

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
ESCUELA DE POSTGRADO
SECCION DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS



**EFFECTO DE LOS NIVELES DE BENCILAMINOPURINA EN EL
ESTABLECIMIENTO IN VITRO A PARTIR DE NUDOS DE FRAMBUESA
(*rubus idaeus* L.).**

**PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
MENCION EN ESTADÍSTICA APLICADA**

AUTOR: ING. ELMIS JONATAN GARCÍA ZARE.
ASESOR: DR. JEANETTE B. GONZÁLEZ CASTRO.

TRUJILLO – PERÚ
2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
ESCUELA DE POSTGRADO
SECCION DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS



**EFFECTO DE LOS NIVELES DE BENCILAMINOPURINA EN EL
ESTABLECIMIENTO IN VITRO A PARTIR DE NUDOS DE FRAMBUESA
(*rubus idaeus* L.).**

**PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
MENCION EN ESTADÍSTICA APLICADA**

AUTOR: ELMIS JONATAN GARCÍA ZARE.
ASESOR: DR. JEANETTE B. GONZÁLEZ CASTRO.

TRUJILLO – PERÚ
2014

RESUMEN

Se realizó un estudio experimental controlado, a nivel de laboratorio, en la que se buscaba evaluar el efecto de la aplicación de bencilaminopurina (BAP) a diferentes concentraciones (0ppm, 1ppm, 3ppm y 5ppm) en nudos de frambuesa (*rubus idaeus* L.). Las variables medidas fueron: *longitud de brote mayor* y *número de brotes*. Las respuestas en la variable *longitud de brote mayor*, se analizaron con el método ANOVA, encontrándose diferencias estadísticamente significativas, consecuentemente el test de Tukey demostró que la concentración de 1ppm da mejores resultados. Las respuestas en la variable *número de brote mayor*, se analizaron teniendo en cuenta un Modelo Lineal Generalizado (MLG), específicamente el modelo *Log-lineal de Poisson* (dada la naturaleza discreta de la variable); encontrándose que no existen diferencias estadísticamente significativas, aun así, en la concentración de 1ppm se observa mayor respuesta en esta variable.

Palabras claves: frambuesa, Anova, Modelo Lineal Generalizado.

ABSTRACT

A controlled, laboratory-scale, which is sought to evaluate the effect of application of benzylaminopurine (BAP) at different concentrations (0 ppm, 1 ppm, 3 ppm and 5 ppm) in experimental study knots raspberry (*Rubus idaeus* L.) is performed. The variables measured were: *the length of the largest outbreak* and *the number of outbreaks*. Responses in the variable *length of the largest outbreak*, were analyzed using ANOVA, with statistically significant differences, Tukey's test result showed that the concentration of 1ppm gives better results. The responses in the variable *the number of outbreaks*, were analyzed considering a Generalized Linear Model (GLM), specifically the *Log-linear Poisson* model (given the discrete nature of the variable), finding that there were no statistically significant differences, even Thus, higher concentration of 1 ppm is observed in the response variable.

Keywords: raspberry, Anova, Generalized Linear Model.

Dedicatoria

A mis padres:

Elmis y Mariana

*Por sus enseñanzas, consejos y apoyo incondicional,
los cuales brindan la suficiente fortaleza para
superarme día a día como persona y profesional.*

A mis hermanos:

Hugo, Michielle y Pamela

*Por su comprensión, ánimos, compañía
y palabras de aliento que necesitaba.*

A mi abuelita:

Teonila

*Por sus grandes consejos, ayuda incondicional
y por enseñarme a dale valor moral
a cada logro alcanzado.*

A Neryda:

*Por todo el amor y comprensión
durante esta etapa académica
tan importante en mi vida.*

Agradecimientos

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Nacional de Trujillo y a la plana docente que la integra, por la formación científica y académica, la cual hoy me permite alcanzar grandes logros profesionales.

A mis profesores:

Mi más sincero agradecimiento a la **Dr. Jeanette B. Gonzales Castro**, por sus enseñanzas a nivel de pregrado, que motivaron mis estudios de postgrado, así como su calidad profesional en sus enseñanzas a nivel de postgrado y su vocación de servicio al prójimo; digno modelo a seguir.

Mi agradecimiento especial al **Dr. Eloy López Medina** y su asistente, **Sra Carmen**, por sus aportes científicos y apoyo en la ejecución de este proyecto de investigación en el Laboratorio de Fisiología y Cultivo de Tejidos Vegetales de la Escuela de Ciencias Biológicas.

A todos los miembros del **grupo de investigación R-Project en Español**, cuyos conocimientos y sugerencias en el manejo del software estadístico R, permitieron la culminación de esta tesis.

A todas aquellas personas que sin esperar nada a cambio compartieron plática y conocimiento en esta tesis.

ÍNDICE

<i>Contenido</i>	<i>Página</i>
Resumen	i
Abstract	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos.....	iv
INDICE	v
INDICE DE TABLAS Y FIGURAS	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Definiciones Biológicas.....	6
2.1.1. Micropropagación.	6
2.1.2. Establecimiento in vitro.	6
2.1.3. Explanto.	6
2.1.4. Nudos.	6
2.1.5. Yema.	7
2.1.6. Medio Nutritivo.....	7
2.1.7. Macronutriente.	7
2.1.8. Micronutriente.	7
2.1.9. Fitohormona.	7
2.1.10. M&S.....	8
2.1.11. BAP.	8
2.1.12. Esterilización.....	8
2.1.13. Raíz principal.	8
2.2. Definiciones Estadísticas.....	8
2.2.1. Modelo Lineal General.....	8
2.2.2. Análisis de varianza.	9
2.2.3. Modelos Lineales Generalizados.	9
2.2.4. Análisis de Devianza.	9
2.2.5. Normalidad de errores.....	9

2.2.6.	Test de Shapiro Wilks.	10
2.2.7.	Homogeneidad de varianzas.....	10
2.2.8.	Test de Bartlett.	10
2.2.9.	Test de Tukey (post anova).	10
2.3.	PROBLEMA	11
2.4.	HIPÓTESIS	11
2.5.	OBJETIVOS.....	11
2.5.1.	OBJETIVO GENERAL	11
2.5.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
2.6.	JUSTIFICACIÓN.....	12
2.6.1.	JUSTIFICACIÓN CIENTÍFICA.	12
2.6.2.	JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA.	12
2.6.3.	JUSTIFICACIÓN SOCIAL.	13
III.	MATERIAL Y MÉTODOS	14
3.1.	MATERIAL DE ESTUDIO	14
3.1.1.	POBLACIÓN	14
3.1.2.	MUESTRA.....	14
3.1.3.	UNIDAD EXPERIMENTAL.	14
3.2.	MÉTODOS Y TÉCNICAS.	14
3.2.1.	MÉTODOS.....	14
3.2.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	14
3.2.3.	FACTOR.....	15
3.2.4.	VARIABLES RESPUESTA.....	15
3.2.5.	ANÁLISIS DE VARIANZA.	15
3.2.5.1.	MODELO.....	15
3.2.6.	MODELO LINEAL GENERALIZADO.	17
3.2.6.1.	MODELO LOGLINEAL DE POISSON.	19
3.2.6.2.	AJUSTE DEL MODELO (DEVIANZA).	19
3.2.6.3.	TABLA DE ANÁLISIS DE DEVIANZA.	20
IV.	RESULTADOS.....	21
4.1.	ANÁLISIS PARA LA VARIABLE “LONGITUD DE BROTE MAYOR”.	21
4.1.1.	ANÁLISIS EXPLORATORIO.....	21

4.1.2.	ANÁLISIS DE VARIANZA.	23
4.1.3.	PRUEBA POST-ANOVA.....	24
4.1.4.	PRUEBA DE NORMALIDAD.	25
4.1.5.	PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS.	26
4.2.	ANÁLISIS PARA LA VARIABLE “NÚMERO DE BROTES”.	27
4.2.1.	ANÁLISIS EXPLORATORIO.....	27
4.2.2.	ANÁLISIS DE DEVIANZA.....	29
V.	DISCUSIÓN	30
VI.	CONCLUSIONES	34
VII.	RECOMENDACIONES	35
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
IX.	ANEXOS.....	39
9.1.	EVALUACIÓN DEL SUPUESTO DE DISTRIBUCIÓN DE POISSON	39
9.2.	USO DE ANOVA PARA LA VARIABLE NÚMERO DE BROTES.	39
9.3.	CODIFICACIÓN PARA USO DEL SOFTWARE ESTADÍSTICO “R”.....	41
9.4.	FOTOGRAFÍAS DEL TRABAJO DE LABORATORIO.....	43
9.5.	BASE DE DATOS DEL EXPERIMENTO.	45

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	<i>Contenido</i>	<i>Página</i>
Tabla 1.	Estadísticas de resumen para la variable “longitud de brote mayor” según niveles de bencilaminopurina (BAP).	22
Tabla 2.	Análisis de Varianza para la variable respuesta “longitud de brote mayor” según niveles de bencilaminopurina (BAP).	23
Tabla 3.	Prueba Post-Anova: Test de Tukey.	24
Tabla 4.	Prueba de Normalidad de los residuos del modelo propuesto para la variable “longitud de brote mayor”.	25
Tabla 5.	Prueba de homogeneidad de varianzas del modelo propuesto para la variable “longitud de brote mayor”.	26
Tabla 6.	Estadístico de resumen para la variable “número de brotes”, según niveles de bencilaminopurina (BAP).	28
Tabla 7.	Análisis de Devianza para la variable respuesta “número de brotes”.	29
Tabla 8.	Test Chi - cuadrado para evaluar supuesto de distribución de Poisson en la variable número de brotes	39
Tabla 9.	Análisis de Varianza para la variable respuesta “número de brote”.	39
Tabla 10.	Prueba de Normalidad de los residuos del modelo propuesto para la variable “número de brotes”.	40
Tabla 11.	Prueba de homogeneidad de varianzas del modelo propuesto para la variable “número de brote”.	40
Figura 1.	Longitud de brote mayor según niveles de bencilaminopurina (BAP)	21
Figura 2.	Normal Q-Q Plot. Evaluación gráfica de Normalidad de residuos.	25
Figura 3.	Número de brotes según niveles de bencilaminopurina (BAP).	27
Figura 4.	Nudos de planta de frambuesa (<i>rubus idaeus</i> L.) sometidos a tratamiento con BAP (0ppm, 1ppm, 3ppm, 5ppm).	43
Figura 5.	Brotos de frambuesa (<i>rubus idaeus</i> L.) obtenido a partir del tratamiento con BAP 1ppm,	44

I. INTRODUCCIÓN

La frambuesa es uno de los frutos de clima templado de mayor precio unitario en el mercado como producto fresco, y de interés para la agroindustria; pertenece a la familia de las Rosáceas, género *Rubus*; es un arbusto que forma parte del grupo de los berries o frutales menores y está compuesta por agua, calorías, proteínas, hidratos de carbono, fibra, potasio, sodio, fósforo, calcio, magnesio, hierro, zinc y sus diversas vitaminas (Manero & Cillóniz, 2014).

Recientemente, se han identificado propiedades medicinales, por ejemplo, evita enfermedades degenerativas, como el cáncer, además su alto contenido en vitamina A lo convierte en el alimento ideal para conservar la vista en buen estado e incrementa la agudeza visual, también es aconsejado este alimento en las dietas saludables, en las dietas depurativas o en aquellas en las que se pretende adelgazar, dado su riqueza en vitaminas, minerales y antioxidantes, por su elevada proporción de agua, sus bajas calorías y su riqueza en potasio y fibra (Botanical-online SL, 2012).

Todas estas propiedades han influido en su demanda en el mercado, principalmente europeo; siendo los mayores exportadores, España, EE.UU., Chile y Canadá, que aportan entre los cuatro el 76% de las exportaciones; sin embargo, tanto EE. UU., como Canadá integran la lista de los mayores importadores; debido a que la demanda del producto en la actualidad se encuentra altamente insatisfecha al ser consumidores durante la temporada y fuera de ella. (Ciravegna et al., 2004).

La expresión cultivo in vitro de plantas, significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. Esta forma de cultivar las plantas tiene dos características fundamentales: la asepsia (ausencia de gérmenes, enfermedades, etc.), y el control de los factores como *fitohormonas* y los *micro y macro nutrientes* que afectan el crecimiento (Abdelnour & Vincent, 1994).

La propagación de plantas frutales mediante cultivo in vitro, hoy en día, es muy utilizada, así por ejemplo, en Costa Rica se hizo un estudio para el establecimiento in vitro y pruebas preliminares de micropropagación en medio semisólido y líquido de frambuesa con miras a competitividad internacional (Castro & Mora, 2007).

La micropropagación es el conjunto de técnicas y métodos de cultivo de tejidos utilizados para multiplicar plantas asexualmente en forma rápida, eficiente y en grandes cantidades, se utiliza para multiplicar o propagar plantas nuevas, tales como aquellas creadas por ingeniería genética, mutagénesis o mejoramiento genético, así como también para obtener plantas libres de enfermedades (tales como virosis) u obtener grandes cantidades de plantas que no se propagan eficientemente. (Abdelnour & Vincent, 1994).

Los micronutrientes y macronutrientes, son un conjunto de soluciones nutritivas que contiene los nutrientes necesarios para el desarrollo de la planta, su composición conforma el denominado *medio de cultivo M&S* (Murashige & Skoog, 1962). Esta sustancia es suplementada con fitohormonas, motivo de diversas investigaciones en cultivo in vitro.

Las fitohormonas o también llamadas hormonas vegetales son sustancias químicas producidas por algunas células vegetales en sitios estratégicos de la planta y estas hormonas vegetales son capaces de regular de manera predominante los fenómenos fisiológicos de las plantas, es decir, controlan un gran número de sucesos, entre ellos el crecimiento de las plantas, la caída de las hojas, la floración, la formación del fruto y la germinación, es decir una fitohormona interviene en varios procesos, y del mismo modo todo proceso está regulado por la acción de varias fitohormonas. (Abdelnour & Vincent, 1994).

El uso de hormonas en la agricultura se ha enfocado principalmente a las auxinas (AIB para enraizar, ANA para raleo de fruto, 2,4-D como herbicida, etc.), las giberelinas (Ácido Giberélico) para crecimiento de planta y frutos, ethephon (madurez de frutos, caída de órganos), u otros más específicos por cultivo como el mepiquat para detener crecimiento en algodón o la cianamida hidrogenada para estimular la apertura de yemas en árboles frutales. (Gutiérrez, 2003).

Actualmente, la utilización de citoquininas para regular y/o manipular eventos fisiológicos específicos en los cultivos, está siendo cada vez más generalizada, ya que la agricultura dispone de productos comerciales lo suficientemente específicos y eficientes para ejercerlos. Existen ya infinidad de casos específicos del uso de citoquininas en la producción de cultivos comerciales que cuentan con productos con formulaciones de alta reactividad, a base de Forclorfenurón o CPPU, que se aplican en todo tipo de hortalizas, frutales, plantas de ornato, uva de mesa, algodón, maíz, trigo, garbanzo, frijol, etc. (Mok & Mok, 2001)

Una de las fitohormonas frecuentemente utilizadas es la bencilaminopurina (BAP), por dar favorables resultados en la búsqueda de mejores respuestas de rendimiento en diversas características de una planta en estudio, así, Vílchez en el 2009 utilizó 6-BAP para la multiplicación in vitro de ocumo criollo, obteniéndose buenos resultados en la inducción de brotes; Cárdenas, en el 2010, usó BAP en el desarrollo de yemas en injertos de cacao para lograr la renovación de cultivos de cacao y por ende mejorar su rendimiento en Colombia; en Guatemala, García, en el 2004 realizó una tesis donde muestra la importancia de la aplicación de BAP (entre otras fitohormonas) para la micropropagación de mora; por otro lado, Jones y Flores, investigadores chilenos, en el 2007, hicieron pruebas con BAP y AG3 (ácido giberílico) y ácido ascórbico, cuyo objetivo fue evaluar la micropropagación de frambuesa pero además, dando especial interés a los métodos de desinfección para reducir la mortandad de unidades experimentales que demanda el experimento.

En Perú, se está impulsando la producción de frambuesas, con el objetivo de desarrollar un fruto con alta calidad genética en zonas andinas para generar riqueza en las localidades de exclusión social de nuestro país. Sin embargo las plántulas in vitro de este fruto, son provenientes de Chile (Manero & Cillóniz, 2011).

No se han encontrado, en Perú, investigaciones específicamente con frambuesa; sin embargo, Chico, profesor de la Universidad Nacional de Trujillo, en 2007, realizó estudios de regeneración de plántulas de fresa haciendo uso de BAP.

El uso de BAP en investigaciones peruanas ha tenido muchas aplicaciones, como en Influencia de Bencilaminopurina (BAP) en la proliferación de yemas axilares

in vitro de *Ananas comosus* L. Merr. “piña” (S. López, 1998); se investigó con BAP, la regeneración de *Solanum pimpinellifolium* “tomate pasa” y en el desarrollo in vitro de *Encyclia microtos* (Rchb.F.) “orquídeas” (Chico, 2007).

Es por ello que, en esta investigación se propuso conocer el nivel de bencilaminopurina que tiene mayor efecto en el establecimiento in vitro a partir de nudos de frambuesa (*rubus idaeus* L.), procedentes de la localidad de Huanchaco – Trujillo, para lo cual se trabajó en el Laboratorio de Fisiología y Cultivo de Tejidos Vegetales de la Escuela de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo; y cuyas variables a medidas fueron: *longitud de brote (cm) mayor* y *número de brotes*, dado que la mayor respuesta en estas variables (así como en otras variables), permite un mejor aprovechamiento de la luz y por lo tanto tiene mayor eficiencia fotosintética. (Pérez, 1998).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Definiciones Biológicas.

2.1.1. Micropropagación.

Conjunto de técnicas y métodos in vitro de cultivo de tejidos vegetales, empleados para la multiplicación masiva de plantas en forma rápida y eficiente bajo condiciones ambientales controladas y asépticas.

2.1.2. Establecimiento in vitro.

Secuencia por la cual se obtienen plantas in vitro a partir del cultivo de un explanto, lo cual implica desde la selección del tejido a micropropagar, desinfección, selección del medio nutritivo, siembra, control de condiciones ambientales como luz y temperatura y finalmente aclimatación de las plantas obtenidas.

2.1.3. Explanto.

Fragmento de una planta que se escinde y se prepara de forma aséptica para su cultivo en un medio nutritivo.

2.1.4. Nudos.

Estructura del tallo, ligeramente hinchada, donde se insertan hojas y yemas y de la cual arrancan las ramas.

2.1.5. Yema.

Región de tejido meristemático de las plantas con el potencial para originar hojas, tallos, flores o sus combinaciones; generalmente se encuentran protegidas por hojas con forma de escamas.

2.1.6. Medio Nutritivo.

Solución acuosa donde se encuentran disueltas sales minerales sintéticas entre macronutrientes y micronutrientes, además de fuentes de carbono como sacarosa y, vitaminas, aminoácidos y algunos reguladores de crecimiento (fitohormonas).

2.1.7. Macronutriente.

Elemento químico esencial para un crecimiento y desarrollo normal, se encuentra principalmente nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio.

2.1.8. Micronutriente.

Elemento esencial que se precisa en cantidades pequeñas, se encuentran zinc, cobre, manganeso, hierro.

2.1.9. Fitohormona.

Sustancia que estimula el crecimiento y otros procesos fisiológicos de las plantas.

2.1.10. M&S.

Siglas del medio de cultivo formulado por Murashige y Skoog en 1962, es una composición de sales nutritivas sintéticas, ampliamente utilizadas en la micropropagación de cultivos vegetales.

2.1.11. BAP.

Bencil Amino Purina, fitohormona tipo cinina que promueve la división y diferenciación celular.

2.1.12. Esterilización.

Proceso validado por medio del cual se consigue la eliminación absoluta de microorganismos contaminantes en los medios nutritivos, a través del calor y alta presión.

2.1.13. Raíz principal.

Eje descendiente de una planta, sirve de fijación y para absorber y conducir agua y nutrientes minerales.

2.2. Definiciones Estadísticas.

2.2.1. Modelo Lineal General.

Con el Modelo Lineal General se pueden contrastar hipótesis nulas sobre los efectos de otras variables en las medias de varias agrupaciones de una única variable dependiente. Se pueden investigar las interacciones entre los factores así como los efectos de los factores individuales, algunos de los cuales pueden ser aleatorios. Para este modelo debe tenerse en cuenta

supuestos estadísticos: normalidad, homocedasticidad, independencia, aleatoriedad, linealidad y aditividad.

2.2.2. Análisis de varianza.

El análisis de varianza (ANOVA) es un método de análisis de datos de variables respuestas cuantitativas, generalmente procedente de diseños experimentales obtenidos como efecto de la aplicación de asignación aleatoria de tratamientos.

2.2.3. Modelos Lineales Generalizados.

Los modelos lineales generalizados son una extensión de los modelos lineales que permiten utilizar distribuciones no normales de los errores (binomial, Poisson, gamma, etc.) y varianzas no constantes. Ciertos tipos de variables respuesta sufren invariablemente la violación de estos dos supuestos y los GLM ofrecen una buena alternativa para tratarlos.

2.2.4. Análisis de Devianza.

El análisis de la devianza es una generalización del análisis de la varianza para los GLM obtenido para una secuencia de modelos anidados (cada uno incluyendo más términos que los anteriores).

2.2.5. Normalidad de errores.

Una de las hipótesis básicas del modelo de diseño de experimentos con un factor es que los errores del modelo siguen una distribución normal.

2.2.6. Test de Shapiro Wilks.

El Test de Shapiro–Wilks se usa para contrastar la normalidad de un conjunto de datos, en este caso, la normalidad de errores del modelo.

Ho : los datos provienen de una población normalmente distribuida

Hi : los datos NO provienen de una población normalmente distribuida

2.2.7. Homogeneidad de varianzas.

Supuesto estadístico en el que se debe determinar si dos o más muestras tienen igual varianza.

2.2.8. Test de Bartlett.

Se usa para contrastar si k muestras tienen la misma varianza, es decir, la homogeneidad de varianzas. Otros contrastes, como por ejemplo el análisis de la varianza, suponen que las varianzas son iguales para todos los grupos, de ahí la importancia de verificar con la prueba de Bartlett esa hipótesis.

Ho : Varianzas homogéneas

Hi : Varianzas heterogéneas

2.2.9. Test de Tukey (post anova).

Cuando se realiza un análisis de varianza, un valor de F significativo nos indica que no todas las condiciones producen el mismo efecto sobre la variable respuesta. Con el fin de tener mayores elementos para la toma de decisiones es importante saber dónde se encuentran dichas diferencias significativas, por tanto, una de las pruebas que nos permite evaluar dicha diferenciación es la prueba de Tukey.

2.3. PROBLEMA

¿Cuál es el nivel de bencilaminopurina que tiene mayor efecto en el establecimiento in vitro a partir de nudos de frambuesa (*rubus idaeus L.*)?

2.4. HIPÓTESIS

El nivel 3ppm de bencilaminopurina tiene mayor efecto en el establecimiento in vitro a partir de nudos de frambuesa (*rubus idaeus L.*).

2.5. OBJETIVOS

2.5.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar el nivel de bencilaminopurina que tiene mayor efecto en el establecimiento in vitro a partir de nudos de frambuesa (*rubus idaeus L.*).

2.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el nivel de bencilaminopurina que tiene mayor efecto en la longitud de brote mayor a partir de nudos de frambuesa (*rubus idaeus L.*)
- Determinar el nivel de bencilaminopurina que tiene mayor efecto en el número de brotes a partir de nudos de frambuesa (*rubus idaeus L.*)

2.6. JUSTIFICACIÓN.

2.6.1. JUSTIFICACIÓN CIENTÍFICA.

La necesidad de realizar esta investigación se centra en poder determinar la mejor respuesta frente a diversas concentraciones de bencilaminopurina, que sirva como referencia a futuras investigaciones peruanas para establecer mejores niveles de concentración de esta fitohormona.

El análisis de la influencia de la bencilaminopurina en las variables dependientes consideradas se hace con dos metodologías: Para el caso de la variable cuantitativa continua, se usa el análisis de varianza univariante (ANOVA). Para el caso de la variable cuantitativa discreta, se emplea la metodología de los modelos lineales generalizados con la Regresión de Poisson, debido a la posible falta de cumplimiento de supuestos básicos para el uso de ANOVA. Esto incentivará a que en las investigaciones no se utilice deliberadamente el método de ANOVA sin hacer comprobaciones de los supuestos básicos para estos modelos, producto de no tener en cuenta la naturaleza de las variables en estudio.

2.6.2. JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA.

En el Perú existen condiciones adecuadas para promover el cultivo de la frambuesa gracias a sus características climáticas, que permite el crecimiento de una frambuesa de sabor, apariencia y tamaño superiores, factor que le otorga una ventaja comparativa respecto a otros

países competidores del hemisferio sur. Esta ventaja comparativa puede transformarse en ventaja competitiva que permita una participación en el mercado internacional. (Ramírez, 2012).

Debido a que EE.UU. y Canadá son los países de mayor consumo de frambuesa, cuya demanda se ve insatisfecha fuera de la temporada de producción (Ciravegna et al., 2004), el mercado de frambuesa representa una oportunidad prometedora. Además, EE.UU. es el mercado más atractivo, propuesto como principal destino de exportación, dada su cercanía con el Perú con respecto al resto de países del hemisferio norte, el tamaño de su mercado y el alto valor que le atribuyen a la frambuesa. (Ramírez, 2012).

2.6.3. JUSTIFICACIÓN SOCIAL.

Pensar en producción de frambuesa con fines de exportación, genera oportunidades laborales para los agricultores de la sierra de La Libertad, dada la política de inclusión social impulsada por el actual gobierno, y que genera mejor calidad de vida de las comunidades involucradas.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL DE ESTUDIO

3.1.1. POBLACIÓN

- Constituida por explantos de nudos de frambuesa procedentes de la localidad de Huanchaco – Trujillo.

3.1.2. MUESTRA

- 68 explantos de nudos de frambuesa (*rubus idaeus* L.)
- 17 repeticiones por cada nivel de tratamiento.

El número de explantos en el diseño no son completos en cada nivel de tratamiento, debido a la muerte temprana de algunos de ellos, lo que significa pérdida de información.

3.1.3. UNIDAD EXPERIMENTAL.

- Un explanto de nudos de frambuesa (*rubus idaeus* L.).

3.2. MÉTODOS Y TÉCNICAS.

3.2.1. MÉTODOS.

El método del estudio es experimental, debido a que se analiza el efecto producido por la acción o manipulación de una variable independiente o factor, en este caso bencilaminopurina (BAP), considerando los niveles: 0ppm, 1ppm, 3ppm y 5ppm sobre las variables respuesta: longitud de brote mayor y número de brotes.

3.2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Corresponde al diseño completamente aleatorizado, en un experimento unifactorial (bencilaminopurina), con respuesta bivariada (longitud de brote mayor y número de brotes) cuya técnica de análisis

para la variable respuesta cuantitativa continua fue el análisis de varianza univariante (ANOVA) del modelo lineal general, considerando tamaños desiguales debido a la pérdida de unidades experimentales, indicadas anteriormente; en tanto que para la variable discreta (número de brotes) se utilizó el Análisis de la Devianza, que es una generalización del análisis de varianza para los modelos lineales generalizados, en este caso, para datos con distribución de Poisson.

3.2.3. FACTOR

- El Factor bencilaminopurina, con cuatro niveles de concentración, que constituyen: T1 (0 ppm) ; T2 (1 ppm) ; T3 (3ppm) ; T4 (5ppm).

3.2.4. VARIABLES RESPUESTA.

- Longitud de brote mayor (en cm).
- Número de brotes.

3.2.5. ANÁLISIS DE VARIANZA.

El Análisis de Varianza (ANOVA) es un método de análisis de diseños experimentales donde intervienen más de dos niveles de factor(es) o tratamientos.

3.2.5.1. MODELO.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad \begin{cases} i = 1, 2, \dots, k \\ j = 1, 2, \dots, n \end{cases}$$

Donde: Y_{ij} : es la ij -ésima respuesta, con el i -ésimo tratamiento en la j -ésima repetición.

μ : media global de tratamientos.

τ_i : efecto del i -ésimo tratamiento.

ε_{ij} : componente aleatoria del error.

Hipótesis:

$$H_0 : \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = 0$$

H_i : al menos un τ_i produce efecto diferente

3.2.5.2. ANOVA UNIFACTORIAL

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad
Tratamientos	$SS_{Tratamiento} = \sum_{i=1}^k \frac{y_{i.}^2}{n_i} - \frac{y_{..}^2}{N}$	$k - 1$
Residual	$SS_{Error} = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_{i.})^2$	$N - k$
Total corregido por la media	$SST = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} y_{ij}^2 - \frac{y_{..}^2}{N}$	$N - 1$

3.2.5.3. Estadístico de Prueba.

$$F_0 = \frac{SS_{Tratamiento} / (k - 1)}{SS_{Error} / (N - k)} = \frac{MS_{Tratamiento}}{MS_{Error}} \sim F_{(k-1, N-k)}$$

Si se cumple que $F_0 > F_{\alpha, (k-1), (N-k)}$, entonces se rechaza H_0 .

3.2.5.4. Supuestos estadísticos básicos.

Para la validación del modelo se tuvieron en cuenta:

- Prueba de Normalidad (Shapiro - Wilks)
- Prueba de Homogeneidad de Varianzas (test de Barlett).

- El supuesto de independencia está garantizado por la asignación al azar de los tratamientos; niveles de bencilaminopurina; a las unidades experimentales (explantos).
- Adicionalmente puede probarse los otros supuestos básicos: aditividad del modelo, linealidad del modelo y la no autocorrelación de errores aleatorios, sin embargo, solo se desarrolla las dos primeras pruebas.

3.2.6. MODELO LINEAL GENERALIZADO.

Los modelos lineales generalizados (GLM de las siglas en inglés de Generalized Linear Models) son una extensión de los modelos lineales que permiten utilizar distribuciones no normales de los errores (binomial, Poisson, gamma, etc) y varianzas no constantes. Ciertos tipos de variables respuesta sufren invariablemente la violación de estos dos supuestos de los modelos normales y los GLM ofrecen una buena alternativa para tratarlos (Cayuela, 2009).

Un Modelo Lineal Generalizado (GLM) se especifica a partir de tres componentes: Componente aleatorio, componente sistemático y función de enlace. El componente aleatorio que identifica la variable respuesta, y su distribución de probabilidad, el componente sistemático que identifica las variables explicativas usadas en una función predictora lineal y la función de enlace que especifica la función del $E(Y)$ que hace que el modelo sea igual al componente sistemático. El componente aleatorio consiste de una variable respuesta Y con observaciones independientes (y_1, y_2, \dots, y_n) a partir de una distribución que pertenece a

una familia exponencial natural, esta familia tiene distribución de probabilidad o densidad de la forma:

$$f_{(y_i; \theta_i)} = a_{(\theta_i)} \cdot b_{(y_i)} \cdot e^{y_i \cdot Q_{(\theta_i)}}$$

el valor del parámetro θ_i puede variar para $i = 1, 2, \dots, n$ dependiendo de los valores de las variables explicativas; el término $Q_{(\theta_i)}$ es llamado el parámetro natural; el componente sistemático relaciona un vector $(\eta_1, \eta_2, \dots, \eta_n)$ con las variables explicativas a través de un modelo lineal.

Sea x_{ij} que denota el valor del predictor j para el sujeto i , entonces:

$$\eta_i = \sum_{j=1}^p \beta_j x_{ij} \quad ; \quad i = 1, 2, \dots, n$$

esta combinación lineal de variables explicativas es llamada el *predictor lineal*. El tercer componente es la función de enlace que conecta los componentes sistemático y aleatorio. La función de enlace “ g ” es monótona, diferenciable y enlaza $\mu_i = E(Y_i)$ con las variables explicativas a través de:

$$g(\mu_i) = \sum_{j=1}^p \beta_j x_{ij} \quad ; \quad i = 1, 2, \dots, n$$

La función de enlace: $g(\mu) = \mu$, es llamada *enlace identidad*. La función de enlace que transforma la media hacia el parámetro natural es llamado *enlace canónico*, es decir:

$$g(\mu_i) = Q(\mu_i) = \sum_{j=1}^p \beta_j x_{ij} \quad ; \quad i = 1, 2, \dots, n$$

En resumen, un GLM es un modelo lineal para el valor esperado de una variable respuesta que tiene una distribución que pertenece a una *familia exponencial natural*.

3.2.6.1. MODELO LOGLINEAL DE POISSON.

Sea “Y” la variable aleatoria que representa los conteos tal que

$E(Y) = \mu$. La función de probabilidad para $Y \sim P(\mu)$ es:

$$f(y; \mu) = \frac{e^{-\mu} \mu^y}{y!} = e^{-\mu} \frac{1}{y!} e^{y \ln(\mu)}$$

que pertenece a una familia exponencial natural.

Identificando:

$$a(\mu) = e^{-\mu} \quad ; \quad b(y) = \frac{1}{y!} \quad ; \quad Q(\mu) = \ln(\mu)$$

La función de enlace canónica es $\ln(\mu)$, por tanto el modelo lineal generalizado es:

$$\ln(\mu_i) = \sum_{j=1}^p \beta_j x_{ij} \quad ; \quad i = 1, 2, \dots, N$$

este modelo es llamado “*modelo loglineal de poisson*”.

3.2.6.2. AJUSTE DEL MODELO (DEVIANZA).

La cantidad de varianza explicada por el modelo en estos casos, está determinada por la devianza. Para obtener una medida de la variabilidad explicada por el modelo, hemos de comparar la devianza del modelo nulo con la devianza residual, esto es, el Pseudo R^2 , una medida de cuánto de la variabilidad de la variable respuesta es explicada por el modelo, o lo que es lo mismo:

$$Pseudo R^2 = \left(\frac{\text{devianza.modelo.nulo} - \text{devianza.residual}}{\text{devianza.modelo.nulo}} \right) \times 100$$

Si el valor resulta muy bajo, aun así, el modelo sirve para encontrar asociación de algunos factores, aunque no para pronosticar. (Kraenau, 2013)

3.2.6.3. TABLA DE ANÁLISIS DE DEVIANZA.

	g.l	Devianza	Devianza Media
Modelo Nulo	$k - 1$	$D(\mu(\hat{\beta}); \hat{\mu}_{nulo})$	$\frac{D(\mu(\hat{\beta}); \hat{\mu}_{nulo})}{k - 1}$
Modelo Residual	$N - k$	$D(y; \mu(\hat{\beta}))$	$\frac{D(y; \mu(\hat{\beta}))}{N - k}$
Total Corregido	$N - 1$	$D(y; \hat{\mu}_{nulo})$	

La devianza se define como:

$$D = -2 \sum_{i=1}^{m_i} \left[y_i \ln \left(\frac{m_i}{y_i} \right) + (y_i - m_i) \right]$$

Donde:

m_i : valor estimado

y_i : valor observado

La diferencia entre la devianza del modelo nulo (e^{β_0}) y el modelo residual ($\ln(\mu_i) = \sum_{j=1}^p \beta_j x_{ij}$) sigue una distribución χ^2 con $k-1$ grados de libertad, la cual permite probar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos del modelo.

IV. RESULTADOS.

4.1. ANÁLISIS PARA LA VARIABLE “LONGITUD DE BROTE MAYOR”.

4.1.1. ANÁLISIS EXPLORATORIO.

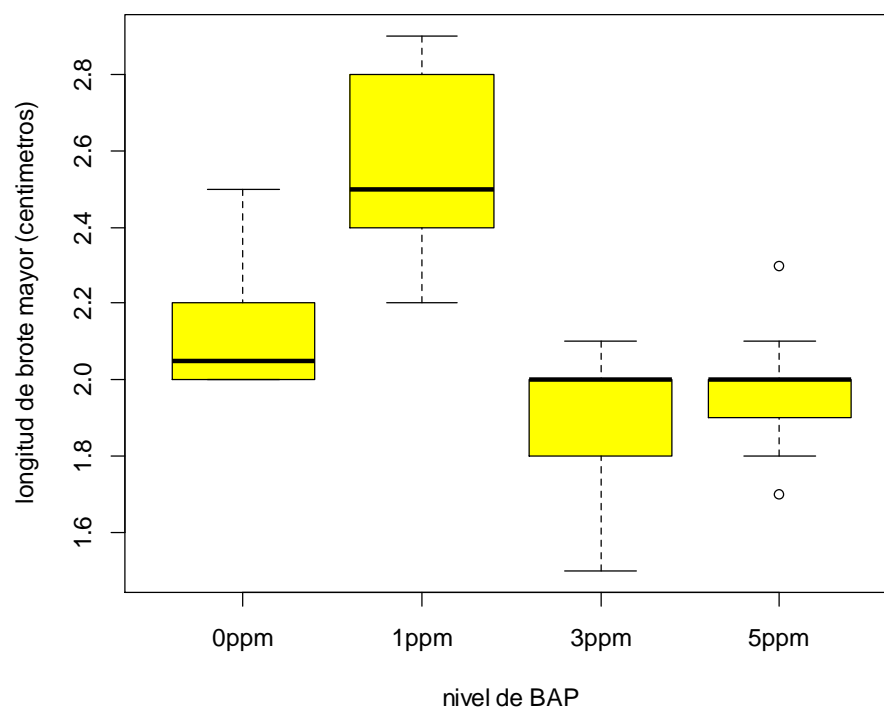


Figura 1: Longitud de brote mayor según niveles de bencilaminopurina (BAP)

Fuente: Elaboración propia.

- En la Figura 1 se aprecia que las mayores respuestas en la variable *longitud de brote mayor*, corresponden al tratamiento con concentración de 1ppm de bencilaminopurina, seguido del control.

Tabla 1.

Estadísticas de resumen para la variable “*longitud de brote mayor*”, según niveles de bencilaminopurina (BAP).

Estadísticas	0ppm	1ppm	3ppm	5ppm
Mínimo :	2.00	2.20	1.50	1.70
Máximo :	2.50	2.90	2.10	2.30
Rango :	0.50	0.70	0.60	0.60
1er Cuartil :	2.00	2.40	1.80	1.90
Mediana :	2.05	2.50	2.00	2.00
3er Cuartil. :	2.20	2.80	2.0	2.00
Media :	2.13	2.56	1.90	1.96
Desviación Estándar :	0.175	0.227	0.178	0.136
Varianza :	0.031	0.052	0.032	0.018
Nro de datos :	8	17	16	16

Fuente: Elaboración propia.

- En la Tabla 1 se aprecia que los valores de la mediana y media de *longitud de brote mayor*, son mayores en el tratamiento con concentración de 1ppm. Así mismo, el 50% de las observaciones de la media superior, superan las longitudes de brotes de todos los demás tratamientos.

4.1.2. ANÁLISIS DE VARIANZA.

Tabla 2.

Análisis de Varianza para la variable respuesta “*longitud de brote mayor*”.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medios	Valor F	Valor P
Tratamientos	4.418	3	1.473	43.599	0.000
Residual	1.790	53	0.034		
Total corregido por la media	6.208	56			

R^2 : 0.7116

Fuente: Elaboración propia.

- En la Tabla 2, el Análisis de Varianza muestra que existen diferencias altamente significativas en las longitudes medias de brote mayor obtenidas con los cuatro niveles de bencilaminopurina, existiendo por tanto al menos uno de los niveles tiene efecto medio diferente.

4.1.3. PRUEBA POST-ANOVA.

Tabla 3.

Prueba Post-Anova: Test de Tukey.

Tratamiento	Diferencias de medias	Intervalo inferior	Intervalo superior	Significancia
1ppm-0ppm	0.434	0.225	0.643	0.000 **
3ppm-0ppm	-0.226	-0.437	-0.015	0.031
5ppm-0ppm	-0.163	-0.374	0.049	0.186
3ppm-1ppm	-0.660	-0.830	-0.490	0.000 **
5ppm-1ppm	-0.596	-0.766	-0.427	0.000 **
5ppm-3ppm	0.064	-0.109	0.236	0.761

Fuente: Elaboración propia.

- En la Tabla 03, el Test de Tukey, determina que el tratamiento con nivel 1ppm de bencilaminopurina presenta diferencias altamente significativas con los demás tratamientos, por lo que se tiene que el nivel de 1ppm es altamente significativa respecto a los niveles 0ppm, 3ppm y 5ppm; siendo entonces el nivel de 1ppm el tratamiento que produce las mayores longitudes de brote mayor.

4.1.4. PRUEBA DE NORMALIDAD.

Tabla 4.

Prueba de Normalidad de los residuos del modelo propuesto para la variable “*longitud de brote mayor*”.

	Estadístico	p. valor
Test		
Shapiro-Wilks	0.9735	0.2426

Fuente: Elaboración Propia.

- El test de Shapiro Wilks, muestra una significancia de 0.2426, lo cual permite concluir que los residuos del modelo siguen una distribución normal. Lo mismo ocurre en la evaluación gráfica (Figura 2).

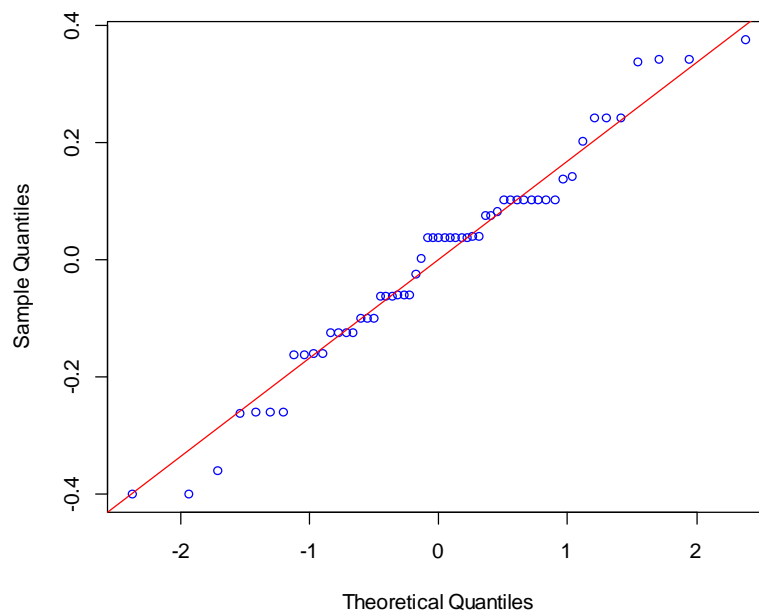


Figura 2: Normal Q-Q Plot. Evaluación **gráfica** de Normalidad de residuos.

Fuente: Elaboración propia.

4.1.5. PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS.

Tabla 5.

Prueba de homogeneidad de varianzas del modelo propuesto para la variable “*longitud de brote mayor*”.

	Estadístico	g.l.	p. valor
Test Bartlett	3.7875	3	0.2853

Fuente: Elaboración propia.

- El test de Barlett, muestra que se cumple la prueba de homogeneidad de varianzas de los 4 grupos de tratamientos con bencilaminopurina, lo cual valida el modelo propuesto para la variable longitud de brote mayor.

4.2. ANÁLISIS PARA LA VARIABLE “NÚMERO DE BROTES”.

4.2.1. ANÁLISIS EXPLORATORIO.

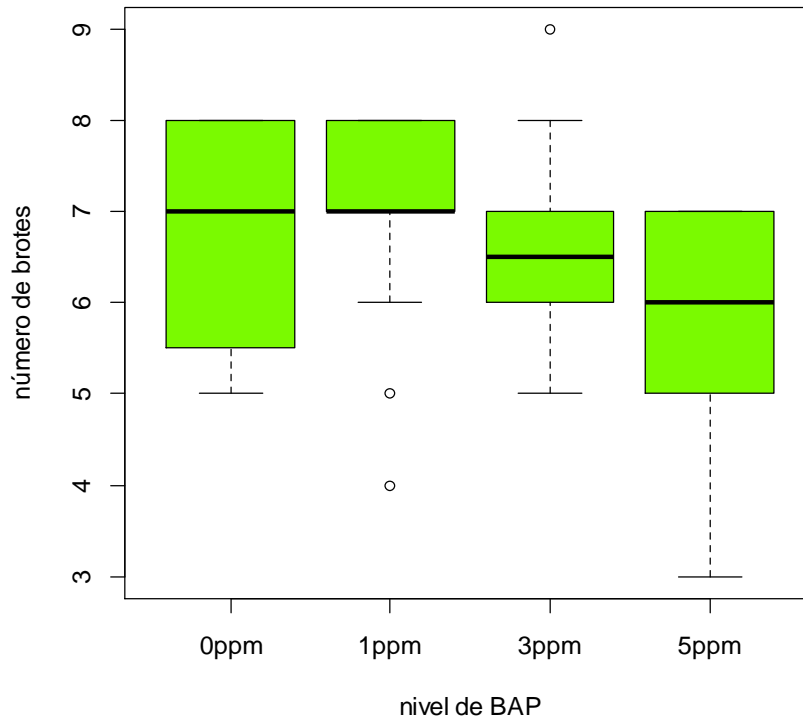


Figura 3: Número de brotes según niveles de bencilaminopurina (BAP).

Fuente: Elaboración propia.

- En la Figura 3, se puede apreciar ciertas diferencias en el número de brotes. Cabe resaltar que en el nivel de 1ppm, las observaciones están más concentradas en el 50% de valores más altos, pero con la presencia de algunos valores atípicos muy bajos, por lo que su número medio se equipara con los otros niveles de tratamientos.

Tabla 6.

Estadístico de resumen para la variable “*número de brotes*”, según niveles de bencilaminopurina (BAP).

	0ppm	1ppm	3ppm	5ppm
Mínimo :	5.00	4.00	5.00	3.00
Máximo :	8.00	8.00	9.00	7.00
Rango	3.00	4.00	4.00	4.00
1er Cuartil :	5.75	7.00	6.00	5.00
Mediana :	7.00	7.00	6.50	6.00
3er Cuartil. :	8.00	8.00	7.00	7.00
Media :	6.75	6.941	6.625	5.688
Desviación Estándar :	1.28	1.144	1.088	1.493
Varianza :	1.64	1.31	1.18	2.23
Nro de datos :	8	17	16	16

Fuente: Elaboración propia.

- En la Tabla 6 se puede apreciar que la media mayor al número de brotes corresponde a 1ppm de bencilaminopurina, así mismo la mediana mayor, 7 brotes, corresponde a los tratamientos testigo (0ppm) y 1ppm, pero como tiene menor varianza que el testigo se concluye que 1ppm es el mejor tratamiento.

4.2.2. ANÁLISIS DE DEVIANZA.

Tabla 7.

Análisis de Devianza para la variable respuesta “*número de brotes*”.

	g.l	Devianza	Devianza Media
Modelo Nulo	3	16.532	5.511
Modelo Residual	53	14.229	0.268
Total Corregido	56		
Pseudo R ² : 0.139		p-valor = 0.511	

Fuente: Elaboración propia.

- En la Tabla 7, el Análisis de Devianza, muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el número medio de brotes obtenidos en cada nivel de tratamiento, dado que la significancia de la prueba es de 0.511,

V. DISCUSIÓN

En el establecimiento *in vitro*, la bencilaminopurina (BAP); como una de las fitohormonas más utilizadas, es un componente importante en un medio de cultivo, siendo usado frecuentemente en este tipo de investigaciones, dado que promueve la división celular, crecimiento y desarrollo de la planta, lo cual se evidencia en el presente trabajo, donde se obtuvieron crecimiento de brotes a partir de nudos de frambuesa, en los tratamientos con diferentes concentraciones de BAP (1ppm, 3ppm y 5ppm). Así también, respecto al tratamiento testigo (BAP, 0ppm), se evidencia crecimiento de brotes, ello debido a la variación genética de las plantas de frambuesa al momento de ser micropropagadas *in vitro* (Orellana et. al, 1991).

En términos generales, el nivel de 1ppm de BAP da mayor efecto en el establecimiento *in vitro* de frambuesa, lo cual se observa en las variables longitud de brote mayor y número de brotes. Respecto a la variable longitud de brote mayor, se aprecia que el tratamiento con 1ppm de BAP presenta mayores longitudes con respecto a los otros tratamientos, ello debido a que dicha concentración de fitohormona estimula la división celular de manera óptima para este experimento. Con relación al número de brotes, hubo presencia de 7 y 8 brotes concentrados en el 75% (Figura 1) de los datos correspondientes al efecto de 1ppm de BAP, mostrando cierta uniformidad en la generación de brotes, sin embargo se observa casos atípicos de explantos con generación de 4 y 5 brotes, lo que hace que su número medio de brotes se equipare con los demás niveles de tratamientos, incluido el tratamiento testigo.

Jones & Flores (2007), indicaron que en un medio de cultivo M&S con 1.5ppm de BAP permite un buen desarrollo de yemas axilares de frambuesa, sin embargo aclaran que se han usado otras sustancias adicionales: 1ppm de ácido giberélico y 100ppm de ácido ascórbico; el primero, como fitohormona estimulante del rápido crecimiento celular, complementando la actividad del BAP; el segundo, evitando la oxidación de los explantos, y con ello, la muerte del tejido. Esto explicaría el por qué en los tratamientos de 3ppm y 5ppm de BAP, presentan bajas respuestas tanto en la longitud de brote mayor como en el número de brotes, respondiendo además, la elevada tasa de pérdida de explantos en el tratamiento testigo y en menor cantidad para los tratamientos de 3ppm y 5ppm de BAP.

En cuanto a la metodología estadística, diversos estudios experimentales asociados a la micropropagación *in vitro*, emplean el Análisis de Varianza (ANOVA), previa transformación de los datos, para solucionar la falta de cumplimiento de supuestos estadísticos, entre ellos la normalidad de errores; ya sea por los resultados mismos o por la tipología de las variables en estudio, por ejemplo, número de hojas, número de brotes, número de raíces, etc. (variables discretas); longitud de brotes, longitud de tallos, longitud de raíces, etc. (variables continuas). En el estudio hecho por García (2004), se evaluó el efecto del BAP, el ácido giberélico y el ácido indolacético en la micropropagación de mora (*Rubus hadrocarpus*), para ello aclara que realizó una transformación logarítmica ($\log X+1$) en el caso de la variable tamaño de brotes y la raíz cuadrada ($\sqrt{x}+0.5$) para las variables número de brotes y número de hojas por brote, esto implica un cambio drástico en la naturaleza de los datos, no adecuándose al contexto real de la investigación.

En la presente investigación, el análisis estadístico de la variable *número de brotes*, se hace mediante el Análisis de la Devianza, que es una generalización del ANOVA para los modelos lineales generalizados que permiten utilizar distribuciones no normales de los errores (binomial, Poisson, gamma, etc) y varianzas no constantes; dicha variable no cumple con el supuesto de normalidad, dado que sigue una distribución de Poisson, esto sugiere una alternativa de análisis ante el hecho de tener que transformar los datos, como se mencionó anteriormente.

En la Tabla 7 los resultados del análisis de devianza, reportan que no existen diferencias estadísticamente significativas en ningún par de niveles de tratamientos de BAP (p-valor: 0.5119), esto se analiza gráficamente en la Figura 3, además se observa que el ajuste del modelo utilizado es del 13,9%, lo cual es un valor común en investigaciones experimentales; sin embargo tiene validez para encontrar diferencias significativas entre tratamientos (Kraenau, 2013). En la sección de ANEXOS, puede verificarse que de optar por realizar un ANOVA se encuentra diferencias significativas en algún par de niveles de tratamientos de BAP, sin embargo el ajuste del modelo que se asume en el ANOVA es de 14.9%, lo cual se descarta el uso de este método; además si se realiza la prueba de normalidad de errores, se rechaza este supuesto, dado que la prueba de Shapiro – Wilks da una significancia de 0.002, significa que para realizar un ANOVA debemos transformar la variable, que como mencionamos, cambiaría la naturaleza de esta.

Para el análisis estadístico de la variable longitud de brote mayor, se realiza un ANOVA, comprobándose el supuesto de normalidad de errores mostrado en la Tabla 4 (p-valor: 0.2426), y la homogeneidad de varianzas mostrado en la Tabla 5 (p-valor: 0.2853), el ajuste del modelo es de 71,2%, lo cual se considera aceptable; luego, el ANOVA muestra que existen diferencias altamente significativas de la longitud de brote mayor obtenido con los cuatro niveles de BAP, existiendo por tanto al menos uno de los niveles que es mejor que los demás, para lo cual la prueba de Tukey (Tabla 3.) determina que el tratamiento con nivel 1ppm de BAP presenta diferencias altamente significativas con los demás tratamientos, por lo que se tiene que el nivel de 1ppm es altamente significativa respecto a los niveles 0ppm, 3ppm y 5ppm; siendo entonces el nivel de 1ppm el mejor tratamiento que produce las mayores longitudes de brote mayor.

VI. CONCLUSIONES

- En la variable respuesta *longitud de brote mayor*, el efecto de la bencilaminopurina es adecuado al aplicarse a una concentración de 1ppm.
El nivel de 1ppm es el tratamiento que presenta mayor longitud media de brote mayor de la frambuesa.
- En la variable respuesta *número de brotes*, el efecto de la bencilaminopurina no existe diferencias estadísticamente significativas en el número de brotes promedio obtenidos con los tratamientos 0ppm, 1ppm, 3ppm y 5ppm de BAP, sin embargo, se resalta que a una concentración de 1ppm de esta fitohormona, el 75% de las respuestas están entre 7 y 8 brotes por planta, siendo el mayor número comparado con las respuestas de los demás niveles.
- De manera conjunta, puede concluirse que la bencilaminopurina a una concentración de 1ppm suplementada al medio de cultivo, permite mayor efecto en el establecimiento in vitro de frambuesa.

VII. RECOMENDACIONES

- Teniendo en cuenta estos resultados, es posible aplicar estos procedimientos de análisis estadísticos, en particular los MLG, para evaluar experimentos de esta naturaleza donde existan variables discretas.
- Es necesario evaluar otros factores adicionales que podrían complementar el experimento, tales como la aplicación de ácido giberélico (AG3), dado que genera buenos resultados aplicados a la “mora de castilla” (*rubus glaucus*) que pertenece a la misma familia y género de la frambuesa.
- Al no haber enraizamiento, no se pudo tomar respuestas en variables propias de esta parte de la plántula, para lo cual se sugiere ampliar el estudio con fines de inducir enraizamiento.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelnour, A. & Vincent, J. (1994). *Conceptos básicos del cultivo de tejidos vegetales*. Costa Rica: Cidia.
- Botanical-online SL. (2012). Propiedades alimentarias de la frambuesa. Recuperado el 06 de Enero de 2012, en <http://www.botanical-online.com/propiedadesframbuesas.htm>
- Cárdenas, J., Álvarez, J., Barragán, E. & Rivera, C. (2010). Effect of gibberellic acid and 6-bencilaminopurine on bud development of cacao grafts (*Theobroma cacao* L.). *Agronomía Colombiana* 28(1), 19-27. Recuperado el 20 de Noviembre de 2011 en [http://www.agronomia.unal.edu.co/adjuntos/investigacion/revista/28-1/28\(1\)%20cacao%20FIN.pdf](http://www.agronomia.unal.edu.co/adjuntos/investigacion/revista/28-1/28(1)%20cacao%20FIN.pdf)
- Castro, F., & Mora, D. (2007). Establecimiento in vitro y pruebas preliminares de micropropagación en medio semisólido y líquido de frambuesa (*Rubus idaeus* L.). *Tecnología en Marcha*, 20(3), 46-54.
- Ciravegna, J. (2004). *Frutas Finas*. Universidad Nacional de Cuyo. Argentina.
- Condemarin, C., Chico, J. & Vargas, C. (2007). Efecto del ácido indolbutírico (IBA) y 6-bencilaminopurina (BAP) en el desarrollo in vitro de yemas axilares de *encyclia microtos* (Rchb.f.) hoehne (orchidaceae). *Lankesteriana*, 7(1-2), 247-254.
- Figueroa, G. (2005). *La fecundidad y su relación con variables socioeconómicas, demográficas y educativas aplicando el Modelo de Regresión Poisson*. Tesis de Grado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú.
- García, S. (2004). *Efecto de la bencilaminopurina, el ácido giberélico y el ácido indolacético en la micro propagación de mora (*Rubus hadrocarpus forma adenophorus*)*. Tesis de Grado. Universidad de San Carlos de Guatemala,

- Guatemala. Recuperado el 20 de Noviembre de 2011, en http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2053.pdf
- Gutiérrez, M. (2003). *Mejoramiento genético vegetal in vitro*. e-Gnosis: Guadalajara. Recuperado el 10 de Enero de 2012 en <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/730/73000104.pdf>
- Johnson, A. & Wichern W. (2007). *Applied Multivariate Statistical Analysis*. (6a. Ed.). EE.UU: Prentice Hall International Inc.
- Julca, M. (2010). *Efecto de la luz y hormona ag3 en el brotamiento de tubérculo-semilla variedad UNICA en condiciones de laboratorio*. Tesis para obtener título. Universidad Nacional de Trujillo, Perú.
- Kraenau, E. (2013). *Modelos Lineales Generalizados para respuestas discretas utilizando R: Una Introducción R*. Lima: Coespe - Región Lima.
- López, S. (1998). Influencia de Bencilaminopurina (BAP), en la proliferación de yemas axilares in vitro de *Ananas comosus* L. Merr. “piña”. IV Jornadas de Investigación en Ciencias Biológicas. Libro de Resúmenes. p. 14.
- Manero, A., & Cillóniz, F. (2011). *agraria.pe*. Recuperado el 12 de Noviembre de 2011, de *agraria.pe*: <http://agraria.pe>
- Mok, D., & Mok, M. (2001). Cytokinin Metabolism and Action. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52. ISSN, 89-118.
- Montgomery, D. (2006). *Diseño y Análisis de Experimentos*. México: Iberoamérica.
- Orellana, P. (1994). *Tecnología para micropropagación in vitro de Musa spp*. Tesis de doctorado. Universidad Central de las Villas.
- Pérez, J. (1998.), *Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología*. Instituto de Biotecnología de las Plantas, Santa Clara, Cuba. pp. 297-326.

- Ramírez, R. (2012). Universidad de Lima. Recuperado el 18 de Enero de 2014, de Investigación (Publicaciones): [http://fresno.ulima.edu.pe/sf%5Csf_bdfde.nsf/imagenes/9A5B9CD541FA1720052573540070AE16/\\$file/10-25-ayta.pdf](http://fresno.ulima.edu.pe/sf%5Csf_bdfde.nsf/imagenes/9A5B9CD541FA1720052573540070AE16/$file/10-25-ayta.pdf)
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Roca, W. & Mroginski, L. (1993). *Cultivo de Tejidos en la Agricultura*. Cali, Colombia: CIAT.
- Valderrama, S., Chico, J., Quispe, J. & Sánchez, R. (2007). Regeneración in vitro de plantas de *Solanum pimpinellifolium* L. a partir de explantes foliares. *Biotecnología Vegetal*, 11, 15–25.
- Valderrama, S., Chico, J., Tejada, P. & Vega, A. (2008). Regeneración de plántulas, vía embriogénesis somática, a partir de hojas de fresa, *Fragaria virginiana*, utilizando ANA y BAP. *Rebiol*, 28, 2-12.
- Vilchez, J., Rivas, Y., Albany, N., Molina, M. & Martínez, L. (2009). Effect of the N6-benzylaminopurine on in vitro multiplication of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott). *Revista de la Facultad de Agronomía*. 26(2), 212-222.

IX. ANEXOS

9.1. EVALUACIÓN DEL SUPUESTO DE DISTRIBUCIÓN DE POISSON

Tabla 8.

Test Chi - cuadrado para evaluar supuesto de distribución de Poisson en la variable número de brotes.

Nivel de Tratamiento	χ^2	g.l.	p.valor
0ppm	2.904	7	0.894
1ppm	10.112	7	0.182
3ppm	13.096	8	0.109
5ppm	7.205	6	0.302

Fuente: Elaboración propia.

9.2. USO DE ANOVA PARA LA VARIABLE NÚMERO DE BROTES.

Tabla 9.

Análisis de Varianza para la variable respuesta “número de brote”.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medios	Valor F	Valor P
Tratamientos	14.582	3	4.861	3.080	0.035 *
Residual	83.629	53	1.578		
Total corregido por la media		56			

R²: 0.1485

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 10.

Prueba de Normalidad de los residuos del modelo propuesto para la variable “*número de brotes*”.

	Estadístico	p. valor
Test Shapiro-Wilks	0.927	0.002

Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 11.

Prueba de homogeneidad de varianzas del modelo propuesto para la variable “*número de brote*”.

	Estadístico	g.l.	p. valor
Test Bartlett	1.779	3	0.619

Fuente: Elaboración propia.

9.3. CODIFICACIÓN PARA USO DEL SOFTWARE ESTADÍSTICO “R”.

```
#Librerías requeridas#
#####
library(MASS)
library(grid)
library(colorspace)
library(vcd)
library(graphics)

#Lectura de base de datos#
#####
dat.brote<-read.table("E:/tesis/brote.txt", header=T)
dat.longitud<-read.table("E:/tesis/longitud.txt", header=T)
dat.datosTotal<-read.table("E:/tesis/datosTotal.txt", header=T)
attach(dat.brote)
attach(dat.longitud)
attach(dat.datosTotal)
dat.brote
dat.longitud
dat.datosTotal

#Análisis para variable LONGITUD#
#####
#Exploración de datos (boxplot)
plot(longitud~tratamiento,main="Figura 01: Longitud de brote mayor segun niveles de
\nbencilaminopurina (BAP)",col="yellow",xlab="nivel de BAP",ylab="longitud de brote mayor
(centimetros)")
summary(dat.longitud)
#Análisis de Varianza
modelo1<-lm(longitud~factor(tratamiento))
summary(modelo1)
anova<-anova(modelo1)
anova
#Test de Normalidad
residuales<-residuals(modelo1)
qqnorm(residuales,col="blue", main="Figura 02: Normal Q-Q Plot. Evaluación gráfica \nde Normalidad
de Residuos")
abline(0,0.168,col="red")
shapiro.test(residuales)
#Test de Bartlett
bartlett.test(longitud~tratamiento,data=dat.datosTotal)
```

```

#Prueba Tukey
summary(fm1 <- aov(longitud ~ tratamiento, data = dat.datosTotal))
TukeyHSD(fm1, "tratamiento", ordered = FALSE)

#Análisis para variable BROTE#
#*****
#Exploración de datos (boxplot)
plot(brote~tratamiento,main="Figura 03 : Número de brotes segun niveles de \nbencilaminopurina
(BAP)",col="lawngreen",xlab="nivel de BAP",ylab="número de brotes")
summary(dat.brote)
#Modelo Log-lineal de Poisson y Devianza
modelo2<-glm(formula=brote~tratamiento,family=poisson)
summary(modelo2)
devianzaP<-anova(modelo2,test="Chisq")
devianzaP
#Porcentaje explicado por el modelo loglineal de poisson:
D2 <- (modelo2$null.deviance-modelo2$deviance)/modelo2$null.deviance
D2
#Comprobación de ajuste Distribución de Poisson
bondadT0 <- goodfit(b0ppm, type = "poisson", method = "MinChisq")
bondadT1 <- goodfit(b1ppm, type = "poisson", method = "MinChisq")
bondadT3 <- goodfit(b3ppm, type = "poisson", method = "MinChisq")
bondadT5 <- goodfit(b5ppm, type = "poisson", method = "MinChisq")
summary(bondadT0)
summary(bondadT1)
summary(bondadT3)
summary(bondadT5)

```

9.4. FOTOGRAFÍAS DEL TRABAJO DE LABORATORIO.



Figura 4. Nudos de planta de frambuesa (*rubus idaeus* L.) sometidos a tratamiento con BAP (0ppm, 1ppm, 3ppm, 5ppm)



Figura 5. Brotes de frambuesa (*rubus idaeus* L.) obtenido a partir del tratamiento con BAP 1ppm,

9.5. BASE DE DATOS DEL EXPERIMENTO.

ID	brote	longitud	tratamiento
1	7	2.5	0ppm
2	8	2	0ppm
3	5	2	0ppm
4	5	2	0ppm
5	8	2.1	0ppm
6	8	2	0ppm
7	7	2.2	0ppm
8	6	2.2	0ppm
9	7	2.9	1ppm
10	6	2.5	1ppm
11	7	2.4	1ppm
12	6	2.3	1ppm
13	7	2.5	1ppm
14	8	2.3	1ppm
15	8	2.6	1ppm
16	5	2.9	1ppm
17	7	2.8	1ppm
18	7	2.7	1ppm
19	4	2.3	1ppm
20	8	2.8	1ppm
21	8	2.4	1ppm
22	7	2.6	1ppm
23	8	2.5	1ppm
24	7	2.2	1ppm
25	8	2.8	1ppm
26	9	1.98	3ppm
27	7	1.5	3ppm
28	7	2	3ppm
29	6	2	3ppm

ID	brote	longitud	Tratamiento
30	7	1.5	3ppm
31	5	1.8	3ppm
32	7	2	3ppm
33	6	2.1	3ppm
34	6	2	3ppm
35	5	2	3ppm
36	6	2	3ppm
37	6	2	3ppm
38	6	1.8	3ppm
39	7	1.8	3ppm
40	8	1.9	3ppm
41	8	2	3ppm
42	7	1.8	5ppm
43	6	2	5ppm
44	3	1.9	5ppm
45	5	1.7	5ppm
46	7	2	5ppm
47	7	2	5ppm
48	7	2	5ppm
49	6	1.9	5ppm
50	3	2	5ppm
51	5	2.3	5ppm
52	7	2	5ppm
53	6	2.1	5ppm
54	6	2	5ppm
55	7	1.8	5ppm
56	3	1.9	5ppm
57	6	2	5ppm