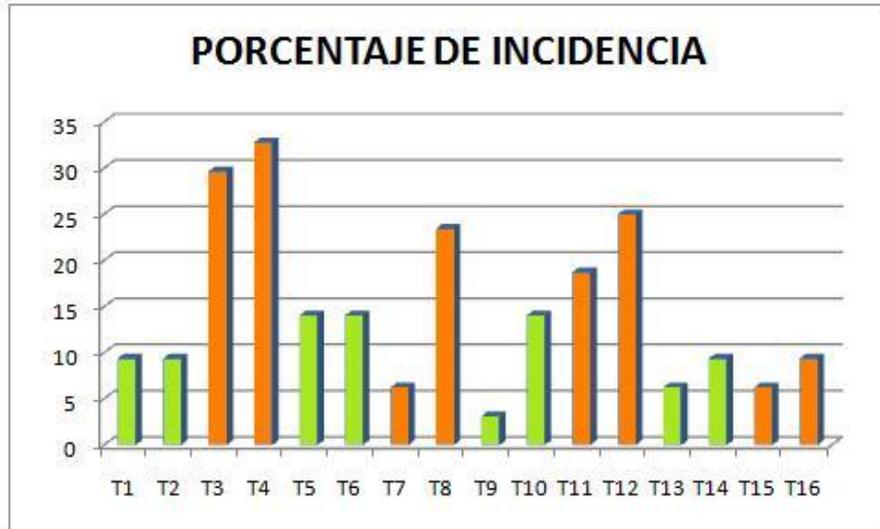
Elaboración: Cifuentes. H, 2010

CUADRO 55. PORCENTAJE DE INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD

TRATAMIENTOS	PORCENTAJE DE INCIDENCIA
T1	9
T2	9
T3	30
T4	33
T5	14
T6	14
T7	6
T8	23
T9	3
T10	14
T11	19
T12	25
T13	6
T14	9
T15	6
T16	9

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

GRÁFICO 16. INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD AL FINAL DE LA INVESTIGACIÓN



CUADRO 56. CÁLCULO DE LA MEDIANA PARA LOS TRATAMIENTOS EN LOS QUE SE UTILIZÓ PORTA YEMAS CON SINTOMAS.

TRATAMIENTOS CON SINTOMA	
T1	9
T2	9
T3	30
T4	33
T9	3
T10	14
T11	19
T12	25
mediana	16,5

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

CUADRO 57. CÁLCULO DE LA MEDIANA PARA LOS TRATAMIENTOS EN LOS QUE SE UTILIZÓ PORTA YEMAS SIN SINTOMAS.

TRATAMIENTOS SIN SINTOMA	
T5	14
T6	14
T7	6
T8	23
T13	6
T14	9
T15	6
T16	9
mediana	9

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

B. ANALISIS ECONÓMICO

CUADRO 58. COSTOS POR HECTAREA DEL ENSAYO

Costos

Tratamientos	Plántula	Radiobacter	# de plantas /ha	Costos plantas	costos por hectárea	Tiempo (meses)	Rendimiento /ha	Ingresos en 48 meses	Precio por tallo	Ingresos
A1B1C1D1	2	0,90625	100000	2,90625	290625	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A1B1C1D2	2		100000	2	200000	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A1B1C2D1	2	0,90625	100000	2,90625	290625	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A1B1C2D2	2		100000	2	200000	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A1B2C1D1	2	0,90625	100000	2,90625	290625	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A1B2C1D2	2		100000	2	200000	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A1B2C2D1	2	0,90625	100000	2,90625	290625	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A1B2C2D2	2		100000	2	200000	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A2B1C1D1	1,5	0,90625	100000	2,40625	240625	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A2B1C1D2	1,5		100000	1,5	150000	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A2B1C2D1	1,5	0,90625	100000	2,40625	240625	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A2B1C2D2	1,5		100000	1,5	150000	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A2B2C1D1	1,5	0,90625	100000	2,40625	240625	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A2B2C1D2	1,5		100000	1,5	150000	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A2B2C2D1	1,5	0,90625	100000	2,40625	240625	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000
A2B2C2D2	1,5		100000	1,5	150000	48	4.800.000,00	960.000	0,2	960000

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

CUADRO 59. RELACIÓN BENEFICIO COSTO

Tratamientos	Beneficio neto	Costo variables	Relacion B/C
A1B1C1D1	960000	290625	3,30
A1B1C2D1	960000	290625	3,30
A1B2C1D1	960000	290625	3,30
A1B2C2D1	960000	290625	3,30
A2B1C1D1	960000	240625	3,99
A2B1C2D1	960000	240625	3,99
A2B2C1D1	960000	240625	3,99
A2B2C2D1	960000	240625	3,99
A1B1C1D2	960000	200000	4,80
A1B1C2D2	960000	200000	4,80
A1B2C1D2	960000	200000	4,80
A1B2C2D2	960000	200000	4,80
A2B1C1D2	960000	150000	6,40
A2B1C2D2	960000	150000	6,40
A2B2C1D2	960000	150000	6,40
A2B2C2D2	960000	150000	6,40

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

Discusión:

Según los datos obtenidos en la investigación no se puede realizar un análisis económico mediante el análisis de costos variables ya que el beneficio neto es igual para todos los tratamientos.

Razón por la cual se escogió a los tratamientos que presentaron menores costos variables y mayor relación beneficio costo como son los que se utilizó patrones de origen in vivo, porta yemas que fueron de origen con y sin síntoma visibles de la agalla, las yemas ubicadas entre la primera- tercera posición y cuarta- sexta posición.

VI.CONCLUSIONES

A. La ubicación de la yema es la variable más importante que se debe tomar en cuenta al momento de seleccionar una yema a injertar ya que de esta depende el apareamiento o no de la agalla ya que se observó menor incidencia de la enfermedad en los tratamientos que se utilizó yemas ubicadas entre la primera y tercera posición.

El tratamiento T9 (In vivo x con síntoma x primera – tercera yema x con K 84) tuvo una incidencia del 3% comparado con el tratamiento T4 (In vitro x Con síntoma x cuarta-sexta yema x sin K 84) que su incidencia fue del 33 % independientemente de las variables.

Como una alternativa al cultivo *In vitro* o de meristemas, se puede usar nuevos brotes o material tierno y de esta manera se puede tener material libre de *Agrobacterium*

B. El material (porta yemas) libre de *Agrobacterium tumefaciens* es esencial para garantizar una planta sana.

Como se observó cuando realizamos el cálculo de la mediana para los tratamientos T1,T2,T3,T4,T9,T10,T11,T12 (tratamientos de origen con síntoma) que son aquellos que se tomó explantes de porta yemas con síntomas visibles (Cuadro 55). Mientras que fue menor cuando realizamos el cálculo de la mediana T5,T6,T7,T8,T13,T14,T15,T16 (tratamientos de origen sin síntoma) que se tomó de porta yemas sin síntomas visibles de la enfermedad (Cuadro 56).

C. La variable origen del patrón no influyó en la aparición de la enfermedad como se pudo observar en el cuadro 54 la enfermedad que presentó en todos los tratamientos.

D. La inmersión del material vegetal en *Agrobacterium radiobacter* K 84 tuvo mayor efectividad cuando se utilizó de manera preventiva que cuando se realizó la inmersión del

material vegetal proveniente de porta yemas con síntoma visible de la agalla no se observó control. Lo contrario sucedió cuando la inmersión se realizó en material vegetal síntoma visible de la agalla que la incidencia fue menor en esos tratamientos.

VII. RECOMENDACIONES

- A.** Utilizar yemas ubicadas entre la primera y tercera posición a partir de la primera hoja pentafoliada para obtener plantas libre de *Agrobacterium tumefaciens*.

- B.** Partir de material vegetal (porta yemas) libre de *Agrobacterium Tumefaciens* para garantizar plantas sanas y de mejor calidad.

- C.** Realizar investigaciones sobre la eficacia del *Agrobacterium radiobacter* K 1026 que se conoce que esta cepa aún no genera resistencia para la agalla de la corona en el rosal.

- D.** Esterilizar las herramientas con alguna solución bactericida luego de cada corte y de esa manera se puede evitar que la enfermedad se disemine a todo el cultivo.

VIII. RESUMEN

La presente investigación propone: Determinar un tratamiento que prevenga el apareamiento de *Agrobacterium tumefaciens* en plantas de rosas (*Rosa sp.*) Var Cantata, hasta el noveno mes de siembra ubicado en la parroquia el Quinche, Cantón Quito, Provincia de Pichincha. Utilizando un diseño de bloques al Azar en arreglo tetrafactorial combinatorio con 16 tratamientos y 4 repeticiones. Evaluando los siguientes parámetros: Origen del patrón (In vivo e In vitro), Origen del injerto (Con síntoma visible y sin síntoma visible de la agalla), Ubicación de la yema (primera – tercera yema; cuarta – sexta yema), Inoculación con K 84 (Con radiobacter, sin radiobacter). Resultando al final los tratamientos altamente significativos aquellos en los que se utilizó yemas para injertar ubicadas entre la primera y tercera posición, y, las yemas provinieron de plantas sanas es decir sin síntomas visibles de la agalla (B1xC1) con una media de 14,56. Presentaron mayor número de plantas con síntomas visibles de la agalla en aquellos tratamientos en los que se utilizaron yemas provenientes de plantas enfermas, con una mediana de 16,5, lo contrario sucedió cuando se tomó explantes provenientes de planta sin síntomas visibles de la agalla con una mediana 9. Concluyendo y recomendando, utilizar yemas ubicadas entre la primera y tercera posición, y explantes provenientes de plantas sin síntomas visibles para garantizar plantas sanas y de buena calidad.

IX. SUMMARY

The present investigation proposes: To determine a treatment that prevents the growth of *Agrobacterium tumefaciens* in plants of roses (*Rosa* sp.) Var Cantata, until the ninth month of sows located in the Parroquia El Quinche, Canton Quito, County of Pichincha. Using a design of blocks at random in arrangement tetra factorial combination with 16 treatments and 4 repetitions. Evaluating the following parameters: Origin of the pattern (In alive and In vitro), Origin of the implant (With visible symptom and without visible symptom of the gill), Location of the yolk (first - third yolk; fourth - sixth yolk), Inoculation with K 84 (With radiobacter, without radiobacter). Being at the end the highly significant treatments those in those that was used yolks to implant located between the first one and third position, and, the yolks came from plants you heal that is to say without visible symptoms of the gill (B1xC1) with a stocking of 14,56. They presented bigger number of plants with visible symptoms of the gill in those treatments in those that yolks coming from sick plants were used, with a medium of 16,5, the opposite happened when she/he took yolks coming from plant without visible symptoms of the gill with a medium of 9. Concluding and recommending, to use yolks located among the first and third position, and yolks coming from plants without visible symptoms to guarantee healthy plants and of good quality.

X. BIBLIOGRAFÍA.

1. [http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronomicas/montealegre_j/cont
raportada.html](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronomicas/montealegre_j/cont
raportada.html), 2005 Santiago-Chile.
2. http://www.actahort.org/members/showpdf?booknrarnr=424_39
3. <http://www.sica.gov.ec/censo/docs/nacionales/tabla5.htm>
4. JOURNAL MICROBIOLOGY , 2005. Systemic movement of *Agrobacterium tumefaciens* in several plant species Madrid- España
5. JUSCAFRESA, B, 1979. Cultivo del rosal Barcelona – España tercera Edición Impreso por talleres A. Nuñez Pp 15, 16,51-58.
6. TZFIRA Y CITOVKY , V, 2007. *Agrobacterium* from Biology to Biotechnoly USA.
7. www.dialnet.unirioja.es/servlet/fichero_articulo?codigo=2221549&orden=73443
8. www.espacioblog.com/plantastransgenicas/post/2006/02/07/agrobacterium-tumefaciens
9. www.infoagro.com/flores/flores/rosas.htm 2006, Madrid – España
10. www.redepapa.org/biopesticidas1.pdf

11. www.sra.gob.mx/internet/informacion_general/programas/fondo_tierras/manuales/Cultivo_rosal.pdf
12. www.tesisenxarxa.net/TESIS_UV/AVAILABLE/TDX-0527104-135353//LLOP.pdf.
13. www.zamorano.edu/promipac/DiagnosticoPlagas/Diagnostico/WebDiagnostico1/Enfermedades/BACTERIAS/AGROBACTERIUM_TUMEFACIENS/AGROBACTERIUM_TUMEFACIENS.HTM
14. www.inia.cl/medios/quilamapu/pdf/informativos/info38.pdf
15. www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt2006/05-Agrarias/2006-A-023.pdf
16. <http://www.diagnosticosvegetales.com/>
17. http://www.sica.gov.ec/agronegocios/biblioteca/ing%20rizzo/perfiles_productos/floricultura.pdf

X. ANEXOS

ANEXO 1. CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL A LOS 15 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Media general a los 15 DDT				
Repeticiones				Media
I	II	III	IV	
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	15,00	16,00	15,00	15,50
15,00	14,00	14,00	15,00	14,50
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	15,00	15,00	15,00	15,25
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
Media general				15,83

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

ANEXO 2. CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL A LOS 30 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Media general a los 30 DDT				
Repeticiones				Media
I	II	III	IV	
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	15,00	16,00	14,00	15,25
15,00	14,00	14,00	14,00	14,25
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
16,00	15,00	15,00	15,00	15,25
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
Media general				15,78

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

ANEXO 3. CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL A LOS 45 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Media general a los 45 DDT				
Repeticiones				Media
I	II	III	IV	
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	15,00	16,00	14,00	15,25
15,00	14,00	14,00	14,00	14,25
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	15,00	16,00	15,75
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
16,00	15,00	15,00	15,00	15,25
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
Media general				15,75

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

ANEXO 4. CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL A LOS 60 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Media general a los 60 DDT				
Repeticiones				Media
I	II	III	IV	
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	14,00	15,00	14,00	14,75
13,00	14,00	12,00	14,00	13,25
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	15,00	16,00	15,75
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
12,00	13,00	13,00	15,00	13,25
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
14,00	16,00	16,00	16,00	15,50
Media general				15,52

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

ANEXO 5. CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL A LOS 75 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Media general a los 75 DDT				
Repeticiones				Media
I	II	III	IV	
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	14,00	15,00	14,00	14,75
13,00	14,00	12,00	14,00	13,25
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	15,00	16,00	15,75
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
12,00	13,00	12,00	14,00	12,75
16,00	16,00	16,00	15,00	15,75
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
14,00	16,00	16,00	16,00	15,33
Media general				15,47

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

**ANEXO 6. CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL A LOS 90 Y 105 DÍAS DESPUÉS
DEL TRASPLANTE.**

Media general a los 90 y 105 DDT				
Repeticiones				Media
I	II	III	IV	
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	15,00	16,00	16,00	15,75
16,00	14,00	15,00	14,00	14,75
11,00	12,00	12,00	14,00	12,25
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
16,00	16,00	15,00	16,00	15,75
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
12,00	13,00	12,00	14,00	12,75
16,00	16,00	16,00	15,00	15,75
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
14,00	16,00	16,00	15,00	15,25
Media general				15,36

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

ANEXO 7. CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL A LOS 120 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Media general a los 120 DDT				
Repeticiones				Media
I	II	III	IV	
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	15,00	16,00	16,00	15,75
16,00	12,00	15,00	14,00	14,25
11,00	11,00	12,00	14,00	12,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
16,00	16,00	15,00	15,00	15,50
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	15,00	15,75
15,00	16,00	15,00	16,00	15,50
12,00	13,00	12,00	14,00	12,75
16,00	16,00	16,00	15,00	15,75
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
14,00	16,00	16,00	15,00	15,25
Media general				15,27

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

ANEXO 8. CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL A LOS 135 DÍAS DESPUÉS DEL TRASPLANTE.

Media general a los 135 DDT				
Repeticiones				Media
I	II	III	IV	
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	15,00	16,00	16,00	15,75
16,00	12,00	15,00	14,00	14,25
11,00	11,00	12,00	14,00	12,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
16,00	16,00	15,00	15,00	15,50
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	15,00	16,00	15,00	15,50
14,00	16,00	15,00	16,00	15,25
11,00	13,00	12,00	14,00	12,50
16,00	16,00	16,00	15,00	15,75
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
14,00	16,00	16,00	15,00	15,25
Media general				15,20

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

**ANEXO 9. CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL A LOS 150 Y 165 DÍAS DESPUÉS
DEL TRASPLANTE.**

Media general a los 150 y 165 DDT				
Repeticiones				Media
I	II	III	IV	
16,00	16,00	15,00	16,00	15,75
16,00	15,00	16,00	16,00	15,75
12,00	12,00	11,00	14,00	12,25
11,00	11,00	12,00	14,00	12,00
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
16,00	15,00	11,00	16,00	14,50
15,00	16,00	16,00	16,00	15,75
11,00	16,00	11,00	15,00	13,25
16,00	16,00	15,00	16,00	15,75
16,00	15,00	15,00	9,00	13,75
10,00	15,00	15,00	16,00	14,00
11,00	13,00	12,00	14,00	12,50
15,00	16,00	16,00	15,00	15,50
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
14,00	15,00	16,00	15,00	15,00
Media general				14,59

Elaboración: Cifuentes. H, 2010

**ANEXO 10. CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL A LOS 180 Y 240 DÍAS DESPUÉS
DEL TRASPLANTE.**

Media general a los 180 y 240 DDT				
Repeticiones				Media
I	II	III	IV	
12,00	16,00	15,00	15,00	14,50
16,00	14,00	16,00	12,00	14,50
10,00	10,00	11,00	14,00	11,25
11,00	11,00	10,00	11,00	10,75
15,00	14,00	13,00	13,00	13,75
16,00	14,00	11,00	14,00	13,75
15,00	15,00	16,00	14,00	15,00
11,00	13,00	11,00	14,00	12,25
16,00	16,00	15,00	15,00	15,50
16,00	15,00	15,00	9,00	13,75
10,00	15,00	14,00	14,00	13,25
11,00	13,00	11,00	13,00	12,00
15,00	15,00	16,00	14,00	15,00
14,00	14,00	15,00	15,00	14,50
14,00	16,00	16,00	14,00	15,00
14,00	15,00	15,00	14,00	14,50
Media general				13,70

Elaboración: Cifuentes. H, 2010