# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMIA

Departamento de Producción Vegetal



# **TESIS DE GRADO**

# EFECTO DE CUATRO SUBSTRATOS EN EL ENDURECIMIENTO DE VITROPLANTAS DE MORA (*Rubus glaucus* Benth) VARIEDAD RISARALDA, EN EL MUNICIPIO DE LAS SABANAS, DEPARTAMENTO DE MADRIZ

AUTOR: BR. MARCIO JACOB PÉREZ RODRÍGUEZ

ASESOR: ING. MSc. JOSÉ DOLORES CISNE CONTRERAS

TESIS DE GRADO PARA OPTAR AL TÌTULO DE INGENIERO AGRÒNOMO GENERALISTA

MANAGUA, FEBRERO DEL 2007

# **DEDICATORIA**

A Dios que es principio y fin, a Dios que es alfa y omega, a Dios maravilloso en quien hemos confiado, a Dios creador de todas las cosas, dedico con absoluta seguridad y convicción el presente trabajo. A nuestro Dios Altísimo que ha dado las fuerzas y el entendimiento a los padres de mis padres, para que yo tuviese todo el respaldo físico, moral, económico y espiritual y poder concluir con satisfacción mis estudios universitarios.

# **AGRADECIMIENTO**

Agradezco de todo corazón a Dios Omnipotente y a todas las personas que dieron su aportación para la culminación de este trabajo de tesis.

A mis padres Alberto José Pérez y Bemilda Rodríguez Lagos, por darme la vida y guiarme por el buen camino.

Al Ing. MSc. José Dolores Cisne Contreras por su gran apoyo y aporte científico para la culminación de mi trabajo de tesis.

# **INDICE**

Contenido	Pág.
DEDICATORIA AGRADECIMIENTO INDICE IINDICE DE CUADROS INDICE DE FIGURAS RESUMEN	i ii iii v vi vii
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo General	3
2.2. Objetivos Específicos	3
III. REVISION DE LITERATURA	4
3.1. Generalidades	4
3.2. Requerimientos agroclimáticos	4
3.3. Aspectos nutricionales del cultivo	5
3.4. Sustratos	6
3.5. Características generales de los sustratos utilizados en el estudio	6
3.5.1. Arenas	6
3.5.2. Humus	7
3.5.3. Cascarilla de arroz	8
IV. MATERIALES Y METODOS	9
4.1. Descripción del área	9
4.2. Material vegetativo experimental	10
4.3. Manejo de vitroplantas de mora previo al establecimiento en los sustratos	10
4.4. Preparación de sustratos y siembra de vitroplantas de mora	10
4.5. Descripción de las variables a evaluar	12

4.6.	Sustratos	de Siembra	12
4.7.	Diseño ex	sperimental y procesamiento de datos	13
V. RESUL	TADOS Y	Y DISCUSION	15
5.1.	Variables	evaluadas en el ensayo 1	14
	5.1.1.	Porcentaje de sobrevivencia	14
	5.1.2.	Altura de planta y número de hojas	15
	5.1.3.	Interacción sustrato fecha de toma de datos	16
5.2.	Variabl	les evaluadas en el ensayo 2	18
	5.2.1.	Porcentaje de sobrevivencia	18
	5.2.2.	Altura de planta y número de hojas	19
	5.2.3.	Interacción sustrato fecha de toma de datos	20
VI. CONC	LUSIONI	ES	22
VII. RECC	MENDA	CIONES	23
VIII RIRI	JOGRAF	FI A	24

# **INDICE DE CUADROS**

CUADROS		Pág.
Cuadro 1.	Composición química de la mora. FUNDER, 2001.	4
Cuadro 2.	Plan de fertilización para el cultivo de la mora en las zonas productoras de los departamentos del eje cafetalero (Recomendación para 2000 plantas por hectárea)	5
Cuadro 3.	Sustratos evaluados en el endurecimiento de vitroplantas de mora ( <i>Rubus glaucus</i> Benth) de la variedad Risaralda, primer ensayo.	12
Cuadro 4.	Sustratos de arena de río utilizados para el endurecimiento de vitroplantas de mora ( <i>Rubus glaucus</i> Benth) de la variedad Risaralda, segundo ensayo.	12

# **INDICE DE FIGURAS**

FIGURAS		Pág.
Figura 1.	Promedios mensuales de precipitación, temperatura y humedad relativa en el sitio de experimentación.	9
Figura 2.	Cámara húmeda conteniendo vitroplantas de mora (Rubus glaucus Benth)	11
Figura 3.	Efecto de los sustratos sobre el porcentaje de sobrevivencia de vitroplantas de mora ( <i>Rubus glaucus</i> Benth) en el primer ensayo.	14
Figura 4.	Efecto de los sustratos sobre la altura y número de hojas de las vitroplantas de mora ( <i>Rubus glaucus</i> Benth) en el primer ensayo.	16
Figura 5.	Porcentaje de sobrevivencia en respuesta al momento de evaluación en el primer ensayo.	17
Figura 6.	Altura y número de hojas en respuesta al momento de evaluación en el primer ensayo.	17
Figura 7.	Efecto de los sustratos sobre el porcentaje de sobrevivencia de vitroplantas de mora ( <i>Rubus glaucus</i> Benth) en el segundo ensayo.	19
Figura 8.	Efecto de los sustratos sobre la altura y número de hojas de las vitroplantas de mora ( <i>Rubus glaucus</i> Benth) en el segundo ensayo.	20
Figura 9.	Porcentaje de sobrevivencia en respuesta al momento de evaluación en el segundo ensayo.	21
Figura 10.	Altura y número de hojas en respuesta al momento de evaluación en el segundo ensayo.	21
Figura 11.	Vitroplanta de mora establecida en El Castillito, Las Sabanas, departamento de Madriz.	21

#### RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo en el municipio de Las Sabanas, Departamento de Madriz en el periodo de noviembre del 2004 a abril del 2005. En el estudio se realizaron dos ensayos. En el primer ensayo se evaluó la sobrevivencia de vitroplantas de mora (*Rubus glaucus* Benth.) cultivadas en cuatro sustratos o tratamientos. Los tratamientos utilizados en el ensayo 1 fueron: arena (tratamiento I), lombrihumus de cachaza (tratamiento II), arena + cascarilla de arroz (tratamiento III) y arena + cascarilla de arroz + suelo (tratamiento IV). En el ensayo 2 se utilizó arena como sustrato, que resulto ser el mejor tratamiento según los resultados del ensayo 1 y se evaluaron los tratamientos arena esterilizada + trichoderma + micorriza (tratamiento V), arena esterilizada + trichoderma (tratamiento VI), arena sin esterilizar + trichoderma + micorriza (tratamiento VII) y arena sin esterilizar + trichoderma (tratamiento VIII). Se estimó el porcentaje de sobrevivencia (%), la altura (cm) y el número de hojas. Se utilizó un diseño experimental completo al azar (DCA). Se realizó un análisis de varianza y separación de medias mediante la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). El porcentaje de sobrevivencia de los tratamientos V y VI fue 64.16 % y 60.00 %, respectivamente. En el caso de los tratamientos VII y VIII presentaron un porcentaje de sobrevivencia de 51.66 % y 52.50 % respectivamente. En el tratamiento VI se obtuvo la mayor altura promedio con 1.67 cm, seguido del tratamiento V con una altura de 1.49 cm. Los mayores porcentajes de hojas estuvieron dados por los tratamientos V con 2.02 hojas y el tratamiento VI con 2.01 hojas. En los tratamientos III y IV se presentó la mayor incidencia por mal del talluelo en las vitroplantas, enfermedad que es causada por un complejo de hongos del suelo (Fusarium sp; Rhizoctonia sp y Pythium sp,) que provocan la marchitez del tallo y pudrición de raíces. La utilización de substratos con combinaciones de arena esterilizada + trichoderma + micorriza, presentan los mejores resultados.

#### I. INTRODUCCIÓN

La mora (*Rubus glaucus* Benth) fue descubierta en 1851 por Hartw y descrita por Benth. Es originaria de las zonas altas tropicales de América principalmente en Colombia, Ecuador, Panamá, Guatemala, Honduras, México y El Salvador (Facultad de Agronomía-México, 2002).

El género *Rubus* comprende alrededor de 500 especies distribuidas prácticamente por todo el mundo. El alto grado de cruzamiento ha dado origen a variedades con características distintas, por lo cual se han constituido grupos con sus respectivos nombres que hace dificil su identificación.

Las moras silvestres fueron utilizadas como alimento por los indígenas americanos. Por ejemplo en la Patagonia se escuchaban viejas historias de campo, donde el paisano comía lo que encontraba y preparaba brebajes en pozos para poder soportar la tierra de vientos violentos y repentinos cambios en el tiempo. Entre estos brebajes sobresale el licor de mora, bebida fuerte y embriagante (Lanzadera, 2002). En Costa Rica, en las pinturas de la antigua capilla de Orosí, los indígenas en vez de racimos de uvas, pintaron racimos de moras. En América del Norte se sabe que los indios y colonizadores cultivaban y apreciaban la mora, pero no fue sino hasta el siglo XIX que comenzaron a cultivarla (Bokenfohr, 1992).

Rubus glaucus constituye una de las nueve especies comestibles de este género, nativa de los andes colombianos es la única especie que se cultiva comercialmente; tiene mucha demanda en el mercado regional e internacional y existe mucho interés en su cultivo para satisfacer la demanda agroindustrial e incrementar la oferta comercial (Ramírez del Castillo, 1989).

En Nicaragua la crisis de precios en el mercado internacional del café, impulso a organismos gubernamentales y no gubernamentales, en conjunto con los cafetaleros a explorar como alternativas socioeconómicas la producción de cultivos no tradicionales.

En zonas situadas por encima de los 1400 metros sobre el nivel de mar, se encuentran establecida el cultivo de mora. Las mayores áreas de este cultivo están ubicadas en el municipio de Las Sabanas departamento de Madriz.

En Colombia la variedad Risaralda es una de las más utilizadas para procesamiento agroindustrial. Una vez procesada tiene gran aceptación en el mercado exterior como jugo concentrado, existen grandes expectativas para el desarrollo de nuevos productos tales como materia prima en la fabricación de vinos, brandy, licor, esencias, además de la comercialización del fruto congelado. A nivel internacional, cerca del 90% de la producción de mora se destina al procesamiento y solo el 10% se consume como fruta fresca. Esta última forma de consumo, sin embargo, tiende a aumentar por el creciente interés de los consumidores hacia las frutas y los vegetales frescos y naturales (Colciencias, 2001).

En la actualidad la propagación *in vitro* se práctica con éxito en especies hortícolas (Cousineau y Donenelly, 1991), ornamentales (Hughes, 1981) y más recientemente en especies leñosas (Thorpe, 1983). En algunas especies, esta metodología ha demostrado importantes ventajas en comparación con los sistemas convencionales de propagación (Villalobos y Thorpe, 1991), las más importantes son: incremento acelerado del número de plantas derivadas del genotipo, reducción del tiempo de multiplicación, posibilidad de multiplicar grandes cantidades en una superficie reducida a bajos costos y en términos económicamente costeables, mayor control sobre la sanidad del material que se propaga, facilidad para transportar el material *in vitro* de un país a otro con menos restricciones aduaneras, posibilidad de multiplicar rápidamente una variedad de la cual solo existían pocos individuos.

La fase de endurecimiento y adaptación *ex vitro* resulta ser la más problemática del proceso de producción de vitroplantas de mora. Los factores más determinantes para la supervivencia de las plantas son la humedad, frecuencia de riego y calidad del sustrato (Marulanda, 2000).

#### II. OBJETIVOS

# 2.1. OBJETIVO GENERAL

Adaptar protocolo de endurecimiento de vitroplantas de mora bajo las condiciones del municipio de Las Sabanas, departamento de Madriz.

# 2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Evaluar el porcentaje de sobrevivencia vitroplantas de mora en los substratos arena, lombrihumus de cachaza, cascarilla de arroz y suelo.

Evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum*, micorrizas y esterlización en húmedo sobre la sobrevivencia y prendimiento de las vitroplantas de mora en la fase de endurecimiento.

#### III. REVISIÓN DE LITERATURA

# 3.1. Generalidades

El cultivar Braso es la única especie del género *Rubus* que es producida en Nicaragua desde hace aproximadamente dos años y ha presentado buenas características que han cobrado un interés en cuanto al consumo interno.

Los frutos, producto agronómico de interés económico, son de forma alargada y cónica, con un color morado brillante. A este cultivo se le conoce también como mora andina, mora de castilla o zarzamora. La fruta esta compuesta de aproximadamente 93.3 % de agua (Cuadro 1) y es una fruta extremadamente perecedera (Corzo, 1995).

Cuadro 1. Composición química de la mora

Componentes	Cantidad (%)
Agua	93.3
Proteínas	0.6
Grasa	0.1
Carbohidratos	5.6
Fibra	0.0
Cenizas	0.4

Fuente: FUNDER, 2001.

#### 3.2. Requerimientos agroclimáticos

El desarrollo de las plantas de mora se logra entre 1800 y 2400 metros sobre el nivel del mar. El cultivo requiere de una humedad ambiental entre 70 y 80 por ciento. El mejor desempeño del cultivo se obtiene con temperaturas entre 11 a 18 grados centígrados.

Las precipitaciones entre 1500 a 2500 milímetros son las ideales para el cultivo. Los períodos de menor lluvia deben coincidir con las épocas de producción (Franco y Giraldo, 2000).

La mora se desarrolla en suelos franco arcillosos que permiten una adecuada reserva de agua y buen drenaje. En los casos de insuficiencia de agua, los frutos que se producen son de mala calidad, no crecen y contiene poca dulzura. El pH óptimo para el cultivo se encuentra entre 5.2 – 6.7. El cultivo de mora demanda suelos con alto contenido de materia orgánica, ricos en fósforo y potasio.

# 3.3. Aspectos nutricionales del cultivo

La frecuencia de la fertilización de las plantas en crecimiento se debe empezar a los dos meses después de la siembra y continuar cada tres meses, hasta que la planta alcance su madurez o sea al año. De manera general, se fertiliza como se explica en el cuadro 2.

Cuadro 2. Plan de fertilización para el cultivo de la mora, en las zonas productoras de los departamentos del eje cafetalero (Recomendación para 2000 plantas por hectárea)

Época de		Gallinaza	Nitrógeno	Fósforo	Potasio
Aplicación	Cal	o compost	g/planta	g/planta	g/planta
Antes/ Siembra	150 g	1kg/sitio			
2 mds			11	50	8.5
5 mds			22		17
8 mds			33	50	17
11 mds			33		34
Cada 3 mds			33		25.5
Cada 6 meses				50	
Cada año		1 Kilogramo			

Fuente: (Franco y Giraldo, 2000).

## 3.4. Sustratos

Se define como sustrato un medio físico natural o sintético, donde de desarrollan plantas con raíces que crecen en un recipiente determinado con un volumen limitado (Ballester, 1993).

<sup>\*</sup>mds= meses después de la siembra.

La utilización de sustratos en prácticas de propagación se ha venido incrementando de manera gradual, pues proporcionan resultados superiores a los obtenidos utilizando únicamente suelo, además de permitir el aprovechamiento de materiales muy diversos siempre que se conozca y comprendan sus características y necesidades (Ansorena, 1995).

La función del sustrato es proporcionar a la planta un medio de sostén, protegiendo la raíz de la luz, además de retener la solución nutritiva de la planta. El sustrato en el que las raíces crecen debe ser lo suficientemente fino para mantener un adecuado nivel de humedad, pero a la vez no tan fino con el objetivo de permitir una aireación eficiente.

El mejor medio de cultivo depende de numerosos factores como son el tipo de material vegetal con el que trabaja (semillas, plantas o estacas) programas de riego y fertilización, aspectos económicos y condiciones climáticas

## 3.5. Características generales de los sustratos utilizados en el estudio

#### 3.5.1. Arena

La arena es un material de naturaleza silícea y de composición variable, que depende de los componentes de la roca silicatada original. Puede proceder de las canteras de ríos o cauces. Es necesario que las arenas estén exentas de limos, arcillas y carbonatos de calcio (CO<sub>3</sub>Ca), de acuerdo con estudio realizados por Hadid *et. al.*, (1987), se observa que cultivos desarrollados sobre arena o grava de roca presentan resultados similares. Existen experiencias, realizadas en China, donde se ha utilizado la arena como soporte obteniéndose excelentes resultados (Manzini y Mugnoz, 1993; Fujiyama y Nagal, 1987).

En el sudoeste de España la arena constituye el sustrato más utilizado, aunque su uso esta decreciendo debido a las restricciones legales en materia medioambiental. Se considera como arena todo material inorgánico natural con partículas redondas o angulares de diámetros comprendidos entre 0.2 y 2.5 mm.

Según Daubenmire (1981) una manera rápida de comprobar si tiene sustancias tóxicas consiste en hacer germinar unas cuantas semillas en un pequeña muestra de arena humedecida con agua, si las plántulas se ven saludables, la arena es adecuada.

#### 3.5.2. Humus

La síntesis microbiana, como segunda forma de transformación de la materia orgánica, consiste en la toma de está por los microorganismos para formar parte de la constitución de sus cuerpos, que al morir toda la materia orgánica de que estaban constituidos sufren una transformación. Así, es posible que al morir, los tejidos microbianos pueden incrementar, en parte apreciable, la materia orgánica resistente (humus) presente en los suelos (Buckman y Brady, 1985).

El humus es una mezcla de sustancias macromoleculares con grupos ionizables, principalmente ácidos, se trata pues, de un polielectrolito macromolecular y amorfo. Sus sales son llamadas humatos. En el humus existen, además de los grupos ácidos, grupos alcohólicos y amínicos, con propiedades secuestradoras y complejas, pudiendo, por tanto, captar iones pesados y dar lugar a quelatos (Primo y Carrasco, 1981).

El humus de la lombriz esta compuesto principalmente por el carbono, oxígeno, nitrógeno e hidrógeno, encontrándose también una gran cantidad de microorganismos. Las cantidades de estos elementos dependerán de las características químicas del sustrato alimenticio proporcionado a las lombrices.

La lombriz es conocida desde tiempos remotos como el animal ecológico por excelencia. El humus de lombriz, el cual es el producto final de su digestión y constituye un excelente regenerador orgánico del suelo. Es un mejorador de las características físico-químicas y biológica del suelo.

**Propiedades químicas:** Incrementa la disponibilidad de nitrógeno, fósforo y azufre, fundamentalmente del nitrógeno a través del lento proceso de mineralización; incrementa la eficiencia de la fertilización, particularmente nitrogenada. Otro aspecto importante del humus es que inactiva los residuos de plaguicidas, debido a su capacidad de absorción.

**Propiedades físicas:** Mejora la estructura, dando soltura a los suelos pesados y compactos, ligazón a los suelos sueltos y arenosos. Por consiguiente mejora la porosidad, permeabilidad y aireación; incrementa la capacidad retentiva; confiere un color oscuro al suelo, ayudando a retener la energía calorífica.

**Propiedades biológicas:** La materia orgánica constituye el sustrato y es una fuente de energía para la actividad microbiana. Con las condiciones óptimas de aireación, permeabilidad, pH y otros se incrementa y diversifica la flora microbiana (Tineo, 1995).

# 3.5.3. Cascarilla de arroz

Es un sustrato biológico de baja tasa de descomposición con alto contenido de sílice. Es un sustrato liviano que cuyo principal costo es el transporte dado que para los molineros es un estorbo. Se presenta con un efecto liviano, de buen drenaje y aireación pero presenta un serio problema para su humedecimiento inicial y para conservar la humedad homogénea, cuando se trabaja como sustrato único en bancales. Se comporta bien como sustrato adicional a los sistemas de lámina de nutriente.

Tiene una buena inercia química, pero puede tener problemas de residuos de cosecha (principalmente herbicidas) que ocasionan problemas de toxicidad. En este sentido es bueno hacer ensayos con cada viaje de cascarilla a utilizar (Rodríguez, 1986).

# IV. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1. Descripción del área

El experimento se estableció, en la comunidad El Castillito, municipio de Las Sabanas, Departamento de Madriz a 260 kilómetros de Managua en el periodo de noviembre del 2004 a abril del 2005. La comunidad El Castillito se encuentra a una altura de 1400 msnm entre las coordenadas: 13° 26' latitud norte y una longitud oeste de 86° 37'.

Las Sabanas se caracteriza por poseer una temperatura promedio anual de 24 grados centígrados y una precipitación anual promedio de 1500 mm (INETER, 2002).Los promedios de precipitación, temperatura y humedad relativa prevalecientes durante el periodo del ensayo se presenta en la Figura 1.

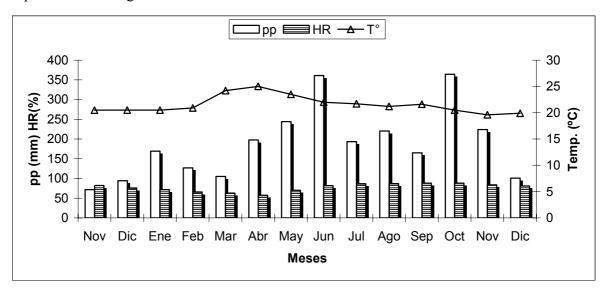


Figura 1. Promedios mensuales de precipitación, temperatura y humedad relativa en el sitio de experimentación.

# 4.2. Material vegetativo experimental

El material vegetativo utilizado fue de la variedad Risaralda, facilitado por el Laboratorio de cultivo de tejidos de la Universidad Nacional Agraria. Este cultivar es originario de Colombia, proporcionado por Universidad Tecnológica de Pereira e introducido *in vitro* a Nicaragua.

# 4.3. Manejo de vitroplantas de mora previo al establecimiento en los sustratos

Veinte y cuatro horas previo a la siembra de las vitroplantas de mora en los respectivos sustratos, éstas se extrajeron de los frascos con ayuda de una pinza y se procedió a retirar de las raíces de las mismas los residuos de agar exponiéndolas al chorro de agua potable. Una vez retirados de las raíces los residuos de agar las vitroplantas se depositaron en un recipiente con agua, se taparon con papel aluminio y se almacenaron en el refrigerador.

## 4.4. Preparación de sustratos y siembra de vitroplantas de mora

Las vitroplantas de mora en el recipiente con agua fueron trasladadas a la comunidad El Catillito donde previo al trasplante de las mismas a las bandejas se procedió a preparar los sustratos. En el caso de arena de río se tomaban porciones de 2 kg de arena se humedecía hasta que alcanzara un 40 % de humedad, aproximadamente. Al mismo tiempo de ir humedeciendo la arena se agregaron 10 g de trichoderma (*Trichoderma harzianum*) el cual se mezcló bien con las manos. Para el humus se tomaron 2 kg y se le adicionaran 20 g de cal la cual se mezcló bien previo a ser humedecida y mezclado con 10 g de trichoderma. El sustrato arena más cascarilla de arroz se elaboró mezclando estos dos materiales en proporciones 1:1, y al igual que los sustratos anteriores se le adicionó 10 g de trichoderma. El sustrato arena, cascarilla de arroz y suelo se elaboró mezclando dichos materiales en proporciones de 1:1:1. Una vez preparada la mezcla se le adicionó cal a razón de 1 % y 10 g de trichoderma.

Una vez preparados los sustratos estos se distribuyeron en bandejas de polietileno de 60 hoyos con dimensiones de 4,5 cm de ancho por 5 cm de largo y 6 cm de profundidad. Colocados los sustratos en las respectivas bandejas se procedió a sembrar las vitroplantas de mora con ayuda de una espátula de madera que permitió hacer una hendidura transversal donde se colocaban las raíces, teniendo cuidado de sembrar la vitroplanta a la altura del cuello del tallo.

Para el establecimiento de las bandejas con las vitroplantas se construyó un sombreadero con tela saran de 40 % de luminosidad y bancos que tenía una dimensión de 1 m de ancho por 3 m de largo y 80 cm de alto. Así mismo se construyeron cámaras húmedas para recubrir las bandejas. Las cámaras húmedas fueron hechas de madera de pino y plástico transparente calibre 1000, con dimensiones de 70 cm de largo y 45 cm de ancho y 40 cm de altura.

Las vitroplantas sembradas en las bandejas fueron colocadas en cámaras húmedas de plástico transparente y bajo el sombreadero donde permanecieron por 15 días. Una vez transcurrido los 15 días se procedió a retirar las vitroplantas de las cámaras húmedas de forma paulatina. Al momento de retirar las vitroplantas de la cámara húmeda se les asperjo con una solución de trichoderma de 5 g/l. De igual forma, 5 días posteriores a la extracción de las vitroplantas de las cámaras húmedas se les asperjó con una solución de caldo sulfocálcico de 5 ml/l, este fungicida se aplicó en lo sucesivo una vez por semana. En cuanto a la nutrición de las vitroplantas, se aplicó una solución de micro y macros elementos minerales a razón de 5 ml/l.

Las vitroplantas de mora, permanecieron en las bandejas 45 días. Posteriormente estas se transplantaron a bolsas de polietileno de 10 cm de ancho por 15 cm de largo las que se llenaron con suelo y humus de cachaza en una proporción de 1:1. En estas condiciones las vitroplantas permanecieron 4 semanas y posteriormente fueron trasladadas a campo.



Figura 2. Cámara húmeda conteniendo vitroplantas de mora (Rubus glaucus Benth)

# 4.5. Descripción de las variables a evaluar

- -porcentaje de sobrevivencia: se realizó determinando el porcentaje por unidad experimental en base a las vitroplantas muertas por ataque de plagas, enfermedades o daños físicos.
- -altura de planta: Se medió en centímetros, desde la base del tallo al nivel de la superficie del suelo hasta la yema apical del mismo.
- -número de hojas: Se registró el número de hojas a partir de la primera hoja.

#### 4.6. Sustratos de Siembra

Cuadro 3. Sustratos evaluados en el endurecimiento de vitroplantas de mora (*Rubus glaucus* Benth) de la variedad Risaralda, primer ensayo.

Tratamiento	Sustrato de siembra
I	Arena
II	Lombrihumus de cachaza
III	Arena + cascarilla de arroz
IV	Arena + cascarilla de arroz + suelo

Después de la realización de este ensayo el mejor resultado estuvo dado por el sustrato de arena, y se decidió hacer un segundo ensayo (Cuadro 4).

Cuadro 4. Sustratos de arena de río utilizados para el endurecimiento de vitroplantas de mora (*Rubus glaucus* Benth) de la variedad Risaralda, segundo ensayo.

Tratamiento	Sustrato de Siembra	
V	Arena esterilizada + trichoderma + micorriza	
VI	Arena esterilizada + trichoderma	
VII	Arena sin esterilziar + trichoderma + micorriza	
VIII	Arena sin esterilizar + trichoderma	

# 4.7. Diseñó experimental y procesamiento de datos.

Para el establecimiento de los ensayos se empleó un diseño completo al azar (DCA.) con 4 repeticiones por cada tratamiento (Cuadro 3) a la vez cada repetición fue constituida por 10 vitroplantas de mora (unidad experimental).

Aplicados los tratamientos y recopilados los datos, se realizó análisis de varianza (ANDEVA) y posteriormente se hizo una separación de medias de Tukey con un nivel de significancia del 5%, para determinar entre que tratamientos existe significancia estadística.

El modelo lineal aditivo (MAL)

$$\mathbf{Y_{ijk}}_{=} + \tau_i + \pi_j + C_{ijk}$$

 $\mathbf{Y}_{ijk}$  = Es un Observación cualquiera de las variables (altura, porcentaje de sobrevivencia y número de hojas).

μ = Media poblacional de las variables.

τ<sub>i</sub> =Influencia de la i-ésimo tratamiento.

 $\pi i$  = Efecto de i-ésima repetición

 $C_{ijk}$  =Error experimental.

i =1....3 tratamientos

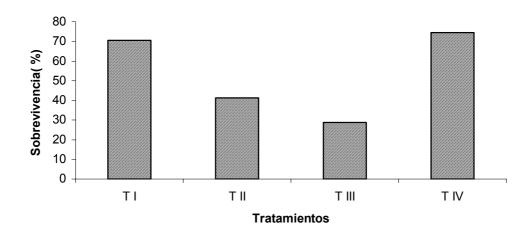
j = 1....3 repeticiones

# V. RESULTADOS Y DISCUSION

# 5.1. Ensayo 1

# 5.1.1. Porcentaje de sobrevivencia

Para la variable porcentaje de sobrevivencia los sustratos resultaron estadísticamente diferentes tal y como se puede apreciar en la figura 1. Los tratamientos arena y arena más cascarilla de arroz más suelo, tuvieron una sobrevivencia de 70.5 % y 74.5 % contrario a los tratamientos II y III con 41.25 % y 28.7 % respectivamente. Marulanda (2000), reporta porcentajes de sobrevivencia de 50 %, 40 % y 35 % utilizando *Jiffy pellets*, mezcla de arena con tierra en bandejas de polipropileno y en bolsas plásticas respectivamente. Así mismo califica la fase de endurecimiento de vitroplantas de mora como unas de las más críticas, debido a que las plántulas al ser retiradas de los tubos ensayos son muy susceptibles a la humedad relativa, al contenido de agua en el sustrato y a la presencia de hongos en los mismos. Williamson *et. al.*, (1998), determinaron que los principales hongos que afectan la propagación comercial de *Rubus idaeu* son *Phytium sp, Fusarium sp* y *Botrytis sp*.



Trata. Nº	Tratamiento	Sobrevivencia (%)
ΤΙ	Arena	70.50 a
TII	Lombrihumus de cachaza	41.25 b
TIII	Arena + cascarilla de arroz	28.75 b
TIV	Arena +cascarilla de arroz + suelo	74.50 a

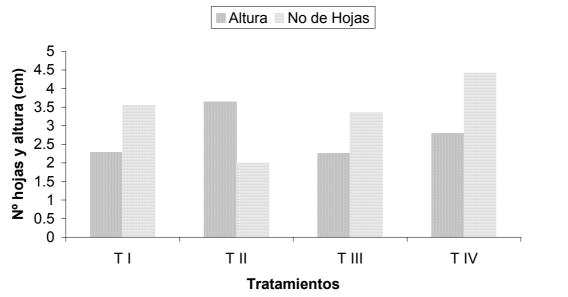
Figura 3. Efecto de los sustratos sobre el porcentaje de sobrevivencia de vitroplantas de Mora (*Rubus glaucus* Benth) en el primer ensayo.

El porcentaje de sobrevivencia según los resultados obtenidos en el presente ensayo estuvieron influenciados sobre todo por las características del sustrato, propiedades físicas de este, dado que uno de los principales factores que afecta la sobrevivencia de las vitroplatas es la cantidad de agua que retiene éste. Otro factor que redujo el porcentaje de sobrevivencia fue el ataque de hongos del suelo. Sin embargo, los tratamientos I y IV permitieron obtener porcentajes de sobrevivencia por encima de 70 %, superiores a los reportados por Marulanda (2000).

## 5.1.2. Altura y número de hojas

En lo referente a la altura y número de hojas de las vitroplantas se encontró diferencias significativas entre los tratamientos en estudio. El tratamiento II fue el que presentó el máximo valor de altura (3.65 cm), el tratamiento IV fue el que obtuvo el mayor número de hojas (4.42). Este comportamiento probablemente se debió en gran parte al efecto de las propiedades físicas y químicas de los sustratos sobre las vitroplantas y las condiciones de humedad y temperatura predominante en la zona de Las Sabanas (70 % a 80 % de humedad relativa), esto favoreció el crecimiento de las vitroplantas y la emisión de hojas nuevas, las que en lo sucesivo mantuvieron esa tendencia. Sin embargo hay que destacar que el comportamiento de estas dos variables tienen sus máximos valores en los tratamiento II y IV; lo que coincide con la variable porcentaje de sobrevivencia únicamente para con el tratamiento IV; no así con el tratamiento I que obtuvo el segundo lugar en porcentaje de sobrevivencia de vitroplantas de mora .

Estos resultados dan evidencia que las mezclas de sustratos con lombrihumus de cachaza y arena más cascarilla de arroz más suelo producen plantas con mayor número de hojas, debido a su capacidad de retención de humedad y nutrientes. Igual tendencia se observa en la variable altura de planta. Lo que implica a su vez mejor condición de la planta para enfrentar las adversidades, una vez transplantadas al campo definitivo.



Trata. Nº	Tratamiento	Altura (cm)	Número de hojas
ΤI	Arena	2.29 b	3.55 a
TII	Lombrihumus de cachaza	3.65 a	2.00 b
T III	Arena + cascarilla de arroz	2.26 b	3.35 a
TIV	Arena +cascarilla de arroz + suelo	2.79 ab	4.42 a

Figura 4. Efecto de los sustratos sobre la altura y número de hojas de las vitroplantas de mora (*Rubus glaucus* Benth) en el primer ensayo.

#### 5.1.3. Interacción sustrato fecha de toma de datos

Las vitroplantas tuvieron un porcentaje de sobrevivencia del 60 % y comenzaron a emitir hojas nuevas a los 20 días después de sembradas en las bandejas. A los 45 días después de la siembra alcanzaron características deseables para ser transplantadas a bolsas y posteriormente ser establecidas en campo.

Tanto las fases de laboratorio como la fase de endurecimiento son de mucha importancia para la adaptación de las vitroplantas en condiciones de campo tal y como se demuestra en trabajos realizados por Ramírez y Angarita (1990); Castro y Gaviria (1995) y Ramírez y Col (1998).

Un factor que puede afectar la sobrevivencia de las vitroplantas en la fase de endurecimiento, y que tiene su origen en las fases de laboratorio, es la vitrificación. Este desorden fisiológico es interpretado como un gran contenido de agua en los espacios apoplásticos de los tejidos vegetales (Orellana, 1998). Esta manifestación influye negativamente en el proceso de endurecimiento y adaptación de las plántulas a las condiciones *ex vitro*, por lo que es necesario minimizar su presencia (Roca y Mroginski, 1993). Algunos autores han descrito este fenómeno durante el endurecimiento de ciertas especies de mora. Ueno y Col (1998), reportan pérdidas significativas debido a este fenómeno.

En cuanto a los factores ambientales, la humedad relativa, temperatura, luminosidad, ataque de hongos del suelo y sustratos suelen ser los más importantes. Por otra parte estos últimos factores son variables en el tiempo, lo cual puede tener incidencia sobre el comportamiento de las variables dependientes en estudios. Sin embargo, en el presente ensayo las variables en estudio (porcentaje de sobrevivencia, altura de planta y número de hojas) expresaron no tener interacción estadística significativa con los momentos de tomas de datos empleados, y como se reflejo anteriormente las diferencias entre estas variables es producto del efecto de los sustrato y de las condiciones que se generan a partir de la utilización de los mismos (Figuras 3 y 4).

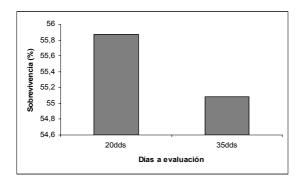


Figura 5. Porcentaje de sobrevivencia en respuesta al momento de evaluación en el primer ensayo.

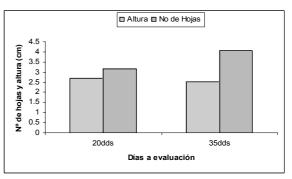


Figura 6. Altura y número de hojas en respuesta al momento de evaluación en el primer ensayo.

# 5.2 Ensayo 2.

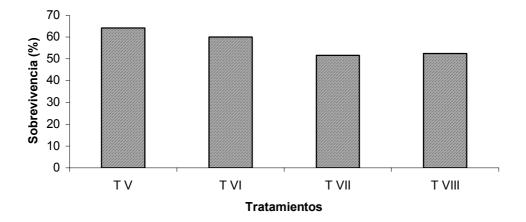
#### 5.2.1. Porcentaje de sobrevivencia

Con respecto a la variable de porcentaje de sobrevivencia de las vitroplantas de mora evaluado en el ensayo 2 no encontramos diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados. Se encontró que los tratamientos de arena esterilizada tuvieron una sobrevivencia de 64.16 % y 60.00 %, superior numéricamente a los tratamientos de arena sin esterilizar, con 51.66 % y 52.50 % respectivamente.

Para el control de hongos se recomienda mejorar las condiciones de aireación y emprender prácticas de control de humedad relativa como son incrementar la concentración de CO<sub>2</sub> en el ambiente, utilizar ventiladores para mejorar la circulación de aire al interior del invernadero y realizar controles preventivos con fungicidas (Deng y Donelly 1993a, 1993b). Marulanda (2004), sugiere para el control de enfermedades y desarreglos fisiológicos de las vitroplantas de mora, en la fase de endurecimiento; utilizar arena de río esterilizada a la cual se le debe adicionar 10 g de trichoderma y 100 g de micorrizas por cada kilo de arena, y realizar aplicaciones semanales con un fungicida preventivo.

Aun cuando no existió diferencia significativa entre el uso de arena estéril y no estéril, este sustrato resultó ser efectivo para el endurecimiento de vitroplantas de mora, tal y como lo reporta Marulanda (2004), pues en este segundo ensayo al igual que en el primero los porcentaje de sobrevivencia fueron los más altos.

Se puede asumir que la respuesta en cuanto a la sobrevivencia en todos los tratamientos fue satisfactoria, pues lograron un margen aceptable de prendimiento de plantas sanas y robustas. Aunque los mayores porcentajes de sobrevivencia se encontraron en los tratamientos de arena esterilizada + trichoderma + micorriza y arena esterilizada + trichoderma, esto se debio posiblemente a factores vinculados con el estado fisiológico de las plantas o manejo de las unidades experimentales en el vivero. No es necesario esterilizar arena, pero si es necesario utilizar trichoderma y micorrizas debido que estas protegen a las vitroplantas de enfermedades y ayudan a absorber los nutrientes.



Trata. Nº	Tratamiento	Sobrevivencia (%)
ΤV	Arena esterilizada + Trichoderma + Micorriza	64.16 a
T VI	Arena esterilizada + Trichoderma	60.00 a
T VII	Arena sin esterilizar + Trichoderma + Micorriza	51.66 a
T VIII	Arena sin esterilizar + Trichoderma	52.50 a

Figura 7. Efecto de los sustratos sobre el porcentaje de sobrevivencia de vitroplantas de mora (*Rubus glaucus* Benth) en el segundo ensayo.

# 5.2.2. Altura y número de hojas

Los resultados obtenidos con la utilización de arena como un elemento principal en todos los tratamientos, da una marcada pauta en las variables de altura y número de hojas, como se muestra en la figura 6 donde se puede observar que hay diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados. El mayor promedio de altura se encontró en el tratamiento de arena esterilizada + trichoderma, con un promedio de 1.67 cm. En cuanto al número de hojas el valor máximo fue registrado por el tratamiento de arena esterilizada + trichoderma + micorriza con 2.02 hojas por planta.

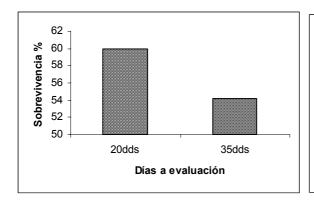


Trata.	Tratamiento	Altura	Número de hojas
Nº		(cm)	-
ΤV	Arena esterilizada + Trichoderma + Micorriza	1.49 ab	2.02 a
TVI	Arena esterilizada + Trichoderma	1.67 a	2.01 a
T VII	Arena sin esterilizar + Trichoderma + Micorriza	1.05 b	1.55 ab
T VIII	Arena sin esterilizar + Trichoderma	1.13 ab	1.30 b

Figura 8. Efecto de los sustratos sobre la altura y número de hojas de las vitroplantas de mora (*Rubus glaucus* Benth) en el segundo ensayo.

# 5.2.3. Interacción sustrato fecha de toma de datos

No se encontró diferencias estadísticas en la interacción sustrato fecha de toma de datos. Sin embargo a partir de los 20 días después de la siembra el porcentaje de sobrevivencia tuvo un descenso del 60 % a 54.1 %, en cuanto a la variable altura estas se registró inicialmente una altura promedio del.45 cm y a los 35 días después de siembra 1.22 cm, la disminución probablemente se debió a la muerte de plantas que tenían los valores máximos de altura. De igual forma se pudo observar una leve disminución en el número promedio de hojas por plantas ocurrido por la renovación de follaje. La excesiva humedad y el ataque de hongos son también factores negativos en la fase endurecimiento y adaptación de las vitroplantas, contribuyendo con las pérdidas sufridas en el establecimiento del invernadero (Williamson *et. al.*, 1998).



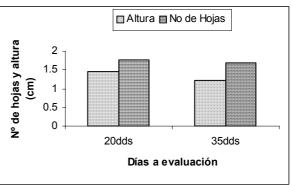


Figura 9. Porcentaje de sobrevivencia en respuesta al momento de evaluación en el segundo ensayo.

Figura 10. Altura y número de hojas en respuesta al momento de evaluación en el segundo ensayo.



Figura 11. Vitroplanta de mora establecida en El Castillito, Las Sabanas, departamento de Madriz.

#### VI. CONCLUSIONES

Basados en los resultados obtenidos en estos ensayos, podemos concluir lo siguiente:

- Sustratros en los que existió combinaciones con arena, presentaron un mayor desarrollo vegetativo por parte de las vitroplantas.
- En los viveros de vitroplantas de mora, las afectaciones de plagas y enfermedades serán mínimas si en estos se da un adecuado manejo agronómico fitosanitario.
- En la evaluación del primer ensayo de los 20 y 35 días después de la siembra, en las variables altura y número de hojas se registraron los mayores porcentajes comparados con los resultados del segundo ensayo, lo contrario sucedió con el porcentaje de sobrevivencia en el que los resultados mas elevados estuvieron dados por este.

#### VII. RECOMENDACIONES

Según las conclusiones obtenidas en el presente estudio, se puede recomendar lo siguiente :

De acuerdo al presente estudio se recomienda para el endurecimiento de vitroplantas de mora la utilización de sustratos formados con arena + trichoderma + micorriza. Estas combinaciones presentaron los mejores resultados en este experimento.

Se recomienda la utilización combinada de material orgánico de origen vegetal para sustrato, siempre que este en un buen estado de descomposición.

Para futuras investigaciones se deben realizar estudios sobre sustratos formados por suelo combinado con los distintos tipos de materia orgánica, en diferentes proporciones, así como independientes.

## VIII. BIBLIOGRAFIA

- Ansorena M. J. 1995. Sustratos: Propiedades y características. Edi. MundiPrensa. Bilbao, España. 172 p.
- Anon. s.f. Hidroponia. s.n.t. pp. 2-8.
- Ballester O. J. F. 1993. Substratos para el cultivo de plantas ornamentales. Valencia, España. 43 p.
- Bokenfohr, B. 1992. El moral híbrido y criollo en Costa Rica. Guía sobre aspectos agronómicos del cultivo. Santa María de Dota, Costa Rica. MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, Costa Rica) 19 p.
- Buckman, H. C. y Brady, N. C. 1985. Naturaleza y propiedades de los suelos. México. 590 p.
- Cáceres Castellón, D. A.; Gutiérrez López, O.A. 2002. Efecto del momento de fertilización, posición de la yema y sustratos en tres clones de quequisque (*Xanthosomas sagittifoluim L. Schott*) propagadas a través de la técnica de reproducción acelerada de semillas. Tesis Ing. Agr. Managua. Nicaragua U.N.A. (Universidad Nacional Agraria.) 4 p.
- Castro D. y Gaviria B.M., 1995. Propación *in vitro* de especies del género *Rubus*. Investigaciones Universidad Católica de Oriete. Antioquia (Colombia) pp. 3-15.
- Colciencias, 2001. Nueva Tecnología para extracción de pulpas. Consultado 4 de Noviembre de 2005. Disponible en <a href="www.colciencias.gov.co/agenda/pn30.html">www.colciencias.gov.co/agenda/pn30.html</a>
- Corzo, J. 1995. Guía de producción, manejo poscosecha, mercadeo. Guatemala. 39 p.

- Cousineau, J.C. y Donnelly D.J. 1991. Adventitious shoot regeneration fron leaf explantas of tissue cultured and greenhouse-grown raspberry. Plan Cell, Tissue and Organ Culture 27: 249-255
- Daubenmire, R.F. 1982. Ecologia vegetal. Tratado de autoecología de plantas. 3 ed. Mexico. Limusa. pp.15 -42.
- Deng, R. y D.J. Donnelly. 1993a. *In vitro* hardening of red raspberry by CO<sub>2</sub> enrichment and relative humidity reduction on sugar-free medium. Canadian Journal of Plant Science. 73(4): 1105-1113.
- Deng, R. y D.J. Donnelly. 1993b. *In vitro* hardening of red raspberry by CO<sub>2</sub> enrichment and reduced medium sucrose concentration. HortScience 28(10): 1048-1051.
- Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. s.f. Horticultura, Manual de práctica de campo. s.e. Honduras Cap. 5, 9 p.
- Facultad de Agronomía-México.2002. Cultivo de mora. Consultado el 18 de Diciembre de 2005. Disponible en <a href="http://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/mora.htm">http://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/mora.htm</a>
- Franco, G. y C.M.J. Giraldo 2000. El cultivo de la Mora. Instituto Colombiano Agropecuario. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. 3 ed. Colombia, Manizales. Corpoica Regional Nueve. pp. 2-50.
- FUNDER (Fundación para el Desarrollo Rural, HN). 2001. Estudio de factibilidad para el procesamiento de concentrado y comercialización de la fruta de mora. San Pedro Sula, Honduras. 76 p.
- Fujiyama, H. y T. Nagal. 1987. Effects of fertilizer and irrigation method on growth and nutrient uptake of tomato. Soil Scie. pH nutrient. 33(3): 461-470.

- Hadid, A. F. Al-Betalgy, A. S. y Burrage, S. W. 1987. Comparison of hidroponic systems for tomato. Egypt. J. Horticultura. 14 (2): 119-130.
- Hernández García F. C. 2003. Evaluación de diferentes sustratos de suelo, Gallinaza y Zeolita, en la producción de posturas de tomate en bandejas para trasplante. Tesis Ing. Agr. Managua, Nicaragua. U.N.A. (Universidad Nacional Agraria.) pp. 14-15.
- Hughes, K.W. 1981. Ornamental species. In. Conger, B. V. (ed). Cloning agricultural plants via *in vitro* technique. CRC Press, Boca Ratón, Florida, Estados Unidos.
- INETER. 2005, Resumen meteorológico.
- Lanzadera, L. 2002. Cocinapatagonia. Licores, brebajes y otras hierbas. (en línea) Consultado 16 de Enero 2005. Disponible en <a href="http://ar.geocities.com/paseovip/cp0.html">http://ar.geocities.com/paseovip/cp0.html</a>
- Larios González R.C. 1999. Evaluación de tres dosis de gallinaza, compost y un fertilizante mineral en el cultivo del maíz.(*Zea\_mays. L.*) variedad NB-6. Tesis Ing. Agr. Managua Nicaragua. U.N.A. (Universidad Nacional Agraria.) pp. 20-29.
- Marulanda, Angel M. L. 2000. Selección, propagación y caracterización genética de mora (*Rubus glaucus Benth*). Tesis Doctor en Ciencias Agrícolas. Colombia. Universidad Agraria de la Habana. pp. 3-65.
- Marulanda, Angel M. L. 2004. Participación en proyecto de implementación del cultivo de mora (*Rubus glaucus* Benth), como alternativa para productores de café, en zonas altas del norte de Nicaragua (Conversación personal) Pereira, Colombia.
- Ministerio de Agricultura Colombiano, 2003. Exploración de Mercados de frutas tropicales frescas. Consultado el 2 de Enero de 2005. Disponible en <a href="http://www.agrocadenas.gov.co/inteligencia/int\_Frutales.htm">http://www.agrocadenas.gov.co/inteligencia/int\_Frutales.htm</a>

- Mongalo Gómez y O. 1996. Evaluación de sustratos para la reproducción de pitahaya (*Hilocereus undatus Brittet Rose*) en condiciones de vivero. Tesis Ing. Agr. Managua Nicaragua. U.N.A. (Universidad Nacional Agraria.) pp. 2-3.
- Orellana, P. 1998. Propagación vía organogénesis. En: Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Ed. J.N. Pérez Ponce. Santa Clara. Cuba.
- Pérez, Jiménez A. 1994. Efecto del compost sobre propiedades fisico-químicas de un suelo y la respuesta del maíz (<u>Zea mays.</u> L.). Tesis Ing. Agr. Managua Nicaragua. U.N.A. (Universidad Nacional Agraria.) pp. 4-9.
- Primo E. y Carrasco J.M. 1982. Química agrícola: Suelos y fertilizantes. Madrid, E. 472 p.
- Ramírez del Castillo, A. 1989. Estudios preliminar para la propagación clonal *in vitro* de mora (*Rubus glaucus*). Tesis de grado, Universidad Nacional, Colombia, pp. 1-135.
- Ramirez del Castillo A. y Angarita Zerda A. 1990. Estudios preliminares para la propagación clonal *in vitro* de mora (*Rubus glaucus L.*). Agrom. Colomb. 7(1-2).
- Ramírez, C., M.S. Carriosa, D. Rivera y E. Linares. 1998. Conservación del germoplasma de mora silvestres (Rubus glaucus L.). Agronómia colombiana 7(1-2): 17-25.
- Roca, W y Mroginski L. 1993. Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. CIAT (Cali, Colombia). 877 p.
- Rodríguez, C. 1986. Hidroponía: Sustratos. Centro Las Gaviotas. Cali, Colombia. 16 p.
- Thorpe, T. A. 1983. Biotechnological applications of tissue culture to forest tree improvement. In: Biotechnological advances. pp. 263-278.

- Tineo Bermudez, A. L. 1995. Aspectos reproductivos de tres especies de lombrices de tierra. Turrialba, C. R. CATIE. pp 187-189.
- Ueno, K.L., S. Cheplick y K. Shetty. 1998. Reduced hyperhydricity and enhanced growth of tissue cultura generated raspberry (*Rubus sp*) clonal lines by pseudomonas sp. Isolated from oregano. Process Biochemistry 33(4): 441-445.
- Villalobos, A. V. M. y Torpe, T. A. 1991. Micropropagación: Conceptos, metodología y resultados. En Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Ed. Por William M. Roca y Luis Mroginski. CIAT. Cali, Colombia. pp. 127-141.
- Williamson, B., P.E. Llooke, J.M. Duncan, C. Leifert, W.A. Breese y R.C.S. Harrock. 1998. Fungal infection of micropropagated plants at weaning: a problem exemplified by downy mildews in *Rubus* and Rosa. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 52: 89-96