

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
ESCUELA DE AGRICULTURA

PROPAGACION VEGETATIVA " IN VITRO " DE TIPOS DE
DURAZNO (PRUNUS PERSICA (L) BATSCH.) DE TETELA
DEL VOLCAN EDO. DE MORELOS, MEXICO.
(ENSAYOS PRELIMINARES).

TÉSIS QUE PARA OBTENER
EL TÍTULO DE INGENIERO
AGRÓNOMO PRESENTA:

FRANCISCO JAVIER
PEREGRINA BANCALARI.

GUADALAJARA, JAL.

1984



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Escuela de Agricultura

Expediente

Número

Enero 24, 1984.

ING. ANDRES RODRIGUEZ GARCIA
DIRECTOR DE LA ESCUELA DE AGRICULTURA
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.

Habiendo sido revisada la Tesis del PASANTE _____
FRANCISCO JAVIER PEREGRINA BANCALARI _____ titulada,

"PROPAGACION VEGETATIVA "in vitro" DE TIPOS DE DURAZNO DE TETELA DEL VOLCAN."

Damos nuestra aprobación para la impresión de la misma.

DIRECTOR.

ING. LUIS ALBERTO RENDON SALCIDO

ASESOR

ING. JUAN CALDERON HERNANDEZ.

ASESOR

Q.F.B. ANGEL PEREZ ZAMORA.

A MIS PADRES:

FRANCISCO JAVIER Y GRACIELA
CON TODO MI CARIÑO, RESPETO Y AGRADE-
CIMIENTO.

A MIS HERMANOS:

MARIA GRACIELA, GEORGINA, ALEJANDRO Y
CECILIA CON MUCHO CARIÑO.

A MI ABUELITA, MIS TIOS Y DEMÁS FAMILIARES CON CARIÑO
Y AGRADECIMIENTO.



A MI ESPOSA

ANGELICA EDITH

CON TODO MI AMOR.

AGRADECIMIENTOS

A LA SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA
DE LA COMISIÓN NACIONAL DE FRUTICULTURA, EL -
HABERME PERMITIDO DESARROLLAR ESTE TRABAJO -
EN SUS INSTALACIONES.

DE UNA MANERA ESPECIAL A LA M. EN C. ESTELA CHÁVEZ SÁNCHEZ POR LA DIRECCIÓN DEL TRABAJO PRÁCTICO, POR SUS VALIOSOS CONSEJOS EN EL TRABAJO ESCRITO, POR SU AMISTAD Y PORQUE SIEMPRE TUVO PALABRAS DE ALIENTO AUNQUE TODO - ESTUVIERA EN CONTRA.

AL DR. ENRIQUE DE JESÚS ARIAS JIMÉNEZ, POR SU INFINITA PACIENCIA Y SUS ATINADOS CONSEJOS EN EL TRABAJO ESCRITO. POR SU APOYO Y AMISTAD.

A LOS INGENIEROS LUIS ALBERTO RENDÓN SALCIDO, JUAN CALDERÓN HERNÁNDEZ Y AL Q.F.B. ANGEL PÉREZ ZAMORA POR SUS VALIOSAS SUGERENCIAS.

A TODO EL PERSONAL DEL LABORATORIO DE FITOPRODUCCIÓN DONDE SE LLEVÓ A CABO ESTE TRABAJO.

A LA SRITA. NORMA E. GARCÍA PEÑALOZA POR SU INFINITA PACIENCIA Y MÁGNIFICA LABOR MECANOGRÁFICA.

A TODOS LOS QUE DE ALGUNA FORMA U OTRA INTERVINIERON PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

....A LA ESCUELA DE AGRICULTURA DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.

C O N T E N I D O

RESUMEN

INDICE DE CUADROS

INDICE DE FIGURAS

1.- INTRODUCCION

1.1.- Importancia de la fruticultura y el durazno.

1.2.- Problemas del durazno en México.

1.3.- Objetivos.

2.- ANTECEDENTES.

2.1.- Taxonomía y descripción.

2.2.- Origen y dispersión.

2.3.- El durazno de Tetela del Volcán.

3.- REVISION DE LITERATURA.

3.1.- El cultivo de tejidos y sus técnicas.

3.2.- Propagación tradicional del durazno.

3.3.- Micropropagación del durazno.

4.- MATERIALES Y METODOS.

4.1.- Obtención del material.

4.2.- El medio de cultivo.

4.3.- Esterilización del material vegetativo.

4.4.- Antioxidantes.

4.5.- Adaptación al cultivo "in vitro".

5.- RESULTADOS Y DISCUSION.

6.- CONCLUSIONES.

7.- LITERATURA CITADA.

8.- LITERATURA CONSULTADA.

INDICE DE CUADROS

CUADRO No.

- 1 Producción Nacional Frutícola 1977.
- 2 Composición química del fruto del durazno.
- 3 Macro y micro nutrimentos de Murashige y Skoog.
- 4 Vitaminas y hormonas de Murashige y Skoog.
- 5 Resultados fase esterilización (primer en sayo).
- 6 Resultados fase esterilización (segundo - ensayo).
- 7 Resultados fase esterilización (tercer en sayo).
- 8 Resultados fase uso antioxidantes (solo - en agua de lavado.)
- 9 Resultados fase uso antioxidantes (en el agua de lavado como en el medio).
- 10 Resultados fase uso antioxidantes (fase - preliminar uso de la luz).
- 11 Resultados fase de adaptación al medio.

INDICE DE FIGURAS

FIG. No.

- 1 El árbol de durazno.
- 2 Las Hojas del durazno (detalle)
- 3 Las Flores
- 4 El Fruto (fruto maduro).
- 5 Las Yemas (ramo mixto en réposo)
- 6 Las Yemas (ramo mixto al inicio de la flora
ción).
- 7 El fruto. Estado tipo H (Según A. Baggiolini)
fruto cuajado.
- 8 El fruto (diferentes estadíos del crecimien-
to).
- 9 Selección de criollos amarillos en Tetela -
del Volcán, Edo. de Morelos.
- 10 Plano de ubicación de la zona productora de
durazno de guña (siempre verde) en el Estado
de Morelos.
- 11 Obtención del material. (Brotos de durazno -
de aproximadamente 22 días una vez seleccio-
nado y cortados).
- 12 Brotos de durazno preparados para esteriliza-
se.
- 13 Limpieza del material. (Material durante el
primer proceso de limpieza en el agitador -
magnético).
- 14 La campana de flujo laminar, donde se harán
los pasos siguientes a la primera limpieza
del material.
- 15 La disección del material en el microscopio
estereoscópico
- 16 a 19 Pasos seguidos en la disección hasta obtener
el meristemo + 2 primordios y ser sembrado -

Fig. No.

- 20 y 21 en el frasco de cultivo.
Cámara de crecimiento.
- 22 El autoclave usado para esterilizar el medio de cultivo y los reactivos utilizados dentro de la campana de flujo laminar.
- 23 y 24 Proliferación de brotes.

El durazno de Tetela del Volcán, Morelos; es un criollo subtropical que se comporta como perennifolio bajo las condiciones de tetela del volcán, de bajo requerimiento de frío, florece dos veces al año teniendo cosechas en los meses de julio-septiembre y noviembre-enero siendo la segunda la principal.

Hasta la fecha que se tengan noticias, es la única zona que produce duraznos en invierno a nivel comercial, esta característica es la que permite precios altos, pues no existe competencia en el mercado.

La característica de producción extemporánea es la que le da importancia a este tipo de durazno, por tal razón se consideró importante su propagación clonal, que motivó a realizar este trabajo, puesto que se pueden obtener variedades autoenraizadas evitando el injerto y reduciendo el porte de la planta lo que permite plantaciones a alta densidad y por lo tanto, mayor productividad por unidad de superficie.

Para este trabajo se utilizaron arbolitos de un año que fueron autoenraizados o injertados de las selecciones 13-A y 14-A de duraznos amarillos de Tetela del Volcán por ser los más sobresalientes, de los que se tomaron brotes de aproximadamente 22 días y de los cuales se obtuvieron los ápices de 2-3 cm, de longitud.

Se probaron diferentes esterilizantes y dosis, resultando el mejor el hipoclorito de calcio al 0.2% por 3 minutos.

En la fase de adaptación al medio se tuvieron problemas de oxidación en los explantes, por lo que se ensayó con diversos agentes antioxidantes, tanto en el agua de --

layado como en el medio; observándose también la influencia de la luz en una marcada aceleración en la oxidación y deshidratación del tejido por lo que se dejaron en completa obscuridad durante 8 días incrementándose luego la cantidad de luz hasta tener $3,000 \pm 400$ Lux con un fotoperíodo de 8 horas obscuridad x 16 horas luz.

El medio que se utilizó fue el de Murashige y Skoog y durante la fase de adaptación se probaron varias concentraciones de 6-Bencil amino purina, dejando constantes el ácido Naftalenacético y el ácido giberelico.

Los resultados obtenidos muestran que este tipo de du razno tiene facilidad para su multiplicación "in vitro" - siempre y cuando se logre superar con éxito la fase de esterilización y se use un buen antioxidante.

1.1.- IMPORTANCIA DE LA FRUTICULTURA Y DEL DURAZNO.

A pesar de las serias limitantes que la fruticultura nacional ha tenido para su desarrollo, es ésta una actividad que representa una fuente de ingresos considerable.

La situación geográfica de México hace que posea áreas tropicales secas y húmedas y regiones altas localizadas dentro del trópico, lo cual lo dota de una gran variedad de climas. Esta variación climática y las características culturales de los habitantes de las diferentes regiones del país, han propiciado la existencia de innumerables especies y variedades frutales nativas e introducidas, y esto hace que "no exista prácticamente ningún frutal en el mundo que no pueda ser cultivado en algún lugar de nuestro territorio" (Calderón 1977).

Tal es el caso del durazno que fue introducido a México por los Españoles poco después de la conquista y que ahora se puede encontrar en todo el territorio nacional (Vega Leyva 1976).

El cultivo del durazno en México tiene gran importancia, pues es la tercera especie caducifolia más cultivada en nuestro país (Cuadro 1). Según datos de CONAFRUT en 1980 se cosechó una superficie de 28,818 ha, comprendidas entre riego y temporal, cosechándose un total de 199,295 ton.

1.2.- PROBLEMAS DEL DURAZNO EN MEXICO.

Algunos de los problemas del durazno en México se originan de la mala planeación (Nieto 1979), ésta



se puede iniciar desde la selección de la semilla - para propagar, ocasionando heterogeneidad genética, que repercute en el manejo de las plantas y posteriormente en pérdidas que se reflejan en la producción.

Un aspecto derivado del desconocimiento total - de la cantidad de planta producida, involucra por - ejemplo, la importación de plantas, que además de - ocasionar fuertes pérdidas de divisas (CONAFRUT 1978) se corre el riesgo de ubicarlas en lugares donde las condiciones, tanto climáticas como edáficas, no son las apropiadas, o simplemente no se les da el manejo adecuado y la planta se pierde.

La aplicación de las técnicas de propagación permitirá resolver parcialmente estos problemas.

La propagación vegetativa de árboles frutales - permite obtener un gran número de plantas, de tal -- forma que su uso se ha hecho una necesidad para algunas especies frutales; ejemplo: Manzano (Jones et al. 1979), Vid (Galzy 1971, los cítricos (Grinblat, 1972) y el género Prunus (Mehra y Mehra 1974); tanto en - forma tradicional como en cultivo "in vitro".

En el futuro, la técnica del cultivo "in vitro" de plantas leñosas llegará a ser una herramienta importante para los propagadores.

Aunque el principio es común para todas las plantas, unas son más susceptibles que otras al cultivo - "in vitro", esto es, que unas presentan mayores problemas que otras para su propagación (Murashige, -- 1974; 1977).

1.3.- OBJETIVOS.

Tomando en cuenta que el Durazno presenta bastantes problemas para su cultivo "in vitro", como - la rápida oxidación de sus tejidos y un difícil enraizamiento, (Mosella, Macheix 1979), (Mosella, Macheix, Jonard 1980), se plantean los siguientes objetivos de este trabajo:

- 1o. Encontrar la dosis óptima de esterilizante, para que éste no acelere la oxidación del tejido y de un margen de confiabilidad de que el tejido, una vez puesto en el medio de cultivo, no presente - una proliferación de microorganismos.
- 2o. Lograr la dosis óptima de antioxidante para el durazno tipo Tetela, para lo cual se probaron - agentes antioxidantes como: ácido ascórbico, agua de coco, L-Cisteína, etc., tanto en el medio como en el agua de lavado, probándose tiempos y concentraciones para lograr que los ápices de brote no se oxiden.
- 3o. Después de logrados los anteriores, es lograr - adaptar al medio de cultivo estos explantes para su proliferación.

2.1. TAXONOMIA Y DESCRIPCION.

El durazno pertenece a la familia Rosaceae subfamilia Prunoidea, género Prunus L., y subgénero Amygdalus. Todas las variedades cultivadas pertenecen a Prunus persica (L) Batsch, y su sinónimo es Amygdalus persica L. El número cromosómico del duraznero es $2n=16, x=8$.

El duraznero es un árbol que llega a alcanzar alturas de hasta 5 metros, es vigoroso, fructifica al 3er o 4to año y llega a vivir hasta 40 años (Fig.1), su raíz es pivotante y el tronco tiene una corteza que se desprende en láminas de color cenizo.

Las hojas son lanceoladas, alternas y aserradas (Fig. 2); las flores son completas, hermafroditas con el cáliz gamosepalo; la corola varía del blanco al rojo y tiene 5 pétalos con estambres en número de 30 o más; el ovario es súpero y con un solo carpelo, en el cual existen dos óvulos, uno de los cuales normalmente aborta después de la fecundación. El estilo es elongado, terminando en un pequeño estigma, el cual es receptivo en la floración. La corola presenta nectarios los cuales varían en color del verdoso hasta el amarillo naranja. Las flores son autofértiles (Fig. 3).

Las yemas son de dos tipos aislados o agrupados de dos o tres y pueden ser vegetativos o de flor; con frecuencia se encuentra una yema vegetativa entre dos florales (Fig. 4,5).

Usualmente las yemas basales y terminales son poco o nada fructíferas.

El fruto es sensiblemente esférico con un surco

longitudinal más o menos marcado; tiene la piel pubescente de color variable del verde al rojo violáceo pasando por el amarillo naranja, pulpa succulenta blanca o amarilla, algunas variedades presentan manchas rojizas alrededor del hueso Fig . 4,7,8 -- (Hesse 1979).



1



2

FIG. 1.- ARBOL DE DUPAZNO.

FIG. 2.- DETALLE DE LAS HOJAS.



3

FIG. 3.- LAS FLORES...

FIG. 4.- EL FRUTO MADURO.



4

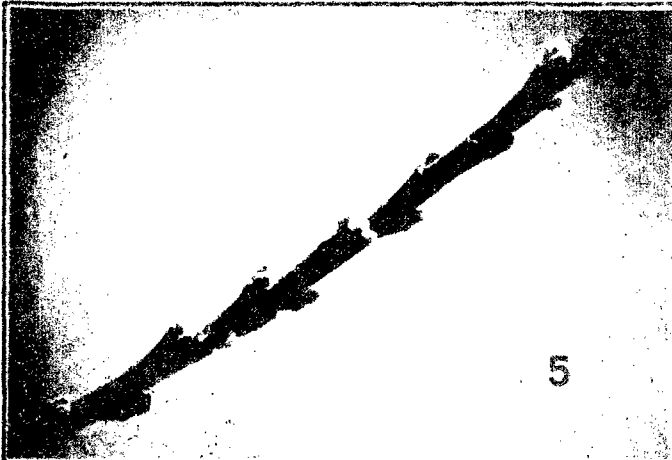


FIG. 5.- LAS VENAS...
RAMO MIXTO EN REPOSO.



FIG. 6.- LAS VENAS...
RAMO MIXTO AL INICIO DE
LA FLOREACION.



FIG. 7.- EL FRUTO.
ESTADO TIPO H (SEGUN A.
BAGGIOLINI) FRUTO CUAJADO.

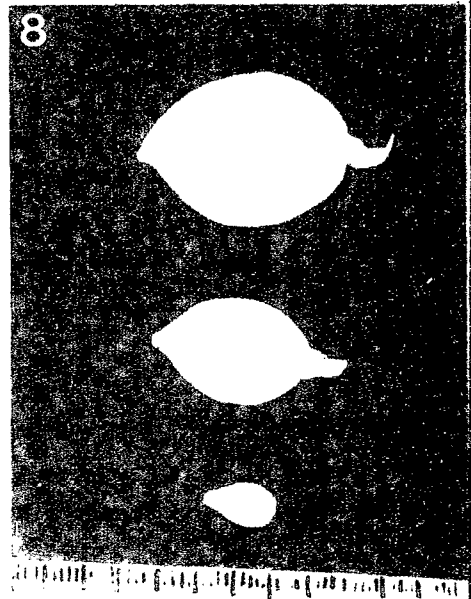


FIG. 8.- EL FRUTO.
DIFERENTES ESTADIOS DEL CRECI
MIENTO.

2.2.- ORIGEN Y DISPERSION.

El durazno (Prunus Persica (L.) Batsch), se encuentra creciendo en estado semicultivado y silvestre en muchas de las provincias centrales de China (Hiedrick, 1917), sus descripciones indican que la mayoría de las variedades conocidas, ahora existen ahí, tanto en estado silvestre como cultivados; donde se le cultiva desde 2,000 años antes de Cristo (Pieniazek 1966).

El durazno de China pasó a Persia, de ahí paso a Grecia entre 300 y 400 A.C. y poco después pasó al Imperio Romano (Cullinan, 1937).

Los Romanos propagaron el Durazno por todo su Imperio, llevándolo hasta el norte de Africa. De ahí los Moros lo llevaron a España, de España pasó a Francia y los franceses lo llevaron a Inglaterra.

Semillas de durazno fueron introducidas al continente americano por los Españoles durante la conquista de México y hacia Florida en 1595 por los frailes Agustinos, los portugueses lo llevaron a Sud América en esa misma época.

Posteriormente se han hecho introducciones de algunas razas de duraznos del tipo "Chinese cling" a los Estados Unidos directamente de China hacia California y Florida (Hesse 1979).

2.3.- EL DURAZNO DE TETELA DEL VOLCAN.

El origen del durazno de Tetela del Volcán; Morelos se desconoce, las plantas más viejas que se encontraron tienen de 40 a 50 años (Sánchez 1975). Es

un árbol criollo subtropical que tiene hábitos perennifolios, de bajo requerimiento de frío, florece dos veces al año y su cosecha principal la produce en invierno (Niето 1978).

Hasta la fecha que se tengan noticias, es la única zona que produce durazno en invierno a nivel comercial, esta característica es la que permite precios altos, pues no existe competencia en el mercado.

En Tetela del Volcán se han localizado criollos blancos (Sánchez 1975) y criollos amarillos (Chávez 1979), (fig.9), que se encuentran prosperando bajo las siguientes condiciones:

Temperatura media mínima del mes más frío 9.53° C, mínima absoluta 2°C, máxima absoluta 32°C, la ocurrencia de frío es baja pues apenas alcanza las 130 horas de temperatura abajo de 7°C, la precipitación se encuentra distribuida entre los meses de Junio a Octubre, en los que se registra el 84% de la precipitación total (Sánchez 1975).

Los suelos son derivados de ceniza volcánicas y son llamados de Ando o Húmicos de Alofano, con textura franco arenosa y buen drenaje.

Estos suelos se encuentran desde los 1,800 hasta los 2,600 m.s.n.m., tiene topografía abrupta con pendientes de 25-50% y algunas veces mayores de 50%, por lo que tienen un drenaje rápido (Cortez 1966).

La vegetación está constituida por bosque de coníferas; donde predominan las asociaciones de pino-encino; la vegetación media está constituida por gran

cantidad de especies herbáceas y arbustivas, esta vegetación presenta un aspecto siempre verde (Sánchez 1975).

La región donde se encuentra el durazno de guía está situado al noreste del Estado de Morelos, comprendida entre los paralelos $18^{\circ}53'$ y $19^{\circ}01'$ de latitud norte y $98^{\circ}42'$ de longitud oeste, y comprende los Municipios de Ocuituco y Tetela del Volcán, Edo. de Morelos, en una superficie aproximada de 2,500 ha., y se encuentra limitada por el Estado de Puebla en el Este y el Estado de México al Norte (Sánchez 1975). (Fig.10).

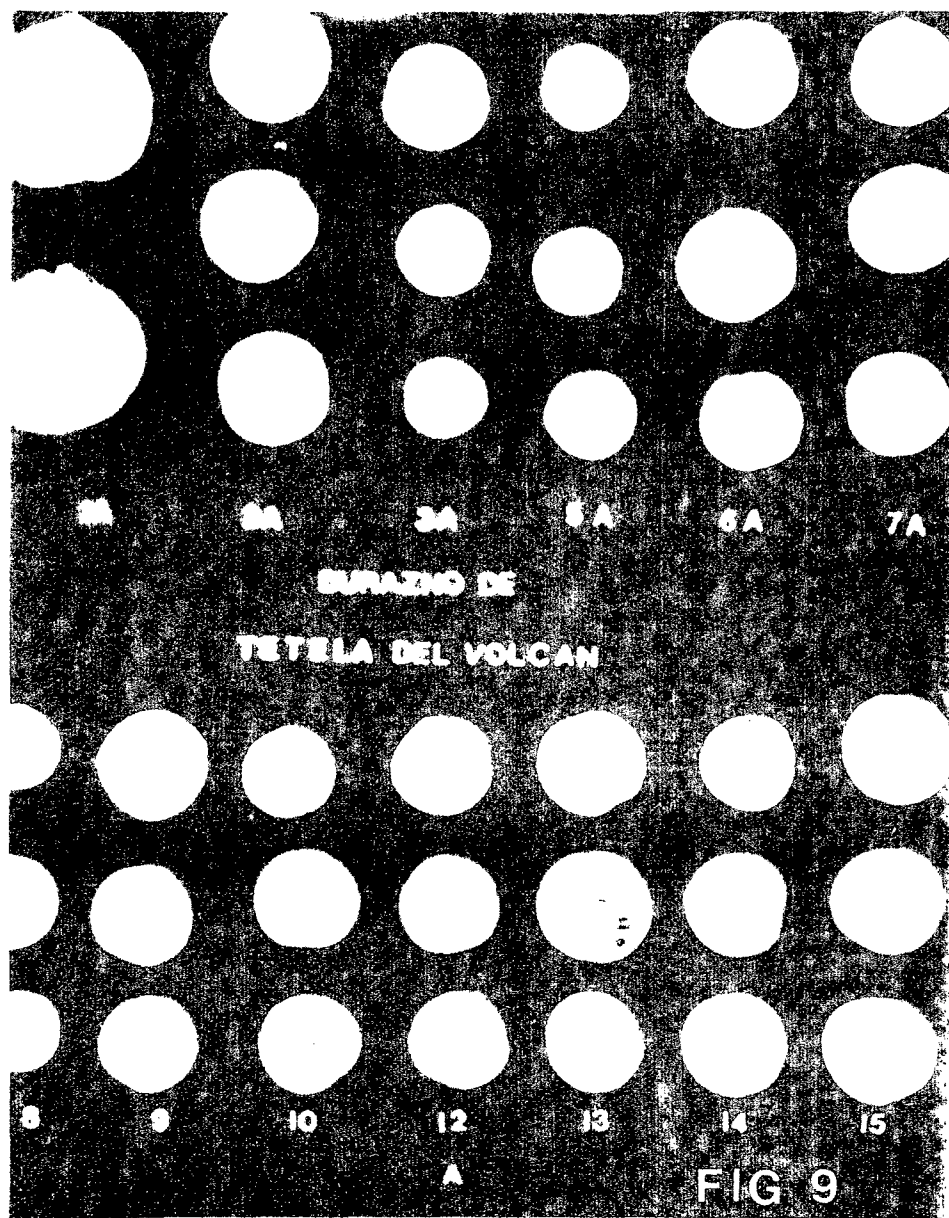
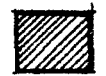
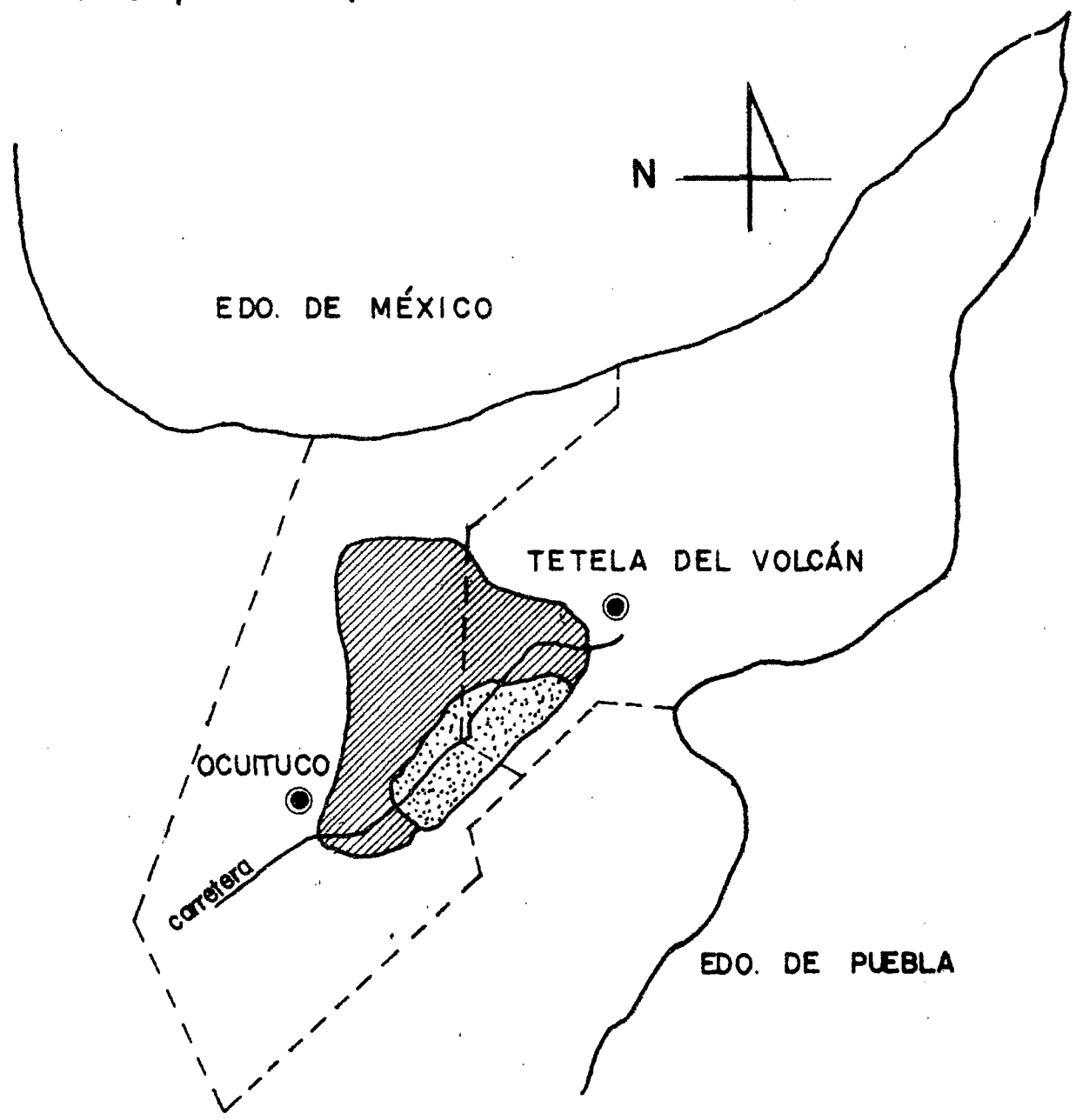


FIG. 9.- SELECCIONES DE OBRAZCOS AMARILLOS TIPO
TETELA DEL VOLCAN.

(FOTO CORTESIA ORIFAB, 1977).

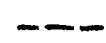
UBICACION DE LA ZONA PRODUCTORA DE DURAZNO DE GUIA (Siempre Verde) EN EL ESTADO DE MORELOS.



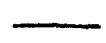
AREA DE DISPERSION DEL CULTIVO 2500 Ha.



AREA DE CONCENTRACION DEL CULTIVO 300 Ha.



LIMITE MUNICIPAL



CARRETERA



MUNICIPIOS

FIG 10

Tomado de Sánchez. (1975).

3.1.- EL CULTIVO DE TEJIDOS Y SUS TECNICAS.

El cultivo de Tejidos es la técnica para lograr nuevas plantas en un medio artificial, en condiciones asépticas, a partir de porciones muy pequeñas de plantas, tales como embriones, semillas, tallos, ápices de brote, puntas de raíces, callo, células individuales y granos de polen. (Hartmann y Kester 1981).

El cultivo de tejidos se puede decir que comenzó en 1902 con el intento fallido de Haberlandt para aislar y cultivar células de parénquima y epidermis de diversas plantas en forma aséptica.

Knudson en 1922 describió las técnicas de cultivo para la germinación de semillas de Orquídeas.

White en 1934 logró cultivar continuamente "in vitro" raíces de tomate.

En 1939 Nobacurt y Gautheret en Francia y White en Estado Unidos, separadamente reportaron la formación de callo en un medio sintético.

La técnica de la propagación masiva de plantas "in vitro" se inició cuando Morel en 1960 notó que era posible, por medio del cultivo del ápice vegetativo de orquídeas, eliminar virosis y producir al menos 4 millones de plantas por año por cada explante (Street 1977), (Murashige 1977).

Durante los últimos años, esta técnica aplicada a plantas superiores ha venido a ser una herramienta importante para los propagadores; debido a las ventajas que presenta el cultivo de tejidos para la propagación de plantas ornamentales, herbáceas y algunos

árboles forestales y últimamente especies frutales; aunque en general rige el mismo principio para todos (Murashige 1974), la propagación vegetativa "in vitro" de plantas leñosas es muy difícil porque la capacidad de regeneración de estas es más lenta que la de las plantas herbáceas (Pierik 1975).

Entre las técnicas de cultivo de Tejidos se encuentran las siguientes:

1.- Enraizamiento de yemas o ápices de brote:

Es un sistema relativamente simple de propagar plantas vegetativamente, y consiste en la excisión de una yema o ápice y su cultivo "in vitro".

Cuando es una yema dormida, hay que romper la latencia (con temperatura o con luz), pues la presencia de hojas y su desarrollo es esencial para el enraizamiento que generalmente es inducido por la presencia de oxígeno en el medio (medio líquido). Los ápices de brote o yemas de plantas jóvenes generalmente regeneran más fácilmente que las de plantas adultas (Gorter 1965 reportado por Pierik 1975).

2.- Micropropagación usando yemas axilares:

Este sistema es llamado micropropagación usando las yemas terminal o axilar. Las yemas dormidas (yemas en las axilas), son forzadas a crecer y enraizar para después usar sus yemas axilares (ya adaptadas al medio de cultivo). Este es un sistema bastante rápido, pues en 2 meses de cultivo de la yema inicial se ha formado una masa

de yemas, pero sin raíces; transplantando a medio nuevo, este proceso puede ser repetido las veces que se necesiten. El desarrollo de las yemas cesa cuando al medio se le quitan las citocininas, y entonces pueden ser enraizadas fácilmente; este método produce varios millones de plantas en un año de cultivo, a partir de una sola yema. (Boxus 1974).

3.- Cultivo de Meristemas:

La proliferación de tejidos puede ser incrementada muchas veces y mantenida por largos periodos de tiempo por intervalos de 6 semanas. Los Tejidos pueden ser inducidos a elongarse hasta llegar a ser plantulitas, con un cambio del medio. Esta técnica es muy usada para la propagación y obtención de orquídeas libres de patógenos "in vitro", sin embargo, hay la tendencia a formar quimeras (ej. tejidos haploides con tetraploides, etc.), debido a la velocidad de división del meristemo. Para evitar esto hay que hacer pruebas de la estabilidad genética del cultivo. (Morel 1965, Sagawa 1966).

4.- Cultivo de Explantes:

El cultivo in vitro de explantes sin la preexistencia de yemas o raíces, es capaz de regenerar esos órganos, la formación de éstos está determinada por factores complejos como: luz, temperatura, factores nutricionales, hormonas, edad del órgano y edad de la planta, genotipo, etc.

El papel más importante lo juegan las auxinas y citocininas, las que respectivamente inducen a

la formación de raíces y ápices (Pierik 1975).

5.- Formación de Organos y Embriones Via Callo:

El callo es más o menos un tejido indiferenciado que puede ser obtenido por aislamiento de tejidos diferenciados u órganos "in vitro".

El callo puede continuar proliferando sin formar órganos y embriones. La propagación vegetativa de plantas a través del cultivo de callo ha llegado a ser muy importante.

Sin embargo, este cultivo tiene varias desventajas:

- a) Durante cultivos prolongados de callo, éste puede perder la capacidad de formar órganos y/o embriones.
- b) Tiene inestabilidad genética.

La pérdida de la capacidad de formar órganos está casi siempre acompañada por un incremento de anomalías en su constitución cromosómica -- (Narayanaswamy 1977).

6.- Desarrollo de Plantas a partir de Células Aisladas:

Células simples pueden ser obtenidas por medio de cultivos en suspensión (callo en crecimiento en medio líquido) o de protoplastos, los cuales han regenerado una nueva pared celular. El crecimiento de células aisladas y su desarrollo en planta completa es muy difícil, y solo se realiza para un pequeño número de especies, (Pierik - 1975).

7.- Producción de plantas Nucelares "in vitro":

En algunas plantas puede ocurrir la presencia de uno o más embriones,

Los embriones adicionales aparecen por la activación de cualquiera de las células del saco embrionario, nucela y/o integumento (embriogénesis verdadera); o debido a la ocurrencia de más de un saco embrionario en la nucela, o de la fusión de uno o más óvulos (embriogénesis falsa).

En la naturaleza, la poliembrionía nucelar ocurre frecuentemente en Citrus.

La producción de plantas nucelares es de gran importancia, porque: las plantas nucelares son derivadas asexualmente de la nucela y en la mayoría de los casos son genéticamente iguales a la planta madre; se pueden obtener plantas libres de virus; los citrus propagados de esta forma son más vigorosos que aquellos propagados de otra manera (Button y Kochba 1977).

La propagación vegetativa "in vitro" de especies herbáceas puede parecer relativamente fácil, pero la propagación vegetativa de árboles y arbustos "in vitro" es muy difícil (Pierick 1975) y algunas veces es mejor o más barato producirlas por semilla o por estaca, (De Fossard 1977).

3.2.- PROPAGACION TRADICIONAL DEL DURAZNO.

Hay que hacer notar que aquí en México es de uso común el empleo de la semilla para la propagación del durazno; esta práctica viene por tradición, puesto que a través de los años los fruticultores han realizado una selección en la que eran desechados los árboles que no producían los duraznos del tipo criollo seleccionado (amarillos de hueso pegado), no importándoles la época de floración, porte del árbol, rendimiento, etc..., permaneciendo inmutables el color amarillo, la consistencia del fruto y el hueso pegado.

También la semilla es de uso común para la propagación de patrones, sin que ello signifique que sea el procedimiento idóneo, porque se desconoce su procedencia y además se tiene gran variabilidad genética.

Sobre estos patrones obtenidos de semilla se injerta de yema en T, este injerto se hace en junio aunque se puede hacer también en el otoño.

En México hay poca información sobre huertos establecidos sobre patrones clonales, ya sea sobre patrones clonales del mismo durazno o sobre alguna otra especie.

En Europa y Estados Unidos es de uso común el injertar sobre algunos patrones de otras especies siempre y cuando no exista un clon de durazno específico para resolver el problema.

Dentro de los portainjertos más usados para durazno se encuentran los siguientes:

- DURAZNOS-

GF-305 es un portainjerto vigoroso, resistente a la verrucosis (taphrina deformans), tolerante al - nemátodo *Meloidogyne incognita* pero sensible a la - agalla de la corona (agrobacterium Tumefaciens), es compatible con casi todas las variedades de Durazno y su propagación es por semilla pues tiene un alto - grado de homocigosis (Monastra 1971).

Nemaguard: procedente de una cruce de Prunus davidiana x Prunus persica es resistente a Nemátodos, se propaga por semilla y es compatible con la mayoría de las variedades (Sharpe 1974).

S-37, S-60, Rancho Resistant y Okinawa: son resistentes a nemátodos se propagan por semilla y son compatibles con la mayoría de las variedades (Sharpe 1974).

Siberian "C" resistente al frío se propaga por semilla y es compatible con la mayoría de las variedades (Layne 1974).

- CIRUELOS -

INRA GF 43 es muy vigoroso se adapta muy bien a suelos pesados, se multiplica por acodo o por estaca leñosa, es compatible con la mayoría de las variedades de durazno (Monastra 1971).

DAMASCO 1869 se adapta a los terrenos pesados - aunque también a terrenos calcáreos; tiene el inconveniente de producir muchos chupones, se multiplica por acodo o por estaca leñosa, es compatible con la mayoría de las variedades (Monastra 1971).

MARIANA 2624 se adapta bien a terrenos pesados resistente a M. incognita y al Agrobacterium tumefaciens, es compatible con la mayoría de las variedades (Arias 1983 comunicación personal).

SAN JULIAN INRA GF 655-2 de vigor medio, en vivo se muestra lento en su crecimiento, es interesante por su productividad, no se adapta a terrenos calcáreos, se multiplica por estaca leñosa, tiene no table resistencia a suelos pesados, se le considera semi enraizante es compatible con la mayoría de las variedades (Monastra 1971).

- HIBRIDOS -

Almendro por durazno INRA GF 557 es un híbrido - del durazno cv. Shalil con un almendro desconocido, - es un porta injerto muy vigoroso tiene resistencia a M. incognita, es compatible con casi todas las variedades de durazno, se multiplica por estacas de hoja - o herbáceas bajo nebulización pero es muy difícil, es muy resistente a la clorosis calcárea. (Herrero y Abadía 1961).

Almendro x durazno INRA GF 677 este híbrido es - de origen desconocido; más vigoroso que el 577, es muy resistente a los terrenos húmedos, desarrolla muy bien en terrenos calcáreos, su multiplicación se puede hacer por estaca herbácea bajo nebulización o con estaca leñosa con calentamiento basal en invierno, es compatible con la mayoría de las variedades. (Bonet 1972).

Como algunos porta injertos y/o variedades presentan problemas para su propagación, la solución se busca por el cultivo de tejidos que tiene las ventajas de

que al miniaturizar el material, un metro cuadrado - en la cámara de crecimiento puede contener hasta --- 25,000 plantas; además la multiplicación puede hacer se en cualquier época del año por que esta es independiente de la estación o del clima, otra de las ventajas sobre el injerto, es que este es más costoso obteniéndose una planta por yema, mientras que con la micropropagación se pueden obtener varias plantas en corto tiempo.

3.3.- MICROPROPAGACION DEL DURAZNO.

Hasta ahora hay muy pocos resultados reportados en la micropropagación del durazno. Skiruin y Chu -- (1977) han multiplicado ápices de durazno "in vitro" pero fracasaron con el enraizamiento; Tabachnik y Kes ter (1977) reportan un limitado enraizamiento con los híbridos de almendro por durazno. Algunos porta injertos de Prunus han sido producidos comercialmente por medio de la micropropagación en Italia (Zucchere lli 1979). Negueroles y Jones (1979) reportan haber producido el portainjertos de Durazno GF 305 por las técnicas del cultivo "in vitro", Miller et al. (1982) reportan una buena multiplicación, pero pobre enraizamiento en el durazno "Nemaguard". Boxus y Quoirin (1974) reportan haber tenido éxito con el cultivo -- "in vitro" de meristemas de Prunus pandora, Prunus accolade y Prunus serrulata var. Kanzan. Mosella y Macheix (1979) tuvieron éxito en la micropropagación del durazno usando ápices del GF 305.

Hammerschlang (1981-1982) reporta haber tenido éxito en la multiplicación de varias variedades comer ciales de Durazno como Dixired, Redskin Sunhigh y Com compact Redhaven, spring gold etc., llegando solamente a su multiplicación, faltando la fase de enraizamiento.

La micropropagación del durazno no ha tenido mucho éxito debido a que presenta varios problemas, entre ellos el de la rápida oxidación de los tejidos, presumiblemente debido al alto contenido de fenoles - presentes en los tejidos de esta planta. (Mosella et al. 1980, Poessel et al. 1980).

Otra de las razones es la diferente capacidad - rizógena de c/u de las variedades así como dentro del género Prunus. (Mosella y Macheix; 1979).

CAPITULO 4

MATERIALES Y METODOS

4.1.- OBTENCION DEL MATERIAL VEGETAL.

En la época de crecimiento vegetativo se recolectaron estacas de durazno de las selecciones del tipo "Tetela" hechas por Chávez (1979), con brotes de aproximadamente 0.5 a 1.0 cm de longitud; éstas se transportaron al laboratorio en condiciones de humedad y temperatura adecuadas.

Se esterilizaron de acuerdo al método que propone Zuchereilli (1979) pero no se tuvo éxito. La contaminación por bacterias y hongos y la oxidación y muerte del tejido fue total.

Debido a que este tipo de durazno presenta dos floraciones en un año (Niето 1978), fue posible establecer el siguiente ensayo:

Se colectaron varetas con yemas turgentes, éstas se lavaron exhaustivamente con agua y jabón con la ayuda de un cepillo y posteriormente se desinfectaron con promyl y alcohol al 70% con este material se hicieron los siguientes ensayos:

Siembra de microvaretas (sección de tallo con una o dos yemas). A una parte de ellas se les quitaron las escamas, la otra parte permaneció con ellas, resultando en ambos casos una disminución temporal de las fungosis, que posteriormente se manifestaron, con la consecuente oxidación y muerte del tejido.

Por otro lado, siguiendo la metodología usada por Barba (1981), las varetas se pusieron en solución nutritiva para provocar la brotación de las yemas, una vez que éstas brotaron se sembraron y sobrevivieron - aproximadamente de 1 a 2 meses formando hojas alargadas

que finalmente se ponían cloróticas y morían.

Debido a que la cantidad de material no fue suficiente para hacer diferentes ensayos y que además se tenía que coleccionar el material del campo cada vez que se necesitara, se decidió recolectar estacas de las selecciones hechas y éstas se pudieron encallar bajo nebulización. De todo el material puesto a enraizar se logró el enraizamiento en estacas de las selecciones 2 y 4 B, 2, 4, 6, 8, 12, 13 y 14 A; las cuales fueron puestas en bolsas y llevadas a un invernadero donde se les hicieron aplicaciones de insecticidas y fungicidas para tenerlas en condiciones fitosanitarias aceptables, además periódicamente se fertilizaron con aplicaciones al suelo y foliarmente.

Con todo esto se logró obtener brotes con una contaminación y deshidratación menor que si hubieran sido obtenidas en el campo y con la ventaja de usarlos inmediatamente.

Una vez que los brotes alcanzaron una altura de 30 cm., fueron cortados dejando dos o tres yemas para provocar la emisión de nuevos brotes.

Ya que se tuvo una buena cantidad de brotes, estos fueron decapitados para romper la dominancia apical y forzar la brotación de las yemas laterales. Una vez que las yemas laterales tenían la edad de 22 días se cortaron los ápices de brote, como lo reporta --- Zuccherelli (1979), una vez cortados (Fig. 11 y 12), fueron puestos en agua destilada y se mantuvieron en agitación dentro de una malla de gasa durante 30 minutos para limpiarlos del polvo y contaminantes (Fig.13).

Los siguientes pasos se hacen en la campana de flujo laminar (Fig. 14), se les drenó el agua y se agregó una solución de esterilizante, después se lavaron 5 veces, las 3 primeras con agua destilada estéril y las 2 últimas con agua destilada estéril más un antioxidante. Una vez hecho esto se mantuvieron en esta última agua con antioxidante hasta la disección.

Ya que tenemos el material estéril, tomando un ápice de brote, utilizando el microscopio estereoscópico (Fig. 15), a los ápices se les cortó las partes expuestas a la acción del esterilizante y las hojillas que rodean al domo meristemático hasta dejar \pm 2 primordios foliares y el meristemo dejándolo de 2-3 mm. Este material con todo cuidado y asepsia es colocado en un frasco estéril conteniendo el medio de cultivo (Fig. 16, 17, 18 y 19).

Cuando ya estaba hecha la siembra del meristemo con 1 ó 2 primordios foliares, los frascos se colocaron en la cámara de crecimiento (Fig. 20 y 21), en completa obscuridad por 24 horas y después se expusieron a la luz con una intensidad de $3,000 \pm 400$ Lux - que se obtuvo con lámparas Toxhiba de 40 W planta Lux y con un fotoperíodo de 16 horas de luz por 8 horas - obscuridad, la temperatura se mantuvo a $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.



FIG. 11.- BROTES DE DURAZNO DE APROX. 22 DIAS UNA VEZ SELECCIONADOS Y CORTADOS.

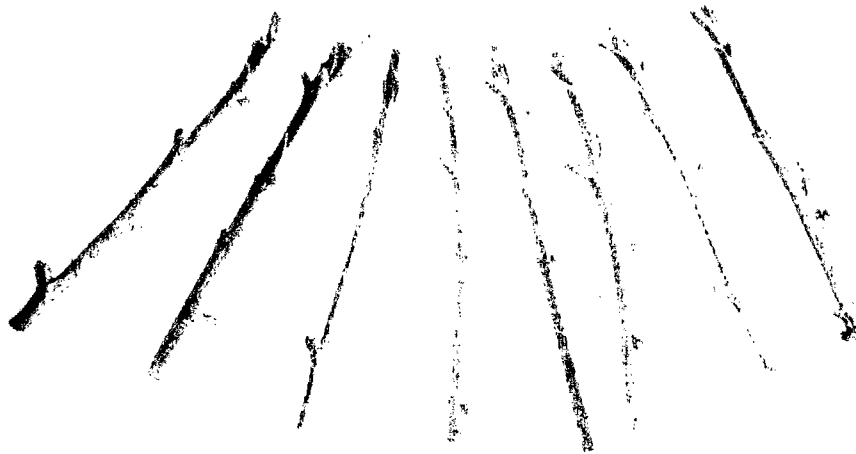


FIG. 12. - PHOTOS DE DRAÏNES DÉFÉCANTES PUIS STÉRILISÉES.

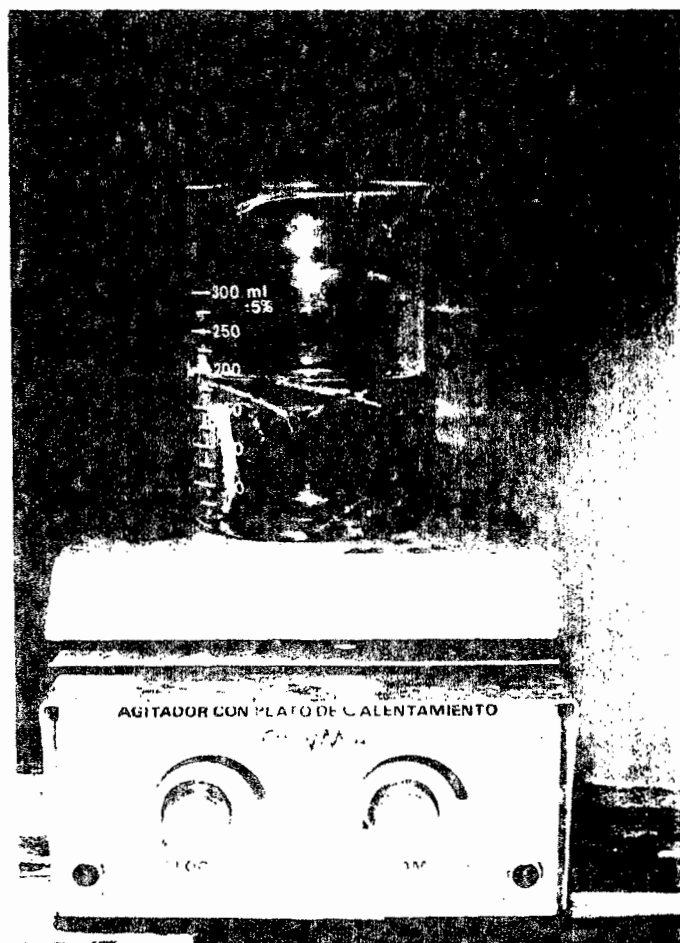


FIG. 13.- MATERIAL DURANTE EL PRIMER PROCESO DE LIMPIEZA EN EL AGITADOR MAGNETICO.

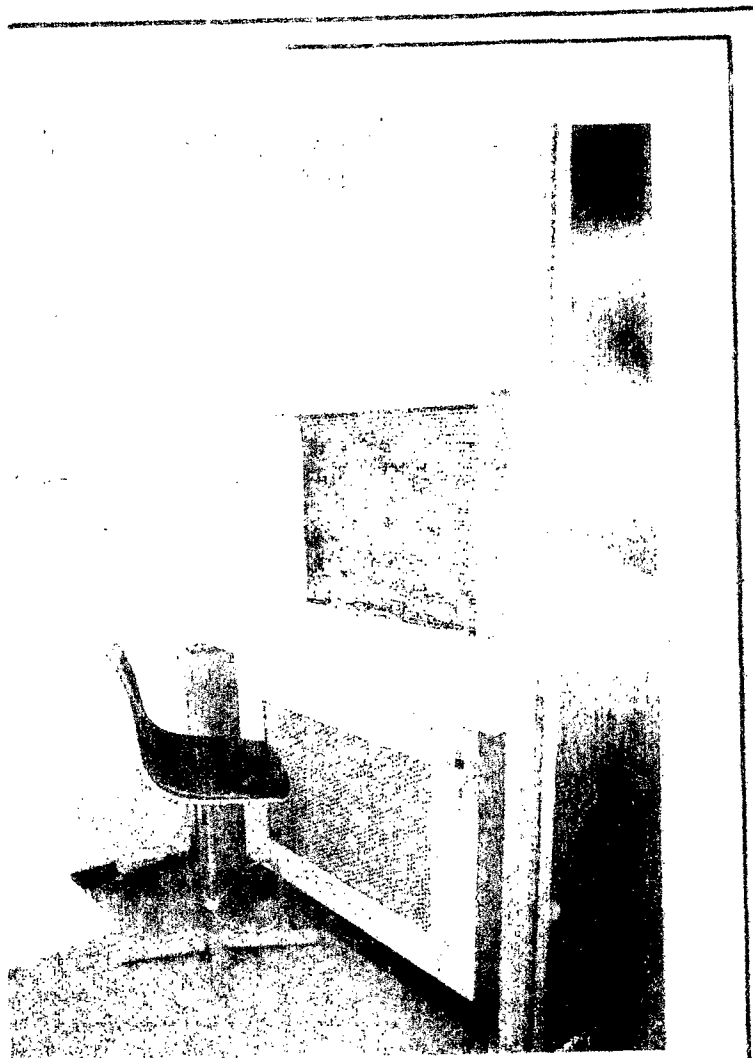


FIG. 14.- LA CAMPANA DE FLUJO LAMINAR DONDE SE HARAN LOS PASOS SIGUIENTES A LA PRIMERA LIMPIEZA DEL MATERIAL.

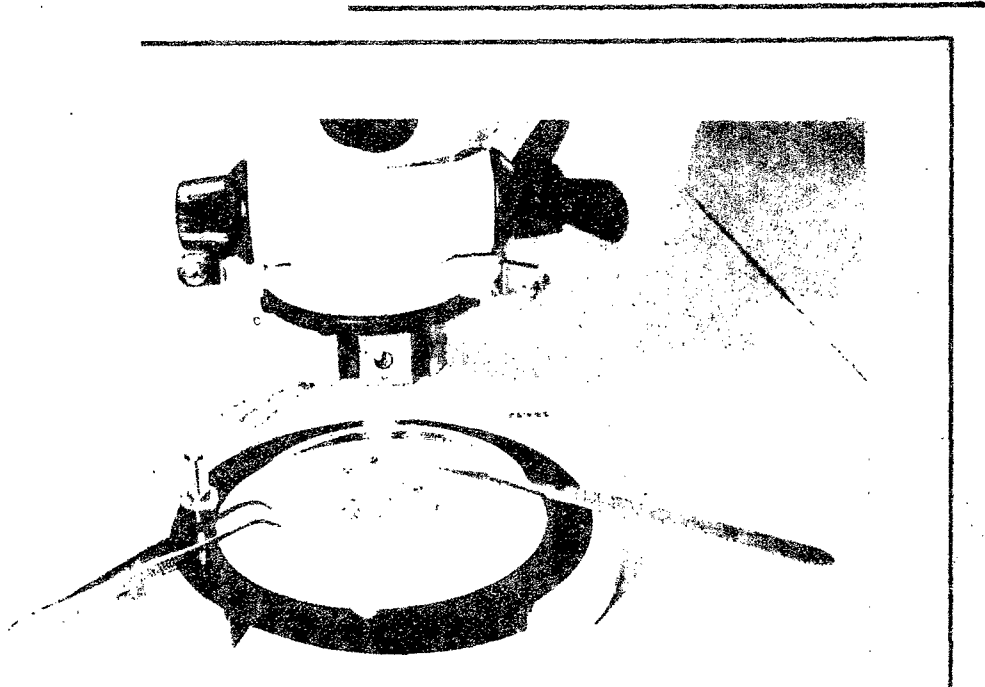


FIG. 15.- LA DISECCION EN EL MICROSCOPIO ESTEREOSCOPICO.

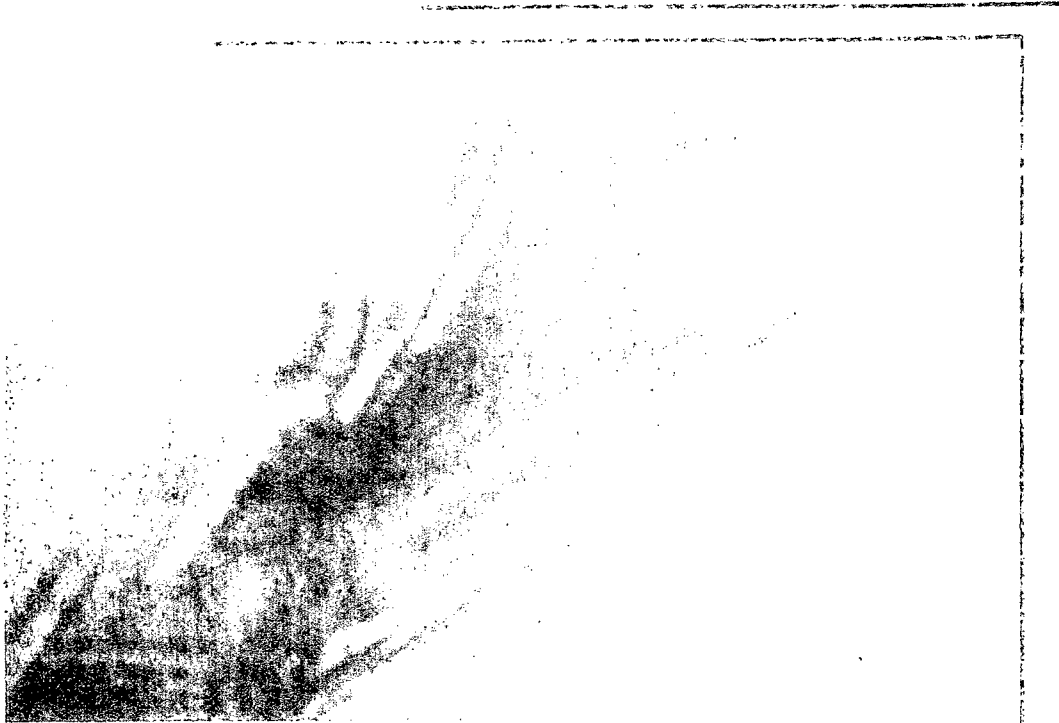


FIG. 1A.- VISTA AL MICROSCOPIO DE UN FILAMENTO DURANTE LA DISTENSION. OBSERVASE EL TAMAÑO INICIAL.

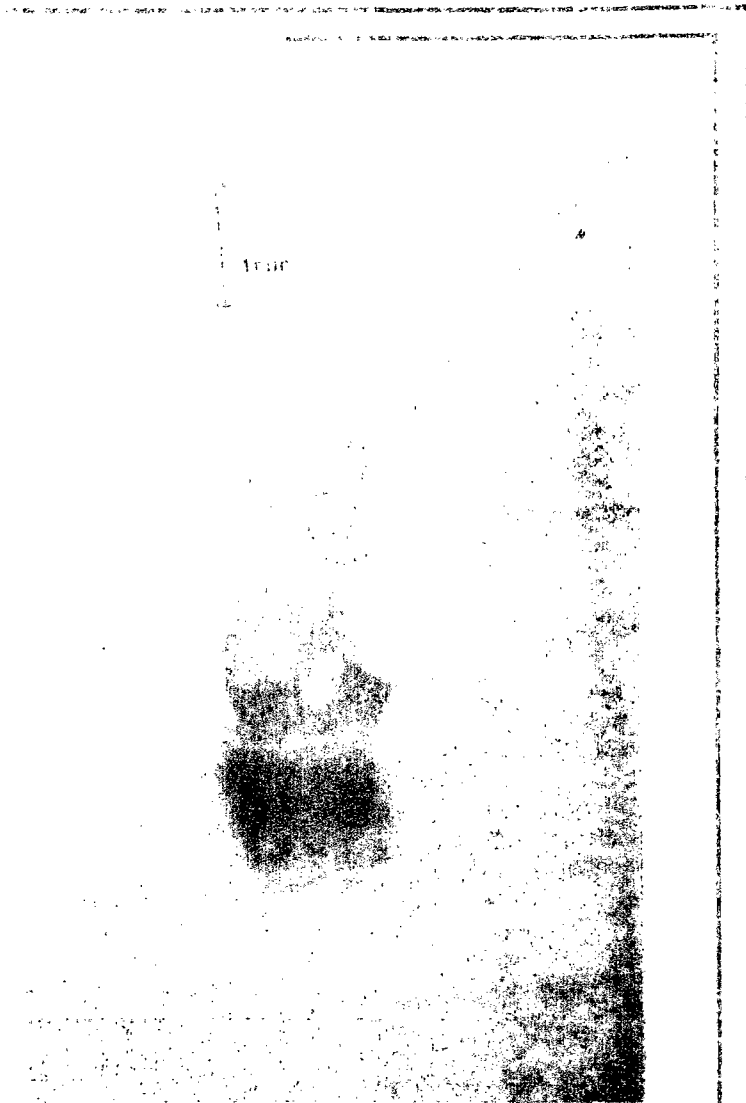


FIG. 10. EL MISMO EXPLANTE HAS RECORTADO PERO
AÚN NO ESTÁ EL TAJADO DESEADO.

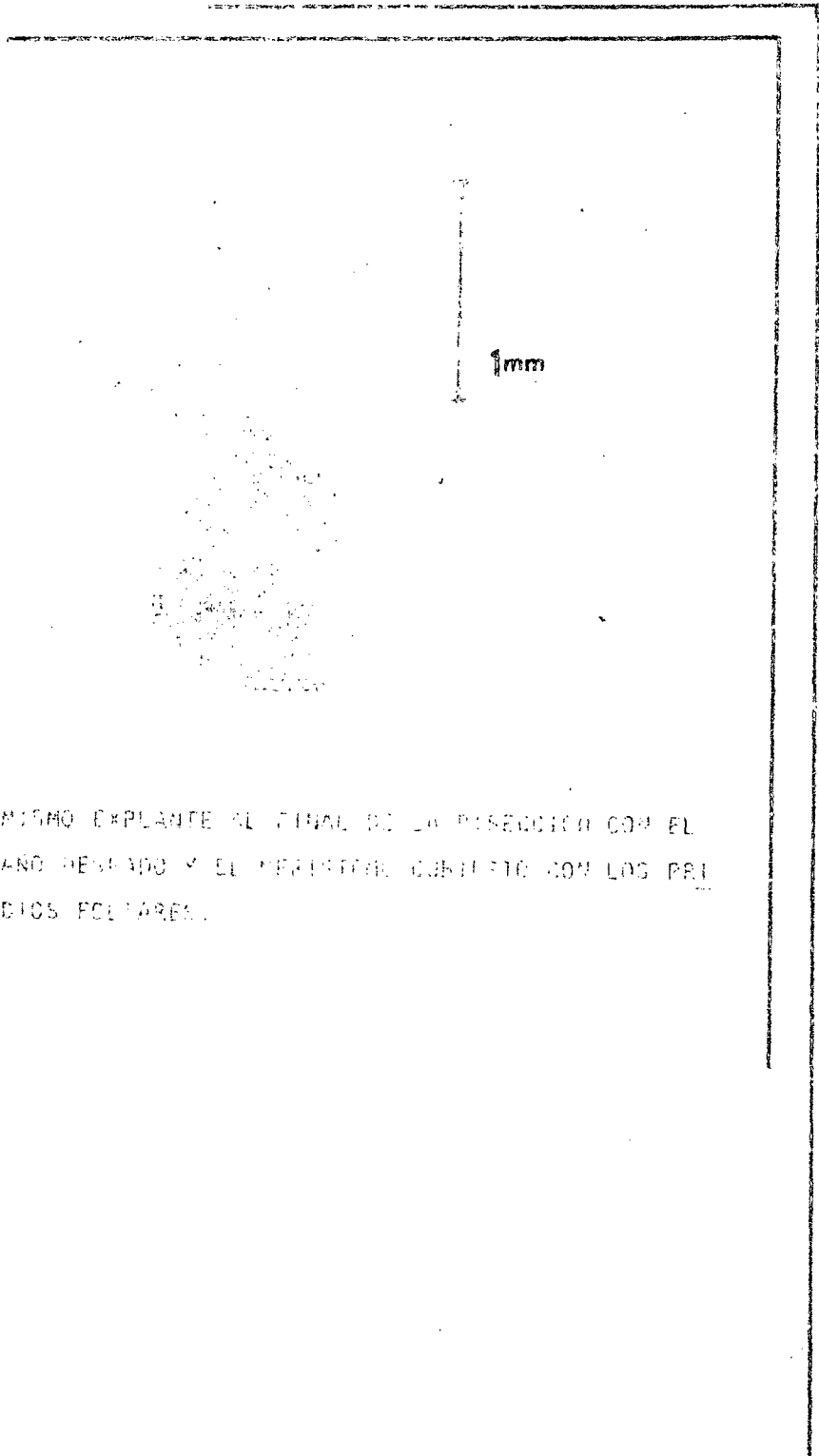


FIG. 18.- EL MISMO EXPLANTE AL FINAL DE LA DISECCION CON EL TAMANO DEJADO Y EL MATERIAL CUBIERTO CON LOS PRIMEROS BORDOS FELTRES.

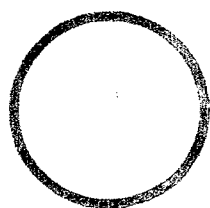


FIG. 19.- EN EL CIRCULO SE APRECIAN EL EXPLANTE DENTRO DEL
MEDIO DE CULTIVO EN EL FRASCO ESTERIL

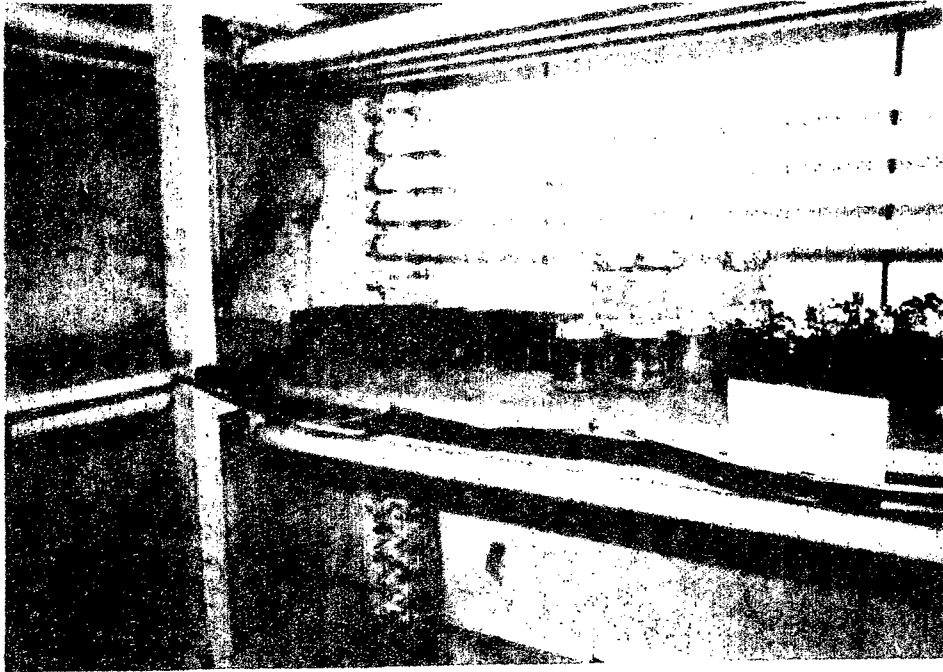


FIG. 20.- LA CAMARA DE CRECIMIENTO. EN LA FOTOGRAFIA SE APRECIAN DEL LADO IZQUIERDO LOS TRASCOS DE 30 ML. USADOS EN ESTE TRABAJO.

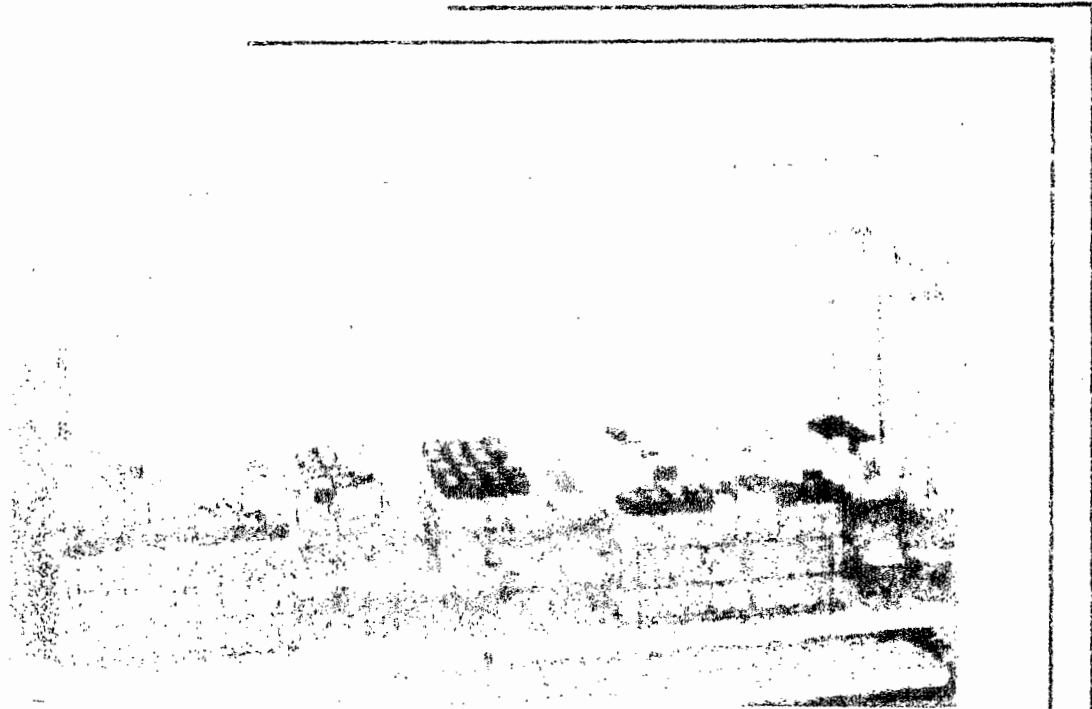


FIG. 21 - LA CAMARA DE CRECIMIENTO, SE APRECIA EN LA PARTE SUPERIOR LOS TRABAJOS USADOS EN ESTE TRABAJO.

4.2.- EL MEDIO DE CULTIVO.

Se utilizó el medio descrito por Zuccherelli - (1979) para ciruelo, que consta de los macro y micro nutrimentos de Murashige y Skoog (Cuadro 3) y las vi taminas y hormonas (variables según el estado de la planta) de Murashige y Skoog (Cuadro 4).

Los otros constituyentes del medio base son:

Sacarosa	30 g /lt.
+Agar-Agar	8 g /lt.

+La concentración de agar-agar recomendada para este medio de cultivo es de 6 g /lt., pero no dió el resultado requerido pues no gelificaba, se utilizó - la experiencia de Chávez (1979) y se usó la concentra ci ón de 8 gr/lt.

Para la preparación del medio de cultivo se hizo una solución 100 veces concentrada de los macro nutri mi ntos con excepción del cloruro de calcio deshidra ta do ($\text{CaCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), que se preparó por separado, los micronutrimentos también se prepararon en una solu ci ón 50 veces concentrada con excepción del sulfato de hierro heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), que se pre pa ró en una solución junto el Etilen di amino tetra acetato de sodio (Na_2EDTA) para que pueda ser asim ila do en forma de quelato.

Las vitaminas y las hormonas se prepararon por se parado, la auxina (ácido Naftalen acético) se disol vi ó en una solución de hidróxido de sodio 0.1N a la cual se le agrega el agua hasta tener 25 ml , las ci ti tocinas y giberelinas fueron disueltas en agua. To da s las soluciones se mantienen en refrigeración.

En una probeta de 1000 ml., se añade agua hasta la mitad y bajo agitación se agregan los macronutrientes; ya que están bien mezclados se agrega el cloruro de calcio y después los micronutrientes, se deja que se agite por unos momentos, se agrega la solución de Fe EDTA y después de éste las vitaminas una por una. Se agrega el ácido Naftalen acético y después la sacarosa, se afora a 1000 ml., y se ajusta el pH a 5.2, se agrega el agar y se esteriliza en autoclave a 115°C y 1.5 Kg/cm² de presión durante 15 minutos (Fig. 22). El ácido giberélico (Ag₃) y la 6-Bencilamino purina (6-BAP) se esterilizaron en un filtro millipore (0.45 um) y se agregan al medio en la campana de flujo laminar.

Después de esterilizado el medio se espera un poco a que baje la temperatura a $\pm 30^{\circ}\text{C}$ y se le agregan las giberelinas y citocininas, se revuelve con un agitador magnético y se vacía a frascos de vidrio estériles de 30 ml, agregándoles aproximadamente 10 ml, de medio a cada uno.

CUADRO 3

Macronutrientes y Micronutrientes
 De Murashigue y Kgoog

<u>Macronutrientes</u>	<u>G./Lt.</u>
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0.37
KNO ₃	1.9
NH ₄ NO ₃	1.65
KH ₂ PO ₄	0.17
+ CaCl . 2H ₂ O	0.44
<u>Micronutrientes</u>	<u>Mg/Lt.</u>
Mn SO ₄ . 4H ₂ O	22.3
Zn SO ₄ . 7H ₂ O	8.6
Cu SO ₄ . 5H ₂ O	0.025
Co Cl . 6H ₂ O	0.025
KI	0.83
H ₃ BO ₃	6.2
NaMo O ₄ . 2H ₂ O	0.025
++ FeSO ₄ , 7 H ₂ O	27.85
Na ₂ EDTA	37.25

- + El CaCl . 2 H₂O se preparó por separado.
 ++ El FeSO₄ . 7 H₂O se añadió al medio con Na₂ EDTA
 (etilen diamino tetraacetato de Sodio), para formar el quelato.



CUADRO 4

Vitaminas y Hormonas de Murashige y Skoog

+ <u>Vitaminas</u>	<u>Mg /Lt.</u>
Acido nicotínico	0.5
Piridoxina HCl	0.5
Glicina	2.0
Tiamina HCl	0.1
Mesoinositol	100
Acido ascórbico	10
<u>Hormonas</u>	<u>Mg./Lt.</u>
++ Acido naftalen acetico (auxina)	0.01
+++ 6-Bencil amino purina (citocinina)	En concentración variable.
+++ Acido Giberélico (Giberelina)	0.1

- + Cada una de las vitaminas fué disuelta aparte.
- ++ El ácido naftalen acético se agregó al medio y se esterilizó en autoclave.
- +++ La 6-Bencil amino purina y el ácido giberélico se esterilizaron en filtro millipore (0.45 μ m) y se agregaron al medio en la campana de flujo laminar.



FIG. 22.- EL AUTOCLAVE USADO PARA ESTERILIZAR EL MEDIO DE CULTIVO Y LOS REACTIVOS UTILIZADOS DENTRO DE LA CAMPANA DE FLUJO LAMINAR.

4.3.- ESTERILIZACION DEL MATERIAL VEGETATIVO.

Una adecuada preparación y una esterilización de la superficie de los brotes antes de la disección es esencial para lograr el éxito en el cultivo "in vitro" y así evitar la contaminación, tanto por hongos como por bacterias, Leben (1971), citado por -- Andrews y Kenerly (1979) reporta que las yemas son los sitios más activos para la colonización microbiana y de aquí es de donde se distribuyen a toda la -- planta. Los Hongos y bacterias presentes en las yemas de los brotes de durazno se encuentran entre las escamas que los cubren durante el invierno y entre -- los primordios foliares en la época vegetativa, por eso la fase de esterilización es muy importante pues de este paso dependerá el éxito de nuestro cultivo.

De la procedencia y el estado sanitario de las yemas dependerá el tratamiento de esterilización; si éstas provienen del campo, el tratamiento será más -- enérgico, mientras que el tratamiento para las que -- se encuentran en invernadero será más leve.

Durante esta fase se hicieron 3 ensayos diferentes y siguiendo los criterios seguidos por Holdgate -- (1977), Tabachnir y Kester (1977), Hammerschlang -- (1981), Levine (1982) y Miller (1982), los diferentes tratamientos diseñados para cada uno de los ensayos -- se puede observar en los cuadros 5, 6 y 7.

El procedimiento empleado para la esterilización del material fue igual en todos los casos, se les drenó el agua a los brotes y se añadió a cada una de las soluciones dejándolas el tiempo correspondiente según el tratamiento y después se lavó 5 veces, las 3 primeras con agua destilada estéril y las dos últimas con

agua destilada estéril conteniendo 5 g /lt , de ácido ascórbico como antioxidante, después de ésto se disecaron y fueron sembrados en el medio base conteniendo ácido Naftalen acético (Naa) 0.01 mg/lt , ácido giberélico (AG₃) 0.1 mg/lt , y 6-Bencil amino-purina (6-BAP) 0.6 mg/lt , durante toda esta fase el medio base fué igual para todos los tratamientos.

4.4.- USO DE ANTIOXIDANTES.

La oxidación de los tejidos de los explantes de durazno es un fenómeno natural que se dá al estar expuesto al aire el segmento cortado, este fenómeno se lleva a cabo por la presencia de compuestos fenólicos presentes en el tejido vegetal, como son la floridzina, el floroglucinol, el ácido clorogénico, la catequina y la rutina (Mosella, Macheix y Jonard 1980). - La función de los fenoles todavía no está bien entendida, algunas participan en la formación de lignina, otras se combinan con azúcares, en especial el ácido clorogénico está correlacionado con la resistencia a enfermedades de ciertas plantas (Salisbury y Ross -- 1969).

Los fenoles al tener un grupo Hidroxilo son oxidados a quinonas por enzimas como la monofenol oxidasa y la polifenol oxidasa. Durante las reacciones de óxido-reducción se desarrolla el color café y que es debido a la formación de una quinona, la cual puede ser tóxica para algunos microorganismos y es inhibitoria del crecimiento celular (Loomis y Battaile 1966, citado por Mónaco et al. 1977).

Los fenoles en los tejidos intactos están aparentemente situados en polos opuestos o compartimientos

aislados de la célula, cuando se lesiona el tejido o se inician los procesos de senescencia, los polos se juntan y se inician los procesos de oxidación.

Por ésto, a la hora de hacer las disecciones, los explantes deben estar en un medio acuoso junto con un antioxidante para que este agente reductor disminuya la exposición al oxígeno y el líquido aminore el daño celular. Las altas temperaturas y la luz estimula la producción de fenoles y acelera los procesos de oxidación (Mónaco et al. 1977).

Como el uso de agentes esterilizantes aumentaba el porcentaje de oxidación, se hicieron varios ensayos con diversos agentes que actúan como antioxidantes, en la literatura se menciona una amplia gama como el agua de coco, (Shantz 1952), dietil-ditio carbonato de sodio, metabisulfito de potasio, mercapto etanol, L-cisteína, ácido ascórbico y carbón activado (Mónaco et al. 1977, Mosella 1979), obscuridad y 2, 4, D más azúcar (Davies 1972). En un ensayo preliminar se probaron algunos de ellos como el agua de coco, dietil-ditiocarbonato de sodio, metabisulfito de potasio, L-cisteína y ácido ascórbico, eligiendo para las pruebas solamente agua de coco, ácido ascórbico y L-cisteína, tanto en el agua de lavado como en el medio.

Una vez seleccionados los agentes se procedió a probarlos primero en el agua de lavado, los tratamientos y sus concentraciones se observan en el cuadro 8.

Como los resultados no fueron relevantes se planteó una prueba donde se pudieran agregar al medio, los tratamientos y sus combinaciones, que se observan en el cuadro 9.

El medio de cultivo durante esta fase fue igual al usado en la fase anterior y el esterilizante usado fue el hipoclorito de calcio al 0.2% con un tiempo de exposición de 3 minutos.

Durante una fase preliminar se observó que la luz influía en el aumento de explantes oxidados por lo que se realizó un ensayo. Los tratamientos fueron 6, los cuales se realizaron usando diferentes cantidades de Luxes y estos fueron:

Tratamiento 1.- Después de la disección los explantes fueron puestos en la cámara de crecimiento con una intensidad luminosa de 3,000 Lux durante 30 días.

Tratamiento 2.- Después de la disección los explantes fueron puestos en la cámara de crecimiento con una intensidad luminosa de 2,250 Lux.

Tratamiento 3.- Después de la disección los explantes fueron puestos en la cámara de crecimiento con una intensidad luminosa de 1,500 Lux.

Tratamiento 4.- Después de la disección los explantes fueron puestos en la cámara de crecimiento con una intensidad luminosa de 750 Lux.

Tratamiento 5.- Después de la disección los explantes fueron puestos en completa obscuridad durante 4 días y se les aumentó la intensidad luminosa cada 4 días hasta tener 3,000 Lux.

Tratamiento 6.- Después de la disección los explantes fueron puestos en completa obscuridad durante 8 días y se les aumentó la intensidad luminosa -

luminosa cada 4 días hasta completar 3,000 Lux.

++ Los tratamientos 2, 3 y 4 duraron 24 días - bajo esa intensidad luminosa, al término de los cuales todos fueron puestos bajo la intensidad de 3,000 Lux por 6 días.

4.5.- ADAPTACION AL CULTIVO "IN VITRO".

Para la fase de adaptación al cultivo "in vitro" se usó el medio nutritivo de macro y micro nutrimentos de Murashige y Skoog y las vitaminas y hormonas de Murashige y Skoog modificando la cantidad de ácido ascórbico. Para ésto se debe hacer el medio normal, la modificación estriba en que se prepara una solución que contenga 20 mg/lit. de ácido ascórbico, la cual se esteriliza en un filtro millipore de 0.45 μ m y se agrega al medio en la campana de flujo laminar.

Para esta fase el ácido naftalen acético (NAA) permaneció a una concentración constante de (0.01 mg/lit.), el ácido giberélico (AG₃) también permaneció constante a una concentración de (0.1 mg/lit). La 6-Bencil amino purina se añadió al medio en concentraciones variables (Cuadro 11) para inducir una mayor proliferación de brotes.

La proliferación se aprecia en las figuras 23 y 24.



FIG. 23.- LA PROLIFERACION DE BROTES.

ESTA FOTOGRAFIA PERTENECE A UN FRASCO DE CULTIVO
QUE CONTENIA 0.8 MG. DE 6-BAP EN EN CUAL SE APRE
CIA LA GRAN CANTIDAD DE BROTES QUE CONTIENE.



FIG. 24.- LA PROLIFERACION DE BROTES.

ESTA FOTOGRAFIA ES UN ACERCAMIENTO AL FRASCO DE LA FOTOGRAFIA ANTERIOR, DONDE SE PUEDEN APRECIAR LAS HOJAS EN CONTACTO CON LAS PAREDES DEL FRASCO.

CAPITULO 5

RESULTADOS Y DISCUSION

ESTERILIZACION

El primer obstáculo que se presentó para el establecimiento del cultivo, fué el obtener un agente esterilizante que no dañara el tejido y que nos diera un margen confiable de esterilidad, ya que aunque el material provenía de un invernadero y se encontraba en condiciones fitosanitarias adecuadas, estaba invariablemente contaminado tanto con microorganismos como con polvo, aún después del lavado preliminar. Los microorganismos, al estar en contacto con la fuente de carbono del medio (sacarosa), proliferaban consumiendo los nutrimentos del explante y restándole a este su capacidad para adaptarse.

Para lograr eliminar estos contaminantes se establecieron varios ensayos, pues aunque las técnicas de esterilización ya son conocidas, las condiciones de cada laboratorio son diferentes teniendo que volver a probar las técnicas ya establecidas para lograr una metodología confiable y rápida para la esterilización del material vegetal.

El primer ensayo (Cuadro 5) se basó en las técnicas descritas por Miller *et al.* (1982), Hamerschlang (1982) y Holdgate (1977), combinadas y modificadas, según la disponibilidad de los reactivos. En los resultados se observa que la contaminación fue nula, pero la oxidación y muerte del tejido fué muy elevada; ésto se debió a lo fuerte de los reactivos y el tipo de material usado, que fue muy sensible a la acción de estos agentes; además de que el alcohol resultó ser demasiado tóxico para los explantes, así como por lo tierno del material el alcohol y el hipoclorito de calcio penetraron dentro del tejido, aumentando así los procesos de oxidación.

Para tratar de remediar este fracaso se diseñó un segundo ensayo siguiendo los criterios de Tabachnik y Kester

(1977), Miller et al. (1982), Hammerschlang (1981) y Levine (1982), modificándolos igualmente (Cuadro 6).

En los resultados se observa que los 13 primeros tratamientos no fueron lo suficientemente fuertes para contrarrestar la proliferación de contaminantes, notándose también que los porcentajes de explantes oxidados son más bajos que en el ensayo anterior. En los 2 últimos tratamientos se observa que la dosis de esterilizante ya fue suficiente para eliminar a los microorganismos, aunque aumentó el porcentaje de tejido oxidado y muerto.

Además el porcentaje de contaminación se vió aumentado por el exceso de manipulación dentro de la campana, puesto que a mayor cantidad de pasos y mayor cantidad de material se aumentó el riesgo de contaminación.

El jabón TX-20 se usó como tenso activador para romper la capa cerosa que envuelve al explante y facilitar la acción del hipoclorito de calcio.

Después de los resultados obtenidos en los dos primeros ensayos decidimos probar con el hipoclorito de calcio solamente haciendo un tercer ensayo (cuadro 7), en el que se observó que el hipoclorito solo actuaba muy bien, por la mínima cantidad de pasos dentro de la campana se observó una nula contaminación y un alto porcentaje de explantes verdes, esto también se debe a las bajas concentraciones del hipoclorito usadas, aunadas a que el material provenía de un invernadero con el aspecto fitosanitario controlado. En repeticiones posteriores se observó que el tratamiento 1 (hipoclorito de calcio 0.2% por 3 minutos) fue el mejor, logrando un 80% de explantes verdes, 20% explantes oxidados y 0% de contaminación.

CUADRO 5

RESULTADOS ESTERILIZACION

T R A T A M I E N T O S	% EXPLANTES VERDES.	% EXPLANTES OXIDADOS.	% EXPLANTES CONTAMINADOS	No. TOTAL DE EXPLANTES OBSERVADOS.
Alcohol 70% 5 min + Hipoclorito 0.5% 3 min	25	75	0	20
Alcohol 70% 5 min + Hipoclorito 0.5% 5 min	15	85	0	20
Alcohol 70% 5 min + Hipoclorito 0.5% 10 min	5	95	0	20
Alcohol 70% 5 min + Hipoclorito 0.5% 15 min	5	95	0	20
Alcohol 70% 5 min + Hipoclorito 1% 3 min	20	80	0	20
Alcohol 70% 5 min + Hipoclorito 1% 5 min	15	85	0	20
Alcohol 70% 5 min + Hipoclorito 1% 10 min	0	100	0	20
Alcohol 70% 5 min + Hipoclorito 1% 15 min	0	100	0	20
Alcohol 60% 5 min + Hipoclorito 0.5% 3 min	40	60	0	20
Alcohol 60% 5 min + Hipoclorito 0.5% 5 min	20	80	0	20
Alcohol 60% 5 min + Hipoclorito 0.5% 10 min	20	80	0	20
Alcohol 60% 5 min + Hipoclorito 0.5% 15 min	10	90	0	20
Alcohol 60% 5 min + Hipoclorito 1% 3 min	35	65	0	20
Alcohol 60% 5 min + Hipoclorito 1% 5 min	40	60	0	20
Alcohol 60% 5 min + Hipoclorito 1% 10 min	20	80	0	20
Alcohol 60% 5 min + Hipoclorito 1% 15 min	10	90	0	20

CUADRO 6

RESULTADOS ESTERILIZACION

T R A T A M I E N T O S	% EXPLANTES VERDES.	% EXPLANTES OXIDADOS.	% EXPLANTES CONTAMINADOS	No. TOTAL DE EXPLANTES OBSERVADOS.
Hipoclorito 0.1% 3 min + Tx20 .1% 3 min	90	10	50	35
Hipoclorito 0.1% 3 min + Tx20 .1% 5 min	90	10	70	35
Hipoclorito 0.1% 3 min + Tx20 .1% 10 min	95	5	80	35
Hipoclorito 0.1% 5 min + Tx20 .1% 3 min	80	20	50	35
Hipoclorito 0.1% 5 min + Tx20 .1% 5 min	70	30	75	35
Hipoclorito 0.1% 5 min + Tx20 .1% 10 min	95	5	70	35
Hipoclorito 0.1% 10 min + Tx20 .1% 3 min	60	40	15	35
Hipoclorito 0.1% 10 min + Tx20 .1% 5 min	75	25	25	35
Hipoclorito 0.1% 10 min + Tx20 .1% 10 min	50	50	35	35
Hipoclorito .2% 3 min + Tx20 .1% 3 min	90	10	30	35
Hipoclorito .2% 3 min + Tx20 .1% 5 min	70	30	25	35
Hipoclorito .2% 3 min + Tx20 .1% 10 min	75	25	20	35
Hipoclorito .2% 5 min + Tx20 .1% 3 min	70	30	25	35
Hipoclorito .2% 5 min + Tx20 .1% 5 min	65	35	20	35
Hipoclorito .2% 5 min + Tx20 .1% 10 min	70	30	25	35
Hipoclorito .2% 10 min + Tx20 .1% 3 min	50	50	0	35
Hipoclorito .2% 10 min + Tx20 .1% 5 min	40	60	10	35
Hipoclorito .2% 10 min + Tx20 .1% 10 min	80	20	50	35

CUADRO 6 continuación

T R A T A M I E N T O S	% EXPLANTES VERDES.	% EXPLANTES OXIDADOS	% EXPLANTES CONTAMINADOS	No. TOTAL DE EXPLANTES OBSERVADOS.
Hipoclorito .5% 3 min + Tx20 .1% 3 min	70	30	40	35
Hipoclorito .5% 3 min + Tx20 .1% 5 min	55	45	10	35
Hipoclorito .5% 3 min + Tx20 .1% 10 min	60	40	25	35
Hipoclorito .5% 5 min + Tx20 .1% 3 min	60	40	35	35
Hipoclorito .5% 5 min + Tx20 .1% 5 min	55	45	0	35
Hipoclorito .5% 5 min + Tx20 .1% 10 min	75	25	20	35
Hipoclorito .5% 10 min + Tx20 .1% 3 min	80	20	45	35
Hipoclorito .5% 10 min + Tx20 .1% 5 min	65	35	60	35
Hipoclorito .5% 10 min + Tx20 .1% 10 min	70	30	30	35
Hipoclorito 1% 3 min + Tx20 .1% 3 min	65	35	70	35
Hipoclorito 1% 3 min + Tx20 .1% 5 min	55	45	100	35
Hipoclorito 1% 3 min + Tx20 .1% 10 min	40	60	60	35
Hipoclorito 1% 5 min + Tx20 .1% 3 min	50	50	40	35
Hipoclorito 1% 5 min + Tx20 .1% 5 min	50	50	70	35
Hipoclorito 1% 5 min + Tx20 .1% 10 min	65	35	85	35
Hipoclorito 1% 10 min + Tx20 .1% 3 min	55	45	90	35
Hipoclorito 1% 10 min + Tx20 .1% 5 min	50	50	75	35
Hipoclorito 1% 10 min + Tx20 .1% 10 min	40	60	80	35

CUADRO 6 continuación

T R A T A M I E N T O S	% EXPLANTES VERDES.	% EXPLANTES OXIDADOS.	% EXPLANTES CONTAMINADOS	No. TOTAL DE EXPLANTES OBSERVADOS.
Hipoclorito 2% 3 min + Tx20 .1% 3 min	70	30	35	35
Hipoclorito 2% 3 min + Tx20 .1% 5 min	60	40	10	35
Hipoclorito 2% 3 min + Tx20 .1% 10 min	80	20	40	35
Hipoclorito 2% 5 min + Tx20 .1% 3 min	40	60	0	35
Hipoclorito 2% 5 min + Tx20 .1% 5 min	55	45	0	35
Hipoclorito 2% 5 min + Tx20 .1% 10 min	35	65	0	35
Hipoclorito 2% 10 min + Tx20 .1% 3 min	30	70	0	35
Hipoclorito 2% 10 min + Tx20 .1% 5 min	40	65	0	35
Hipoclorito 2% 10 min + Tx20 .1% 10 min	25	75	0	35

CUADRO 7

RESULTADOS ESTERILIZACION

T R A T A M I E N T O S	% EXPLANTES VERDES.	% EXPLANTES OXIDADOS	% EXPLANTES CONTAMINADOS	No. TOTAL DE EXPLANTES OBSERVADOS
Hipoclorito .2% 3 min	80	20	0	45
Hipoclorito .2% 5 min	65	35	0	45
Hipoclorito .2% 10 min	55	45	0	45
Hipoclorito .2% 15 min	40	60	0	45
Hipoclorito .5% 3 min	60	40	0	45
Hipoclorito .5% 5 min	50	50	0	45
Hipoclorito .5% 10 min	40	60	0	45
Hipoclorito .5% 15 min	0	100	0	45
Hipoclorito 1% 3 min	40	60	0	45
Hipoclorito 1% 5 min	45	55	0	45
Hipoclorito 1% 10 min	5	95	0	45
Hipoclorito 1% 15 min	0	100	0	45
Hipoclorito 2% 3 min	70	30	0	45
Hipoclorito 2% 5 min	50	50	0	45
Hipoclorito 2% 10 min	0	100	0	45
Hipoclorito 2% 15 min	0	100	0	45

ANTIOXIDANTES

Aunque durante la fase de esterilización se lograron resultados buenos en lo que respecta a la esterilización del material, se tenía que superar el porcentaje bajo de explantes verdes para lo cual se utilizaron varias sustancias que actuaran como atenuadores de los procesos de oxidación, entre los cuales se encuentran el agua de coco (Shantz 1952); Dietil ditio carbamato de sodio, metabisulfito de potasio, mercapto etanol, L-cisteína, ácido ascórbico y carbón activado (Mónaco *et al.* 1977), Mosella 1979), obscuridad y 2, 4-D más azúcares (Davies 1972).

En ensayos preliminares se observó que el Dietil-ditio carbamato de sodio y el metabisulfito de potasio, reaccionaban con el medio oxidándolo y provocando olores desagradables, se hicieron varios intentos teniendo siempre resultados negativos, por lo que respecta al mercapto etanol no se pudo conseguir, mientras que al usar el carbón activado, los explantes se nos perdían en el medio por lo que también se desechó.

Una vez desechados éstos, quedaron solamente el agua de coco, la L-cisteína, el ácido ascórbico y el 2, 4 D y la obscuridad.

El primer ensayo se planteó usando L-cisteína, agua de coco, ácido ascórbico y una combinación de ácido ascórbico y L-Cisteína, agregándolos solamente al agua de lavado. En este ensayo los resultados no fueron muy prometedores y se tuvo muy bajo porcentaje de explantes verdes, quedando alto el % de explantes oxidados, notándose además que los explantes que habían sido lavados con agua de coco se contaminaban muy pronto y en mayor cantidad que los demás, por lo que se repitieron varias veces los ensayos con agua de coco, tanto esterilizada en autoclave como esterilizada en -

millipore, llegando a la conclusión de desecharla primero por sus diferentes concentraciones y además de que no se sabía de donde procedía cada coco, aunado a que se presentaban fácilmente en el medio contaminaciones y el material se tenía que desechar.

Por lo que respecta a los otros agentes se notó que la acción combinada del ácido ascórbico con la L-cisteína presentaba resultados prometedores por lo que se decidió seguir usando esa combinación en ensayos posteriores.

Los resultados de este primer ensayo son algo confusos pues se esperaba un mayor número de explantes verdes cuando está presente el antioxidante que cuando no lo está, pero se puede explicar por el gran número de explantes que se manejaban, por lo que algunas veces algunos de los tratamientos se quedaban más tiempo en la solución del esterilizante o bien que procedían de brotes demasiado tiernos y eran más afectados por el excesivo manipuleo al que eran sometidos y no soportaban los cambios bruscos tanto de temperaturas e intensidades luminosas o bien fueron afectados por los instrumentos que se flameaban y los cauterizaban al extremar las precauciones para no contaminarlos.

Como no bajaba lo suficiente el porcentaje de explantes oxidados, se decidió seguir las indicaciones de Mosella (1979) y se realizaron ensayos con estos agentes antioxidantes añadidos al medio de cultivo, además de contenerlos el agua de lavado.

Los resultados de esta fase (cuadro 9) muestran que algunos de los tratamientos son muy similares, llegando incluso a tener resultados iguales en dos o más tratamientos diferentes, por lo que para decidir cual de ellos era mejor optamos por adoptar el tratamiento que tienen 20 mg/lit de ácido ascórbico porque así no tendríamos que cambiar ni

añadir otro reactivo al medio básico solo le aumentabamos la concentración y por lo que respecta al agua de lavado - se haría una solución concentrada de 10 mg/lit de L-cisteína y 5 mg/lit de ácido ascórbico; ya que parece que esta combinación tiene un efecto mayor que las otras combinaciones.

Por otra parte los tratamientos donde se encontraba presente el agua de coco fueron desechados puesto que no había uniformidad, además de no haber conseguido un liofilizado de esta agua, presentándose grandes variaciones en las concentraciones hormonales, que variaban grandemente las concentraciones del medio, presentando algunas veces algunas formaciones de callo, que no deseabamos puesto que no eran nuestros objetivos.

Davies (1972) menciona que poner los explantes en obscuridad disminuye el porcentaje de oxidación además en ensayos preliminares se observó que en realidad la luz ejerce una gran influencia, por lo que se decidió en base a los ensayos anteriormente mencionados (cuadro 10) seguir el tratamiento 6 descrito anteriormente para todos los ensayos teniendo con ello bastantes buenos resultados, aunque las cantidades que se incrementaban cada cuatro días, a veces no eran las propuestas pues algunas veces se encendían más lámparas y para remediar se les ponían papeles que atenuaran la cantidad de Luxes que se requerían, aunado a la deficiencia de un Luxómetro y además para agravar la situación la gran cantidad de frascos que se manejaban.

CUADRO 8

RESULTADOS PRUEBAS DE ANTIOXIDANTES

i) ANTIOXIDANTES SOLO EN EL AGUA DE LAVADO

ANTIOXIDANTE USADO	C A N T I D A D	No. DE EXPLANTES VERDES	No. TOTAL DE EXPLANTES OBSERVADOS
L-Cisteína	0 mg/l	4	18
L-Cisteína	10 mg/l	3	18
L-Cisteína	30 mg/l	5	18
L-Cisteína	50 mg/l	9	18
Acido ascórbico	0 mg/l	4	18
Acido ascórbico	5 mg/l	8	18
Acido ascórbico	10 mg/l	5	18
Acido ascórbico	20 mg/l	12	18
Agua de Coco *	0 ml/l	2	20
Agua de Coco	5 ml/l	4	20
Agua de Coco	10 ml/l	3	20
Agua de Coco	15 ml/l	7	20
Agua de Coco	20 ml/l	8	20
Agua de Coco**	0 ml/l	3	20
Agua de Coco	5 ml/l	1	20
Agua de Coco	10 ml/l	4	20
Agua de Coco	15 ml/l	7	20
Agua de Coco	20 ml/l	9	20

CUADRO B (continuación)

ANTIOXIDANTE USADO	C A N T I D A D	No. DE EXPLANTES VERDES	No. TOTAL DE EXPLANTES OBSERVADOS
Acido Ascórbico + L-Cisteína	10 + 0 mg/l	14	18
Acido Ascórbico + L-Cisteína	0 + 10 mg/l	4	18
Acido Ascórbico + L-Cisteína	0 + 30 mg/l	7	18
Acido Ascórbico + L-Cisteína	0 + 50 mg/l	9	18
Acido Ascórbico + L-Cisteína	5 + 10 mg/l	16	18
Acido Ascórbico + L-Cisteína	5 + 30 mg/l	15	18
Acido Ascórbico + L-Cisteína	5 + 50 mg/l	16	18
Acido Ascórbico + L-Cisteína	10 + 10 mg/l	15	18
Acido Ascórbico + L-Cisteína	10 + 30 mg/l	14	18
Acido Ascórbico + L-Cisteína	10 + 50 mg/l	15	18

* Esterilizada en autoclave
 ** Esterilizada en millipore

CUADRO 9
 RESULTADOS PRUEBAS DE ANTIOXIDANTES
 ii) AGREGADOS AL MEDIO Y EL AGUA DE LAVADO

ANTIOXIDANTE EN EL MEDIO	CANTIDAD Mg/l	ANTIOXIDANTE EN EL AGUA DE LAVADO.	CANTIDAD Mg/l	NO. EXPLANTES VERDES	NO. TOTAL DE EXPLAN TES OBSERVADOS.
L-Cisteína	10	L-Cisteína	10	6	18
L-Cisteína	30	L-Cisteína	10	8	18
L-Cisteína	50	L-Cisteína	10	5	18
L-Cisteína	10	L-Cisteína	30	11	18
L-Cisteína	30	L-Cisteína	30	12	18
L-Cisteína	50	L-Cisteína	30	9	18
L-Cisteína	10	L-Cisteína	50	10	11
L-Cisteína	30	L-Cisteína	50	9	18
L-Cisteína	50	L-Cisteína	50	7	18
L-Cisteína	10	Ac. Ascórbico	0	4	18
L-Cisteína	30	Ac. Ascórbico	0	2	18
L-Cisteína	50	Ac. Ascórbico	0	3	18
L-Cisteína	10	Ac. Ascórbico	5	15	18
L-Cisteína	30	Ac. Ascórbico	5	14	18
L-Cisteína	50	Ac. Ascórbico	5	12	18
L-Cisteína	10	Ac. Ascórbico	10	13	18
L-Cisteína	30	Ac. Ascórbico	10	12	18
L-Cisteína	50	Ac. Ascórbico	10	14	18

CUADRO 9 (continuación)

ANTIOXIDANTE EN EL MEDIO	CANTIDAD	ANTIOXIDANTE EN EL AGUA DE LAVADO	CANTIDAD	NO. EXPLANTES VERDES	NO. TOTAL DE EXPLANTES OBSERVADOS.
L-Cisteína	10	L-Cisteína + Ac. Asc.	10 + 5	15	18
L-Cisteína	30	L-Cisteína + Ac. Asc.	10 + 5	14	18
L-Cisteína	50	L-Cisteína + Ac. Asc.	10 + 5	14	18
			ml/l		
L-Cisteína	10	Agua de Coco ⁺	5	3	18
L-Cisteína	30	Agua de Coco	5	2	18
L-Cisteína	50	Agua de Coco	5	5	18
L-Cisteína	10	Agua de Coco ⁺	10	4	18
L-Cisteína	30	Agua de Coco	10	3	18
L-Cisteína	50	Agua de Coco	10	7	18
L-Cisteína	10	Agua de Coco	15	4	18
L-Cisteína	30	Agua de Coco	15	5	18
L-Cisteína	50	Agua de Coco	15	7	18
L-Cisteína	10	Agua de Coco	20	6	18
L-Cisteína	30	Agua de Coco	20	3	18
L-Cisteína	50	Agua de Coco	20	2	18
L-Cisteína	10	Agua de Coco ⁺	5	2	18
L-Cisteína	30	Agua de Coco	5	3	18
L-Cisteína	50	Agua de Coco	5	1	18

CUADRO 9 (continuación)

ANTIOXIDANTE EN EL MEDIO	CANTIDAD	ANTIOXIDANTE EN EL AGUA DE LAVADO	CANTIDAD	NO. EXPLANTES VERDES	NO. TOTAL DE EXPLANTES OBSERVADOS
L-Cisteína	10	Agua de Coco	10	4	18
L-Cisteína	30	Agua de Coco	10	2	18
L-Cisteína	50	Agua de Coco	10	3	18
L-Cisteína	10	Agua de Coco	15	1	18
L-Cisteína	30	Agua de Coco	15	4	18
L-Cisteína	50	Agua de Coco	15	2	18
L-Cisteína	10	Agua de Coco	20	2	18
L-Cisteína	30	Agua de Coco	20	5	18
L-Cisteína	50	Agua de Coco	20	4	18
			mg/l		
Acido Ascórbico	5	L-Cisteína	10	15	18
Acido Ascórbico	10	L-Cisteína	10	12	18
Acido Ascórbico	20	L-Cisteína	10	11	18
Acido Ascórbico	30	L-Cisteína	10	13	18
Acido Ascórbico	5	L-Cisteína	30	12	18
Acido Ascórbico	10	L-Cisteína	30	13	18
Acido Ascórbico	20	L-Cisteína	30	14	18
Acido Ascórbico	30	L-Cisteína	30	13	18

CUADRO 9 (continuación)

ANTIOXIDANTE EN EL MEDIO	CANTIDAD	ANTIOXIDANTE EN EL AGUA DE LAVADO	CANTIDAD	NO. EXPLANTES VERDES	NO. TOTAL DE EXPLANTES OBSERVADOS.
Acido Ascórbico	50	L-Cisteína	50	11	18
Acido Ascórbico	10	L-Cisteína	50	12	18
Acido Ascórbico	20	L-Cisteína	50	12	18
Acido Ascórbico	30	L-Cisteína	50	11	18
Acido Ascórbico	5	Acido Ascórbico	5	10	18
Acido Ascórbico	10	Acido Ascórbico	5	14	18
Acido Ascórbico	20	Acido Ascórbico	5	9	18
Acido Ascórbico	30	Acido Ascórbico	5	14	18
Acido Ascórbico	5	Acido Ascórbico	10	12	18
Acido Ascórbico	10	Acido Ascórbico	10	13	18
Acido Ascórbico	20	Acido Ascórbico	10	13	18
Acido Ascórbico	30	Acido Ascórbico	10	15	18
Acido Ascórbico	5	Acido Ascórbico	20	12	18
Acido Ascórbico	10	Acido Ascórbico	20	10	18
Acido Ascórbico	20	Acido Ascórbico	20	9	18
Acido Ascórbico	30	Acido Ascórbico	20	8	18
Acido Ascórbico	5	Acido Ascórbico	30	12	18
Acido Ascórbico	10	Acido Ascórbico	30	14	18
Acido Ascórbico	20	Acido Ascórbico	30	10	18
Acido Ascórbico	30	Acido Ascórbico	30	11	18

CUADRO 9 (continuación)

ANTIOXIDANTE EN EL MEDIO	CANTIDAD	ANTIOXIDANTE EN EL AGUA DE LAVADO	CANTIDAD	NO. EXPLANTES VERDES	NO. TOTAL EXPLANTES OBSERVADOS
Acido Ascórbico	5	L-Cisteína+Acido Ascórbico	10 + 5	16	18
Acido Ascórbico	10	L-Cisteína+Acido Ascórbico	10 + 5	15	18
Acido Ascórbico	20	L-Cisteína+Acido Ascórbico	10 + 5	18	18
Acido Ascórbico	30	L-Cisteína+Acido Ascórbico	10 + 5	15	18

*Agua de Coco esterilizada en autoclave.

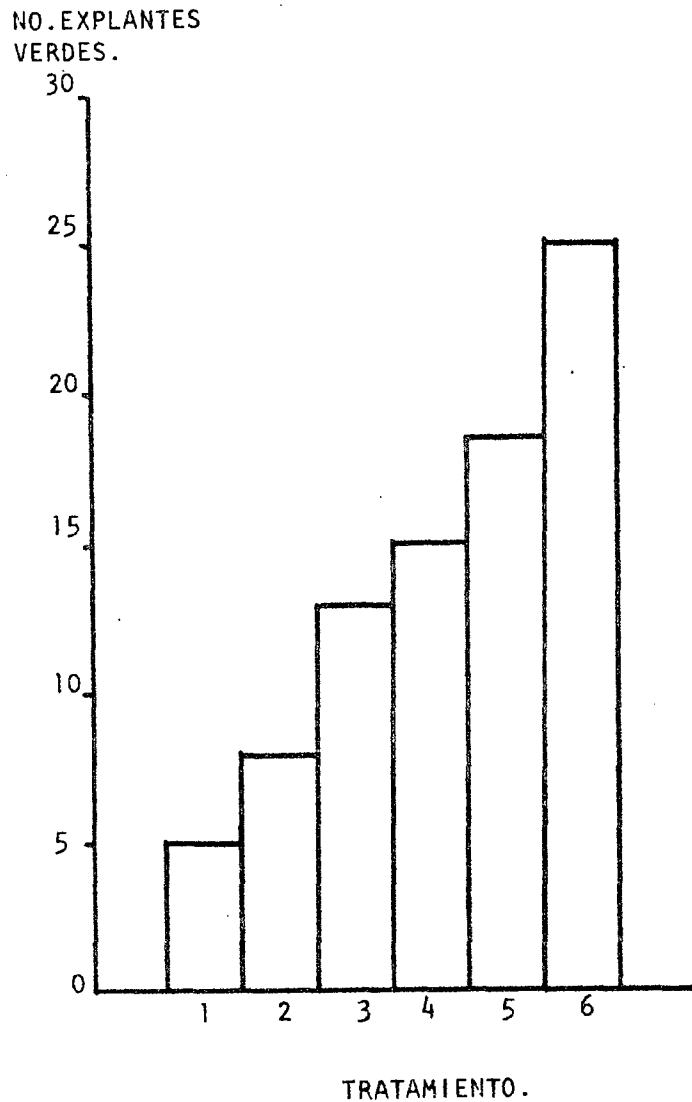
**Agua de Coco esterilizada en millipore.

CUADRO 10

INFLUENCIA DE LA INTENSIDAD LUMINOSA EN LA OXIDACION DE LOS TEJIDOS

TRATAMIENTO	NO. TOTAL DE DIAS BAJO OBSERVACION.	INTENSIDAD LUMINOSA LUXES					RESULTADOS	
		0	750	1500	2250	3000	NO. TOTAL DE EXPLANTES.	NO. DE EXPLANTES VERDES.
1	30					30 días	30	5
2	30				24 días	6 días	30	8
3	30			24 días		6 días	30	13
4	30		24 días			6 días	30	15
5	30	4 días	4 días	4 días	4 días	14 días	30	18
6	30	8 días	4 días	4 días	4 días	10 días	30	25

INFLUENCIA DE LA LUZ EN LA OXIDACION DE LOS TEJIDOS.



- 1.- Se mantuvo en 3000 Lux.
- 2.- Se mantuvo en 2250 Lux.
- 3.- Se mantuvo en 1500 Lux.
- 4.- Se mantuvo en 750 Lux.
- 5.- Se mantuvo en oscuridad por 4 días y se llevó a 3000 Lux cambiando cada 4 días.
- 6.- Se mantuvo en oscuridad por 8 días y se llevó a 3000 Lux cambiándolo cada 4 días* ver cuadro 10.

ADAPTACION AL MEDIO

Siguiendo los reportes de Boxus (1971-74), Quoirin -- (1977), Tabachnik (1977); Zucherelli (1979), Mosella (1979-1980) y Hammerschlang (1981-82), se decidió dejar constante las concentraciones de NAA y de ácido Giberélico, variando las concentraciones de 6-BAP, puesto que de acuerdo con Weaver (1976) las citocininas provocan la división celular y regulan la diferenciación de los tejidos cortados. Skoog y Miller (1957) demostraron que para que exista proliferación "in vitro" debe haber una relación entre auxinas y citocininas puesto que juntas tienen una acción sinérgica en los procesos de división celular, para que esto suceda la proporción de auxinas debe ser menor que la de citocininas, puesto que si la relación de citocininas y auxinas es igual dará lugar al desarrollo de tejido indiferenciado, mientras que si dominan las auxinas sobre las citocininas habrá formación de raíces.

De acuerdo con esto la concentración óptima obtenida en este trabajo parece ser 0.8 mg/lit pero tomando en cuenta lo anteriormente escrito esta concentración es la óptima para la concentración usada de NAA y no debe ser tomada como estandar para pruebas siguientes.

En el cuadro 11 se aprecian los resultados, notándose que aún el testigo tuvo respuesta aunque esta es ínfima, - quizá debida a las propias hormonas presentes en el tejido.

Con estos resultados se corrobora lo dicho por Skoog y Miller (1957) y lo afirmado por Weaver (1976).

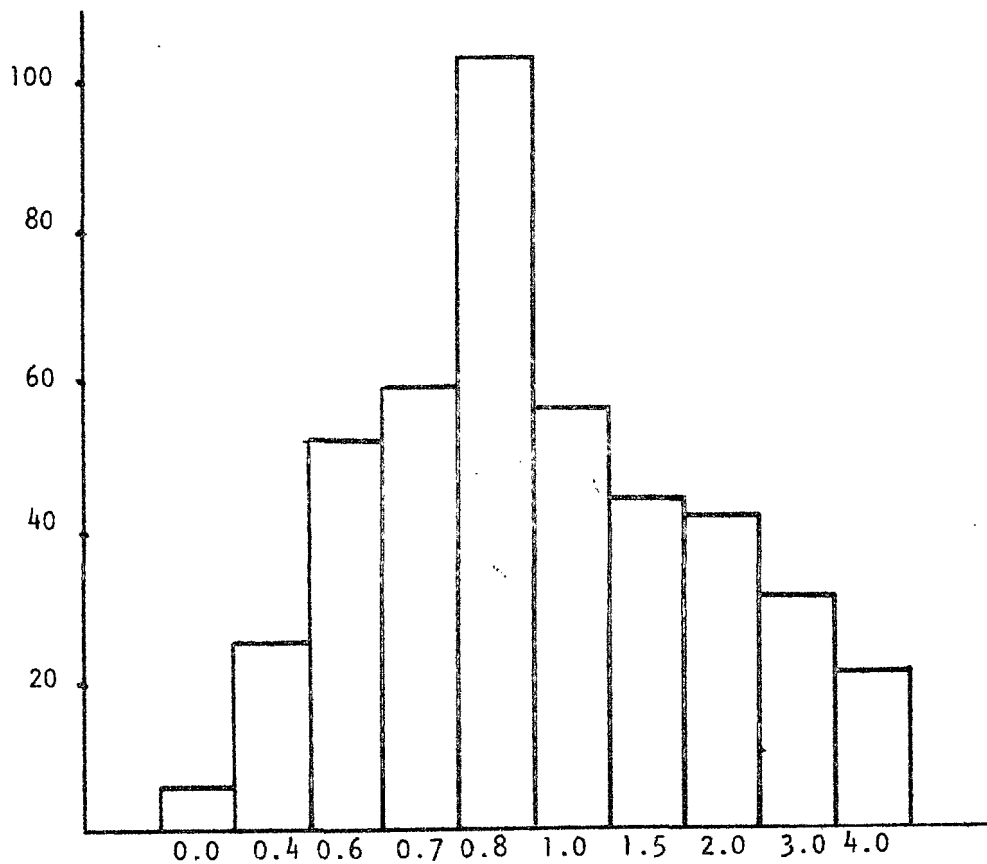
CUADRO 11

PROLIFERACION DE BROTES; NO DE BROTES EMITIDOS EN DIFERENTES FECHAS DE OBSERVACION CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE 6-BAP.

CONCENTRACIONES DE 6-BAP Mg/l	NO. DE BROTES EMITIDOS			
	21 DIAS	31 DIAS	45 DIAS	60 DIAS
0.0	0	1	4	6
0.4	1	6	13	25
0.6	0	10	26	52
0.7	0	14	33	59
0.8	0	13	45	103
1.0	0	6	21	56
1.5	2	10	25	44
2.0	0	8	20	42
3.0	0	3	14	31
4.0	0	1	4	21

NUMERO DE BROTES OBTENIDOS CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE G-BAP EN 60 DIAS DE CULTIVO "IN VITRO".

NO. DE BROTES



6-BAP mg.

Después de realizado el trabajo y cumplidos los objetivos, los resultados obtenidos muestran que el durazno de Tetela del Volcán presenta facilidad para la formación de brotes "in vitro".

Se estableció la metodología para su esterilización y adaptación al medio de cultivo con esto se espera aportar un paso para investigaciones sucesivas hasta lograr su enraizamiento y su adaptación al invernadero.

Aunque las concentraciones de 6-BAP aquí obtenidas, resultaron efectivas se recomienda hacer algunos otros ensayos modificando las concentraciones de NAA y GA_3 para aumentar el porcentaje de brotes emitidos.

Se considera adecuado cambiar el medio básico cada 15 días para no forzar a los explantes y así poder tener un mejor rendimiento.

Hay que hacer notar que las recomendaciones aquí hechas son para las condiciones del Laboratorio de Fitoproducción de la Comisión Nacional de Fruticultura y que estas variarán un poco dependiendo de las condiciones en que el experimento se realice.

En base a esto y con los resultados obtenidos, será bueno realizar trabajos similares con otras variedades y tomando en cuenta otros medios de cultivo para incrementar el material de información.

RUTA DE MULTIPLICACION SEGUIDA EN ESTE TRABAJO.



1.- SELECCION COMERCIAL



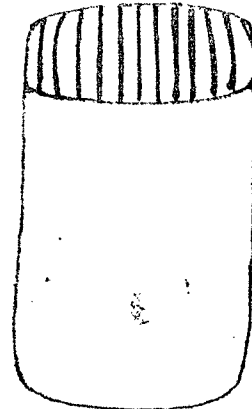
2.- APICE DE 21 DIAS



3.- ESTERILIZACION 4.- DISECCION.



5.- OBTENCION DEL MERISTEMO



6.- MERISTEMO EN EL FRASCO DE CULTIVO.



7.- MULTIPLICACION

7.- LITERATURA CITADA.

Arias, J.E.; 1983.- Comunicación personal.

Andrews, J.H.; Kenerly, CH.M.; 1980.- Microbial populations associated with buds and young leaves of apple. Can. - J. Bot. 58: 847-855.

Barba, A.A.; 1981.- Propagación vegetativa "in vitro" de los porta injertos EM-26 y MM-106 de manzano (Malus sylvestris Mill.) (Estudios preliminares). Tesis profesional UNAM, Facultad de Ciencias México.

Bonet, G.J.; 1972.- Patrones de melocotonero en suelos calizos, [X curso superior de hortofruticultura. CIAEAM - Zaragoza España pp. 5-15.

Boxus, P.H.; 1971.- La culture de méristèmes de prunus. Note préliminaire relative a`L'espèce P. pandora. Bull. Rech. Agron. Gembloux 6 (1-2): 3-5.

_____ ; Quoirim, M.; 1974.- La culture de méristèmes apicaux de quelques espèces de prunus. Bull. soc. Roy. Bot. Belg. 107:91-101.

_____ ; 1974.; The production of strawberry plant by "in vitro" micropropagation. Hort Science 49; 209-210.

Button, J.; Kochba J.; 1977.- Tissue culture in the citrus industry: in applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture edited by. Reinert, J. and. Bajaj, Y.P.S. p.p. 70-92. Springer-Verlag.

Calderón, E.; 1977.- Fruticultura General, Editorial ECA - México.

CONAFRUT; 1979.- Fruticultura Mexicana. Año 1, No. 9 marzo.

_____; 1980.- Estadística Frutícola (durazno) inédito, Subdirección de Planeación.

Cortés, A.; 1966.- Estudio pedológico de la zona oriental del Iztlacihuatl. Tesis ENA, C.P., Chapingo, México.

Cullinan, F.P.; 1937.- Improvement of stone fruits, Year-book of agriculture USDA. 665-748.

Chávez, S.E.; Carmona, A.A.; Yañez, P.; Nieto, M.E.; 1979.- Avances sobre el estudio del durazno de guña de Tetzela del Volcán, Edo. de Morelos. Simposium "La Investigación, el desarrollo experimental y la Docencia en CONAFRUT durante 1979, III:843-866.

Davies, M.E.; 1972.- Effects of auxin on polyphenol accumulation and the development of phenylalanine ammonia-lyase activity in darkgrown suspension cultures of -- Paul's Scarlet Rose. Planta 104: 66-67.

Fossard, de, R.A.; 1977.- Tissue culture in horticulture - a perspective. Acta horticultrae 78: 455-459.

Galzy, R.; 1971.- Recherches sur la croissance de la vigne saine et court novée cultivée "in vitro". Thèse État, Faculté Sciences Clermont-Ferrand 58 p.

Grinblat, V.; 1972.- Differentiation of citrus stem in vitro J. amer. soc. hort. sc. 97: 599-603.

Gutiérrez, J.S.; 1983.- Micropropagación de la fresa a partir de meristemo. Tesis profesional, Universidad de Guadalajara, Escuela de Agricultura, México.

Hammerschlang, F.; 1981.- Micropropagation speeds up new peach varieties. Agricultural Research, 30 (2): 8-9.

- _____ ; 1982.- Factors affecting establishment and growth of peach shoots "in vitro", Hortscience - 17 (1) 85-86.
- Hartmann, H.T.; Kester, D.E.; 1981.- Propagación de plantas, principios y prácticas. Ed. C.E.C.S.A. México. - 814 p.
- Herrero, J.; Abadia, A.; 1962.- Comportamiento de árboles frutales en suelos calizos. An Aula Dei 7 (1/2) 35-55.
- Hesse, C.O.; 1975.- Peaches, in: Advances in fruit breeding by Janick, J. and Moore, J. p.p. 285-335. Purdue University press.
- Hiedrick, V.P.; Howe, G.H.; Taylor, D.M.; Tubergen, C.B.; 1917.- The peaches of New York Rep. N.Y. st. Agric. - Exp. Sta. 541 p.
- Holdgate, D.P.; 1977.- Propagation of ornamentals by tissue culture in: Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture. Edited by Reinert, J. and Bajaj, Y.P.S. p.p. 18-43. Springer-Verlag.
- Jones, O.P.; Hopgood, M.E.; 1979.- The successful propagation "in vitro" of two rootstocks of prunus: the plum rootstock Pixy (*P. insititia*) and the cherry rootstock F 12/1 (*P. avium*). Journal of Horticultural Science - 54 (1) 63-66.
- Layne, C.R.E.; 1974.- Breeding peach rootstock for Canada and the northern United States. Hortscience 9 (4) -- 364-366.

Levine, B.S.; 1982.- Desarrollo Metodológico para la propagación vegetativa "in vitro" del aguacatero. Tesis profesional UNAM. ENEP-IZTACALA. México.

Menhara, A.; Menhara, P.N.; 1974.- Organogenesis and plantlet formation "in vitro" in almond. Bot. Gaz. 135: 61-73.

Miller, G.A.; Coston, D.C.; Denny, E.G.; Romeo, M.E.; 1982.- In vitro propagation of "Nemaguard" peach rootstock - Hortscience 17 (2): 194.

Monaco, L.C.; Söndahl, M.R.; Carvalho, A.; Crocomono, O.J.; Sharp, W.R.; 1977.- Applications of tissue culture in the improvement of coffee. In applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture, edited by Reinert, J. and Bajaj, Y.P.S. p.p. 109-129. -- Springer-Verlag.

Monastra, F.; 1971.- La selezione dei portainnesti delle Drupacee in Francia. Ortoflorofruitticoltura Italiana - 6: 529-537.

Morel, G.M.; 1965.- Clonal propagation of orchids by meristem culture. Cymbidium soc. News. 20 (7): 3-11.

Mosella, Ch.L.; Macheix, J.J.; 1979.- Le microbouturage - "in vitro" du pêcher (Prunus persica Batsch): influence de certains composés phénoliques. C.R. Acad. sc. - Paris, t. 289: 567-570.

_____ ; _____ ; Jonard, R.; 1980.- Les conditions du microbouturage "in vitro" du pêcher (Prunus persica Batsch): influences combinées des substances de croissance et de divers composés phénoliques. Physiol. Veg. 18 (4) 597-608.

Murashige, T.; Skoog, F.; 1974.- Plant cell and organ culture methods in the establishment of pathogen-free stock. 2nd. Annual A.W. Dimock Lecture, Cornell Univ. N.Y.

_____ ; 1977.- Plant cell and organ culture as horticultural practices. Acta Horticulturae 78: 17-30.

Narayanaswamy, S.; 1977.- Regeneration of plants from tissue culture in: applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture edited by Reinert, J. and Bajaj, Y.P.S. p.p. 179-207. Springer-Verlag.

Negueroles, P.J.; 1978.- Micropropagación de especies frutales. Información técnica, económica agraria 9 (33): - 58-64.

_____ ; Jones, O.P.; 1979.- Production "in vitro" of rootstock/scion combination of prunus cultivars. J. Hort. Sci. 54: 279-281.

Nieto, M.E.; 1978.- Búsqueda de homoclimas de Tetela del Volcán, para el establecimiento de plantaciones de durazno de producción extemporánea. CONAFRUT. Subdirección de Planeación- Depto. Técnico de planeación; programa de agroclimatología.

_____ : 1979.- Factores limitantes en la producción de Durazno. En conferencias sobre factores limitantes en la producción de frutales. Colegio de post-graduados - Rama Genética, Sec. Fruticultura, Chapingo, Mexico.

Pieniasek, S.A.; 1966.- Fruit Production in China. Proc XVII Int. Hort. Cong. East Lansing, Michigan U.S.A. IV: 427-452.

Pierik, R.L.M.; 1975.- Vegetative propagation of horticultural crops "in vitro" with special attention to shrubs-

and trees. Acta Horticultural 54: 71-82.

Poessel, J.L.; Martínez, J.; Macheix, J.J.; Jonard, R.: --
1980. Variations Saisonnières de l'aptitude au greffage " in vitro " d'apex de pêcher (Prunus persica (L) Batsch). Relations avec les teneurs en composés phénoliques endogènes et les activités peroxydasique et polyphénoloxidasique. *Physiol. Veg.* 18(4) 665.675.

Quoirin, M.; Lepovre, P.; 1977: Etude de Milieux Adaptes - aux Cultures in Vitro de Prunus. *Acta Horticulturae* - 78:437-442.

Sagawa, Y.; Shoji, T.; 1966.- Clonal propagation of cymbidium through shoot meristem culture. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 35:118-122.

Salisbury, F.B.; Ross, C.; 1969.- *Plant. Physiology*. Belmont. Calif. Wadsworth.

Sánchez, G.F.; 1975.- Estudio preliminar del durazno (Prunus Persica (L) Batsch) Siempre verde (de guña) en el noroeste del Edo. de Morelos. Tesis profesional Chapingo, México.

Shantz, E.M.; Steward, F.C.; 1952.- Coconut milk factor:- The growth promoting substances in coconut milk. *Journal of the American Chemical Society.* 74:6133-6135.

Sharpe, H.R.; 1974.- Breeding peach rootstocks for the southern United States. *Hortscience* Vol. 9(4) 362-363.

Skirvin, R.M.; Mel-Chu, C.; 1978.- Tissue culture of peach shoot tips. *Ann Meeting ASHS, Hortscience* 13,3,2,- 349.

Skoog, F.; Miller, C.O.; 1957.- Chemical regulation of --- growth and organ formation in plant tissue culture. - In Vitro Symp. Exptl. Biol. 11: 118-131.

Standardi, A.; 1979.- Indagine preliminare sull'influenza della luce nella micropropagazione di alcune specie - legnose, en: Tecniche di Colture "in vitro" per la -- propagazione su vasta scala delle specie ortoflorofru tticole. Consiglio Nazionale delle Ricerche 107-118.

Street, H.; 1977.- Introduction to "plant tissue and cell- culture" Univ. of California press. Berkeley U.S.A.

Tabachnik, L.; Kester, D.E.; 1977.- Shoot culture for al-- mond and almond-peach hybrid clones "in vitro" Hort-- science 12(6) 545-547.

Vega, L.; 1976.- Caracterfsticas de producción de las prin cipales zonas durazneras de México y grados de adapta ción de los cultivares plantados. Inedito CONAFRUT-- SARH.

Weaver, R.J.; 1976.- Reguladores del crecimiento de las -- plantas en la agricultura 622 p. Ed. Trillos, México.

Zucherelli, G.; 1979.- Moltiplicazione "in vitro" dei por- tainnesti clonali del pesco. FRUTTICOLTURA 41(2): 15- 20.

_____ ; 1979.- Metodologie nella moltiplicazione in- dustriale "in vitro" dei portinnesti clonale di pesco: pesco mandorlo GF 677; Susino GF 43, Damasco 1869, S.- Giuliano 665/2', en : Tecniche di colture "in vitro" - per la propagazione su vasta scala delle specie orto- florofrutticole, Consiglio Nazionale delle Ricerche, - 147-154.

- Abbott, A.J.; 1978.- Practice and promise of micropropagation of woody species. *Acta Horticulturae* 79:113-127.
- Anagostakis, S.L.; 1974.- Haploid plants from anthers of tobacco enhancement with charcoal. *Planta* 115, 281-283.
- Arditti, J.; Strauss, M.S.; 1979.- Taro Tissue Culture Manual. Developmental and cell Biology, University of California, Information Document No. 44.
- Bini, G.; 1977.- La propagazione clonale "in vitro" (micropropagazione) *L'informatore Agrario* 48:28,637-28,645.
- Boxus, P.H.; Quoirin, M.; 1977.- Comportment en pépinière d'arbres fruitiers issus de culture "in vitro". *Acta Horticulturae* 78: 373-379.
- Centrale Ortofrutticola alla Produzione; 1979.- Laboratorio per la propagazione "in vitro" delle piante orto-flo-ro-frutticole. 2a. Giornata sulla Micropropagazione - Cesena, 22 Giugno 1979.
- Champagnat, M.; Morel, G.; Moonetou, B.; 1970.- La multiplication végétative des Cattleya. A partir de jeunes feuilles cultivées aseptiquement in vitro. *Ann. Sci. Nat. Botan. Biol. Végétale* 11: 87-114.
- Colin, J.; Verhoge, M.; 1976.- Anatomical study of Prunus - Meristematic tips (Cherry, plum, peach-virus free propagation) *Acta Horticulturae* 67:87-95.
- Fisher, D.V.; 1971.- Les porte greffese nanisants du pêcher. Extrait de *American fruit growers* de mars et avril 1971 traduction de: Sylvain Breton I.N.V.U.F.L.E.C. Bordeaux.

- Feucht, W.; Nachit, M.; 1977.- Flavonals and growth promoting catechins in young shoot tips of prunus species- and hybrids *Physiol. Plant.* 40:230-234.
- Gamborg, O.L.; Murashige, T.; Thorpe, T.A.; Vasil, I.K.; - 1976: Plant Tissue culture media. *In Vitro* 12(7) 473-478.
- Hedtrich, C.M.; 1977.- Differentiation of cultivated leaf-discs of prunus Mahaleb. *Acta Horticulturae* 78:177- - 183.
- Hernández, P.M.L.; 1981.- Propagación masiva "in vitro" de dos cultivares de violeta africana (Saintpaulia ionantha Wendl). Tesis profesional U.N.A.M. Facultad de Ciencias.
- Jones, O.P.; Pontikis, C.A.; Hopgood, M.E.; Inglis, E.M.; - 1979.- Propagation "in vitro" of five apple scion cultivars. *J. Hort. Sc.* 54: 155-158.
- Luckwill, L.; 1976.- Frutteto prato; un nuovo concetto in impianti ad alta densità. *Frutticoltura* 38-2.
- Luna, R.B.S.; 1982.- Propagación "in vitro" De la Orquidea Laelia anceps . var. aiba. Tesis profesional UNAM -- Facultad de Ciencias, México.
- Monaco, L.C.; Medina, H.; Söndahl, M.R.; 1974.- Perisperm-culture of coffee SBPC. Meeting Recife 26:240.
- Morel, G.M.; 1965.- Guerison des plantes atteintes de maladies a virus; par culture de meristemes apicaux, Report of XIV intern. Hort. Cong. Netherlands 303-310.

Murashige, T.; Skoog, F.; 1962.- A revised medium for rapid growth and Bio Assays with tobacco tissue cultures. --
Physiologia Plantarum 15: 453-497.

_____ ; Shabde, M.N.; Hasegawa, P.H.; Takatori, F.H.
Jones, J.B.; 1972.- Propagation of asparagus through-
shoot apex culture. I. Nutrient Medium for Formation -
of Plantelets. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97:2: 158-161.

_____ ; Serpa, M.; Jones, B.J.; 1974.- Clonal Propa-
gation of Gerbera through Tissue Culture Hortscience.-
9:175-180.

Muriithi, L.M.; Rangan, T.S.; Waite, B.H.; 1982.- In Vitro-
Propagation of Fig through shoot tip Culture. Hort----
science 17(1) 86-87.

Pasy, P.; 1947.- Pêcher, Abricotier, Prunier, Cericier, ---
Framboisier, Groseillier. Petit Biblioteque Agricole-
Paris. 97 p.

Pieniasek, J.; Jankiewicz, L.S.; 1966.- Development of Co--
llateral buds due to Benzylaminopurine in dormant ---
apple shoots. Bulletin de L'Academie Polonaise des --
Sciences. Vol. XIV 3:185-187.

Rosati, P.; Marino, G.; 1979.- Micropropagazione dei Porta-
innesti degli alberi da frutto. Nota I. Micropropaga--
zione di Quattro Portainnesti del Pesco. en Tecniche -
di colture "in vitro" per la propagazione su vasta sca
la delle specie Ortoflorofrutticole. Consiglio Nazio-
nale Delle Ricerche. 173-183.

Seirilil, G.; Mooras, A.; Salesses, G.; 1979.- Trial of in-
vitro culture of anthers and fragments in prunus spp.-
Annales del"Ameliorati6n des plantes 29(2):145-161.

- Tamaro, D.; 1974.- Tratado de Fruticultura (Traducción de la 4a. edición Italiana), Ed. Gustavo Gili, S.A. Barcelona, España.
- Wareing, P.F.; Phillips, I.D.J.; 1978.- The control of --- growth and differentiation in plants 2nd. Edition 347 p Pergamon press.
- Willis, J C.; 1973.- A dictionary of the flowering plants and ferns. Cambridge University Press.
- Winton, L.L.; 1978.- Morphogenesis in clonal propagation - of woody plants. Proc. 4th. int. cong. of plant tissue and cell culture. University of Calgary, Canadá. 419 -426.

CUADRO 1

PRODUCCION NACIONAL FRUTICOLA DE 1977

ESPECIE	SUP. COSECHADA HA .	PRODUCCION TON..
Naranja	164,718	1'861,650
Plátano	66,538	1'257,212
Limón Mexicano	49,680	444,642
Mango	45,718	405,155
Aguacate	45,239	333,523
Manzana	40,035	187,764
Uva	31,929	296,604
Durazno	25,279	192,544
Guayaba	14,082	116,917

FUENTE: Subdirección Comercial, CONAFRUT; y Dirección General de Economía Agrícola (DGEA).

CUADRO 2

COMPOSICION QUIMICA DEL FRUTO DEL DURAZNO
POR 100 GR. DE PULPA

Calorías	52	
Húmedad	85.3	%
Proteínas	0.8	gr.
Grasas	0.2	gr.
Carbohidratos	13.3	gr.
Fibra	0.9	gr.
Cenizas	0.4	gr.
Calcio	12	mg.
Fósforo	26	mg.
Potasio	202	mg.
Hierro	1.1	mg.
Vitamina A	5	mg. (1,330 U.I)
Tiamina	0.03	mg.
Riboflavina	0.06	mg.
Niacina	0.4	mg.
Acido Ascórbico	28	mg.

FUENTE: Nutritive Value of foods, USDA 1978
Bulletin Number 72.

TETELA DEL VOLCAN		MOR				2200		1853'						
estación		altitud				latitud			clas. climática					
	años	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	ANUAL
* TEMPERATURA														
Máxima media	(3)	22.5	23.6	25.8	26.5	25.9	21.9	21.3	21.9	21.7	22.0	22.4	21.8	23.1
Mínima media	(3)	9.6	9.5	11.6	13.3	14.0	13.8	12.9	12.8	12.7	11.6	11.2	9.1	11.8
Máxima absoluta	(10)	26.0	27.0	29.0	30.5	32.0	29.0	27.0	26.0	24.0	25.0	27.0	26.0	.
Mínima absoluta	(10)	2.0	2.5	7.0	8.0	9.0	9.0	8.0	10.0	9.0	8.0	3.0	5.0	
Mínimo minimorum	(10)	2.0												
MEDIA	(10)	15.3	16.3	18.3	19.9	19.9	17.7	18.6	17.7	17.2	16.8	16.3	15.5	17.5
* LLUVIA														
	(10)	18	5	18	31	100	232	215	228	262	99	24	11	1243
* EVAPORACION														
	(10)	118	143	193	210	182	119	102	99	67	76	80	84	1473
* INSOLACION														
* RADIACION														
* DATOS COMPLEMENTARIOS														
Días con helada														
Días con granizo														

FUENTES: DIRECCION GENERAL DE OBRAS HIDRAULICAS D.D.F. (Sánchez 1975).

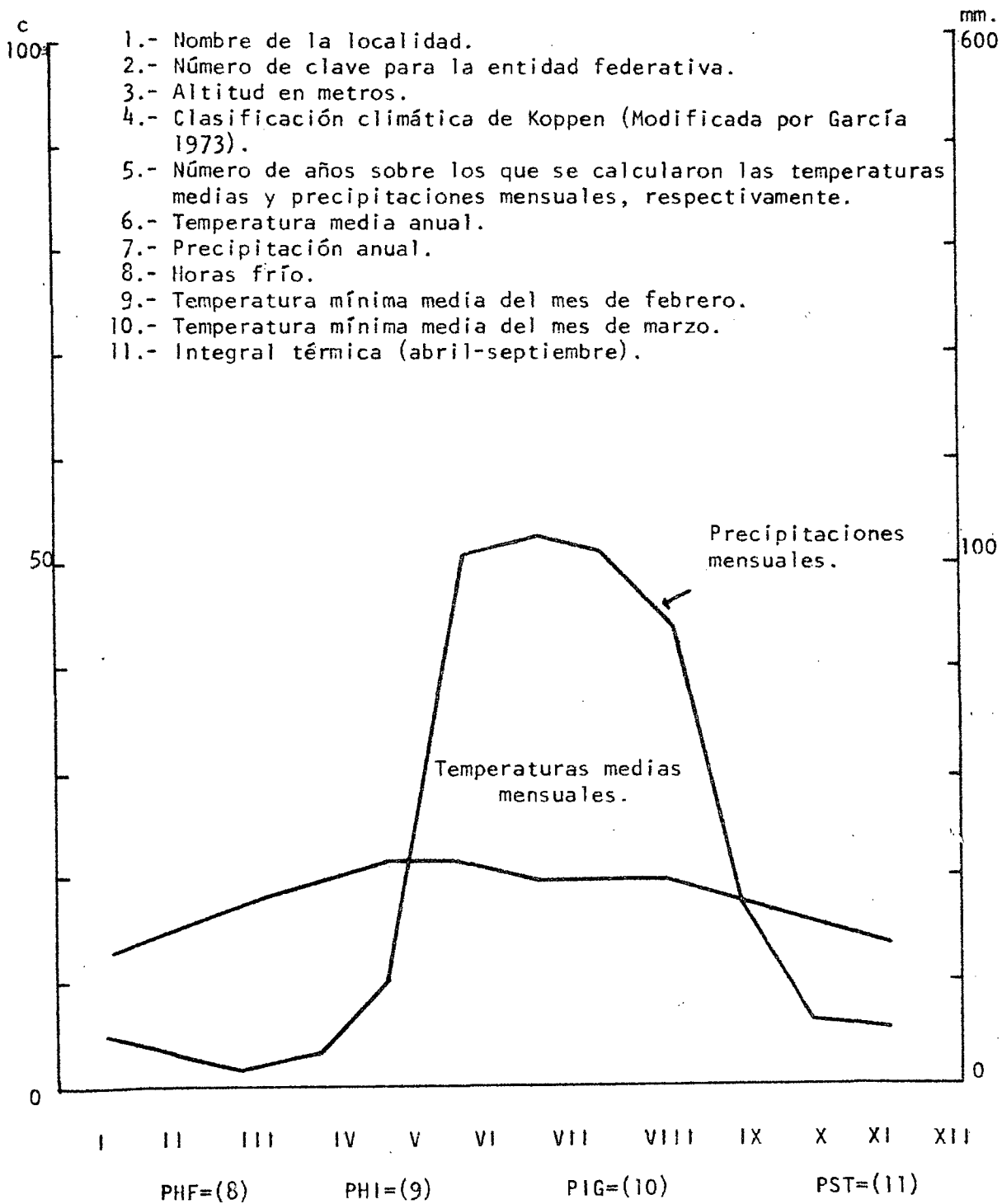
ELABORO: PROGRAMA DE AGROCLIMATOLOGIA

COMISION NACIONAL DE FRUTICULTURA

(1) (2) (3) (4) (5) (6) (7)

CLAVE DEL DIAGRAMA OMBROTERMICO

- 1.- Nombre de la localidad.
- 2.- Número de clave para la entidad federativa.
- 3.- Altitud en metros.
- 4.- Clasificación climática de Köppen (Modificada por García 1973).
- 5.- Número de años sobre los que se calcularon las temperaturas medias y precipitaciones mensuales, respectivamente.
- 6.- Temperatura media anual.
- 7.- Precipitación anual.
- 8.- Horas frío.
- 9.- Temperatura mínima media del mes de febrero.
- 10.- Temperatura mínima media del mes de marzo.
- 11.- Integral térmica (abril-septiembre).



TETELA DEL VOLCAN

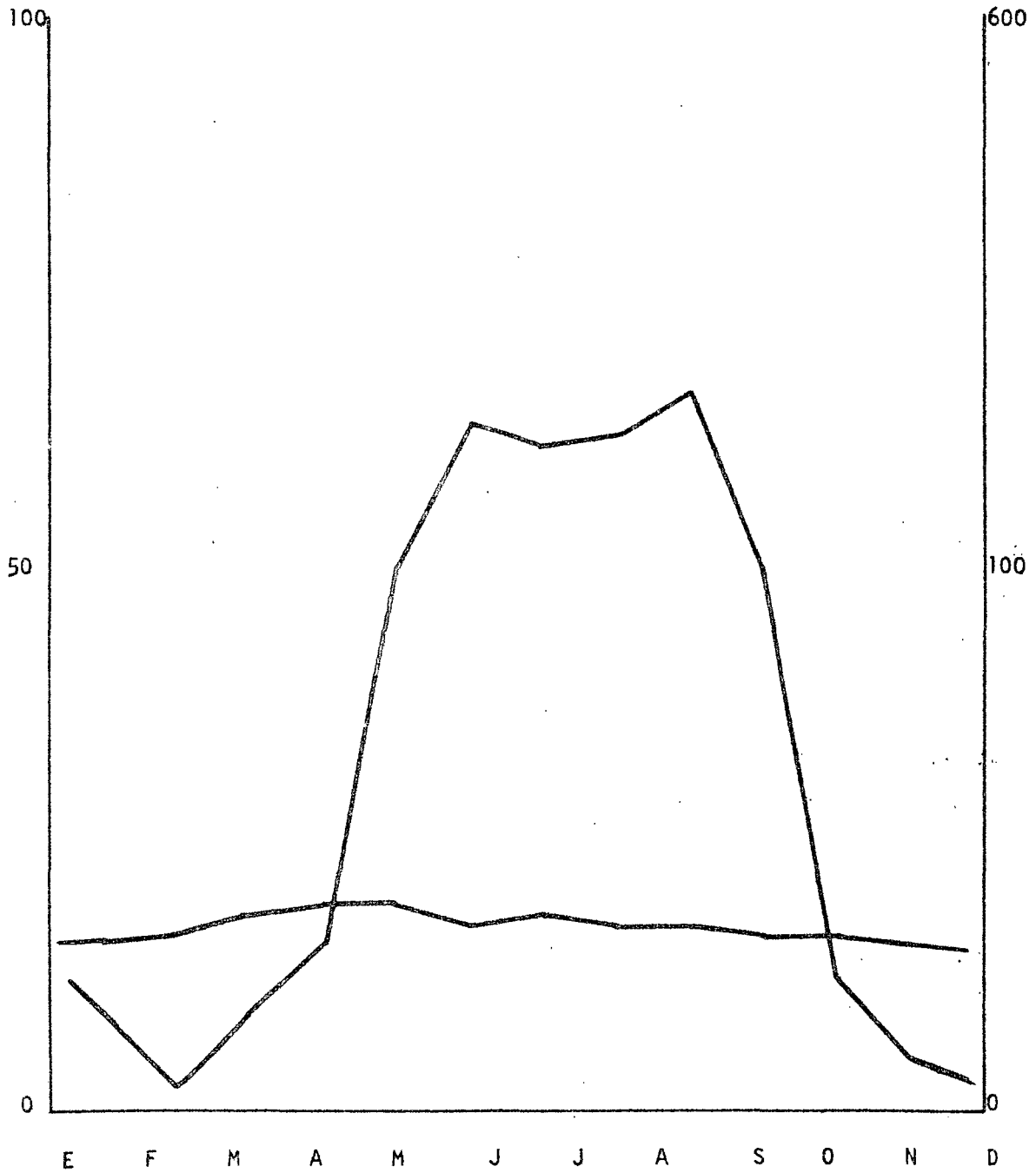
17

2200

10-10

17.5

1243



PHF=283.4

PIH=9.5

PIG=11.6

PST=1530.0

RENDIMIENTO DE LOS ARBOLES DE DURAZNO DE TETELA DEL VOLCAN
TIPO "BLANCO", (DIC. 1979).

CLAVE	RENDIMIENTO (Kg)/ARBOL	No. FRUTOS	\bar{X} PESO/FRUTO (g)
TV-1B	13.3	396	33.73
TV-2B	63.8	1635	39.05
TV-3B	25.3	835	30.33
TV-4B	1.7	39	44.14
TV-6B	4.75	138	34.45
TV-8B	6.00	119	50.48
TV-9B	16.82	328	51.31
TV-10B	1.09	29	37.7

** Tomado de Chávez 1979.

RENDIMIENTO DE LOS ARBOLES DE DURAZNO DE PULPA AMARILLA
DE TETELA DEL VOLC., EDO. DE MORELOS (DIC. 1979).

CLAVE	RENDIMIENTO/ (Kg) árbol	No. DE FRUTOS /árbol	X PESO/FRUTO (g).
TV-1A	3.38	25	155.36
TV-2A	47.86	617	77.57
TV-3A	58.13	1350	43.06
TV-4A	78.87	2025	38.95
TV-5A	44.65	1165	38.33
TV-6A	36.72	1080	34.00
TV-7A	79.49	1208	65.81
TV-8A	9.9	172	57.58
TV-9A	52.9	931	56.83
TV-10A	*	*	48.35
TV-11A	47.52	837	56.78
TV-12A	55.62	748	74.37
TV-13A	97.50	1336	72.98
TV-14A	88.65	1340	66.16

*Fueron cosechados

** Tomado de Chávez 1979.

BIBLIOTECA ESPECIAL



Esta publicación se imprimió
en la Subdirección de Inves-
tigación y Docencia. Consta
de 100 ejemplares.

UNIDAD DE INFORMACION MEDIO AMBIENTAL (U I M A)
BIBLIOTECA ESPECIALIZADA



U I M A
BIBLIOTECA ESPECIALIZADA

Comisión Nacional de Fruticultura-S.A.R.H.
Subdirección de Investigación y Docencia.
División de Investigación y Desarrollo -
Experimental.
Palo Alto, México, D. F. C. Postal 05110
Apartado Postal 41 - 740
Teléfonos: 570-24-99 Ext. 167 -168 -169
570-17-79 Directos
570-16-79