



TRABAJO DE DIPLOMA PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO

Título. Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Autora: Bárbara Yasleny León Hernández

Tutores: MSc. Olimpia Nilda Rajadel Acosta

Ing. Orlando Manuel Stable Rodríguez

Curso: 2019-2020

Resumen

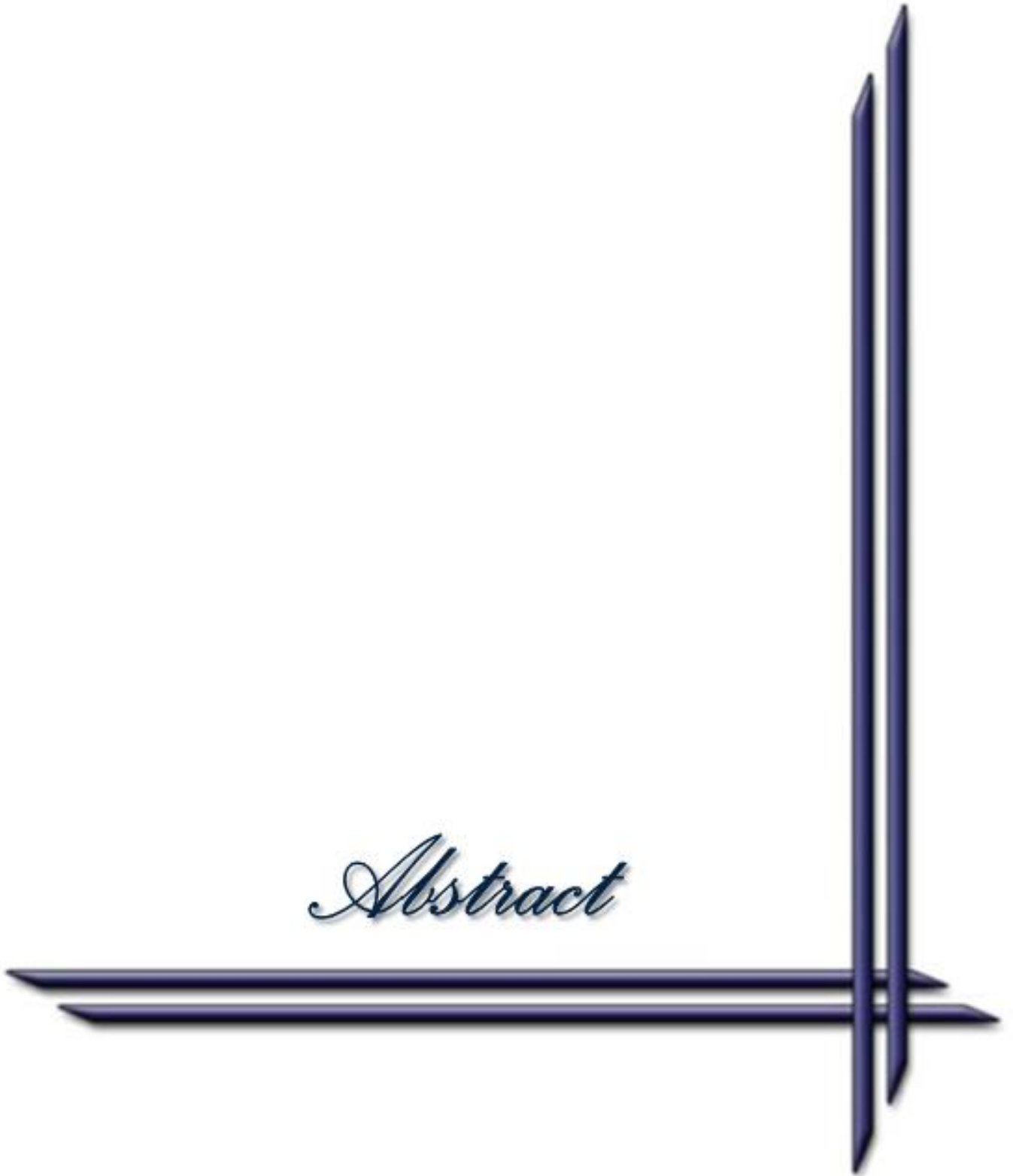


Resumen

Se realizó una investigación experimental de bloque al azar totalmente aleatorizado con el objetivo de diseñar una propuesta de sustrato para vitroplantas en fase de aclimatación en la Biofábrica de Cienfuegos, que garantice mayor retención de humedad y manejo del riego. Se emplearán los métodos teóricos y prácticos entre los que se encuentran: las encuestas, revisión documental, trabajo de laboratorio y muestreo de la composición del sustrato para determinar la velocidad de infiltración y estabilidad de los agregados con el empleo de las herramientas metodológicas del Manejo sostenible de Tierras (MST) con el fin de determinar la retención de humedad. Se realizaron 5 tratamientos con 30 vitroplantas por cada tratamiento con tres réplicas cada uno y el empleo de CBS en 15 bolsas de cada cual menos en el testigo (T1), los sustratos empleados fueron: Cachaza al 100% en el Testigo (T1), 30% Cahaza+70% Suelo (T2), 30% Humus de lombriz+20% Cahaza+50% Suelo (T3), 50% Cachaza+50% Suelo (T4) Y 100% Suelo (T5). Se evaluaron cada 10 días las variables: altura de la planta, tamaño del tallo, grosor del seudotallo, número de hojas y tamaño de las hojas, además de realizarse también mediciones para determinar la velocidad de infiltración y estabilidad de los agregados de residuales orgánicos empleados en la mezcla del sustrato. Los resultados fueron evaluados por el diseño estadístico completamente aleatorizado. Las vitroplantas que tuvieron mejores resultados en cuanto a las variables evaluadas fueron el T3 y T4.

Palabras clave: influencia, humedad, vitroplantas

Abstract

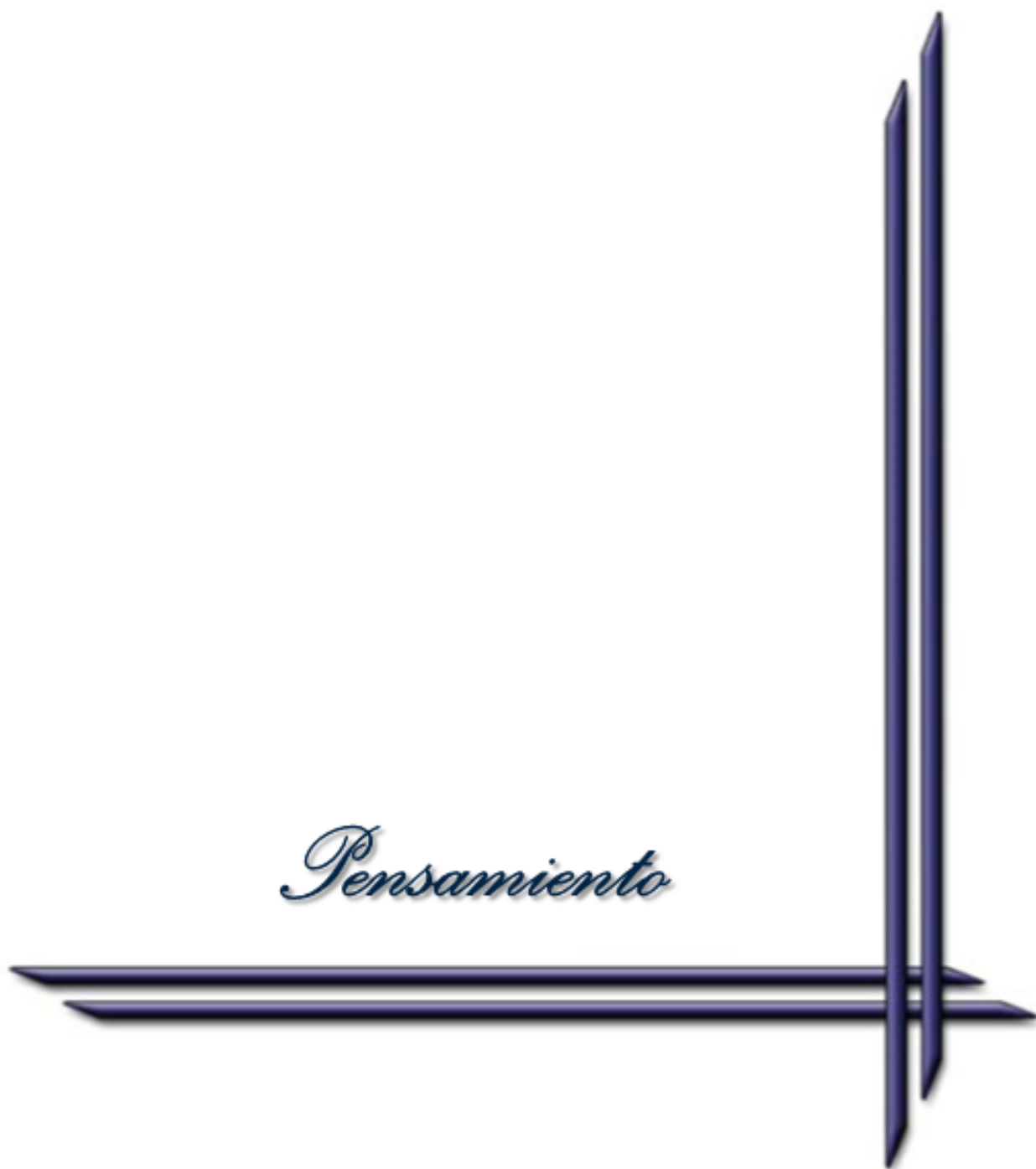


Abstract

Carried out an experimental investigation of block at random totally randomized with the objective to designing a proposal of substrate for vitroplantases in making of aclimatacion in biofabricaing it of Cienfuegos, that guarantees bigger retencion of humidity and manage of the irrigation .Se employed the theoretical and practical methods between those who find: the inquiries, documentary revision, laboratory work and sample of the composition of the substrate to decide the speed of infiltration and stability of the aggregates with the employment of the methodological tools of the sustainable handling of earthes (MST) in order to decide the retention of humidity. Carried out 5 treatments with 30 vitroplantases for each treatment with three answers everyone and the CBS employment in 15 bags of each one less in the witness (T1), the employees substrates went: Sloth to 100% in the witness (T1), 30 % Cahaza+70 % am accustomed to (T2), 30 % humus of lombriz+20 %Cahaza+50 %Suelo (T3), 50 %Cachaza+50 %Suelo (T4) and 100% am accustomed to (T5). They evaluated each 10 days the variables: height of the plant, size of the holy thistle, thickness of the seudotallo, leaf number and size of the leaves, besides carrying out also measurements to decide the speed of leak in and stability of the aggregates of residual organic employees in the mixture of the substrate. The results were evaluated for the statistical design completely randomized the vitroplantases that had improve resulted as for the variables evaluated went the T3 and T4.

Key words: influence, humidity, vitroplantases

Pensamiento



PENSAMIENTO



El único camino abierto a la prosperidad constante y fácil, es el camino de conocer, de investigar infatigablemente los secretos de la naturaleza.

José Martí.

Agradecimientos



Agradecimientos

Todo tipo de trabajo investigativo requiere de la colaboración de muchas personas, aunque me resulta difícil, expresar en pocas palabras todo el cariño y agradecimiento que siento por todas aquellas personas que de una forma u otra han contribuido a la realización de este trabajo y que me han brindado su ayuda en el transcurso de mi vida. Llegue desde estas líneas el más sincero Agradecimiento: A mis padres, Sahira Hernández Reyes y muy especialmente a mi Padre Gonzalo León Mendoza, que por su esfuerzo he llegado a ser lo que hoy soy y a mi madrastra Yanay Rodríguez que es para mí una madre, también ha sido de gran apoyo en este logro, a mi esposo Yadiel Pérez y mi hija Yisely Pérez león quienes han sido mi motor impulsor en todo esto: gracias de todo corazón. A todos aquellos amigos y profesores que dedicaron parte de su tiempo a mi formación como profesional. A mi tutora: MSc. Olimpia Nilda Rajadél Acosta que con su esfuerzo y dedicación contribuyó de manera decisiva a la realización de este trabajo. A mi otro tutor Ing. Orlando Manuel Stable Rodríguez por su colaboración. Al guía de la revolución cubana, Fidel Castro Ruz, sin el cual no se hubiera hecho posible este hermoso sueño. A mis compañeros de aula, amigos y demás por su ayuda desinteresada.

"A todos, mis más sincero Agradecimiento".

Dedicatoria

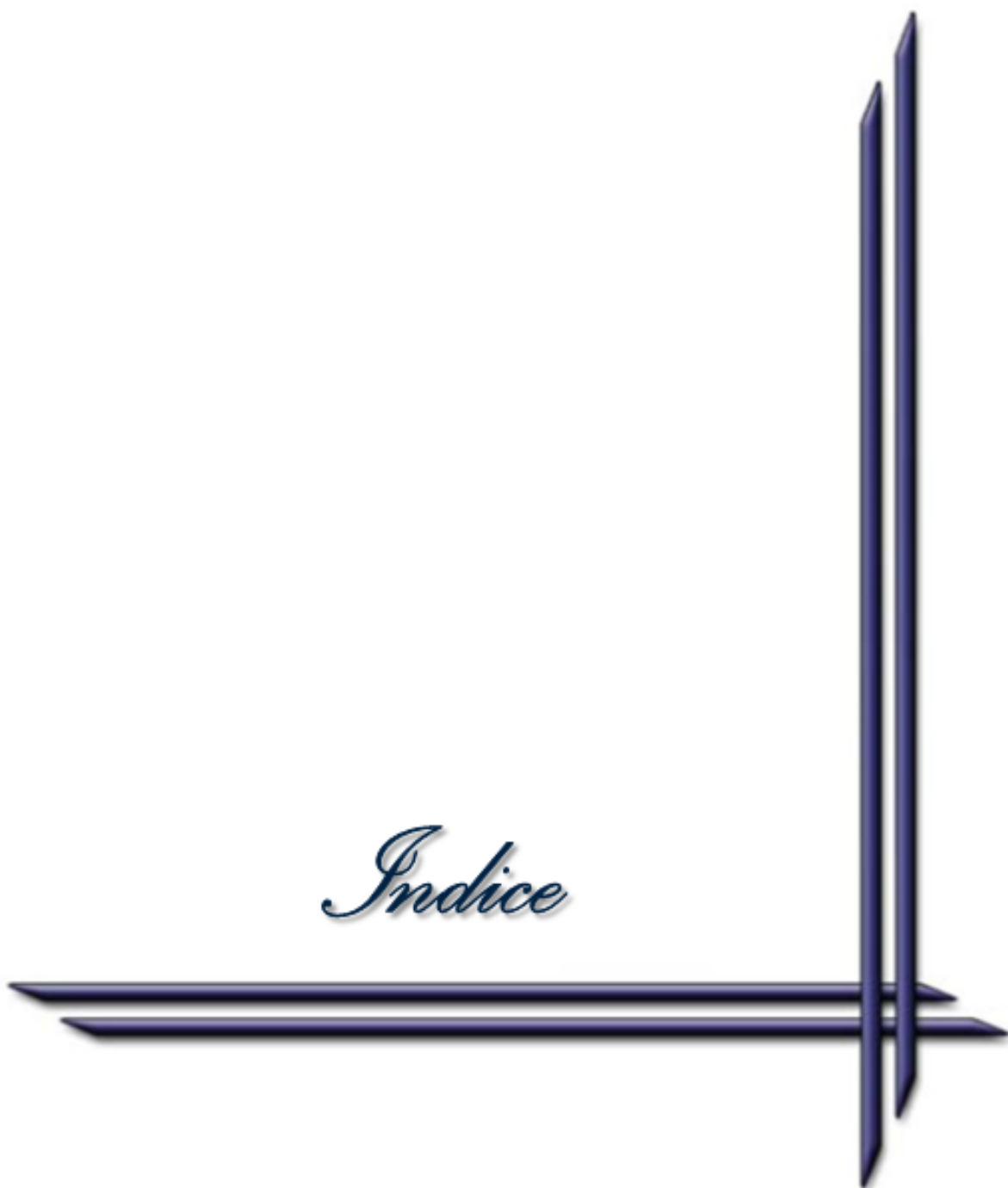


Dedicatoria

Dedico este trabajo a una persona que, por su dedicación y amor, ha sabido ser todo para mí, a mi querido Padre Gonzalo León Mendoza y su esposa que me ha apoyado como una madre, a mi madre, mi esposo y mi adorada hija que es el ángel que ilumina mi vida.



Indice



Índice

Introducción	1
Capítulo1: Revisión bibliográfica.....	7
1.1. Origen del género Musa. Sistemática y botánica	7
1.2. Características del cultivar híbrido Plátano enano guantanamero	9
1.3. Propagación In vitro	10
1.3.1. Micropropagación.....	11
1.3.2. Importancia de la micropropagación	12
1.3.3. Éxito en la propagación in vitro de plantas	13
1.4. Aclimatización o Endurecimiento Ex vitro	14
1.4.1. Calidad de las vitroplantas para A climatizar.	15
1.4.2. Factores que afectan el resultado de las vitroplantas en la aclimatación.....	16
1.4.3. Antecedentes de sustratos con mayor retención de humedad que se emplean en el mundo y en Cuba.....	18
1.4.4. Sustratos para la siembra de vitroplantas.....	19
1.4.5. Calidad del sustrato	21
1.5. Riego.....	21
1.6. Luz	22
1.7. Siembra o Plantación.....	22
1.8. 1.8-Labores de agro – técnicas	23
1.9. 1.9Selección Negativa.....	24
1.10. Protección Fitosanitaria.....	25
1.11. Necesidades hídricas de vitroplantas en fase de aclimatación.....	26
1.12. Beneficios de las CBS en la retención de humedad	26
Capítulo 2. Materiales y métodos.....	29
2.1. Diagnóstico de los principales problemas inherentes a la retención de humedad y manejo del riego en la fase de aclimatación de vitroplantas en la Biofábrica de Cienfuegos.	29
2.1.1. Descripción de las principales características del lugar dónde se ubicó el experimento	29
2.2. Diseño experimental.....	30
2.3. Análisis estadístico de la información captada.....	36
Capítulo 3. Resultados y discusión	38

3.1. Resultados del diagnóstico de los principales problemas inherentes a la retención de humedad y manejo del riego en la fase de aclimatación de vitroplantas en la Biofábrica de Cienfuegos.	38
3.1.1. Resultados de la descripción de las principales características del lugar dónde se ubicó el experimento.....	40
3.2. Resultados del diseño experimental.....	43
3.3. Resultados de la evaluación de las variables respuesta.....	44
3.3.1. Resultados de la determinación de estabilidad de agregados.....	44
3.3.2. Resultados de la medición de la Velocidad de infiltración de la mezcla de residuales para conformar el sustrato.	44
3.4. Resultados del establecimiento de interacción entre la composición del sustrato, índices agronómicos de vitroplantas y retención de humedad del sustrato.....	44
3.5. Análisis estadístico de la información captada Tabla.....	45
Conclusiones	46
Recomendaciones	47
Referencias Bibliográficas	
Anexos.....	

Introducción



Introducción

El cultivo de tejidos en su acepción amplia puede ser definido como un conjunto muy heterogéneo de técnicas que presentan en común el hecho de que un explante (una parte separada del vegetal que pueden ser protoplastos –células desprovistas de pared celular– células, tejidos u órganos), se cultiva asépticamente en un medio artificial de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas (Augé et ál., 1990).

Entre los factores involucrados que incrementan los costos en la micropropagación de plantas, se destacan: el elevado número de operaciones manuales que implican un costo entre el 40 y 90 % por mano de obra (Pérez et ál., 2000) (Etienne, H & Berthouly, M, 2002) y (Satyahari, 2005), el gasto por energía eléctrica estimado entre el 60 y 65 % de los costos de laboratorio (Ahloowalia et ál., 2004) y (Kodym & Zapata-Arias, 1998) y el uso de agentes gelificantes en los medios de cultivo que representan entre el 70 y 90 % de los costos del medio de cultivo, estas plántulas que se obtienen a través de la micropropagación se conocen como vitroplantas (Prakash et ál., 2004) y (Orellana, 1998).

En reportes científicos de Pérez, (2009) se definió que una vitroplanta, es una planta en miniatura que se obtiene en un tubo de ensayos. Se parte de una yema, que es la fracción más joven de la planta y donde no hay enfermedades. Al obtener la planta a partir de esa yema, entonces se logra una planta rejuvenecida y saneada, con mayor vigor y desarrollo, lo cual significa un mayor potencial productivo.

Según el autor antes citado, se plantea que Cuba produce vitroplantas hace más de 20 años en cultivos como la malanga, el boniato, el plátano (*Mussa sativa*, sp.) y la caña de azúcar, entre otros, lo cual le permite al país el rejuvenecimiento de las semillas de estas especies; pudiendo llegar a producir anualmente hasta 40 millones de vitroplantas de diferentes especies, pero la situación económica del país ha limitado esa aspiración, no obstante, se cuenta en el país con 11 Biofábrica, entre las que se destaca la del Instituto de Biotecnología de las Plantas de Villa Clara, una de las mejores del territorio nacional.

La primera de la red de Biofábrica pertenecientes a la Empresa de Semillas, se inició la Micro propagación por vía organogénesis, comenzando con plátanos y bananos (*Musa sativa*, sp.) luego se fueron incorporando otras especies; También en los últimos años se trabaja por la vía de la embriogénesis somática con el apoyo del Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP) (Ministerio de la Agricultura, 2018). En declaraciones recientes de funcionarios del Ministerio de la Agricultura pudo conocerse que el programa nacional de semillas se está recuperando, ya que en determinados momentos ese plan no se ha establecido adecuadamente, y no ha habido una estrategia técnica a corto, mediano y largo plazo para producir la semilla (Jiménez, 2017).

Según Instructivo Técnico pudo conocerse que la micro propagación en Cuba a escala comercial comenzó con la inauguración de la Biofábrica Villa Clara el 4 de septiembre en el año 1987, La Micropropagación es el método ideal para la producción de semilla agámica de categoría, pues en las Biofábrica se obtienen semillas básicas de los diferentes cultivares micropropagados, lo que repercute en el buen estado fisiológico y fitosanitario de las plantaciones en campo, así como, en el rendimiento potencial a obtener (Orellana, 1995) (Pérez & Rodríguez, 1989).

Tanto las vitroplantas producidas por organogénesis somática como por embriogénesis somática tienen que ser aclimatizadas para llevarlas a las condiciones de campo. La fase de aclimatización (comúnmente llamada fase de adaptación) es la etapa final del proceso de la micropropagación de ahí que sea trascendental para la propagación comercial de plantas, por lo que de su éxito dependerá en gran medida la eficiencia total del proceso seguido durante la micropropagación in vitro (Ministerio de la Agricultura, 2018).

Teniendo en consideración, que las plantas producidas en condiciones in vitro presentan características que conllevan a una excesiva pérdida de agua post-trasplante a su vez, que existe una deficiente conducción vascular, la cual reduce drásticamente la conducción del agua (Pérez & Rodríguez, 1989), es que se fundamenta la necesidad de alternativas que permitan mantener la humedad del sustrato donde son plantadas en su etapa o fase de aclimatación.

Para West, (1990) y Belnap & Gardner, (1993) una de las comunidades bióticas que ha despertado mayor interés entre investigadores de muchas disciplinas en las últimas décadas es la costra biológica del suelo (CBS), formada por la íntima asociación entre partículas de suelo, cianobacterias, algas, hongos, líquenes, hepáticas y briófitos (Castillo-Monroy & Maestre, 2011). Estos organismos varían ampliamente en apariencia, biomasa, y composición, dependiendo del régimen climático que se considere.

Según Bowker, (2007) Generalmente, la CBS está presente en diferentes tipos de suelo, que tienen abundante entrada de luz, hacia la superficie del suelo, aunque es mucho más dominante en zonas áridas, semiáridas, alpinas y polares, en las cuales la productividad es baja (Castillo-Monroy & Maestre, 2011). Por tanto, a este tipo de asociaciones se las puede encontrar en casi todas las eco regiones áridas y semiáridas del mundo, donde cubre generalmente los espacios no ocupados por plantas vasculares perennes.

Según el tipo de organismo dominante, la CBS, puede clasificarse como de algas verdes, musgos, cianobacterias y líquenes (Belnap & Gardner, 1993), (Castillo-Monroy & Maestre, 2011). Esta composición, además de la apariencia y la biomasa, varía en los diferentes climas en los que se encuentren las CBS. La CBS dominada por algas verdes se encuentra mayormente en latitudes altas, en regiones desérticas con suelos que se congelan y con potencial de evapotranspiración bajo (Belnap, 2006). La dominada por musgos se encuentra distribuida por zonas áridas y semiáridas, pero su presencia depende además del pH del suelo y el contenido de arcilla del mismo.

Por otra parte, están las costras de cianobacterias, que, debido a su distribución en zonas áridas y semiáridas de todo el planeta, han sido muy estudiadas. Se desarrollan en condiciones extremas de temperatura y humedad y son de aspecto oscuro o negro. Las costras biológicas de líquenes, por el contrario, son de varios colores y formas. Se encuentran en suelos alcalinos y dependen de la distribución y frecuencia de lluvias (Castillo- Monroy & Maestre 2011). Dependiendo de su morfología, este tipo de costras se pueden clasificar como: crustosas, en donde los tálos liquénicos aparecen planos y se unen fuertemente al sustrato por su cara inferior; escumulosas, el talo está formado

por escamas cuyos bordes están levantados del sustrato; foliosas, líquenes con aspecto a hoja con talo unido al sustrato solo por algunos puntos; gelatinosos, los talos son planos o tridimensionales de aspecto mucilaginoso y blando en estado húmedo; o fruticuloso, líquenes tridimensionales que forman ramas y se unen al sustrato por un único punto (Belnap & Lange, 2001).

Todas estas diferencias en estructuras externas e internas y hábitat de los tipos de costras, permiten que existan diferentes efectos de las CBS en los procesos ecológicos (Belnap, 2006). Así la importancia del estudio de las costras biológicas radica en el papel ecológico que cumplen, ya que sus efectos sobre las estructuras y funcionamiento del ecosistema donde se encuentran son variados.

Las CBS promueven a la estabilidad del suelo mediante la agregación de las partículas del suelo (Bowker et al., 2008) y (Williams et al., 2012). La producción de exopolisacáridos por parte de las CBS es un mecanismo químico clave, debido a que se forman superficies con afinidad de unión a arcillas y compuestos de calcio tales como yeso y carbonato de calcio, creando microagregados del suelo y facilitando la colonización de otros microorganismos (Belnap & Gardner, 1993). Las hifas de hongos y filamentos o vainas de cianobacterias crean macroagregados, que funcionan como soporte físico que retienen partículas finas e influyen en la estabilización de suelos (Bowker et al., 2008) y (Zhang et al., 2010).

Teniendo en cuenta estos beneficios de las CBS al suelo, se pudiera pensar que estos organismos también pudieran aportar dichos beneficios al sustrato donde son plantadas las vitroplantas en su fase de aclimatación y evaluar los cambios que se pudieran producir para el manejo del riego durante esta etapa, cuyo sistema más utilizado es el riego por Aspersión que es un sistema en el que el agua se aplica en forma de una lluvia más o menos intensa y uniforme sobre la parcela con el objetivo de que infiltre en el mismo punto donde cae y es muy ventajoso ya que la distribución del agua es bastante uniforme, pudiendo ser utilizado en suelos o sustratos con grandes velocidades de infiltración, permite aplicar normas de riego pequeñas y con gran frecuencia, así como tiene la ventaja de su automatización, permite aplicar sustancias nutrientes de conjunto con el agua de riego (fertirrigación).

Partiendo de todos los antecedentes referidos y analizando la problemática evidenciada en la Biofábrica de Cienfuegos en relación a contar con un sustrato que retenga la humedad y un manejo de riego en correspondencia con este es que se justifica la presente investigación, identificándose como problema científico:

Problema científico. No se evidencian estudios para identificar principales problemas en la Biofábrica de Cienfuegos, inherentes a retención de humedad y manejo del riego en la fase de aclimatación de vitroplantas, para proponer mezclas de residuales orgánicos que conformen el sustrato.

Hipótesis. La identificación de principales problemas en la Biofábrica de Cienfuegos, sobre la retención de humedad y manejo del riego en la fase de aclimatación de vitroplantas, permitirá proponer mezclas de residuales orgánicos para conformar un sustrato con estas condiciones.

Para dar cumplimiento a lo anterior, se diseñaron como objetivos de investigación los siguientes:

Objetivo general

Diseñar una propuesta de sustrato para vitroplantas en fase de aclimatación en la Biofábrica de Cienfuegos, que garantice mayor retención de humedad y manejo del riego.

Objetivos específicos

- Diagnosticar los principales problemas inherentes a la retención de humedad y manejo del riego en la fase de aclimatación de vitroplantas en la Biofábrica de Cienfuegos.
- Elaborar una mezcla de residuales orgánicos para la conformación del sustrato para vitroplantas en fase de aclimatación, que garantice la retención de humedad y el manejo del riego que se demanda para esta fase.

Revisión Bibliográfica



Capítulo1: Revisión bibliográfica

1.1. Origen del género Musa. Sistemática y botánica

En el caso del origen del género Musa se ha considerado a la península malaya en Asia como probable centro de origen primario, tanto de Musa balbisiana como de Musa acuminata, cuyos cruzamientos dieron origen a todas las variedades comestibles conocidas en América, (Belalcazar, 1991).

En cuanto a la introducción a América, el cronista Oviedo sostiene que el plátano fue llevado desde la Gran Canaria a Santo Domingo por Fray de Berlanga en 1516 y de ahí a Cuba. La generalización de este cultivo en la América Intertropical fue debido a la facilidad de propagación, diversas formas de consumo y a la aptitud para producir bebidas fermentadas a partir de la pulpa madura, (López, 1989).

Desde 1984 la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA) ha venido desarrollando un programa para la búsqueda de híbridos resistentes a la enfermedad Sigatoka negra dentro de los cuales está el cv. FHIA-18 (AAAB). Hasta abril de 1999 en Cuba se habían sembrado 2 362 ha de este clon, siendo uno de los más generalizados en el país (Orellana, 1998).

Desde Linneo hasta el presente la ubicación taxonómica del género *Musa* ha sido tratada por muchos autores. (Cronquist, 1988), propone la siguiente, siendo ésta la aceptada en la actualidad.

División: Magnoliophyta.

Clase: Liliopsida.

Sub-clase: Zingiberidae.

Orden: Zingiberales (Scitamineae).

Familia: Musaceae.

Género: Musa.

Especie: Musa ssp.

Los plátanos y bananos son plantas herbáceas, con un falso tallo de forma cilíndrica que está formado por las vainas de las hojas superpuestas, un cormo y un sistema radical fibroso (López, 1989).

El género *Musa* contiene entre 30 y 40 especies diploides, tales como *Musa acuminata* y *Musa balbisiana*, ambos con número cromosómico $2n=22$ y cuyo genoma se representan como A y B, respectivamente; un paso importante en la evolución de los bananos comestibles fue el desarrollo de la partenocarpia y la esterilidad de las semillas, bajo la selección realizada por el hombre, originando los cultivares diploides comestibles de *M. acuminata* (AA). A partir de los cultivares AA, por restitución cromosómica en la meiosis surgieron los triploides AAA. Del cruzamiento entre los cultivares AA y AAA, con el silvestre *M. balbisiana* (BB), surgen los híbridos AB, AAB, ABB, AAAB, AABB (Simmonds & Shepherd, 2008).

Los plátanos y bananos (*Musa* spp) se encuentran entre las principales plantas que se cultivan en las zonas tropicales y subtropicales de América Latina, Asia y África, lugares donde predominan temperaturas y humedades relativas altas. En Cuba, los bananos y plátanos constituyen un reglón de elevada prioridad dentro del programa alimentario nacional, debido a su capacidad de producir todos los meses del año, su elevado potencial productivo, arraigado hábito de consumo y diversidad de usos. La producción de plátanos y bananos posee gran significación dentro de la producción de viandas en Cuba, pues representan más del 40% de este indicador anualmente. Actualmente esta producción está basada en varios clones pertenecientes a los subgrupos Cavendish (AAA), Plantain (AAB), Burros (ABB) y tetraploides (AAAA, AAAB, AABB), introducidos de la Fundación Hondureña de Investigaciones Agrícolas (FHIA).

En el mundo actual existen cientos de variedades de bananos, plátanos, guineos, cambures y matooke. Por miles de años, los productores de Asia, África y el Pacífico han venido observando sus plantaciones y barbechos y han seleccionado plantas con características especiales. Cada variedad actual tiene ciertos aspectos que hace que se distingue de las otras variedades como el tamaño y forma de los racimos y dedos, el sabor, textura y olor del fruto, y el color y forma de los tallos y hojas. Sin embargo, cada variedad es también caracterizada por una cierta variabilidad en algunos de los mismos aspectos ante mencionados. Esta variabilidad provee una interesante oportunidad a través de la cual los pequeños productores pueden mejorar la productividad de sus plantaciones. Dicho de manera sencilla, se debe tomar el material de siembra únicamente de plantas que tienen un comportamiento superior al promedio, en rasgos

importantes tales como el número y tamaño de los dedos, estatura de la planta, intervalo de retoño entre la cosecha del racimo de la planta madre y la cosecha del racimo de los cormos de retoño. Esta práctica través del tiempo tiene un efecto multiplicador doble: la reducción de plantas con rasgos inferiores al promedio y el incremento de plantas con rasgos deseables.

El Instituto Taiwanés de Investigación en Banano (Taiwan Banana Research Institute, TBRI) ha usado una selección masal para identificar plantas con una mayor tolerancia a la marchitez por Fusarium. Cada año, los productores de banano taiwaneses resiembr sus plantaciones de bananos con vitroplantas, una estrategia inicialmente diseñada para evitar pérdidas de cultivos por tifones. Desde la aparición de la marchitez por Fusarium, los científicos y productores han estado seleccionando plantas que continúan creciendo, aunque las plantas vecinas hayan sido afectadas por Fusarium. A través de esta estrategia, nuevas líneas de banano (Cavendish AAA) han sido identificadas con tolerancia a la raza subtropical 4 de Fusarium, aun cuando generalmente se considera que Cavendish es susceptible a esta enfermedad.

Existen cinco métodos comunes para obtener material de siembra para el establecimiento de nuevas plantaciones de musáceas. Cada método tiene requerimientos específicos, en términos de facilidades y equipos; una tasa de multiplicación característica y ciertos riesgos de contaminación de plagas y enfermedades. Los métodos varían desde la extracción de pocos hijos de una parcela, a pequeños viveros de unos pocos cientos de plántulas distribuidas a nivel local, y hasta unidades de producción industrial de varios millones de vitroplantas por año para la exportación.

1.2. Características del cultivar híbrido Plátano enano guantanamero

Este clon es autóctono de la zona oriental del país

Hábito foliar: Normal, Altura: 1.90- 2.50 m, Disposición de las hojas: Rectas,

Color delseudotallo: Verde con tonalidades rosadas, Color de los frutos: Verde, Posición de los frutos: Ligeramente curvos, Duración primer ciclo vegetativo (siembra-floración): 210270 días, Duración primer ciclo productivo (floración-cosecha): 90110días, Peso Neto del racimo (sin raquis): 7-13 kg, Número de dedos por racimo:

dedos, Sigatoka Negra: Susceptible, Mal de Panamá: Resistente, Nematodos: Susceptible.

1.3. Propagación In vitro

El término “cultivo in vitro de tejidos” significa cultivar algunas partes de las plantas también llamados “explantes”, como segmentos de hoja, tallo y raíces, además de otros tejidos u órganos vegetales, dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial, en los que deben de controlarse la asepsia, el crecimiento y el desarrollo de estos diferentes tejidos. No deben de crecer microorganismos como bacterias y hongos, y los tejidos o plantas deben de mostrar un óptimo desarrollo.

Para lograr un cultivo in vitro de plantas, los tejidos y órganos (incluyendo semillas) deben ser esterilizados de manera superficial (asepsia) y se cultivan en soluciones nutritivas especiales, con frecuencia en medios solidificados con agar. A estos medios de cultivo se le incorporan combinaciones adecuadas de auxinas y citocininas, dos de las principales fitohormonas del crecimiento vegetal. Con la aplicación de éstas y el cultivo controlado como el pH, la luz y la temperatura, es posible reproducir todos los factores que puedan incidir en el crecimiento y desarrollo de los tejidos o de las plantas in vitro.

Los cultivos in vitro se mantienen en cuartos o cámaras de crecimiento con luz artificial, en una temperatura promedio de 25°C, una intensidad de 25 a 35 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ seg con un fotoperiodo de 12 a 16 horas de luz. Aunque de manera comercial existen diversos medios de cultivo, éstos generalmente se componen de una mezcla de sales minerales (macro- y micro- elementos), vitaminas y sacarosa. La composición del medio depende de la especie vegetal y del tipo de cultivo que se requiere.

La elección del explante para iniciar un cultivo in vitro adecuado, constituye el primer paso para el establecimiento de los cultivos. Se ha demostrado que la edad fisiológica del explante es un factor importante en la formación de órganos, entre más joven, más fácil será su adaptación y respuesta al cultivo in vitro. El explante más usado para los procesos de propagación in vitro son las yemas apicales y axilares de las plantas.

1.3.1. Micropropagación

La micropropagación es un sistema de propagación asexual, a partir de un segmento de una planta madre, que da como resultado la propagación masiva de plantas genéticamente idénticas, denominadas clones. Con esta biotécnica se incrementa de forma exponencial el número de plantas en microexplantes menores a 1 cm de longitud o de diámetro, en los que se forman minúsculos brotes que se desarrollan hasta la formación de plantas, mediante el fenómeno de la regeneración vegetal. Lo anterior se explica debido a que las células vegetales son capaces de generar una planta a partir de una simple célula, proceso conocido como “totipotencialidad”.

La formación de plantas en tejidos vegetativos como los tallos y las hojas, puede llevarse a cabo por dos diferentes maneras, en tejidos sin diferenciación celular (callos) y de forma directa en los explantes cultivados, regenerando plantas mediante la formación de brotes (organogénesis) o de embriones somáticos (embriogénesis somática).

Los callos son un grupo de células con alta división celular que han perdido el control de la diferenciación, que crecen de modo continuo en forma de cúmulos celulares, a partir de los cuales pueden formarse brotes o embriones somáticos. Para la generación de las plantas, los brotes deben de ser inducidos a producir raíces y los embriones somáticos a germinar. Estos últimos se desarrollan de forma similar a un embrión cigótico (dentro de la semilla) a diferencia que los embriones somáticos provienen de células de tejidos vegetativos y no por la interacción de las células sexuales, como es el caso para los embriones cigóticos. Estos procesos de regeneración se obtienen por la adición de las auxinas y citocininas (reguladores de crecimiento vegetal), que, dependiendo de la concentración y combinación de ambas, será la respuesta regenerativa.

El número de plantas que se regenere en un explante y el tiempo de cultivo, dependen de la especie vegetal, en plantas herbáceas pueden producirse un gran número de plántulas por explante en no más de 60 días de cultivo, pero en plantas leñosas o arbóreas solamente unas cuantas y puede lograrse hasta los 180 días. Al cultivarse segmentos de 1 cm² de hoja de violeta (*Saintpaulia*), pueden producirse hasta 50

plántulas en 60 días de cultivo; en yemas de aguacate solo se regeneran de 3 a 5 brotes, formando plántulas hasta los 120 días del cultivo.

Una vez que las plantas se han multiplicado y desarrollado in vitro, éstas deben de trasplantarse a suelo o sustrato específico de cada especie, pasando por un periodo de aclimatación, en el cual se adaptan a las condiciones de humedad de una cámara de crecimiento o del invernadero, disminuyendo progresivamente la humedad relativa e incrementando progresivamente la intensidad de luz. Las plantas primero se cultivan en contenedores cubiertos por un plástico y posteriormente son plantadas en maceta para su crecimiento y desarrollo en invernadero.

La Micropropagación es el método ideal para la producción de semilla agámica de categoría, pues en las Biofábrica obtenemos semillas básicas de los diferentes cultivares micropropagados, lo que repercute en el buen estado fisiológico y fitosanitario de las plantaciones en campo, así como en el rendimiento potencial a obtener.

La micropropagación presenta varias ventajas sobre los métodos tradicionales de propagación vegetativa y su empleo se ha extendido a diversos cultivos hortícolas, agrícolas y forestales (Kozai, 1991) y (Jeong et al., 1995). Sin embargo, a pesar de las ventajas que ésta ofrece, su uso a escala comercial en el mundo es todavía limitado debido a los costos de producción relativamente altos, bajas tasas de crecimiento in vitro y pobre supervivencia durante la aclimatización (Kozai & Jeong, 1993). En gran medida lo anterior se debe a las características del ambiente in vitro, que provocan aberraciones de la estructura y función de la planta (Kozai, 1991), (Kirdmanee et al., 1994), (Jeong et al., 1995) (Ziv, 1995) y (Desjardins, 1995).

1.3.2. Importancia de la micropropagación

- Permite la obtención de plantas de alto registro fitosanitario, ya que al someter al tejido vegetal a este sistema de cultivo se eliminan totalmente las enfermedades de tipo bacteriano y fúngico y en algunas ocasiones las de tipo viral.
- Las plantas obtenidas por este sistema son réplicas exactas entre sí y fieles copias de la planta progenitora.

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

- El número de individuos obtenidos por este método es muy superior al obtenido por cualquier otro método de propagación, por unidad de propágulo.
- En algunas ocasiones es posible acortar los tiempos de producción de plantas.
- Permite tener en espacios relativamente pequeños con un gran número de plantas.
- Facilita el almacenaje y transporte de plantas reales o potenciales.
- Elimina los problemas de largas cuarentenas a que son sometidas las plantas en las fronteras cuando se trata de introducirlas de un país a otro.

1.3.3. Éxito en la propagación in vitro de plantas

Recientemente se han establecido sistemas de micropropagación utilizando medios de cultivo líquidos con el objetivo de automatizar la propagación de plantas, aumentar el número de éstas por explante y por lo tanto disminuir los costos de producción. Esto se ha logrado con el diseño de biorreactores, en especial los llamados biorreactores de inmersión temporal, un método exitoso para la propagación masiva de diversas plantas que es muy utilizado por los grandes laboratorios de biotecnología.

Estas técnicas de propagación in vitro han abierto nuevas posibilidades para el manejo de la genética básica y obtener nuevos cultivares. Dentro de las alternativas se presentan la facilidad de la creación y mantenimiento de nuevo material genético para la clonación in vitro, la obtención de material haploide a partir de anteras o cultivo de óvulos e incrementar la variabilidad genética por métodos de hibridación, selección y obtención de mutantes. A nivel práctico se han obtenido cultivares mejorados, producción de semillas de variedades comerciales y una rápida propagación (clonación) de cientos de especies.

En los últimos años se estima que se cultivan unos 800 millones de hectáreas con plantas micropropagadas, sin incluir a las plantas transgénicas, producidas por más de 50 laboratorios en Latinoamérica y más de 1,000 alrededor del mundo, donde se propagan miles de millones de plantas por año. Las plantas propagadas por esta técnica que mayormente se comercializan son fresa y otras frutillas, papa, plátano, caña de azúcar, eucalipto, bambú, orquídeas y algunas cactáceas. En América Latina, los países con mayor producción son México, Argentina, Brasil, Cuba, Costa Rica,

Colombia, Perú y Chile, donde se micropropagan y comercializan plantas como fresa, café, vid, arándano, cereza, agave, aguacate, tulipanes y orquídeas.

A nivel mundial, diversas instituciones educativas y de investigación han implementado un alto número de protocolos de micropropagación de plantas de interés agrícola, forestal, medicinal y en riesgo de extinción. En México, la Universidad Autónoma de México, Universidad Autónoma Metropolitana, Universidad Autónoma de Chapingo, Universidad Veracruzana, Instituto Politécnico Nacional, CINVESTAV, CIATEJ, CICY y la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, entre otras instituciones, tienen laboratorios que se dedican a la micropropagación.

1.4. Aclimatización o Endurecimiento Ex vitro

La fase de aclimatización (comúnmente llamada fase de adaptación) es la etapa final del proceso de la micropropagación de ahí que sea trascendental para la propagación comercial de plantas. De su éxito dependerá en gran medida la eficiencia total del proceso seguido durante la micropropagación in vitro.

Esta es la fase que garantiza la adaptación de la vitroplanta al medioambiente externo antes de ser llevada a la condición de campo abierto. Para lograr un adecuado desarrollo en esta etapa la vitroplanta no debe haber sufrido ningún estrés en la fase anterior que comprometa su desarrollo en esta importante fase.

Las plantas producidas en condiciones in vitro presentan la cutícula poco desarrollada, debido a la alta humedad relativa presente en el recipiente de cultivo(90 – 100 %), lo que provoca una excesiva pérdida de agua post-trasplante, las hojas son delgadas, blandas y fotosintéticamente poco activas, presentando pocas y pequeñas células de parénquima empalizada, con baja eficiencia en el uso de la luz y con grandes espacios en el mesófilo; los estomas no operan adecuadamente, siendo la causa de la mayor pérdida de agua durante las primeras etapas posteriores al trasplante, a su vez, existe una deficiente conducción vascular lo cual reduce drásticamente la conducción del agua. Las raíces son poco funcionales, presentando una epidermis no suberificada con muy pocos pelos radicales, las cuales generalmente mueren y deben ser nuevamente regeneradas.

Lo fundamental en esta etapa es que las plantas formen un buen sistema radical, debido a que su nutrición dependerá durante mucho tiempo y en gran parte de la efectividad de sus raíces. Este periodo es crucial en la vida de las plantas, para evitar que se produzcan situaciones de estrés en plantas que inician su desarrollo, cuyos efectos podrían no ser observables hasta que el individuo no alcance la fase adulta.

Diversas técnicas y procedimientos han sido aplicados a las plantas obtenidas in vitro para lograr su aclimatización, dentro de las que podemos citar los umbráculos, casa de cultivos con regulación de la intensidad luminosa (esta es la más adecuada porque se puede variar la intensidad luminosa en la etapa final del proceso de aclimatización); así como diferentes tipos de riego, con regadera, manguera, microjet, Nebulizadores etc. Las técnicas más eficaces en la aclimatización son las que van encaminadas a lograr gradualmente menos humedad relativa, más luz, crecimiento autotrófico y un medio séptico.

Dependiendo de las condiciones existentes en el campo donde se plantarán las vitroplantas endurecidas, estas pueden recibir un manejo diferenciado durante esta fase. Cuando el sistema de riego es por goteo se requerirá de una vitroplanta de mayor tamaño, con raíces más profundas para que entren en contacto de inmediato con el agua de riego, esto se logra con la bolsa de mayor tamaño, bolsa que mide 20 x 12 cm y contiene 700 gramos de sustrato, utilizadas para plátanos y bananos. Cuando en campo se utiliza otros sistemas de riego para plátano, bananos, malanga y otras especies de raíces y tubérculos las vitroplantas se plantarán para aclimatizar en bolsas de 10 x 12 cm, con 350 gramos de sustrato. Las bandejas solo se emplearán para las plantas pequeñas que no cumplan con los parámetros de calidad ya sean provenientes de organogénesis o embriogénesis somática y para plantas que se quieren recuperar porque han sido rechazadas por contaminación del medio de cultivo en el proceso.

1.4.1. Calidad de las vitroplantas para A climatizar.

Las vitroplantas para ser llevadas a la fase de aclimatización deben cumplir ciertos parámetros de calidad como son: -Número de hojas: De 2 a 3 hojas formadas para plátano. Altura de la planta: De 3 a 5 cm (desde la base hasta el punto de inserción de la última hoja completamente desarrollada) Número de raíces: Más de 3 raíces.

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Coloración y vigor: buen vigor y desarrollo, con coloración de verde a verde claro según las características de los cultivares. Grosor del pseudotallo: $\geq 0,4$ cm en

1.4.2. Factores que afectan el resultado de las vitroplantas en la aclimatación

En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, un comité de expertos con especialistas de diversas ramas en septiembre de 1996, convocados para dar los pasos iniciales en la conformación de un proyecto de investigación-desarrollo sobre el proceso de adaptación de vitroplantas de caña de azúcar, detectó un grupo de posibles factores que afectan a las vitroplantas en el proceso adaptativo denominado

“aclimatación”. Entre ellos existe un conjunto de factores que se pueden considerar previos a la llegada de las vitroplantas a la fase adaptativa: en primer lugar, su origen, es decir, tipo de especie, variedad o línea; muchas variedades se expresan de forma semejante en el proceso de reproducción, pero algunas requieren de medidas específicas para obtener resultados satisfactorios. Reviste igualmente importancia todo el manejo que se le da a la vitroplanta en el proceso in vitro

y este marcará con énfasis el resultado final de la adaptación. Ya en la fase, existen diversos factores que influyen como son: tipo de sustrato, época del año que determina condiciones específicas e influye en el resultado de las condiciones semicontroladas que se logren, manejo del material, el cual tiene un efecto directo en el resultado, así como otros factores, todo lo cual se observa a continuación:

Factores

•Vitroplanta y el proceso in vitro

Especie, variedad o línea Manejo in vitro, en especial fase de enraizamiento

Número de pases al material

Origen del material

Componentes del medio

Estado de los medios

Manejo final del material

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

•**Sustrato**

Carga nutricional, pH

Características físicas

Estado biológico

•**Condiciones climáticas**

Época

Precipitaciones

Temperatura

Humedad relativa

Fuerza del aire

•**Condiciones controladas**

Protección o tapado

Porcentaje interferencia de la luz

Altura de la protección

Luz artificial complementaria

Temperatura y humedad ambiental ajustadas

•**Riego**

Norma de riego

Frecuencia

Tamaño de la partícula

Calidad del riego

Calidad del agua

Pérdidas nutricionales

•**Alvéolos**



Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Dimensiones

Forma

Orificio de drenaje

Porosidad del material

Ubicación de la vitroplanta

Tipo de material

•**Manejo sobre el material**

Poda

Deshije

Reguladores de crecimiento

Biofertilizantes

Nutrientes

Bioplaguicidas

•**Estado fitosanitario**

Enfermedades

Patógenos en: sustrato, agua y ambiente.

1.4.3. Antecedentes de sustratos con mayor retención de humedad que se emplean en el mundo y en Cuba.

El empleo de residuos en la formulación de sustratos tiene un elevado valor medioambiental, ya que devuelve al ciclo productivo materiales desechados y en muchos casos su manejo resulta muy problemático y caro (López, 2016).

La utilización de los sustratos tiene sus inicios con los cultivos en macetas. Esta práctica surge con la necesidad de transportar plantas ornamentales. Los egipcios, ya hace cuatro mil años, cultivaban árboles en contenedores de madera o piedra conservando este legado en murales (Burés, 1999).

Burés, (1999) subraya algunas referencias que destacan que el uso de los sustratos en cultivos data desde el siglo XIX. En Inglaterra en 1839, Loudon utilizó distintos materiales orgánicos y en 1851, Boussingault utilizó como medio de cultivo arena, cuarzo y carbón vegetal junto con una solución de composición conocida. Mientras que, en Francia, en 1892 se realizaron experimentos de nutrición con azaleas en turba, mantillo de hojas y acículas de pino. En esta época en Alemania se habían realizado algunos ensayos de nutrición en turba. En la década de los años 20-30 del siglo XX, en Estados Unidos (Ohio) Laurie publicó la utilización de turba y arena. Durante estas dos décadas en California se desarrollaron ensayos de cultivos en agua sola, en arena y en grava. Entre 1934 y 1939 en Inglaterra, Lawrence y Newell introdujeron un sustrato el cual denominaron compost John Innesque consistían en mezclas de suelo franco-arcilloso, turba y arena. En 1940 Gericke publicó una guía para la jardinería sin suelo, destacando el método de cultivo hidropónico. En 1957, Matkin, Chandler y Baker, de la Universidad de California obtuvieron sustratos a base de turba y arena en distintas proporciones (Burés, 1999).

1.4.4. Sustratos para la siembra de vitroplantas.

Se consideran sustratos a los materiales sólidos y porosos de origen animal o sintético, que solos o combinados garanticen un adecuado crecimiento de las plantas bajo condiciones ambientales, (Abad, M, 1989). Además, tiene como función, brindar a las plantas sostén mecánico y a la vez permite tomar aire y agua; puede o no intervenir en los complejos procesos de la nutrición vegetal.

Para obtener buenos resultados en el empleo de sustrato estos deben de cumplir una serie de requisitos, Hartmam et al., (1997), mencionan algunos, aunque los autores se refieren a los sustratos empleados para enraizar, establecer y germinar semillas, en caso de las plantas in vitro las características son esencialmente las mismas, estas son:

¾ El medio debe ser suficientemente denso para sostener las estacas o semillas en su lugar durante el enraizamiento o germinación.

¾ Debe tener suficiente humedad (40-50%) de modo que no sea necesario regar con mucha frecuencia.

¾ Debe ser suficiente poroso para facilitar el drenaje, permitiendo la adecuada penetración de oxígeno a las raíces (10-20%.

¾ Debe proveer adecuada nutrición en situaciones en que las plantas deben permanecer por largos períodos.

Los materiales para la elaboración de los sustratos, deben tener una buena estabilidad física, buena aereación, adecuada capacidad de retención de agua, buena fertilidad y óptimo pH; combinando estos factores se logran altos porcentajes de supervivencia. Actualmente se están utilizando residuos de plantas para las mezclas de sustratos, debido a que estos proporcionan características físicas que permiten una adecuada salida del cepellón (Jiménez, 1998). El Humus de Lombriz Es un abono orgánico producido por las deyecciones de las lombrices conocidas como vermicompost. Es el abono orgánico más completo e integral que se conoce, de fácil manejo y obtención, su presencia física es de color negro, similar a la borra de café, muy liviano e inodoro, posee los nutrientes esenciales para las plantas tales como: N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn y MO, tiene la facilidad de convertir el nitrógeno y el fósforo orgánico a formas asimilables para las plantas. Su composición química es muy compleja, ya que se trata de un compuesto de alto peso molecular, constituido por diferentes grupos, ácido húmico, fúlvicos y huminas, (Torres et ál.,1985).

El humus de lombriz es un fertilizante bioorgánico que se presenta como un producto desmenuzable ligero e inodoro. Es rico en enzimas y microorganismos, cuenta con alrededor de 2000 millones de bacterias por gramo. Es un alimento directamente asimilable, rico, equilibrado, reconstituyente y antiparasitario. Su riqueza en oligoelementos lo convierte en un fertilizante completo, que aporta a las plantas las sustancias necesarias para su metabolismo. No quema las plantas ni siquiera las más delicadas y acelera la germinación de las semillas.

La composición del humus es la siguiente: 57,64 % de humedad, 70,79 % de materia orgánica, 2,91 % de Nitrógeno, 2,01 % de Fósforo, 1,80 % de Potasio, 4,60 % de Calcio, 0,64 % de Magnesio, 0,60 % de Hierro y altas concentraciones de Manganeso, Cobre, Zinc y Cobalto, (Martínez, 2001).

No se puede olvidar el papel ecológico que puede jugar el humus en el agroecosistema. Para mantener el equilibrio ecológico indispensable para la supervivencia del planeta y de la humanidad, es imprescindible una alta biodiversidad, (Moreno, 1992) y (Saouma, 1993).

Para la “siembra” en bandejas es necesario tamizar el sustrato, ya que en bandeja solo se debe sembrar las plantas que no cumplen los parámetros de calidad requeridos para esta fase ya sean procedente de embriogénesis u organogénesis, o vitroplantas que se quieren recuperar del material contaminado en la fase precedente a la aclimatización. En la siembra en bolsa no se tamiza el sustrato y las vitroplantas se desarrollan sin dificultad, solo debe eliminarse del sustrato los cuerpos extraños o materiales no degradables que en ocasiones traen los mismos.

1.4.5. Calidad del sustrato

Los parámetros de calidad del sustrato óptimos para la siembra de vitroplantas. Indicadores Rangos óptimos pH 6,2—7,2 % N 0,85--- 2.86 % P 1,87---2.26 % K 0,30 – 0,79 % Ca 3 --- 3.68 % Mg 0,35—0,88 % M.O Mayor de 35 Relación C/N 14 -- 20

1.5. Riego

El riego durante esta fase debe ser suficiente para mantener al 80 % la capacidad de campo en el sustrato y entre 85 – 95 % de humedad relativa ambiental, prefiriéndose un sistema de microaspersores para realizar el riego aéreo en plátanos y bananos. En vitroplantas de plátano y banano etc. con sustrato compuesto por compost 100% se realizan de dos a tres riegos diarios con una duración de 3 a 5 minutos en los primeros diez días y a partir de los 10 días dos riegos diarios con una duración de 10 minutos en dependencia de la época del año, la intensidad de la luz (en días nublados puede ser un solo riego o en ocasiones ninguno).

. En sentido general la duración e intervalo de riego varían de acuerdo al sustrato empleado; época del año (ya que en verano se necesitan los dos riegos al día); la intensidad luminosa; precipitaciones; Tipo de área donde se estén aclimatizando las vitroplantas (umbráculos, casas de cultivo, túneles etc.); Así como el cultivar en esta fase. Lo que es realmente importante saber es que se debe mantener la humedad

evitando excesos que puedan traer pudriciones por enfermedades fungosas y muerte de las vitroplantas.

1.6. Luz

II-5-Luz. La intensidad de la luz durante la aclimatización debe ser regulada. En las dos primeras semanas a partir de la siembra, es aconsejable una reducción de la luz solar hasta un 30 %, entre 15 y 30 días posteriores la intensidad puede alcanzar el 70 % y a partir de los 30 días ya pueden recibir la luz solar directa sin limitaciones en especies de ciclo en adaptación de 30 a 45 días como malanga, boniato, plátanos y bananos; en ciclos más largos (yuca y ñame) esto varía porque exceden los 60 días. En sentido general se le puede retirar el cobertor o serán 15 días antes de la salida a campo abierto si contamos con túneles o casas de cultivo, porque en umbráculo es imposible está labor, ya que tenemos vitroplantas de diferentes fenologías, sufrirían quemaduras solares, además se retarda el crecimiento y pueden ocurrir muertes en las. “siembra” más recientes. Las áreas que tienen las Biofábrica para aclimatizar en estos momentos son umbráculos, que no nos permite la regulación de la intensidad luminosa, por lo que empleamos serán que proporciona 70% de sombra con 30% de luz, esto hace que las plantas al llegar a las condiciones de campo abierto sufran más e incluso si el riego no es muy eficiente tengan un porcentaje de pérdida en el trasplante que no debe exceder nunca del 10% y sea necesario en ocasiones la resiembra en campo.

1.7. Siembra o Plantación.

La “siembra” se realiza siguiendo en lo fundamental las medidas disciplinarias y tecnológicas, para evitar malas manipulaciones y mezclas mecánicas, no se puede manipular diferentes genotipos en una misma jornada de trabajo. Al sustrato debe aplicársele varios riegos, entre una semana y 3 días antes de plantar para cerciorarnos que esté totalmente húmedo y el hongo antagonista establecido en el

lecho de plantación, antes de la plantación se realiza un riego ligero. La vitroplanta procedente de la fase III (Enraizamiento) producida por organogénesis o de la fase de crecimiento cuando es micropropagada por embriogénesis debe de cumplir los parámetros de calidad y no haber sufrido ningún estrés en la fase precedente, ya que esto repercute de forma negativa en la sobrevivencia en la fase IV (Aclimatización). Para

asegurarnos de causar el menor daño posible por manipulación al material, el mismo no se debe lavar para retirar el medio de cultivo de las raíces de las vitroplantas en el momento de iniciar la labor, pero si es necesario un riego ligero al terminar la siembra para lavar los restos de medio de cultivo que puedan quedar en el follaje de las mismas, lo cual provocaría quemaduras. Las vitroplantas una vez salidas del área aséptica y extraídas de su recipiente no pueden estar un tiempo mayor de 3 días en la fase de aclimatización sin ser plantadas en el caso de la malanga, boniato, yuca, plátanos y bananos. El ñame debe ser plantado inmediatamente que se extrae de su recipiente.

La “siembra” se realiza por tamaños para evitar desarrollo desigual de la población. En el momento de realizar el acto de la “siembra” se toma especial cuidado para que no caiga sustrato en la yema apical que pueda provocar pudriciones y muerte de la vitroplanta, las raíces deben quedar dentro del sustrato, así como el pequeño cormo, pero el pseudotallo y las hojas deben quedar libre para evitar pudriciones, la profundidad de plantación está en dependencia del cultivar y del tamaño de la planta, pero no debe exceder de 1 cm. Además del sustrato y del resto de las medidas a tener en cuenta, hay que considerar que algunos cultivares a plantar requieren cámara húmeda por su fisiología, como la yuca y el ñame.

Se realiza un conteo de población por los técnicos de control de la calidad a los 10 días de la plantación y la mortalidad no debe exceder el 10% en ninguno de los cultivares relacionados para que sea una plantación exitosa, se lleva un registro por operario para esto, que recoge la cantidad sembrada, fecha, clon, lote y porcentaje de sobrevivencia, etc. Todas las siembras deben tener un expediente que contengan todos los datos del material plantado y se deben guardar por 2 años.

1.8. 1.8-Labores de agro – técnicas

Se debe mantener un control de la aparición de malezas con un desyerbe semanal. La Separación de plantas hermanas, comúnmente llamado deshije según lo requiera la especie o clon plantado, a partir de los 15 días de la plantación en malanga; a los 21 en plátanos y bananos, realizándolo semanal hasta el final del ciclo, que es de 30 a 40 días en malanga; de 45 a 60 en plátanos y bananos en dependencia de la época del año (más corto en verano y de mayor duración en invierno), esto hace que haya en

ocasiones un coeficiente de multiplicación en esta fase producto de que esas plantas en ocasiones no se pueden separar por estar muy pequeñas, en otras ya vienen inducidas de la fase de laboratorio pero apenas se observan.

1.9. 1.9Selección Negativa.

En ñame se realiza el corte de esqueje para aumentar las cantidades de vitroplantas en esta área, siempre y cuando las vitroplantas no pierdan calidad, se hace cada 15 días, después de los 21 días, se cortan secciones de tallo de 1 o 2 yemas, sin afectar la vitroplanta. Se pueden realizar de 1 a 2 cortes en el ciclo para que la vitroplanta no pierda calidad. En el ñame no solo se obtiene la vitroplanta para la reproducción también se obtienen bulbillos, aunque en un periodo más largo, pero más eficiente en la siembra posterior.

El corte de esqueje en ñame, yuca y boniato es una técnica emplea en esta fase que junto al “deshije” es nombrada Macro-propagación, la cual aumentan el número de plantas en el área sin perder su categoría.

Deshoje Es una labor necesaria en los casos que se presenten Enfermedades fungosas para disminuir fuente de inóculo, generalmente esta labor comienza después de los 21 días y hasta el final del ciclo siempre que la vitroplanta lo necesite, se corta con tijera las hojas en mal estado o partes de hoja, siempre tratando de dejar al menos dos hojas abiertas, esto suele ocurrir mucho cuando el material ha cumplido su ciclo en esta fase y por alguna razón no se ha llevado a campo, en plátanos y bananos generalmente; en el caso de la malanga se decapita por encima de los 10 cm aproximadamente, sin afectar la zona en crecimiento y en pocos días vuelve a emitir hojas nuevas.

Reagrupe Es una labor necesaria independientemente del recipiente donde se planten las vitroplantas, ya sea bolsas, bandejas u otro recipiente, esto está dado en lo fundamental porque siempre quedan plantas por debajo del tamaño medio de la población y en el momento de la comercialización no cumplen los parámetros de calidad por la competencia que se establece entre ellas, por la densidad de plantación, pero en un periodo de 10 a 15 días posteriores estas logran alcanzar los parámetros establecidos para la salida a las condiciones de campo. En el caso de bandejas este reagrupe se realiza con la ayuda de una palita creada para esto, que puede ser plástica

o de metal para tratar de no dañar el cepellón, en las bolsas u otros recipientes esta labor se hace más sencilla, pues solamente hay que trasladar la planta de lugar, en ocasiones en el mismo cantero o es llevada a otro perteneciente al mismo clon y lote de siembra, de forma ordenada, donde puedan ser cuantificada. Esta labor se realiza también en caso de mortalidad donde se recuperan las bolsas o espacios vacíos, siempre después que se haya realizado el conteo de sobrevivencia que se realiza a los 10 días posteriores a la siembra por el personal técnico de Control de la Calidad. Otra razón que justifica esta labor es por las plantas que se recuperan del material producto de la contaminación ambiental o

las plantas muy pequeñas provenientes de embriogénesis somática u organogénesis que fueron plantadas inicialmente en bandejas para luego ser trasladadas a bolsas. Las bolsas recuperadas de las plantaciones nuevas pueden emplearse en la separación de plantas hermanas o cortes de esquejes de ese mismo clon y lote. Las bandejas después de empleadas en una “siembra” para ser utilizadas de nuevos deben de ser desinfestados con una solución de formol al 2% o hipoclorito de sodio al 3%.

El último día de cada semana se dedica a realizar una limpieza general dentro del área, limpiando pasillos con guataca y escoba, también los alrededores, realizando chapeas o guataqueas, de esta forma el área se mantiene limpia, evitando la proliferación de plagas y posibles accidentes de trabajo.

1.10. Protección Fitosanitaria.

El sustrato que se adquiere o formula debe ser analizado por el laboratorio de Sanidad Vegetal para detectar la presencia de nematodos, hongos y bacterias fitopatógenos, de ser posible por el laboratorio de suelo para determinar el contenido de elementos minerales, M.O, PH, etc. .No obstante es recomendable aplicar antes de la siembra como método preventivo en mezcla con el sustrato *Trichoderma harzianum* a razón de 400g/m³ con concentración de esporas de 10⁷ esporas por ml o en dosis recomendada por los especialistas según la calidad del medio biológico. Cuando se emplea el hongo *Trichoderma harzianum* el personal que trabaja o visita el área de aclimatización no debe entrar a el área estéril en una misma sección de trabajo, ni con la misma ropa. El sustrato a utilizar debe estar en el área con el tiempo suficiente para la toma de la

muestra para realizar los análisis, ya que el análisis de planta indicadora demora 35 días. Cualquiera que sea el sustrato a emplear en la fase de aclimatización debe estar libre de cualquier patógeno que puedan causar daños a las plantas. Dentro de estos patógenos tenemos a los hongos comunes en el suelo: *Phytophthora* spp, *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Pythium* spp, *Rhizoctonia solani* Kühn, *Sclerotium rolfsii* Sacc, *Cladosporium* sp, etc.

1.11. Necesidades hídricas de vitroplantas en fase de aclimatación

La fase de aclimatización (comúnmente llamada fase de adaptación) es la etapa final del proceso de la micropropagación de ahí que sea trascendental para la propagación comercial de plantas, por lo que de su éxito dependerá en gran medida la eficiencia total del proceso seguido durante la micropropagación in vitro (Ministerio de la Agricultura, 2018).

Teniendo en consideración, que las plantas producidas en condiciones in vitro presentan características que conllevan a una excesiva pérdida de agua post-trasplante a su vez, que existe una deficiente conducción vascular, la cual reduce drásticamente la conducción del agua (Pérez & Rodríguez, 1989), es que se fundamenta la necesidad de alternativas que permitan mantener la humedad del sustrato donde son plantadas en su etapa o fase de aclimatación ya que la humedad debe ser suficiente para mantener al 80 % la capacidad de campo en el sustrato.

1.12. Beneficios de las CBS en la retención de humedad

En estudios recientes de Edafología, aparecen un grupo de organismos conocidos como Costras Biológicas de Suelo (CBS), las cuales no son más que asociaciones entre partículas del suelo, cianobacterias, algas, hongos, líquenes, hepáticas y briófitas. Estos organismos varían ampliamente en apariencia, biomasa, y composición, dependiendo del régimen climático que se considere (Belnap & Lange, 2003).

Generalmente, la CBS está presente en diferentes tipos de suelo, que tienen abundante entrada de luz, hacia la superficie del suelo, aunque es mucho más dominante en zonas áridas, semiáridas, alpinas y polares, en las cuales la productividad es baja. Por tanto, a este tipo de asociaciones se las puede encontrar en casi todas las eco regiones áridas

y semiáridas del mundo, donde cubre generalmente los espacios no ocupados por plantas vasculares perennes (Bowker, 2007).

Según el tipo de organismo dominante, la CBS, puede clasificarse como de algas verdes, musgos, cianobacterias y líquenes (Belnap & Gardner, 1993) y (Castillo-Monroy & Maestre 2011).

Así la importancia del estudio de las costras biológicas radica en el papel ecológico que cumplen, ya que sus efectos sobre las estructuras y funcionamiento del ecosistema donde se encuentran son variados.

Las CBS promueven a la estabilidad del suelo mediante la agregación de las partículas del suelo (Bowker et al., 2008) y (Williams et al., 2012). Las cianobacterias comienzan agregadas de suelos tanto química como físicamente. La producción de exopolisacáridos por parte de las CBS es un mecanismo químico clave, debido a que se forman superficies con afinidad de unión a arcillas y compuestos de calcio tales como yeso y carbonato de calcio, creando microagregados del suelo y facilitando la colonización de otros microorganismos (Belnap & Gardner, 1993). Las hifas de hongos y filamentos o vainas de cianobacterias crean macroagregados, que funcionan como soporte físico que retienen partículas finas e influyen en la estabilización de suelos (Bowker et al., 2008; Zhang et al., 2010).

Teniendo en cuenta estos beneficios de las CBS al suelo, se pudiera pensar que estos organismos también pudieran aportar dichos beneficios al sustrato donde son plantadas las vitroplantas en su fase de aclimatación y evaluar los cambios que se pudieran producir para el manejo del riego durante esta etapa, cuyo sistema más utilizado es el riego por Aspersión que es un sistema en el que el agua se aplica en forma de una lluvia más o menos intensa y uniforme sobre la parcela con el objetivo de se infiltre en el mismo punto donde cae y es muy ventajoso ya que la distribución del agua es bastante uniforme, pudiendo ser utilizado en suelos o sustratos con grandes velocidades de infiltración, permite aplicar normas de riego pequeñas y con gran frecuencia, así como tiene la ventaja de su automatización, permite aplicar sustancias nutrientes de conjunto con el agua de riego (fertirrigación).

Materiales y Métodos



Capítulo 2. Materiales y métodos

2.1. Diagnóstico de los principales problemas inherentes a la retención de humedad y manejo del riego en la fase de aclimatación de vitroplantas en la Biofábrica de Cienfuegos.

Se llevó a cabo una investigación de tipo experimental en la Biofábrica de Cienfuegos, perteneciente al MINAG, ubicada en la Delegación Territorial de este organismo, en la carretera a Palmira, km 4 ½, municipio Cienfuegos en el periodo comprendido entre noviembre de 2018 - marzo de 2020. En la foto 1, se muestra su ubicación dentro de la delegación antes mencionada.



Foto 1. Ubicación de la Biofábrica de Cienfuegos, Delegación Territorial MINAG

Fecha: enero/2020 Autora: Bárbara Yasleny León Hernández

Para el establecimiento de la investigación se realizó un grupo de pasos que permitieron el establecimiento del diseño experimental, por lo que se partió de la descripción del lugar dónde se ubicó, lo cual se describe a continuación.

2.1.1. Descripción de las principales características del lugar dónde se ubicó el experimento

Entre los pasos desarrollados para la ubicación del experimento y descripción del lugar se siguió como procedimiento de trabajo el siguiente:

Paso 1. Intercambio con la dirección de la Biofábrica. Con este paso se persiguió establecer la problemática existente en relación a la situación actual del

comportamiento de los sustratos que se utilizan en esta unidad en la fase de aclimatación o maduración respecto a la retención de humedad, así como, las vías que se utilizan para el aporte de agua a las vitroplantas en esta fase.

Paso 2. Desarrollo de un taller de sensibilización. Se organizó un taller con la participación de los trabajadores de la Biofábrica para conocer su nivel de conocimientos y su percepción respecto al manejo de la humedad del sustrato de las vitroplantas en la fase de aclimatación, para lo cual se elaboró una agenda de trabajo que aparece en el (Anexo 1).

En el desarrollo del taller se implementaron técnicas participativas a los participantes para conocer sus competencias sobre la mezcla de sustratos para la fase de aclimatación de vitroplantas en función de la retención de humedad y manejo del riego

Los datos aportados por los participantes en el taller, fueron organizados en hojas Excel y procesados estadísticamente en el programa SPSS v. 21 (análisis de frecuencia)

Paso 3. Revisión documental. Para conocer los aspectos relacionados con el manejo de la humedad del sustrato y de la garantía para satisfacer las necesidades hídricas de las vitroplantas, se revisaron un grupo de documentos emitidos al respecto por el Ministerio de la Agricultura de la República de Cuba y, además, se llevó a cabo una extensa revisión bibliográfica.

Paso 4. Observación directa. Se realizó un recorrido por las áreas de la Biofábrica con el objetivo de conocer cómo se realiza la mezcla de residuales para conformar el sustrato y las condiciones existentes para la implementación del riego. También se persiguió ubicar el área experimental, a fin de que en ella se lograra contar con las problemáticas generales del lugar.

2.2. Diseño experimental

Para el desarrollo de la investigación se aplicó un diseño experimental de bloque al azar totalmente aleatorizado con cinco (5) tratamientos y tres (3) réplicas. La investigación se desarrolló en 5 etapas, las que se describen a continuación:

Etapas de investigación

Etapas1: Recopilación de información sobre la influencia de la humedad del sustrato en los índices agronómicos de vitroplantas

Etapas 2. Montaje del experimento.

En la Figura 1. se muestra el modelo de croquis empleado en la investigación para 5 tratamientos y 3 réplicas

Figura1. Croquis empleado en el experimento



Fuente: elaboración propia

Variables evaluadas en el experimento

- Altura de planta
- Altura del tallo
- Grosor del seudotallo
- Cantidad de hojas
- Tamaño de las hojas

Descripción de los tratamientos

Se aplicó un diseño experimental de bloque al azar totalmente aleatorizado con cinco (5) tratamientos y tres (3) réplicas utilizando para cada tratamiento los sustratos que se muestran a continuación en la tabla 1.

Tabla 1. Descripción de los tratamientos evaluados

Tratamiento	% de residual orgánico mezclado
T1	• 100% Cachaza
T2	• 30% Cachaza • 70% Suelo
T3	• 30% Humus de Lombriz • 20% Cachaza • 50% Suelo
T4	• 50% Cachaza • 50% Suelo
T5	• 100% Suelo

Fuente: Elaboración propia

La descripción de los tratamientos incluyó, un testigo (sustrato que normalmente se utiliza actualmente en la Biofábrica.

- En todos los tratamientos menos en el testigo se sembraron 15 magentas con CBS y 15 sin CBS.

Otros de los factores evaluados fueron: los índices agronómicos de las vitroplantas, la velocidad de infiltración de los residuales orgánicos y de mezclas de sustratos y la

estabilidad de los agregados de los residuales mezclados en la elaboración del sustrato como se muestra en los (Anexos 2,3 y 4).

Se inició el experimento tomando las medidas del área total para distribuir las parcelas de forma organizada, dejando los espacios en los bordes para evitar efectos de los mismos.

La unidad experimental utilizada fue la parcela, las dimensiones fueron 4m de largo, 2m de ancho, con 30 plantas por tratamiento y la distancia entre plantas fue de 1cm, realizándose un muestreo aleatorio.

Se mezclaron de forma manual los diferentes residuos orgánicos en una caja y luego se llenaron un total de 300 bolsas que fueron ubicadas en el burro 6 a una distancia de 1 cm entre ellas con el fin de que se facilitara la medición de las variables respuesta, como se muestra en el (Anexo5).

Cada bolsa tiene una dimensión de 8-12 y en cada una se aplicó un volumen total de 1Kg de sustrato en dependencia de las mezclas de residuos orgánicos planificadas para llevar a cabo el experimento.

Es importante precisar, que la calidad de los residuales orgánicos no pudo conocerse, pues en la Biofábrica no se cuenta con este tipo de análisis, a pesar de que es un requerimiento imprescindible para este tipo de forma de cultivo donde se emplea un sustrato artificial, porque tanto el nivel nutricional, el contenido de semillas de arvenses y la presencia de patógenos, como por ejemplo, nematodos pueden comprometer el buen desarrollo vegetativo de las plántulas y por ende, el producto final comercializable.

Se llevó a cabo la recolección de CBS el (6 de noviembre del 2019) y posteriormente a la siembra de CBS el (7 de noviembre del 2019) en las bolsas, como se muestra en el (Anexo6)

-Siembra de vitroplantas en las bolsas con y sin costras.

Luego se procedió a la siembra o trasplante de las vitroplantas como se muestra en el (Anexo 6), ubicando una por cada bolsa hasta completar un total de 150 vitroplantas sembradas, dichas vitroplantas proceden de la propia Biofábrica y entre sus parámetros de calidad para pasar a la fase de aclimatación o maduración destacan los siguientes:

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

-Número de hojas: De 2 a 3 hojas formadas para plátano

-Altura de la planta: De 3 a 5 cm (desde la base hasta el punto de inserción de la última hoja completamente desarrollada) en plátanos, bananos, ñame, yuca. Mientras que en malanga es $\geq 1,5$ cm.

-Número de raíces: Más de 3 raíces para todos los cultivares mencionados.

-Coloración y vigor: buen vigor y desarrollo, con coloración de verde a verde claro según las características de los cultivares.

-Grosor del pseudotallo: $\geq 0,4$ cm en plátano

Como una alternativa para la mejora del sustrato empleado en el experimento en los diferentes tratamientos, fueron sembrados parches de Costras Biológicas de líquenes y musgos (de 5cm) tomadas de la Cooperativa de Producción Agropecuaria “Mártires de Barbados”, en un período de 5-10 días antes de sembrar las vitroplantas. El parche de costras fue sembrado en el centro de cada bolsa con un tamaño aproximado de 5cm y fueron regadas cada 2 días observándose su crecimiento a través de los días en los cuales no se observa diferencia desde el inicio de la siembra hasta el final del experimento pues pasados 60 días se mantuvieron de igual tamaño y varias murieron.

Etap 3. Determinación en la mezcla de sustrato antes de llenar las bolsas, de la velocidad de infiltración y estabilidad de los agregados, con el empleo de las herramientas metodológicas del Manejo Sostenible de Tierras que se muestra en el (Anexo 7) (Urquiza et al., 2011)

Métodos utilizados para la determinación de las variables de respuesta(Anexo7)

-Determinación de estabilidad de agregados. Para medir el grado de estabilidad de los agregados a la acción de agua se utilizó el método (Medición de Desagregación y dispersión (estabilidad del suelo)

-Determinación de la velocidad de infiltración (mm/h). Para tal fin se utilizó el método (Medición de infiltración de agua)

Etap 4. Revisión del sistema de riego y análisis de calidad de agua en la fuente de abasto.

Etapla 5. Establecimiento de interacción entre la composición del sustrato, índices agronómicos de vitroplantas y retención de humedad del sustrato, medición de las variables evaluadas (Anexo 8,9 y 10). Para tal fin, se realizó la medición de las variables experimentales en cada uno de los tratamientos y réplicas, luego se procedió a la organización de los datos de las mediciones realizadas en hojas Excel para formar una base de datos, seguidamente se efectuó su análisis y procesamiento estadístico a través del SPSS v 21. En la tabla 3, se muestra la descripción de las variables de respuesta empleadas en el experimento

Tabla 2. Descripción de las variables de respuesta empleadas en el experimento

Variables de respuesta	las variables de respuesta
Evaluación física del sustrato	Velocidad de infiltración (cm/seg), Estabilidad de agregados Humedad del sustrato
Evaluación agronómica de las vitroplantas de plátano	Población, altura del seudotallo (cm), color de las hojas, cantidad de hojas, grosor del seudotallo (cm)

Fuente: elaboración propia

Evaluación agronómica de las vitroplantas

-Determinación de población de vitroplantas. En un período entre 3-5 días después del trasplante, se hizo un conteo físico de la cantidad de plantas que lograron establecerse en la unidad experimental (parcela). Luego este conteo fue repetido en cada uno de los tratamientos, a los 10 -15-20-25-35-45-50 días siguientes.

-Determinación de altura del seudotallo. Se tomó la medida con una regla graduada en centímetros, desde la superficie de la bolsa hasta la última hoja visible.

-Determinación de diámetro o grosor del seudotallo. Se midió con un pie de rey el diámetro de las vitroplantas, tomando una muestra de cinco (5) plantas en cada tratamiento, a los 10 -15-20-25-35-45-50 días siguientes al trasplante.

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

-Determinación de la cantidad de hojas. Se realizó el conteo físico de las hojas de cinco (5) plantas en cada tratamiento, a los 10 -15-20-25-35-45-50 días siguientes al trasplante.

-Observación del color de las hojas. Se observó la ocurrencia o no de cambios en la coloración de las hojas de las vitroplantas, para lo cual se tomó una muestra aleatoria de cinco (5) plantas en cada tratamiento, a los 10 -15-20-25-35-45-50 días siguientes al trasplante.

2.3. Análisis estadístico de la información captada

Las variables anteriormente descritas, evaluadas en diferentes períodos (60 días), fueron sometidas a un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software Statgraphics Centurion XV versión 15.2.14, en las muestras donde se detectaron diferencias significativas entre medias, fueron sometidas a la prueba de promedios de Bonferroni. Tanto los Anova, como las pruebas de Bonferroni se realizaron para los tratamientos, repeticiones y los tiempos de muestreo.

Resultados



Capítulo 3. Resultados y discusión

3.1. Resultados del diagnóstico de los principales problemas inherentes a la retención de humedad y manejo del riego en la fase de aclimatación de vitroplantas en la Biofábrica de Cienfuegos.

Los principales problemas que se encuentra actualmente en la fase de aclimatación es el manejo del riego y la fuente de abasto del agua empleada para el riego la cual no presenta análisis de calidad, esto pudiera estar afectando la calidad de la vitroplanta pues el agua empleada es procedente del acueducto y podría tener contenidos de cloro, además de que los sistemas de riego empleados no son suficientes para regar toda el área por lo que utilizan el empleo de mangueras las cuales pudieran dañar también las vitroplantas por un exceso de humedad pues el riego no puede ser controlado ,otro de los problemas encontrados el empleo de material de siembra que solo utilizan como sustrato la cachaza , sin embargo en la literatura se utiliza también el humus de lombriz y el suelo.

En la tabla 3 se muestra una comparación de las actividades para el manejo de vitroplantas según instructivo técnico y las que se realizan en la Biofábrica de Cienfuegos.

Tabla 3. Resultados del análisis comparativo de las actividades para el manejo de vitroplantas según instructivo técnico y el de la Biofábrica

Actividades	Instructivo Técnico	Biofábrica
Sustratos	Cachaza Humus de lombriz Suelo	Cachaza
Riego	Preferiblemente se debe utilizar un sistema de microaspersores para realizar el riego aéreo en malanga, yuca, boniato, ñame, plátanos y bananos. En vitroplantas de plátano, banano y malanga etc., con un intervalo de riego que varía de acuerdo al sustrato empleado y época del año, realizándose en verano dos riegos diarios de acuerdo a las necesidades hídricas y en invierno has un riego diario o cada dos días de acuerdo a la humedad del sustrato.	Un riego diario por 15 min con microaspersores y la utilización de mangueras en otras partes donde los microaspersores no son suficientes para cubrir toda el área
Siembra	-Número de hojas: De 2 a 3 hojas formadas para plátano, bananos -Altura de la planta: De 3 a 5 cm (desde la base hasta el punto de inserción de la última hoja completamente desarrollada) -Número de raíces: Más de 3 raíces -Coloración y vigor: de verde a verde claro -Grosor delseudotallo: $\geq 0,4$ cm	-Altura de la planta: 2cm -Grosor delseudotallo: $\geq 0.2_0.3$ cm

Fuente: Elaboración propia

3.1.1. Resultados de la descripción de las principales características del lugar dónde se ubicó el experimento.

Paso 1. Resultados del intercambio con la dirección de la Biofábrica

Se dio a conocer los principales problemas que se encontraban afectando el desarrollo de las vitroplantas en la aclimatación entre los que destacan:

- Las vitroplantas no cumplen con los requisitos que según Instructivos técnico son los necesarios para poder pasar a la fase de aclimatación
- No cuentan con análisis de calidad del agua
- El sistema de riego es insuficiente pues no cubre toda el área de riego
- las vitroplantas muchas veces se pasan de tiempo en la fase de aclimatación por no ser recogidas en tiempo
- No realizan Mezclas de sustratos solo trabajan con la cachaza

Paso 2. Resultados del desarrollo del taller de sensibilización

Tabla 4. Resultado de la encuesta realizada para determinar el grado de afectación del problema

Problemas en cuanto a la conformación del sustrato y manejo del riego	Evaluación en % del grado de afectación del problema
Las vitroplantas muchas veces no cumplen los requisitos para ser llevadas a la fase de aclimatación	50
El sistema de riego es insuficiente	70
No cuentan con análisis de calidad de agua para el riego	100
No cuentan con análisis de calidad del sustrato para la siembra de vitroplantas	100

Fuente: Elaboración propia

Paso 3. Resultados de la revisión documental.

- Instructivo Técnico (Fase de aclimatización de bananos y viandas)
- La propagación de material de siembra de calidad para mejorar la salud y productividad del cultivo, prácticas clave para las musáceas Guía ilustrada.

Paso 4. Resultados de la observación directa.

No realizan las actividades que según instructivos técnicos deben ser las adecuadas para lograr un mayor desarrollo en las vitroplantas pues entre los factores que afectan el resultado de las vitroplantas en la aclimatación se encuentran: Norma de riego, frecuencia, tamaño de la partícula, calidad del riego, calidad del agua y las pérdidas nutricionales y en este lugar muchas de estas condiciones no son controladas. Además, no cuentan con un análisis de calidad del agua ni sustrato pues estos deben estar libres de agentes dañinos como nematodos, bacterias y hongos patógenos para los cultivos que se pretenden adaptar, el sistema de riego no es suficiente para cubrir toda el área por lo que realizan el empleo de mangueras lo cual según (Ministerio de la Agricultura, 2018); es realmente importante mantener la humedad, evitando excesos que puedan traer pudriciones por enfermedades fungosas y muerte de las vitroplantas. En la foto siguiente podemos observar que no existe un control del riego ni del exceso de humedad.

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Foto2: Empleo de mangueras para el riego de las vitroplantas



Fecha: Octubre/2019 **Autora:** Bárbara Yasleny León Hernández

Foto3: Fuente de abasto del agua para el riego de las vitroplantas



Fecha: Octubre/2019 **Autora:** Bárbara Yasleny León Hernández

Foto 4: Sustrato empleado en la Biofábrica para la siembra de las vitroplantas (Cachaza)



Fecha: Octubre/2019 Autora: Bárbara Yasleny León Hernández

En la tabla 5 se muestra la fuerza laborar de la fase de aclimatación

Tabla 5. Resultado sobre el Informe de Recursos Humanos de los trabajadores de la Biofábrica en la fase de aclimatación

Trabajadores de la fase de aclimatación			
Número de trabajadores	Edad promedio	Sexo	Nivel promedio de educación
8	30	3 femeninos y 5 masculinos	Técnico

Fuente: Informes del área de Recursos Humanos de la Biofábrica de Cienfuegos (cierre dic/2019)

3.2. Resultados del diseño experimental

- Resultados de la recopilación de información sobre la influencia de la humedad del sustrato en los índices agronómicos de vitroplantas

o que entre los factores que mayor influencia tienen en la aclimatización de las plantas in vitro se encuentran el tipo y composición del sustrato, se hace necesario prestar especial atención a su selección y uso (Morales et ál., 2008). El compost de cachaza puede ser de gran utilidad en la aclimatización de plantas in vitro debido a la alta disponibilidad a nivel nacional.

Jiménez-Terry et al., (2012) señalaron que no solo el tipo de sustrato beneficia la aclimatización de las plantas in vitro, sino también la procedencia y calidad morfológica de las plantas. Se describe en la literatura científica la importancia de adecuadas dimensiones y buena calidad de las plantas in vitro para su desarrollo durante la fase de aclimatización, porque de esto depende la supervivencia, velocidad de crecimiento y producción final en la fase de campo (Díaz et al., 2004). En el presente trabajo con el protocolo de propagación in vitro desarrollado por (Pérez-Alonso et al., 2015) se obtuvieron plantas con adecuadas condiciones

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

fisiológicas y morfológicas para ser trasladadas a condiciones ex vitro. Esto contribuyó a los resultados obtenidos en esta fase.

Teniendo en cuenta que la fase de aclimatización culmina el proceso de propagación in vitro, se presenta en la figura 5 la integración de los resultados previos con los obtenidos en la presente investigación.

3.3. Resultados de la evaluación de las variables respuesta

3.3.1. Resultados de la determinación de estabilidad de agregados

Se realizó la evaluación de la estabilidad de los agregados mediante el método de (Medición de Desagregación y dispersión (estabilidad del suelo) donde se tuvo como resultado que la cachaza fue el residual orgánico de mayor estabilidad pues luego de pasado 60 min la muestra tomada se mantuvo casi completamente estable, el suelo duro un tiempo de 30 min en desestabilizarse y el humus de lombriz solo duro 18 min siendo este el menos estable, como se muestra más detalladamente en el anexo

3.3.2. Resultados de la medición de la Velocidad de infiltración de la mezcla de residuales para conformar el sustrato.

El sustrato que tuvo una velocidad de infiltración más rápida y por tanto un mayor drenaje fue la Cachaza lo cual me dio la necesidad de establecer una norma de riego diaria con una frecuencia menor y un menor volumen de agua, al igual que en el tratamiento 4, sin embargo, en el resto de los tratamientos que la evaluación de la velocidad fue moderada se les estableció una norma de riego cada 2 días con un intervalo de riego más prolongado y un mayor volumen de agua. Entre las mejores respuestas de las variables evaluadas en cuanto a la retención de humedad del sustrato, fue la cachaza la que obtuvo mayor retención de la humedad, sin embargo, en la medición de los índices agronómicos de los tratamientos y los resultados finales de las vitroplantas los que tuvieron mejores resultados fueron el T3 y T4.

3.4. Resultados del establecimiento de interacción entre la composición del sustrato, índices agronómicos de vitroplantas y retención de humedad del sustrato.

-El tratamiento que tuvo mayor resultado en las variables medidas brindando un mayor aporte al desarrollo de las vitroplantas en cuanto a: la altura de la planta y tamaño de las hojas fue el T4, representando este una diferencia significativa en comparación con los demás tratamientos.

-Los sustratos orgánicos que demostraron ser más eficaces en cuanto a la retención de agua fueron: el T1(100% Cachaza), T3 (20%Cachaza+30% Humus de Lombríz+50 y T4(50%Cachaza+50%Suelo), siendo el T1 el que mantuvo mayor retención de agua, por lo que éstos pueden proporcionar alta capacidad de retención de humedad, aireación y propiedades drenantes. Por otro lado, los resultados obtenidos en los ensayos demuestran que la utilización de mezclas de residuales orgánicos para la conformación de nuevos sustratos resultan ser una práctica sostenible y adecuada en vitroplantas de plátano brindándoles nuevos aportes nutritivos al sustrato empleado para el desarrollo de las vitroplantas en fase de aclimatación.

3.5. Análisis estadístico de la información captada Tabla

El análisis se realizó primero cada variable en cada tratamiento y se calculó el valor medio de la variable en cada tratamiento , luego se analizó este valor medio de cada variable por tratamiento entre ellos y se comparó con el valor medio total de la variable en la réplica , lo que dio como resultado que dentro de un mismo tratamiento no se encontró diferencias significativas para una probabilidad $p \geq 0.05$, sin embargo, el análisis entre tratamiento por variable arroja que para la altura de la planta muestran similitudes los tratamientos T1 - T2 y T3-T5 y diferencia T4, para la altura del tallo son similares T1-T2 y T3 ,T4 y T5, es decir no hay diferencias significativas. En cuanto a las cantidades de hojas y grosor del pseudotallo no se encontró diferencias significativas y en el tamaño de las hojas hubo similitud en T2-T3 y T5 y diferencia en T4.

De lo anterior analizado se concluye que las mezclas de sustrato que por su contenido de humedad inciden en las variables evaluadas se encuentran Altura de la planta T4(50% suelo – 50% cachaza) y tamaño de las hojas T4 también.

Conclusiones

- Al comparar los diferentes tratamientos con y sin presencia de CBS se observó en la mayoría de los índices agronómicos estudiados, las mejores respuestas en el (T3)30% Humus de Lombriz+20%Cachaza+50% Suelo y en el (T4) 50%Cachaza+50%Suelo.
- El sustrato que tuvo mayor retención de humedad fue la cachaza, siendo este también el que tuvo una velocidad de infiltración más rápida y mayor estabilidad de los agregados. Sin embargo, no fue el que mejor respuesta tubo en cuanto a la medición de los índices agronómicos.
- El mejor comportamiento en general lo presentó el tratamiento(T4) en las 3 réplicas
- Las CBS son organismos que se encuentran en un medio de forma natural las cuales se pudieron ver afectada en su desarrollo al ser trasplantadas de su habitat normal o por el contenido de hipoclorito del agua con que fueron regadas las vitroplantas.

Recomendaciones

- Realizar el experimento en otra época del año.
- Probar el método el lixiviado de CBS como alternativa en la retención de vitroplantas.
- Probar el experimento en otro tratamiento utilizando un sustrato al 100% humus de lombriz.
- Crear un puesto de lumbricultura pues este puede ser empleado en nuevas Mezclas de sustratos para la siembra de vitroplantas

Referencias Bibliográficas



Referencias Bibliográficas

- Abad, M. (1989). Los sustratos en horticultura ornamental. *Revista Agrícola Vergel*, 87, 146-152.
- Ahloowalia, B. S, Prakash, J, Savangikar, V. A, & Savangikar, C. (2004). Plant tissue culture. En *Low cost options for tissue culture technology in developing countries* (pp. 3-10). International Atomic Energy Agency. https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/te_1384_web.pdf
- Augé, R, Beauchesne, J, Boccon, G, & Vitalie, H. (1990). La culture in vitro et ses applications horticoles. En *Low cost options for tissue culture technology in developing countries*. International Atomic Energy Agency. https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/te_1384_web.pdf
- Belalcazar, S. L. (1991). *El cultivo del plátano (Musa AAB Simmonds) en el tropico*. Instituto Colombiano Agropecuario. <https://www.worldcat.org/title/cultivo-del-platano-musa-aab-simmonds-en-el-tropico/oclc/708365882>
- Belnap, J, & Lange, O. L. (2003). *Biological soil crust: Structure, function, and management*. Springer-Verlag.
- Castillo-Monroy, A. P, & Maestre, F. T. (2011). La costra biológica del suelo: Avances recientes en el conocimiento de su estructura y función ecológica. *Revista chilena de historia natural*, 84(1), 1-21. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2011000100001>
- Cronquist, A. (1988). *The Evolution and Classification of Flowering Plants* (2.^a ed). Cronquist.

- Desjardins, Y. (1995). Factors affecting CO₂ fixation in striving to optimize photoautotrophy in micropropagated plantlets. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 1(1), 13-25.
- Díaz, L, Medina, L. F, Latife, J, Digonzelli, P. A, & Sosa, S. B. (2004). Aclimatación de plantas micropropagadas de caña de azúcar utilizando el humus de lombriz. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 33(2), 115-128.
- Etienne, H, & Berthouly, M. (2002). Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 69(3), 215-231.
- Jiménez, E. (1998). Desarrollo y perfeccionamiento de la propagación masiva en las fases III y IV, enraizamiento y adaptación en caña de azúcar, papa, plátano y bananos, y adaptación de semillas artificiales de caña de azúcar.
- Jiménez, M. A. (2017). Cuba con alto potencial de producción de vitroplantas. *Bohemia*.
<http://bohemia.cu/nacionales/2017/03/cuba-con-alto-potencial-de-produccion-de-vitroplantas/>
- Jiménez-Terry, F. A, Peñalver, D. A, Ramírez-López, M, Pérez-Peralta, M, La O Cárdenas, M, Pons-Corona, M, & Collado-López, R. (2012). Uso de humus de lombriz en la formulación de sustratos para la aclimatización de cultivos tropicales. *Centro agrícola*, 39(3), 37-44.
- Kodym, A, & Zapata-Arias, F. J. (1998). Natural light as an alternative light source for the in vitro culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 55(2), 141–145.
<https://doi.org/10.1023/A:1006119114107>

Kozai, T. (1991). Acclimatization of Micropropagated Plants. En *Biotechnology in Agriculture and Forestry* (Vol. 17, pp. 157-171).

https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-76415-8_8

López, G. L. (2016). *Estudio comparativo de sustratos de cultivos sostenibles en sistemas de naturación urbana: jardinería vertical y cubierta vegetal* (Tesis doctoral). <https://core.ac.uk/download/pdf/148683171.pdf>.

López, Z. M. (1989). *El plátano*: Editorial Pueblo y Educación.

Martínez, D. (2001). Aportes del humus de lombriz.

Ministerio de la Agricultura. (2018). Instructivo Técnico fase de aclimatación de bananos y viandas.

https://www.minag.gob.cu/sites/default/files/publicaciones/instructivo_tecnico_fase_de_aclimatizacion_de_bananos_y_viandas_2018.pdf

Morales, C. C, Corbera, C. J, Paneque, C. V. M, & Calaña, M. (2008). Efecto del sustrato en la aclimatación del cultivo de anturio (*Anthurium andreanum*), 29(3).

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362008000300013

Moreno, R. (1992). Una enorme tarea: Carta informativa. FAO.

Orellana, P. (1998). Introducción a la propagación masiva. En *Propagación y mejora genética de plantas por Biotecnología*: Ediciones GEO (pp. 151-178).

Orellana, P. A. (1995). *Tecnología para la micropropagación in vitro de clones de Musa spp* (Tesis doctoral), Universidad Central de las Villas.

Pérez, D. (2009). Cuba posee potencial para producir anualmente hasta 40 millones de vitroplantas. *Juventud Rebelde*. <http://www.juventudrebelde.cu/cuba/2009-08-01/cuba-posee-potencial-para-producir-anualmente-hasta-40-millones-de-vitroplantas>

- Pérez, J, & Rodríguez, C. (1989). *Producción de semillas y propágulos*. Editorial Pueblo y Educación.
- Pérez, J, Suarez, M, & Orellana, P. (2000). Posibilidades y potencial de la propagación masiva de plantas en Cuba. *Biotecnología Vegetal. Universidad Central «Marta Abreu»*, 1, 3-12.
- Pérez-Alonso, N, Capote, A, Pérez, A, Gómez, L, & Jiménez, E. (2015). Establecimiento y multiplicación in vitro de brotes de Aloe vera L. *Biotecnología Vegetal*, 15(2), 85-95.
- Prakash, S, Hoque, M. I, & Brinks, T. (2004). Culture media and containers. En *Low cost options for tissue culture technology in developing countries* (pp. 29-40). International Atomic Energy Agency. https://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/te_1384_web.pdf
- Satyahari, D. (2005). Cost-effective mass cloning of plants in liquid media using a novel growtek bioreactor. En *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation* (pp. 127-141). Biotechnology Department.
- Simmonds, N. W, & Shepherd, K. (2008). Taxonomy and origins of cultivated Bananas. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 55(359), 302-312. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1955.tb00015.x>
- Torres, E, Crispin, E, & Dominguez, Q. (1985). Influencia de diferentes dosis de fertilizantes sobre la calidad de la piña (Ananas comosus L. Mer.) Variedad Española Roja. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*, 7(2), 47-55.

Anexos

Anexo1. Organización de un taller de participación con los trabajadores de la Biofábrica, para lo cual se elaboró una agenda de trabajo como lo muestra el anexo siguiente:

Relatoría del Taller de sensibilización desarrollado

Fecha: 20/febrero/ 2019

Hora: 9.00 am

Lugar: Biofábrica de Cienfuegos (Delegación Provincial de la Agricultura MINAG)

Objetivo: recoger los principales criterios emanados del intercambio con los productores relacionados con los temas impartidos por parte de los profesores participantes en el proyecto en función de conocer el nivel de conocimientos de decisores y productores acerca de la conformación de sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

El mismo fue facilitado por: MSc. Olimpia Nilda Rajadel Acosta coordinadora del proyecto Manejo Sostenible de Tierra, la Ingeniera Beti directora de la unidad, trabajadores y Bárbara León Hernández estudiantes de 5to año de la Carrera Ingeniería Agronómica.

La estudiante Bárbara León Hernández realizó la apertura de la sesión en la cual estuvieron presentes 12 participantes, de ellos:

Profesores/as universitarios: 1

Estudiantes universitarios: 1

Productores: 10

Mujeres: 4

Hombres: 6

Desarrollo de la sesión

Después de realizada la presentación de los participantes, se le dio la palabra a la ingeniera Beti quien dio a conocer los problemas existentes de la Biofábrica en la fase de aclimatación de vitroplantas

Estos problemas fueron discutidos con los productores de la unidad para que en una encuesta del 1 al 10 decidieran cuales eran los más fundamentales que se encontraban afectando el desarrollo de las vitroplantas, esto se discutió además a criterio de expertos median te el método Delfín como se muestra a continuación en la tabla 5

Tabla 5: Encuesta sobre el criterio de productores de los problemas más importantes de la unidad en cuanto a la conformación del sustrato y el manejo del riego

Encuesta para determinar los problemas más importantes de la unidad en cuanto a la conformación del sustrato y el manejo del riego										
Problemas en cuanto a la conformación del sustrato y manejo del riego	Encuesta del 1 al 10 para definir el grado de afectación del problema									
Las vitroplantas muchas veces no cumplen los requisitos para ser llevadas a la fase de aclimatación	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
					x					
El sistema de riego es insuficiente	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
							x			
No cuentan con análisis de calidad de agua para el riego	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
										x
No cuentan con análisis de calidad del sustrato para la siembra de vitroplantas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
										x
No emplean mezclas de sustratos solo utilizan cachaza	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
				x						

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Finalmente se realizó la valoración del taller tomando en consideración los aspectos que según el criterio de los participantes podían considerarse como **Positivo, Negativo e Interesante** (PNI) lo cual se describe a continuación:

Positivo:

- El grado de motivación de los participantes del taller
- La posibilidad de intercambio de conocimiento entre estudiantes, productores y profesores.
- La participación de la directora de la entidad
- Se pudo dar a conocer los problemas más urgentes de la unidad

Negativo

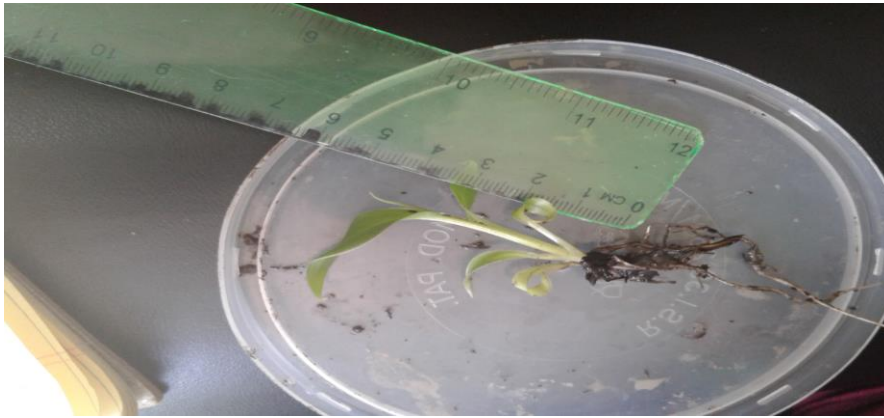
- No poder contar con todos los trabajadores de la Biofábrica para poder transmitirles la situación actual de estas.

Interesante

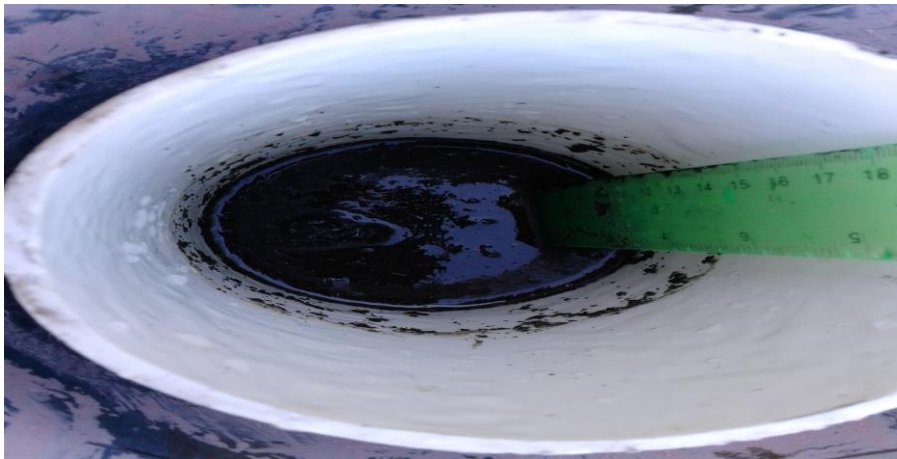
Se cumplió el objetivo trazado que era dar a conocer los principales problemas que se encontraban afectando la fase de aclimatación en cuanto a mezcla del sustrato para mayor retención de humedad y manejo del riego y conocer el grado de sensibilidad de los participantes.

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Anexo2: Medición los índices agronómicos de las vitroplantas



Anexo3: Medición de la velocidad de infiltración de los residuales orgánicos y de mezclas de sustratos.



Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Anexo4: Medición de la estabilidad de los agregados de los residuales mezclados



A: Suelo B: humus de Lombriz C: cachaza

Anexo5: Mezcla de forma manual de los diferentes residuos orgánicos



Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Anexo6: recolección y Siembra de CBS y vitroplantas



A B C

A: Recolección de la CBS (6 de nov del 2019)

B: Siembra de CBS (7 de nov 2019)

C: Siembra de vitroplantas (13 de nov 2019)

Anexo7: Herramientas metodológicas del Manual para la implementación del MST empleadas en la investigación

Herramienta Metodológica: Medición de Desagregación y dispersión (estabilidad del suelo)

La capacidad del suelo, y especialmente de la superficie, de soportar el impacto de varios tipos de degradación, principalmente la erosión eólica e hídrica, depende en gran medida de la reacción del suelo cuando se moja.

Hay dos tipos principales de colapso de los agregados cuando se le agrega agua al suelo: desagregación (“slaking”) que define la fragmentación de los agregados en microagregados, y la dispersión que describe la descomposición de los agregados en partículas primarias del suelo: arena, cieno (limo) y arcilla.

La diferencia entre la desagregación y la dispersión es muy importante. En general, el producto de la desagregación puede reconstituirse en agregados de mayor tamaño, mientras que el resultado de la dispersión en partículas primarias es irreversible y conduce a una estructura masiva indeseable. En la superficie, el suelo dispersado aparece en forma de costra o como granos de arena finos sueltos. El encostramiento es un impedimento serio a la penetración del agua (provocando que el agua se estanque en la superficie con gran potencial erosivo) así como para la germinación de las semillas. Además, el material fino y disperso en la superficie es muy vulnerable a la erosión eólica.

La cantidad de carbono orgánico en el suelo tiene una fuerte influencia sobre la capacidad de éste de mantener su nivel de agregación (y no dispersarse) cuando se lo moja. La materia orgánica mantiene unidas a las partículas del suelo, y especialmente en suelos francos y arenosos es el material principal causando la agregación.

La determinación de la predisposición de un suelo a la desagregación o dispersión se realiza en general con pruebas de laboratorio, pero puede hacerse una apreciación del fenómeno en poco tiempo durante la descripción del campo.

El procedimiento es el siguiente. Suelte un agregado seco extraído de la capa de suelo siendo investigada en un plato o contenedor reducido y transparente (como un vaso o

copa) que contenga agua (utilice agua de lluvia o agua local para irrigación). Luego de 10 minutos o, si es posible, de hasta 2 horas de inmersión, juzgue visualmente el grado de dispersión del agregado en una escala de 0 – 4 (ver Tipos y alcance de la dispersión figura 3).

NOTA los puntajes son el opuesto de los que se asignan en Field et al. (1997), para reflejar que la metodología EVS da mayor puntaje por mejores condiciones.

Puntaje:

1. No hay dispersión (aunque puede ocurrir desagregación) (puntaje = 4)
2. Dispersión ligera, reconocida por una cierta dilución en el agua alrededor del agregado (puntaje = 3)
3. Dispersión moderada con dilución obvia (puntaje = 2)
4. Dispersión considerable con dilución de alrededor de la mitad del agregado original (puntaje = 1)
5. Dispersión total, el agregado original se diluyó completamente y está disperso en granos de arcilla, cieno y arena. (puntaje = 0)

REGISTRE el puntaje en la hoja de campo.

- (a) el agregado permaneció intacto sin desagregación ni dispersión [puntaje = 4]
- (b) ocurrió desagregación sin ninguna dispersión [puntaje = 4]
- (c) ocurrió desagregación y una dispersión parcial [puntaje = 2]
- (d) desagregación y dispersión total [puntaje = 0]

Herramienta metodológica. Medición de infiltración de agua

Un factor esencial del potencial para cultivos o pastoreo del suelo es la velocidad y la cantidad de agua que puede infiltrarse a través de la superficie o dentro del perfil del suelo. El siguiente método fue ingeniado por el Dr Freeman Cook de CSIRO, Australia. El objetivo era crear un método simple para una estimación rápida de la conductividad hidráulica del suelo. Ello requería simplicidad, tanto en equipo como en el método de

campo. Aunque el método es operativamente simple, basado firmemente en principios físicos fundamentales del suelo, probados y aceptados.

Este método considera dos escenarios posibles:

- i) En el primer escenario, se hunde un anillo una distancia corta (unos pocos milímetros) en el suelo (esto facilita el flujo tridimensional – el agua fluye tanto vertical como horizontalmente), y
- ii) en el segundo, el anillo se hunde una profundidad considerable (mayor al diámetro del anillo), de forma que el flujo sea unidimensional (el agua fluya verticalmente).

Con ambos métodos la superficie del suelo debe estar húmeda para reducir el componente inicial de la conductividad hidráulica caracterizado por ser una infiltración rápida e inconstante (en la que el suelo absorbe el agua principalmente debido a fuerzas capilares en vez de la gravedad). Esto reduce errores en el método.

Cuando sea posible, siempre intente usar el método tridimensional (es decir el [i]) ya que los resultados se obtienen más rápido y el factor del tiempo es más sensible a la conductividad hidráulica. El método unidimensional es más apropiado cuando el agrietamiento o la estructura del suelo dificultan sellar el anillo en el suelo sin que ocurra filtración.

El equipo requerido es un anillo (de metal o PVC con un extremo afilado) de 100 mm (largo) por 100 mm (diámetro), un recipiente de 50 mm³ de agua y un reloj.

El método consiste en, rápidamente (pero intentando minimizar la altura desde la que se vierte y la velocidad con la que el agua pega contra la superficie), verter el agua sobre el suelo húmedo dentro del anillo. Tomar el tiempo que tarda el agua en desaparecer en el suelo (infiltrarse).

Las **Tablas 2 y 3** presentan información sobre la infiltración del agua para los escenarios tridimensional y unidimensional, respectivamente.

REGISTRE si se ha usado una medición tridimensional o unidimensional, y si la velocidad de infiltración fue “rápida”, “media” o “lenta” usando el sistema de puntajes.

Puntajes (a partir de Tablas 2 y 3):

1. Velocidad Rápida (puntaje = **2**)
2. Velocidad Media (puntaje = **1**)
3. Velocidad Lenta (puntaje = **0**)

Tabla 2. **Estimación simple de K a base del flujo tridimensional.**

Tiempo para que 50 mm^3 de agua desaparezcan de un anillo de 50 mm de radio.	Conductividad hidráulica - K (mm/hr)	EVS Puntaje
< 10 min	> 36 (rápido)	2
>10 min, < 2 hr	> 3.6 (medio)	1
> 2 hr	< 1 (muy lento)	0

Tabla 3. **Estimación simple de K a base del flujo unidimensional.**

Tiempo para que 50 mm^3 de agua desaparezcan de un anillo de 50 mm de radio.	Conductividad hidráulica - K (mm/hr)	EVS Puntaje
< 30 min	> 36 (rápido)	2
>30 min, < 10 hr	> 3.6 (medio)	1
> 10 hr	< 1 (muy lento)	0

Anexo 8. Evaluación del % de cobertura de CBS por tratamiento

Réplica	Tratamiento	Medición inicial		Mediciones posteriores a la siembra (cada 5 días)		
		Fecha de siembra	% de cobertura de CBS	# de mediciones	Fecha de medición	% de cobertura de CBS
R1, R2 Y R3	T1	07-nov-19	25	1ra	17-nov-19	25
				2da	27-nov-19	25
				3ra	07/12/2019	25
				4ta	17/12/2019	25
				5ta	27/12/2019	25
				6ta	06-ene-20	25
				Final	Final	Final
	T2	07/11/2019	25	1ra	17/11/2019	25
				2da	27/11/2019	25
				3ra	07/12/2019	25
				4ta	17/12/2019	25
				5ta	27/12/2019	25
				6ta	06/01/2020	25
				Final	Final	Final

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

	T3	07/11/2019	25	1ra	17/11/2019	25
				2da	27/11/2019	25
				3ra	07/12/2019	25
				4ta	17/12/2019	25
				5ta	27/12/2019	25
				6ta	06/01/2020	25
				Final	Final	Final
	T4	07/11/2019	25	1ra	17/11/2019	25
				2da	27/11/2019	25
				3ra	07/12/2019	25
				4ta	17/12/2019	25
				5ta	27/12/2019	25
				6ta	06/01/2020	25
				Final	Final	Final
	T5	07/11/2019	25	1ra	17/11/2019	25
				2da	27/11/2019	25
				3ra	07/12/2019	25
				4ta	17/12/2019	25
				5ta	27/12/2019	25

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

				6ta	06/01/2020	25
				Final	Final	Final

Anexo 9. Evaluación de la estabilidad del sustrato (cm/min)

Sustratos	Tamaño inicial de la muestra	Tiempo en desestabilizarse cm/min	Evaluación
Cachaza	5	4.5/60	Muy estable
Suelo		0/30	Estable
Humus de lombriz		0/18	Poco estable

Anexo 10. Evaluación de la velocidad de infiltración de los sustratos utilizados en la investigación y de las mezclas de residuales orgánicos empleados en la conformación del sustrato

Tipo de sustrato	Tiempo de medición (min)	Medición en cm de la columna de agua aplicada	Velocidad de infiltración (VI) en cm/min	Resultado final de la medición	Evaluación de la velocidad de infiltración
Cachaza	20	5	5	5	Muy rápida
Humus	35	4	4	4	Moderada
Suelo	30	3	3	3	Moderada

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Mezclas de residuales	Tiempo de medición (min)	Medición en cm de la columna de agua aplicada	Velocidad de infiltración (VI) en cm/min	Resultado final de la medición	Evaluación de la velocidad de infiltración
T1(100%Cachaza)	15	5	5	5	Muy rápida
T2(30%Cachaza+70%Suelo)	25	4	4	4	Moderada
T3(30%Humus de lombriz+20%Cachaza+50%Suelo)	25	3	3	3	Moderada
T4(50%Cachaza+50%Suelo)	20	2	2	2	Rápida
	30				
T5(100%Suelo)		3	3	3	Moderada

Anexo 11. Evaluación de los índices agronómicos de las vitroplantas

Repl ica	Tratam iento	Fecha de medición posterior a la siembra cada 10 días		Altura de la planta (cm)	Altur a del tallo(cm)	Grosor del seudotallo(cm)	Cantidad de hojas	tamaño de las hojas(cm)
R1	T1	1r a	25- nov-19	3	2	0.5	3	3
		2d a	05-dic- 19	5	3	0.6	4	4
		3r a	15/12/ 2019	6	4	0.7	5	5
		4t a	25/12/ 2020	7	5	0.7	5	6
		5t a	04/01/ 2020	8	6	0.9	6	8
		6t a	14- ene-20	10	8	0.11	7	10
		Fi nal	Final	Final	Final	Final	Final	Final
	T2	1r a	25- nov-19	3	2	0.5	3	3
		2d a	05-dic- 19	5	3	0.6	4	4

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

		3ra	15/12/2019	7	5	0.7	5	5
		4ta	25/12/2020	9	7	0.8	5	8
		5ta	04/01/2020	11	9	0.11	7	12
		6ta	14-ene-20	13	10	0.13	7	14
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final
	T3	1ra	25-nov-19	3	2	0.5	3	3
		2da	05-dic-19	5	3	0.6	4	4
		3ra	15/12/2019	8	6	0.8	5	5
		4ta	25/12/2020	9	7	0.8	5	8
		5ta	04/01/2020	11	9	0.11	7	12
		6ta	14-ene-20	13	10	0.13	7	14
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

	T4	1ra	25-nov-19	3	2	0.4	3	3
		2da	05-dic-19	5	3	0.5	4	4
		3ra	15/12/2019	7	5	0.6	5	5
		4ta	25/12/2020	8	6	0.7	5	7
		5ta	04/01/2020	10	8	0.9	6	10
		6ta	14-ene-20	12	9	0.10	7	12
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final
	T5	1ra	25-nov-19	3	2	0.5	3	3
		2da	05-dic-19	5	3	0.7	4	4
		3ra	15/12/2019	8	6	0.8	5	5
		4ta	25/12/2020	9	7	0.9	5	8
		5ta	04/01/2020	11	9	0.11	7	12

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

		6ta	14-ene-20	13	10	0.13	7	14
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final

Replica	Tratamiento	Fecha de medición posterior a la siembra cada 10 días		Altura de la planta (cm)	Altura del tallo (cm)	Grosor del pseudotallo (cm)	Cantidad de hojas	tamaño de las hojas (cm)
R2	T1	1ra	25-nov-19	4	3	0.4	3	3
		2da	05-dic-19	5	4	0.5	4	5
		3ra	15/12/2019	6	5	0.6	5	6
		4ta	25/12/2020	7	6	0.6	5	7
		5ta	04/01/2020	8	7	0.7	6	9
		6ta	14-	9	8	0.9	7	10

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

		a	ene-20					
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final
	T2	1ra	25-nov-19	4	3	0.4	3	3
		2da	05-dic-19	5	4	0.5	4	5
		3ra	15/12/2019	6	5	0.6	5	6
		4ta	25/12/2020	7	6	0.6	5	7
		5ta	04/01/2020	8	7	0.7	6	9
		6ta	14-ene-20	9	8	0.9	7	10
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final
	T3	1ra	25-nov-19	4	3	0.4	3	3
		2da	05-dic-19	5	4	0.5	4	5
		3ra	15/12/2019	6	5	0.6	5	6

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

		4ta	25/12/2020	7	6	0.6	5	7
		5ta	04/01/2020	8	7	0.7	6	9
		6ta	14-ene-20	9	8	0.9	7	10
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final
	T4	1ra	25-nov-19	4	3	0.5	3	3
		2da	05-dic-19	5	4	0.7	4	5
		3ra	15/12/2019	7	6	0.8	5	8
		4ta	25/12/2020	9	8	0.9	6	11
		5ta	04/01/2020	12	10	0.10	7	13
		6ta	14-ene-20	14	12	0.13	7	15
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final
	T5	1ra	25-nov-19	4	3	0.4	3	3

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

		2da	05-dic-19	5	4	0.5	4	5
		3ra	15/12/2019	6	5	0.6	5	6
		4ta	25/12/2020	7	6	0.6	5	7
		5ta	04/01/2020	8	7	0.7	6	9
		6ta	14-ene-20	9	8	0.9	7	10
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final

Replica	Tratamiento	Fecha de medición posterior a la siembra cada 10 días		Altura de la planta (cm)	Altura del tallo (cm)	Grosor del pseudotallo (cm)	Cantidad de hojas	tamaño de las hojas (cm)
R3	T1	1ra	25-nov-19	4	3	0.4	3	3
		2da	05-dic-19	5	4	0.5	4	5

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

		3ra	15/12/2019	6	5	0.6	5	6
		4ta	25/12/2020	7	6	0.6	5	7
		5ta	04/01/2020	8	7	0.7	6	9
		6ta	14-ene-20	9	8	0.9	7	10
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final
	T2	1ra	25-nov-19	3	2	0.4	3	3
		2da	05-dic-19	4	4	0.5	4	5
		3ra	15/12/2019	6	5	0.6	5	6
		4ta	25/12/2020	7	6	0.6	5	7
		5ta	04/01/2020	8	7	0.7	6	9
		6ta	14-ene-20	9	8	0.9	7	10
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

	T3	1ra	25-nov-19	4	3	0.5	3	4
		2da	05-dic-19	5	4	0.6	4	5
		3ra	15/12/2019	7	5	0.7	5	7
		4ta	25/12/2020	9	7	0.8	6	10
		5ta	04/01/2020	11	9	0.10	7	13
		6ta	14-ene-20	13	10	0.12	8	15
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final
	T4	1ra	25-nov-19	4	3	0.5	3	4
		2da	05-dic-19	5	4	0.6	4	5
		3ra	15/12/2019	8	6	0.7	5	7
		4ta	25/12/2020	10	8	0.9	6	10
		5ta	04/01/2020	12	9	0.11	8	14

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

		6ta	14-ene-20	14	11	0.14	8	16
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final
	T5	1ra	25-nov-19	4	3	0.4	3	3
		2da	05-dic-19	5	4	0.5	4	5
		3ra	15/12/2019	7	5	0.7	5	7
		4ta	25/12/2020	9	7	0.8	6	10
		5ta	04/01/2020	11	9	0.10	7	13
		6ta	14-ene-20	13	10	0.12	8	15
		Final	Final	Final	Final	Final	Final	Final

Anexo 12. Análisis y procesamiento estadístico a través del SPSS v 21

Tabla de Interrelación de variables por tratamientos (Réplica 1)						
Variables evaluadas	Valores medios de las variables por tratamientos					Promedio total replica 1
	T1	T2	T3	T4	T5	
Altura de la planta	6.5 a	6.9 a	7.6 b	8.3 c	7.6 b	7.4
Altura del tallo	5.2 a	5.6 a	6.0 b	6.5 b	6.0 b	5.9
Grosor del seudotallo	0.6 a	0.6 a	0.5 a	0.6 a	0.5 a	0.6
Cantidad de hojas	5 a	5 a	5 a	5 a	5 a	5
Tamaño de las hojas	6.4 a	7.0 b	7.8 b	8.4 c	7.7 b	7.5

Resumen Estadístico

	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Altura de la planta T1	18	6.5	1.94785	0.0	-0.672024
Altura de la planta T2	18	6.88889	2.72005	0.842653	0.00968877
Altura de la planta T3	18	7.61111	3.0513	0.60002	-0.699683
Altura de la planta T4	18	8.27778	3.54477	0.325801	-1.04328
Altura de la planta T5	18	7.61111	3.0513	0.60002	-0.699683
Total	90	7.37778	2.91288	1.82828	-1.07131

El StatAdvisor

Esta tabla muestra varios estadísticos para cada una de las 5 columnas de datos. Para probar diferencias significativas entre las medias de las columnas, seleccione Tabla ANOVA de la lista de Opciones Tabulares. Seleccione Gráfico de Medias de la lista de Opciones Gráficas para mostrar gráficamente las medias.

Tabla ANOVA

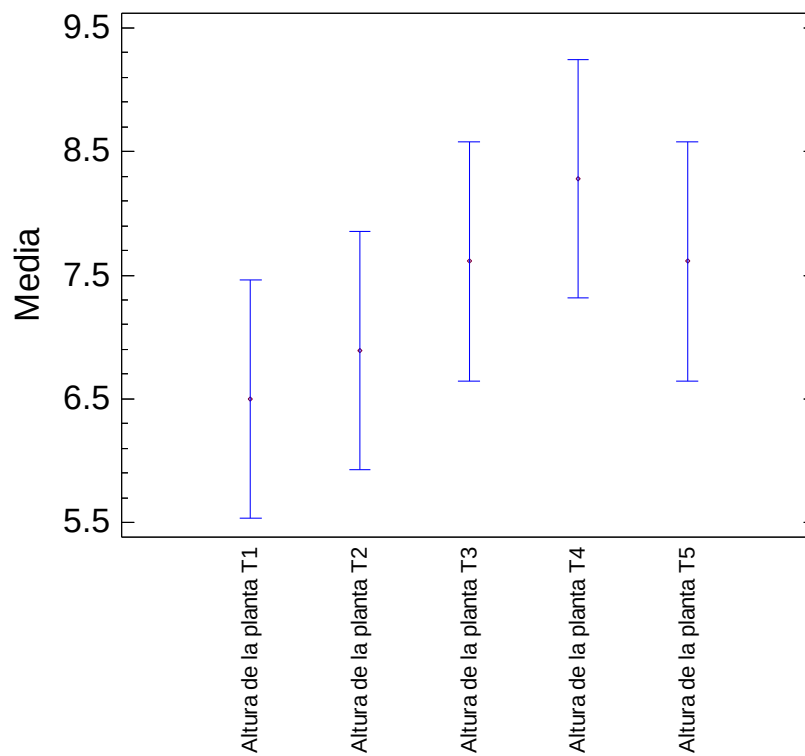
Fuente	Suma de Cuadrados	de GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre	34.7111	4	8.67778	1.02	0.3998

grupos					
Intra grupos	720.444	85	8.47582		
Total (Corr.)	755.156	89			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 1.02383, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. **Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza.**

Medias y 95.0% de Fisher LSD



Resumen Estadístico

	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Altura del tallo T1	18	5.22222	1.89599	0.0851248	-0.952524
Altura del tallo T2	18	5.61111	2.35494	0.175964	-0.706263
Altura del tallo T3	18	6.0	2.54374	0.208915	-1.00283

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Altura del tallo T4	18	6.5	3.01467	0.363969	-0.92062
Altura del tallo T5	18	6.0	2.54374	0.208915	-1.00283
Total	90	5.86667	2.47777	1.06138	-1.57219

El StatAdvisor

Esta tabla muestra varios estadísticos para cada una de las 5 columnas de datos. Para probar diferencias significativas entre las medias de las columnas, seleccione Tabla ANOVA de la lista de Opciones Tabulares. Seleccione Gráfico de Medias de la lista de Opciones Gráficas para mostrar gráficamente las medias.

Tabla ANOVA

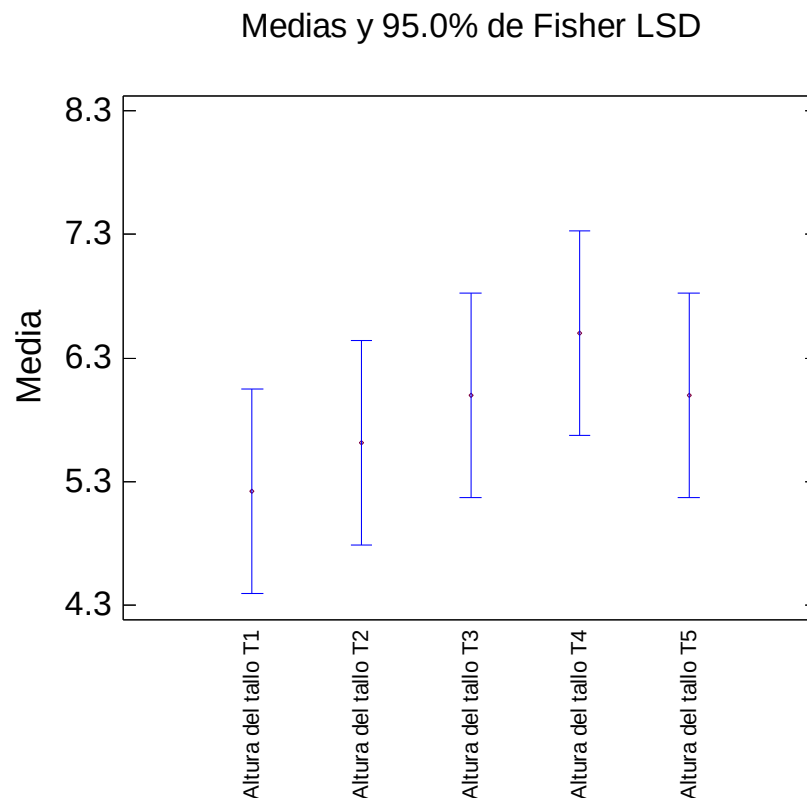
Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	16.5111	4	4.12778	0.66	0.6200
Intra grupos	529.889	85	6.23399		
Total (Corr.)	546.4	89			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.662141, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

dentro-de-grupos. **Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza.**



Resumen Estadístico

	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Grosor del pseudotallo T1	18	0.606111	0.196951	-0.95635	1.08134

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Grosor del pseudotallo T2	18	0.568889	0.217415	-1.11452	0.475364
Grosor del pseudotallo T3	18	0.525556	0.259144	-1.00553	-0.664901
Grosor del pseudotallo T4	18	0.515556	0.292479	-0.49734	-1.09969
Grosor del pseudotallo T5	18	0.525556	0.270255	-0.687168	-0.840289
Total	90	0.548333	0.246464	-2.02941	-1.13978

El StatAdvisor

Esta tabla muestra varios estadísticos para cada una de las 5 columnas de datos. Para probar diferencias significativas entre las medias de las columnas, seleccione Tabla ANOVA de la lista de Opciones Tabulares. Seleccione Gráfico de Medias de la lista de Opciones Gráficas para mostrar gráficamente las medias.

Tabla ANOVA

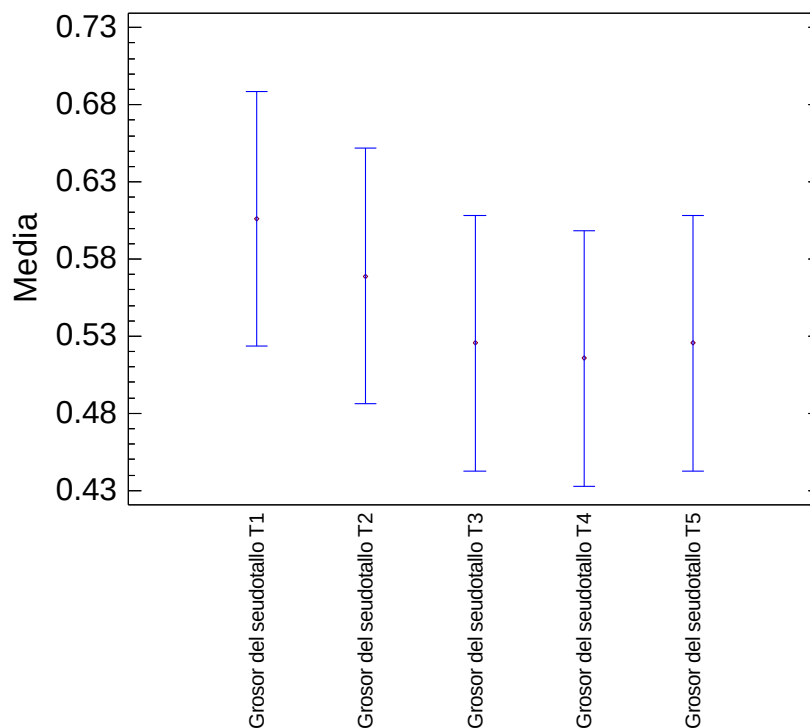
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.105711	4	0.0264278	0.42	0.7911
Intra	5.30054	85	0.0623593		

grupos					
Total (Corr.)	5.40625	89			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.423799, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. **Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza.**

Medias y 95.0% de Fisher LSD



Resumen Estadístico

		Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Cantidad de hojas T1	de	18	5.0	1.32842	0.0	-0.750844
Cantidad de hojas T2	de	18	5.05556	1.39209	0.063994	-0.885182
Cantidad de hojas T3	de	18	5.22222	1.55509	0.194914	-0.893057
Cantidad de hojas T4	de	18	5.33333	1.64496	0.188844	-0.914238
Cantidad de hojas T5	de	18	5.22222	1.55509	0.194914	-0.893057
Total		90	5.16667	1.47069	0.452382	-1.90442

El StatAdvisor

Esta tabla muestra varios estadísticos para cada una de las 5 columnas de datos. Para probar diferencias significativas entre las medias de las columnas, seleccione Tabla ANOVA de la lista de Opciones Tabulares. Seleccione Gráfico de Medias de la lista de Opciones Gráficas para mostrar gráficamente las medias.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de	Gl	Cuadrado	Razón-F	Valor-P
--------	---------	----	----------	---------	---------

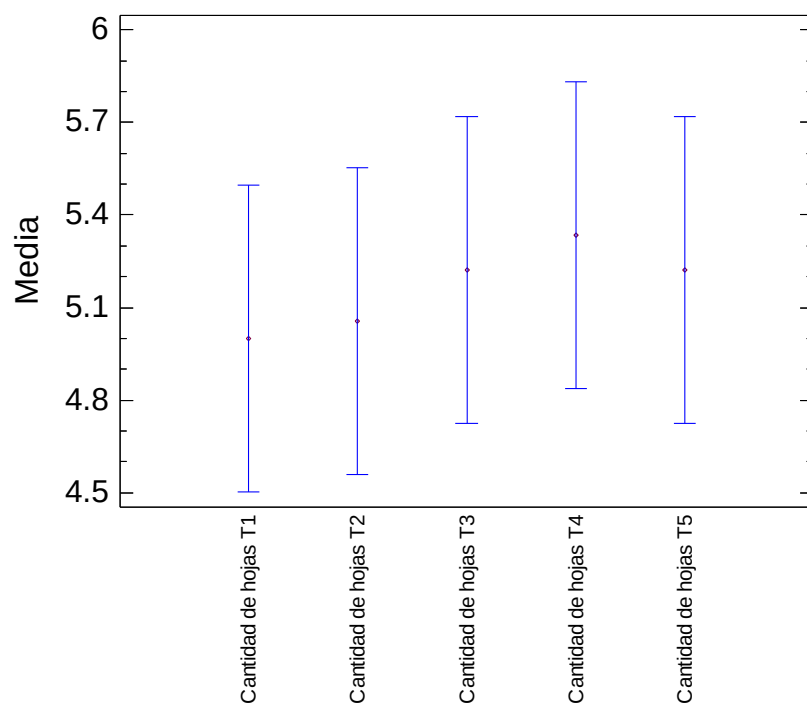
Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

	Cuadrados		Medio		
Entre grupos	1.33333	4	0.333333	0.15	0.9633
Intra grupos	191.167	85	2.24902		
Total (Corr.)	192.5	89			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.148213, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. **Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza.**

Medias y 95.0% de Fisher LSD



Resumen Estadístico

	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Tamaño de las hojas T1	18	6.44444	2.45482	0.200116	-1.0456
Tamaño de las hojas T2	18	7.0	3.18082	1.04711	-0.206823
Tamaño de las hojas T3	18	7.77778	3.828	0.944594	-0.771804
Tamaño de las hojas T4	18	8.44444	4.30078	0.606833	-1.07632
Tamaño de las hojas T5	18	7.72222	3.89276	0.874506	-0.794311
Total	90	7.47778	3.57654	2.34388	-1.16515

El StatAdvisor

Esta tabla muestra varios estadísticos para cada una de las 5 columnas de datos. Para probar diferencias significativas entre las medias de las columnas, seleccione Tabla ANOVA de la lista de Opciones Tabulares. Seleccione Gráfico de Medias de la lista de Opciones Gráficas para mostrar gráficamente las medias.

Tabla ANOVA

Propuesta para conformar el sustrato de vitroplantas en fase de aclimatación, en función de la retención de humedad y manejo del riego

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	42.8444	4	10.7111	0.83	0.5091
Intra grupos	1095.61	85	12.8895		
Total (Corr.)	1138.46	89			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.830992, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. **Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza.**

Medias y 95.0% de Fisher LSD

