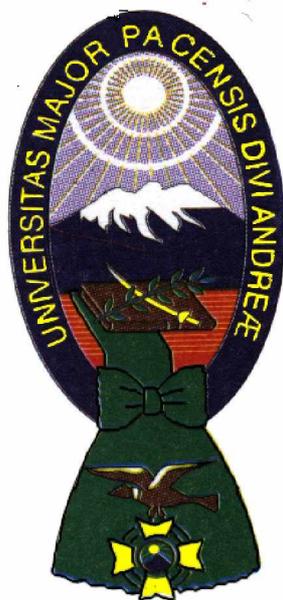


**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA**



TESIS DE GRADO

**EFEECTO DEL TAMAÑO DE BROTE Y TIPO DE SUSTRATO EN LA ACLIMATACIÓN
DE VITROPLANTAS DE PIÑA (*Ananas comusus* L. Merrill) DE LAS VARIEDADES:
SELVAGEN, COSTARRIQUENA Y COLOMBIANA, EN CONDICIONES DE
INVERNADERO**

Presentada por:

LUCIA TITO PACO

**La Paz – Bolivia
2010**

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE AGRONOMIA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA**

**EFFECTO DEL TAMAÑO DE BROTE Y TIPO DE SUSTRATO EN LA ACLIMATACIÓN
DE VITROPLANTAS DE PIÑA (*Ananas comusus* L. Merrill) DE LAS VARIEDADES:
SELVAGEN, COSTARRIQUEÑA Y COLOMBIANA, EN CONDICIONES DE
INVERNADERO**

Tesis de grado para obtener el título de
Licenciatura en Ingeniería Agronómica

LUCIA TITO PACO

ASESORES:

Dr. Victor Hugo Mendoza Condori

Ing. Edgar Gómez Villalba

TRIBUNAL REVISOR:

Ing. M.Sc. Hugo Bosque Sánchez

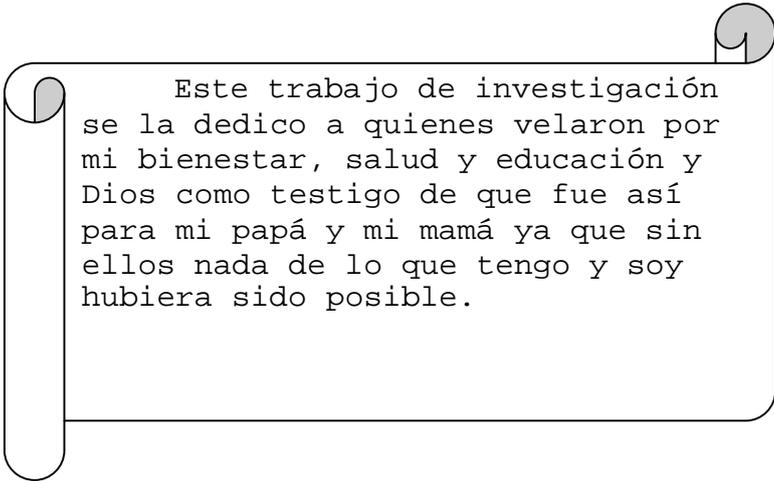
Lic. M.Sc. Edgar García Cárdenas

Ing. René Calatayud Valdez

Aprobada

Presidente Tribunal Examinador:

2010

A decorative scroll-like frame with a black outline and rounded corners. The frame has a vertical strip on the left side that looks like a scroll's edge, and a small circular tab on the top right corner. The text is centered within the frame.

Este trabajo de investigación se la dedico a quienes velaron por mi bienestar, salud y educación y Dios como testigo de que fue así para mi papá y mi mamá ya que sin ellos nada de lo que tengo y soy hubiera sido posible.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores por su paciencia y sabios consejos. Al Dr. Mendoza puesto que gracias a su intervención mi tesis fue posible y un hecho, al Ing. Gómez por darme su apoyo desinteresado en la parte de laboratorio.

Al Centro de investigación del Instituto Boliviano de Tecnología de Energía Nuclear (IBTEN) por facilitarme ambientes para realizar el trabajo de campo de mi investigación.

Un profundo agradecimiento al Ing. M.Sc. Hugo Bosque Sánchez al Lic. Edgar García Cárdenas y al Ing. René Calatayud Valdez que formaron parte del comité revisor que por sus valiosos consejos y su paciencia fue posible la presentación del presente trabajo.

A mi esposo que gracias a su insistencia, constancia, apoyo incondicional fueron el impulso que me llevo a realizar este trabajo y además velo porque esta tesis fuera un hecho.

Y no quiero dejar de lado al apoyo brindado por parte de mi amigo Juan José Vicente en la parte estadística de mi trabajo.

RESUMEN

La investigación se realizó en instalaciones del Instituto Boliviano de Ciencia y Tecnología Nuclear, tuvo como objetivo principal elevar el porcentaje de supervivencia de vitroplantas de tres variedades de piña (*Ananas comosus* L. Merrill) en la etapa de aclimatación, por efecto de diferentes tamaños de brotes y tipos de sustrato.

La evaluación cuantitativa de los factores de estudio se realizó bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial y 10 repeticiones, obteniendo un total de 270 unidades experimentales. Debido a que alguno de los datos de los resultados estaba fuera de la curva normal, se realizó la transformación de los mismos con la raíz cuadrada y para la comparación de medias se recurrió a la prueba de Duncan al 5%. El análisis de los datos se realizó con el programa estadístico S.A.S (Statistical Analysis System).

Las variables de respuesta de la investigación fueron; el número de hojas a los 60 y 90 días, altura de planta a los 60 y 90 días, longitud de raíz y número de raíces, también se tomaron en cuenta el análisis físico-químico de los sustratos y el porcentaje de supervivencia de los plantines. Por último se consideró la toma de datos de la temperatura del interior del invernadero y la cámara de propagación.

De acuerdo a los resultados las variedades colombiana y costarricense obtuvieron porcentajes elevados en supervivencia con 78% y 70% respectivamente, en cuanto al tamaño de plantín, los de 1.5 y 2 cm fueron los más indicados y preparados fisiológicamente para resistir los cambios de condiciones *in vitro* a *ex vitro* y las combinaciones de sustratos s_1 (arena:Cascarilla de arroz:Tierra) y s_3 (Arena:Turba:Tierra) fueron en los que mejor respondieron los plantines en la etapa de aclimatación, en cuanto a su desarrollo longitudinal de raíz y altura de planta.

SUMMARY

The investigation was carried out in facilities of the Bolivian Institute of Nuclear Science and technology, he/she had as main objective to elevate the percentage of survival of vitroplantas of three pineapple varieties (Pineapples comosus L. Merrill) in the acclimatization stage, for effect of different sizes of buds and basis types.

The quantitative evaluation of the study factors was carried out totally at random under a design with factorial arrangement and 10 repetitions, obtaining a total of 270 experimental units. Because some of the data of the results was outside of the normal curve, he/she was carried out the transformation of the same ones with the square root and for the comparison of stockings it was appealed to the test from Duncan to 5%. The analysis of the data was carried out with the statistical program S.A.S (Statistical Analysis System).

The variables of answer of the investigation were; the number of leaves to the 60 and 90 days, plant height to the 60 and 90 days, root longitude and number of roots, they also took into account the physical-chemical analysis of the bases and the percentage of survival of the plantines. Lastly it was considered the taking of data of the temperature of the interior of the hothouse and the propagation camera.

According to the results the Colombian varieties and Costa Rican obtained percentages risen respectively in survival with 78% and 70%, as for the plantín size, those of 1.5 and 2 cm they were the most suitable and prepared physiologically to resist the changes of conditions in vitro to former vitro and the combinations of bases s1 (arroz:Tierra arena:Cascarilla) and s3 (Arena:Turba:Tierra) they were in those that better the plantines responded in the acclimatization stage, as for their longitudinal development of root and plant height.

INDICE GENERAL

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	v
SUMMARY	vi
INDICE GENERAL	vii
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	ix
1. INTRODUCCION	1
1.1 Objetivo general	2
1.2 Objetivos específicos	2
2. REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1 Origen	3
2.2 Descripción botánica	3
2.3 Taxonomía	4
2.4 Variedades	4
2.5 Clima y suelo	4
2.6 Multiplicación	5
2.7 Plagas y enfermedades	6
2.7.1 Plagas	6
2.7.2 Enfermedades	7
2.8 Importancia de la micropropagación del cultivo de la piña	7
2.8.1 Micropropagación	8
2.8.2 Etapas de la micropropagación	9
2.9 Aclimatación de las plantas obtenidas <i>in vitro</i> en condiciones naturales	9

2.9.1 Concepto de aclimatación	9
2.10 Factores que influyen en la aclimatación de las vitroplantas	10
2.10.1 Características de las vitroplantas	10
2.10.2 Características y propiedades del sustrato para la adaptación de vitroplantas	11
A. Características del sustrato ideal	12
B. Propiedades físicas	13
C. Propiedades químicas	13
D. Otras propiedades	13
2.10.3 Prevención de enfermedades	13
2.10.4 Condiciones ambientales	14
A. Humedad	14
B. Temperatura	15
C. Luz y fotoperíodo	15
2.10.5 Tamaño de vitroplanta	16
2.11 Preparación del sustrato para el proceso de aclimatación	16
2.11 Descripción de los materiales empleados en la mezcla de sustratos	17
A. Arena	17
B. Suelo	17
C. Cascarilla de arroz	18
D. Turba	18
E. Ceniza	19
2.11.2 Esterilización	19
A. Métodos físicos	20
B. Métodos químicos	22
2.12 Fertilización	24
2.13 Riego	24
2.14 Instalaciones	24
A. Invernadero	25
B. Propagadores	26
C. Cámaras de propagación	26

3	MATERIALES Y METODOS	27
3.1	Materiales	27
3.1.1	Localización	27
3.1.2	Material vegetal	28
3.1.3	Material de campo	29
3.2	Métodos	30
3.2.1	Etapa de multiplicación	30
a.	Preparación de medios	30
b.	Multiplicación	31
c.	Selección de tamaño	31
3.2.2	Etapa de aclimatación	33
a.	Preparación del sustrato	33
b.	Distribución de las proporciones de sustrato	33
c.	Esterilización del sustrato	34
d.	Análisis físico químico de los sustratos	34
3.2.3	Actividades previas al trasplante	34
a.	Preparación de los envases de plástico	34
b.	Construcción del propagador o cámara húmeda	35
c.	Registro de la temperatura	35
3.3.3	Actividades del proceso de trasplante	36
a.	Extracción de las vitroplantas	36
b.	Trasplante	37
c.	Tratamiento de los plantines trasplantados	37
d.	Riego	38
e.	Fertilización	38
f.	Labores culturales	38
3.3.4	Diseño experimental	39
3.3.5	Análisis estadístico	40
3.3.6	Variables de respuesta	40
a.	Longitud de raíz	40

b. Número de raíces	41
c. Número de hojas	41
d. Altura de planta	41
e. Porcentaje de supervivencia de los plantines	42
f. Costos parciales	42
4 RESULTADOS Y DISCUSIONES	43
4.1 Parámetros climáticos	43
4.1.1 Temperaturas internas de la cámara húmeda y del invernadero	43
4.2 Análisis físico químico de los sustratos	45
4.2.1 Análisis físico	45
4.3 Parámetros biométricos	48
4.3.1 Número de hojas	48
I. Número de hojas a los 60 días	50
II. Número de hojas a los 90 días	52
4.3.2 Altura de planta	56
4.3.3 Longitud de raíces	63
4.3.4 Número de raíces	66
4.3.5 Costos parciales	67
5 CONCLUSIONES	68
6 RECOMENDACIONES	69
7 BIBLIOGRAFIA	70
8 ANEXOS	76

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Tamaños de brote	32
Cuadro 2. Composición de los sustratos	33
Cuadro 3. Reporte de análisis físico	45
Cuadro 4. Reporte de análisis químico	46
Cuadro 6. Análisis de varianza de X^2 para el número de hojas a los 60 días	48
Cuadro 7. Análisis de varianza de X^2 para el número de hojas finales a los 90 días	53
Cuadro 8. Análisis de varianza de X^2 para altura de planta	56
Cuadro 9. Análisis de varianza de X^2 para longitud de raíces a los 90 días	63
Cuadro 10. Análisis de varianza de X^2 para número de raíces a los 90 días	66
Cuadro 11. Análisis de costos parciales de los tratamientos	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Variedad Selvagen	28
Figura 2. Variedad Costarricense	29
Figura 3. Variedad colombiana	29
Figura 4. Soluciones para preparar el medio de Murashige y Skoog (1962)	30
Figura 5. Estructura de las vitroplantas de piña en laboratorio	31
Figura 6. Tamaños de brotes de la variedad Costarricense	32
Figura 7. Establecimiento del sustrato	34
Figura 8. Propagador o Cámara húmeda	35
Figura 9. Desinfección de los plantines	36
Figura 10. Repique y trasplante de los plantines	37
Figura 11. Temperaturas internas del invernadero	43

Figura 12. Temperaturas internas de la cámara húmeda	44
Figura 13. Comparación de medias del número de hojas a los 60 días por efecto de las variedades.	49
Figura 14. Comparación de medias del número de hojas a los 60 días por efecto del sustrato	50
Figura 15. Comparación de medias del número de hojas a los 90 días por efecto de las variedades.	53
Figura 16. Comparación de medias del número de hojas a los 90 días por efecto del sustrato	54
Figura 17. Comparación de medias del número de hojas a los 60 días por efecto del tamaño	55
Figura 18. Comparación de medias de altura de planta a los 90 días por efecto de las variedades	57
Figura 19. Comparación de medias de altura de planta a los 90 días por efecto del sustrato	58
Figura 20. Comparación de medias por efecto de la interacción variedad * sustrato	59
Figura 21. Comparación de medias de la altura de planta a los 90 días por efecto del tamaño del brote de las vitroplantas de piña	60
Figura 22. Comparación de medias de las variedades por efecto de la interacción variedad * tamaño	61
Figura 23. Efecto de la interacción sustrato * tamaño	62
Figura 24. Comparación de medias de longitud de raíz por efecto de los sustratos	64
Figura 25. Comparación de medias de longitud de raíz por efecto del tamaño de brote	65

1. INTRODUCCIÓN

La piña, después del banano, ocupa el segundo lugar en la importancia económica a nivel mundial. Los principales países productores son China, EEUU, Brasil, Tailandia, Filipinas y México.

En Bolivia este cultivo es uno de los principales rubros para la exportación legal como consecuencia de la implementación del programa denominado “Desarrollo Alternativo” para la erradicación de la hoja de coca. FTIERRA (2006), reporta que para el año 2005 se comercializó este cultivo por un valor de 950673 dólares.

Por lo anterior, la importancia económica del cultivo en los últimos años demanda mayor cantidad de plantines de calidad, con alto valor genético aptos para la exportación.

La piña es un cultivo que se propaga vegetativamente mediante hijuelos, corno y brotes; sin embargo mediante este método la obtención de plantines para establecer una plantación a nivel comercial es limitada o escasa. El material vegetal considerado como semilla disemina enfermedades y plagas, al mismo tiempo presenta heterogeneidad en su vigor y tamaño.

El cultivo *in vitro* de tejidos permite lograr las características mencionadas y por la técnica de micropropagación se obtiene producciones masivas de plantines en menor tiempo. Estas técnicas se han aplicado en muchas especies vegetales con resultados muy significativos.

Para la obtención masiva de plantas a partir de la micropropagación se deben pasar por los siguientes estadios: establecimiento, multiplicación, enraizamiento y aclimatización. La última fase comprende el paso de trasplantar la vitroplanta de condiciones *in vitro* a condiciones heterotróficas. El proceso de trasplante es considerado como el más crítico de la micropropagación ya que en este estadio se pierden entre el 50 a 90 % de

plantines. Por lo tanto el control de las condiciones ambientales es determinante y fundamental para lograr la obtención de más de un 90% de supervivencia. Es así que esta investigación pretendió establecer una metodología en las cuales se dieran las condiciones y los cuidados que exigen las vitroplantas en la etapa de aclimatación.

1.1 Objetivo General

Elevar el porcentaje de supervivencia de vitroplantas de tres variedades de piña (*Ananas comosus* L. Merrill) en la etapa de aclimatación, por efecto de diferentes tamaños de brotes y empleando tres tipos de sustrato.

1.2 Objetivos Específicos

- Determinar el tamaño de brote y tipo de sustrato apropiado para la aclimatación de vitroplantas de piña.
- Evaluar el efecto de los tamaños de brote y tipos de sustrato en el enraizamiento de las vitroplantas.
- Determinar el comportamiento morfológico de las variedades de piña por efecto de los tamaños de brote y tipos de sustrato.
- Determinar la interacción variedad, tamaño de brote y tipo de sustrato para la aclimatación.
- Realizar los análisis de costos parciales de los diferentes tratamientos.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Origen

Bolivia country gateway (2005), señala que la piña es originaria de América del Sur, del centro y suroeste de Brasil, y Noreste de Argentina y Paraguay.

Ochse (1991), indica que su hábitat nativo es en las tierras altas secas de la región de Matto Grosso de Brasil y Paraguay, donde aún se pueden encontrar por lo menos tres especies silvestres de *Ananas*.

2.2 Descripción botánica

La piña es una planta terrestre que, a pesar de ello, es muchas veces epífita (Monreal, 1991). Es una hierba perenne, de escaso porte y hojas duras y lanceoladas de hasta un metro de largo (WIKIPEDIA, 2007). El tallo es corto y grueso, generalmente menor de 30 cm de altura, un tanto carnoso, tieso, en forma de artesa (Ochse, 1991).

El sistema radicular de la planta de piña es muy superficial generalmente las raíces se localizan en los primeros 15 cm. superiores al suelo aunque pueden profundizarse hasta 60 cm o más (Bolivia Country Gateway, 2005).

Ochse (1991), señala que las raíces son cortas, gruesas con raíces desarrolladas por toda su longitud y regeneradas constantemente de los nudos basales que se encuentran a lo largo del tallo tanto arriba como debajo de la tierra.

El fruto es una infrutescencia que se desarrolla a partir de la inflorescencia apical y está constituido por numerosos frutos sin semilla adheridos entre sí, para formar la piña tal y como es conocida. El color del fruto puede variar desde el naranja al amarillo y para que sea sabroso debe madurar en la propia planta (FAO, 2002).

2.3 Taxonomía

Clase: *Monocotiledónea*

Subclase: *Zingiberidae*

Orden: *Bromeliales*

Familia: *Bromeliaceae*

Nombre científico: *Ananas comosus* L. Merrill

Nombre común: *Piña*

2.4 Variedades

García y Serrano (2005), indican que existen alrededor de 17 variedades de cultivo de *Ananas comosus* y otras especies como *A. Bracteus* e híbridos que han sido utilizados para el cultivo.

Sin embargo, Monreal (1991), afirma que existen tres grandes grupos de variedades: el *Spanish*, cuyos frutos tienen carne blanca, el *Queen*, con frutos de carne blanco – amarilenta o amarilla, y el *Cayenne*, con frutos de carne amarilla.

En Bolivia encontramos las siguientes variedades: Cayena lisa, Pucallpa, Quenn, Espina Rosita y Perolera Manzana. En el IBTA/Chapare se realiza la conservación de estos cultivares (Lucero, 1998).

Bolivia Country Gateway (2005), menciona a las siguientes variedades: Cayena lisa, Champaka F153, Azucarón, Castilla y la variedad Agua.

2.5 Clima y suelo

El cultivo de la piña tiene más éxito entre los 100 y 800 m sobre el nivel del mar en la mayor parte de los trópicos, puesto que la temperatura en esta elevación varía cercana al grado óptimo para el desarrollo, o sea de 21° a 27° C (Ochse, 1991).

Bolivia Country Gateway (2005), afirma que el crecimiento de las raíces y hojas es prácticamente nulo a temperaturas de 21° C y mayor de 35° C, el máximo crecimiento se da entre los 30° C y 31° C, el mejor desarrollo de la plantas se obtiene donde la temperatura anual está entre los 24° y 27° C.

PROEXANT (2007), indica que si el cultivo se halla en zona de pocas lluvias se suspende su crecimiento. Por el contrario, si el cultivo se halla en una zona con exceso de lluvias, las prácticas normales son afectadas seriamente. Es por esto que debido a la importancia de la humedad en épocas secas, las zonas tropicales son las ideales para este cultivo (75 – 85% de humedad relativa).

Ochse (1991), indica también que debido a sus sistemas radiculares poco profundos y limitados, las plantas de piña requieren cantidades relativamente grandes de humedad, pero también que haya un drenaje perfecto. Por esta razón los suelos arenosos, ricos en materia orgánica, de preferencia bastante ácidos y bajos en sales, son los considerados como más adecuados. Bolivia Country Gateway (2005), señala que deben evitarse la siembra en suelos arcillosos de mala estructura y pobre drenaje.

El suelo apropiado para el cultivo de la piña es franco-arenoso, con pH de 5.5 a 6.8 (PROEXANT, 2007).

2.6 Multiplicación

La piña es fácil de multiplicar a partir de los retoños que la planta produce de modo natural (FAO, 2002). De acuerdo con PROEXANT (2007), la piña se propaga por medio de corona (crown), hijuelos (slips) y brotes (puyones, retoño, suckers) que son aceptables para la siembra comercial a los cuales denomina semilla. Una buena semilla será fresca y sana, estará libre de enfermedades, no deberá estar dañada ni quebrada, deben contar con un largo mínimo de 20 cm y no deben tener semillas.

Sin embargo, Ochse (1991) y Monreal (1991), reconocen las siguientes clases de propagación:

- a. Vástagos, brotes que provienen de las yemas que se encuentran debajo del suelo.
- b. Chupones aéreos, brotes que provienen de las yemas axilares arriba del suelo.
- c. Esquejes, chupones desarrollados a lo largo del pedúnculo.
- d. Esquejes basales, chupones desarrollados desde la base de la fruta propiamente.
- e. Esquejes de la corona, chupones desarrollados en la parte superior de la inflorescencia o en la parte de arriba del fruto.
- f. Coronas, las hojas de la parte superior del fruto (menos cualquier esqueje que pudiera haber crecido ahí).

En la práctica, ya sea los vástagos o los chupones aéreos se utilizan para la plantación comercial (Ochse, 1991).

Esta forma de reproducción muestra varias desventajas es muy lenta, favorece la diseminación de plagas y enfermedades y el material utilizado como semilla presenta desuniformidad en su vigor y tamaño (Garita y Gómez, 2000).

2.7 Plagas y enfermedades

Bolivia Country Gateway (2005), describe a continuación las siguientes plagas y enfermedades más comunes en los campos de producción de piña en Bolivia.

2.7.1 Plagas

- Cochinilla (*Dysmoccus brevipes*) y (*Pseudococcus brevipes*). Las poblaciones altas de este insecto causan amarillamiento y retardo del crecimiento; es transmisor del virus de la marchitez de la piña conocido como "Wilt".

- Gallina ciega (*Phyllophaga* sp). La larva de este insecto causa daños al sistema radicular.
- Barrenador (*Tecla* sp). La larva de este lepidóptero causa huecos o cavidades de las que emanan exudaciones gomosas y además son la entrada de bacterias y hongos como *Fusarium* sp y *Penicillium* sp.
- Monreal (1991), indica que los piojos rojos constituyen el mayor peligro; una vez que han atacado las plantas son difíciles de eliminar, si el desarrollo no es muy amplio se los puede controlar con aspersiones de parathión o malathión.

2.7.2 Enfermedades

- Pudrición del cogollo (*Erwinia* sp). Produce una pudrición acuosa mal oliente en las hojas.
- Podredumbre del corazón (*Phytophthora paracitica* y *P. cinnamoni*). Causante de la pudrición en la planta.
- Wilt (*Mealybug wilt*). Causada por una virus transmitido por la cochinilla.
- *Thielaviopsis paradoxa*. Afecta el material de siembra, tallo, hojas y frutos.

2.8 Importancia de la micropropagación del cultivo de la piña

Garita y Gómez (2000), afirman que la piña se reproduce de manera vegetativa, mediante el uso de brotes laterales, coronas e hijos basales. Esta forma de reproducción muestra varias desventajas: es muy lenta (DeWald *et al.*, 1998; citado por Garita y Gómez, 2000), favorece la diseminación de plagas y enfermedades y el material utilizado como semilla presenta desuniformidad en su vigor y tamaño.

Martínez de Caballero (1997), señala que la disponibilidad de mudas (hijuelos, plantines, brotes o coronas) es un problema para los agricultores. La utilización de la técnica de micropropagación *in vitro* es una alternativa viable, pudiendo ser usada no solo en la producción de mudas sanas de los cultivares comerciales, sino también de los nuevos genotipos con resistencia a la fusariosis.

En el trabajo realizado por Saucedo y Ramos (2000), señala que la micropropagación, permite clonar genotipos de plantas seleccionadas por sus características de alto rendimiento, resistentes a estrés y enfermedades, pudiéndose obtener una alta tasa de plantas libres de plagas y por ende, semilla de alta calidad fitosanitaria; y además se pueden obtener plantas en cualquier época del año ya que se trabaja bajo condiciones controladas.

Así, la importancia de la piña ha impulsado la investigación biotecnológica en su aprovechamiento y se han desarrollado diversas estrategias para el mejoramiento tanto de la producción como en el crecimiento. La aplicación de métodos de mejoramiento varía desde la inoculación bacteriana y el cultivo de protoplastos hasta la inserción de genes específicos (García y Serrano, 2005).

2.8.1 Micropropagación

Barba *et al.*, (2001), menciona que los términos micropropagación *in vitro* y producción por cultivo de tejidos son sinónimos que se usan para denominar un procedimiento.

La micropropagación consiste en tomar un órgano o un pedazo de órgano de la planta madre (Zacher de Martínez, 1997) en condiciones asépticas.

Por tanto, Villalobos y Thorpe (1991), definen a la micropropagación como una multiplicación masiva *in vitro*.

2.8.2 Etapas de la micropropagación

Diferentes autores agrupan o dividen este proceso de multiplicación en etapas o pasos de acuerdo a sus propias experiencias. Como es el caso siguiente y más conocido de Hurtado y Merino (1994), que divide estas etapas de la siguiente forma:

- a. Etapa I. Establecimiento del cultivo aséptico.
- b. Etapa II. Propagación de propágulos sanos (subcultivos).
- c. Etapa III. Enraizamiento de los propágulos obtenidos.
- d. Etapa IV. Trasplante y acondicionamiento a invernadero.

Las condiciones de manejo de cada etapa deberán ser cuidadosas y de acuerdo con los propósitos del material madre.

De las etapas mencionadas, el proceso de trasplante y la adaptación a condiciones naturales es considerado como crítico si no se usa la adecuada metodología que cada especie requiere (CIAT Y CLAYUCA, 2006).

2.9 Aclimatación de las plantas obtenidas *in vitro* a condiciones naturales

Una vez obtenidas las plántulas de laboratorio, estas deberán pasar por un proceso de aclimatación o endurecimiento previo al establecimiento en campo.

2.9.1 Concepto de aclimatación

Es el período paulatino de adaptación a las condiciones del suelo (Villalobos y Thorpe, 1991) y ambiente por las que deberá pasar las vitroplantas en el invernadero antes de su establecimiento definitivo a campo.

Barba *et al.*, (2001), afirma que la transferencia de microestacas o plántulas desde condiciones asépticas *in vitro* a condiciones normales, tiene que efectuarse

cuidadosamente o pueden perderse grandes cantidades de plantas en este paso considerado como crítico.

Hurtado y Merino (1994), señala que es una de las etapas de gran importancia dentro de la técnica de propagación *in vitro* puesto que en ella podemos evitar grandes pérdidas de propágulos o plántulas.

El mayor porcentaje de plántulas perdidas se presenta en la fase o etapa del proceso de transferencia al suelo cuando no se realiza con una adecuada tecnología (CIAT y CLAYUCA, 2006).

2.10 Factores que influyen en la aclimatación de las vitroplantas

Para tener éxito en la transferencia de las vitroplantas o propágulos o plántulas de laboratorio a invernadero se deberán considerar factores como: las características de las plantas propagadas *in vitro*, características de los sustratos, la prevención de enfermedades y las condiciones ambientales durante el proceso de adaptación (Granada, 1990). Características que se detallan en los siguientes puntos.

2.10.1 Características de las vitroplantas

Darias (1993), menciona que las vitroplantas tienen un grupo de características anatómicas y fisiológicas que difieren un tanto de las plantas cultivadas '*in vivo*', y que tienen una influencia directa sobre su supervivencia.

Las plantas *in vitro* o vitroplantas según Granada (1990), requiere de fuentes de carbono exógeno por tanto existe poca o nula actividad fotosintética lo que conlleva a que las enzimas responsables de la fotosíntesis estén inactivas o ausentes.

Puesto que las plantas producidas por cultivo de tejidos se han desarrollado en presencia de una humedad alta la frecuencia de estomas es baja y existe también una disminución o ausencia de ceras en la cutícula de las hojas.

Barba *et al.*, (2001), menciona que las raíces que llega a desarrollar son incapaces de funcionar inmediatamente en el suelo.

Estas características que presentan las vitroplantas, son factores a tomar muy en cuenta para un establecimiento exitoso en el proceso de la aclimatación, razón por la que se deben controlar las condiciones ambientales del invernadero y los factores físicos en los cuales se desarrollarán las mismas, principalmente el sustrato en el cual las plántulas promoverán la formación de raíces funcionales.

2.10.2 Características y propiedades del sustrato para la adaptación de vitroplantas

Un sustrato es todo material sólido de suelo, natural de síntesis o residual, mineral u orgánico (INFOAGRO, 2006) con adecuada textura para que permitan el desarrollo y crecimiento de las raíces.

Agramonte *et al.*, (1998), afirma que el sustrato a los niveles sólidos y porosos de origen natural o sintéticos, solos o combinados garantizan un adecuado crecimiento de las plantas bajo condiciones ambientales controladas.

La FAO (2002) señala que la diferencia entre sustrato y un suelo natural está en que el primero trata de las posibilidades de empleo de sustratos más o menos inertes con el propósito de evitar las limitaciones del suelo natural para el cultivo hortícola. En el caso del suelo natural satisface las necesidades de los invernaderos de plástico, teniendo en cuenta las condiciones de clima, las características del suelo, los sistemas de cultivo poco tecnificados, el valor económico de los productos, el nivel tecnológico, las necesidades de los cultivos, etc.

A. Características del sustrato ideal

INFOAGRO (2006), menciona que el mejor medio de cultivo depende de numerosos factores como son el tipo de material vegetal con el que se trabaja, especie vegetal, condiciones climáticas, sistemas y programas de riego y fertilización, aspectos económicos, etc.

La FAO (2002), señala que un sustrato apto para el cultivo debe cumplir las siguientes condiciones:

- acumular y suministrar grandes cantidades de agua, para permitir intervalos amplios entre riegos;
- tener estructura estable a lo largo del período de empleo y una textura conocida que haga posible mantener un gran volumen de aire para la aireación del sistema radicular, incluso si se produce un exceso de riego;
- absorber y retener los nutrientes en forma asimilable para las plantas y tener una buena capacidad amortiguadora para compensar cualquier exceso o déficit de nutrientes;
- ser química y biológicamente inerte.

Siempre que sea posible debe evitarse el uso de estiércol, debido a la variabilidad de sus características, su heterogeneidad, la dificultad de controlar su descomposición microbiológica, la variación de los contenidos de nutrientes y su posible grado de infestación.

Para obtener buenos resultados durante la germinación, el enraizamiento y el crecimiento de las plantas, se requieren las siguientes características del medio de cultivo (INFOAGRO, 2006):

A. Propiedades Físicas

Las características de un sustrato son el resultado de sus propiedades físicas. Estas dependen de la estructura de los componentes y vienen definidas por la proporción entre partículas de tamaño grande y pequeño, el conjunto de poros y los volúmenes relativos de agua y de aire que ocupan los poros (FAO, 2002).

B. Propiedades químicas

La FAO (2002) indica que es importante el conocer las características químicas del sustrato según los parámetros siguientes: pH, capacidad de intercambio catiónico (CIC) y contenido de sales solubles (CE).

INFOAGRO (2006) indica que la reactividad de un sustrato se define como la transferencia de materia entre el sustrato y la solución nutritiva que alimenta las plantas a través de las raíces. Esta es recíproca entre sustrato y solución de nutrientes y puede ser debida a reacciones de distinta naturaleza química, físico-química y/o bioquímica.

C. Otras propiedades

INFOAGRO (2006), indica también que debe estar libre de semillas de malas hierbas, nemátodos y otros patógenos y sustancias fitotóxicas, ser reproductivo y estar disponible, que no eleve los costos de producción, fácil de mezclar, de desinfectar. Ser estable frente a la desinfección y resistente a cambios externos físicos, químicos y ambientales.

2.10.3 Prevención de enfermedades

Las plantas *in vitro* que estaban bajo condiciones asépticas no pueden pasar a mezclas de sustratos sin esterilizar ya que éstas se enfrentarían a un serio ataque de

enfermedades y/o patógenos, por tanto la realización de esta actividad de esterilizar el sustrato es importante para prevenir enfermedades (Granada, 1990).

Barba *et al.*, (2001), menciona lo esencial de un alto nivel de higiene en el área de transplante para reducir al mínimo los problemas infecciosos y de contaminación.

El uso de fungicidas se usa con frecuencia para prevenir el ataque de hongos durante el proceso de adaptación y se aplican al sustrato o a las plantas antes y/o después del transplante (Barba *et al.*, 2001).

2.10.4 Condiciones ambientales

Los factores más importantes a considerar son:

A. Humedad

Durante el desarrollo *in vitro*, las plantas están a una humedad relativa muy alta (aproximadamente del 100%) (Granada, 1990)

Zacher de Martínez (1997), afirma que en el proceso de aclimatación pasan a un ambiente que demanda un incremento en la tasa de transpiración provocando la deshidratación de las hojas de las plántulas generadas bajo condiciones *in vitro*.

Una forma de incrementar la sobrevivencia de las plántulas es colocándolas bajo una buena sombra y una muy alta humedad hasta que las hojas nuevas se hayan formado (Barba *et al.*, 2001).

Granada (1990), recomienda que la humedad relativa pueda mantenerse con el uso de nebulización o microaspersión intermitente pero con estos sistemas se incrementa el contenido de humedad del sustrato lo que puede provocar niveles de O₂ y CO₂, que pueden inhibir el crecimiento de las plantas en proceso de adaptación. Por eso

recomienda que las plántulas se mantengan en un ambiente cerrado para mantener una humedad relativa alta, sin necesidad de incrementar el contenido de humedad del sustrato.

B. Temperatura

Las plantas se desarrollan mejor en los 20° C y 27° C. Temperaturas con fluctuaciones muy drásticas pueden ocasionar un crecimiento irregular (Granada, 1990).

Barba *et al.*, (2001), recomienda que durante la aclimatación la temperatura debe ser fresca (13 a 20 ° C). Esta se puede regular empleando un termóstato (Granada, 1990).

C. Luz y fotoperíodo

Hurtado y Merino (1994) señala que las plántulas deberán ser colocados durante una o dos semanas bajo condiciones controladas, donde la intensidad lumínica deberá ser de 10 000 lux y fotoperíodo deberá ser controlado de acuerdo con la necesidades de cada cultivo.

Sin embargo, Barba *et al.*, (2001), recomienda que las plantulitas necesitan mantenerse a 3000 lux antes de transferirlas al suelo.

Barba *et al.*, (2001), recomienda también que se les exponga a un fotoperíodo con días cortos (por ejemplo 8h de luz por 16 h de oscuridad), que inducirá la acumulación de nutrientes en el tejido, incrementando así las posibilidades de sobrevivencia.

Los cultivo de tejidos una vez transplantadas muestran un mejor desarrollo y mayores porcentajes de sobrevivencia si al principio se mantienen a intensidades lumínicas bajas, alrededor de 15 Klux, el fotoperíodo debe mantenerse igual que en el laboratorio durante todo el período de adaptación. (Granada, 1990)

2.10.5 Tamaño de vitroplanta

Hurtado (1994), indica que las plantas deben tener de dos a tres nudos y un sistema radicular desarrollado para poder ser trasplantadas al suelo.

De acuerdo a Chen *et al.*, 2000 mencionado por Garita y Gomez 2000) indica que con la observación general de que las plantas de mayor tamaño (10 cm) muestran una mayor tasa de sobrevivencia y acumulo de materia seca que aquellas de menor tamaño.

2.11 Preparación del sustrato para el proceso de aclimatación

La FAO (2002), afirma que una norma básica para la preparación del sustrato, sobre todo si se necesitan cantidades grandes, es que la fórmula debe ser simple; el uso de muchos componentes aumenta los riesgos de una mezcla defectuosa, mal manipulada.

Un buen medio de enraizamiento se obtiene con arena gruesa o grava fina, que debe estar limpia, húmeda y bien aireada. Si su capacidad de retención de agua es baja se puede mejorar adicionando aserrín, turba, vermiculita u otros materiales (Vázquez *et al.*, 1997).

Barba *et al.*, (2001), señala que estos sustratos pueden utilizarse solos o mezclados entre sí en diferentes proporciones, pero hay que señalar que puede haber diferencias notables en la formación de raíces, según el sustrato o mezcla de éstos que se utilice. Las mezclas recomendadas por el mismo autor son: arena-turba-perlita en proporción 1:2:1 y arena-turba (1:1).

Granada (1990), indica que las distintas especies pueden desarrollarse bien en diferentes sustratos, sin que exista una norma general para todas las plantas con respecto a que sustrato utilizar; sin embargo, es aconsejable emplear los sustratos en los cuales las especies normalmente se desarrollan al utilizar los métodos convencionales de propagación vegetativa.

2.11.1 Descripción de los materiales empleados en la mezcla de sustratos

A. Arena

Reduce la porosidad del medio de cultivo. La porosidad de la arena es alrededor del 40% del volumen aparente. Las partículas deben ser de 0,5 mm a 2 mm de diámetro. No contiene nutrientes y no tiene capacidad amortiguadora. La capacidad de intercambio catiónico es de 5 meq/l - 10 meq/l. Se emplea en mezcla con materiales orgánicos (FAO, 2002).

Porta *et al.*, 1994, indica que este tipo de arenas posee permeabilidad y macroporosidad alta, compacidad baja, poca inercia térmica, facilidad de laboreo con una energía de retención de humedad baja que a su vez almacena poco nutrientes y su capacidad de retención de agua disponible para las plantas es baja.

INFOAGRO (2006), menciona que las arenas que proporcionan los mejores resultados son las arenas de río. Es bastante frecuente su mezcla con turba, como sustrato de enraizamiento y de cultivo en contenedores.

B. Suelo

Las plantas obtienen normalmente sus necesidades de agua y elementos minerales a partir del suelo que también proporciona oxígeno y un soporte para el sistema radicular de las plantas (Resh, 1987).

Plazola (1996), define que el suelo es la capa superficial de la corteza terrestre considerada en lo concerniente a su composición o naturaleza, aptitud o cualidad para el desarrollo de los vegetales. Un suelo se caracteriza principalmente por su composición, de la cual dependerá su aptitud para el desenvolvimiento de determinado tipo de vegetación.

De acuerdo con Orozco (1988), el suelo es un cuerpo naturalmente desarrollado, en que tienen lugar procesos físicos, químicos y biológicos. Desde el punto de vista de la agricultura, el suelo es el medio donde crecen las plantas.

C. Cascarilla de arroz

La cascarilla de arroz es un subproducto de la industria molinera, que resulta abundante en las zonas arroceras. Entre sus principales propiedades físico-químicas tenemos que es un sustrato orgánico de baja tasa de descomposición, es liviano, de buen drenaje, buena aireación y su principal costo es el transporte. La cascarilla de arroz es el sustrato más empleado para los cultivos hidropónicos bien sea cruda o parcialmente carbonizada. El principal inconveniente que presenta la cascarilla de arroz es su baja capacidad de retención de humedad y lo difícil que es lograr el reparto homogéneo de la misma (humectabilidad) cuando se usa como sustrato único en camas o bancadas (Calderón, 2002).

La FAO (2002), indica que la cascarilla de arroz se emplea directamente. Tiene un 87% de materia orgánica y 13% de cenizas.

D. Turba

Las turbas son materiales de origen vegetal, de propiedades físicas y químicas variables en función de su origen. Se pueden clasificar en dos grandes grupos: turbas rubias y negras (INFOAGRO, 2006).

La FAO (2002), las clasifica en tres grupos:

- Sphagnum, o turba rubia, es la forma menos descompuesta. Proporciona excelentes propiedades de aireación y agua al sustrato, tiene bajo pH y poco nitrógeno.
- Turba de cañota, es muy variable en su estado de descomposición y de acidez.

- Turba negra, es un material muy descompuesto, negro o castaño oscuro, con baja capacidad de retención del agua y contenido de nitrógeno de medio a alto.

E. Ceniza

La ceniza conocida como carbón vegetal, biochar o agrichar es un carboncillo altamente granulado hecho a partir de desechos vegetales y agrícolas (hierbas leñosas, abonos animales, residuos orgánicos domésticos e industriales) (Red Agrícola, 2009).

Es altamente resistente a la descomposición y se produce mediante pirolisis o carbonización, un proceso carbono neutral ancestral, con el que se hacía el carbón.

El biochar tiene dos propiedades muy interesantes: es altamente estable e inerte. Es decir, que puede almacenar por siglos el carbono secuestrado, mientras mejora la fertilidad del suelo, agregando oligoelementos, mejorando el drenaje y ayudando a recuperar suelos degradados. Los suelos Terra Preta, que fueron encontrados en islas muy fértiles en la cuenca del Amazonas, fueron creados de manera natural mediante una combinación única de condiciones ambientales. Los biochar pretender usar ese mismo método a escala industrial para crear un aditivo para el suelo que ayude a mejorar el rendimiento de los cultivos y a bajar la dependencia en fertilizantes tóxicos (Reyes, 2009).

2.11.2 Esterilización

Comprende todos los procedimientos físicos, mecánicos y preferentemente químicos, que se emplean para destruir gérmenes patógenos (Monografías, 1997).

Resh (1987), afirma que cuando las cosechas se cultivan durante períodos muy grandes de tiempo se acumulan una serie de microorganismos patógenos y elevan la posibilidad de que aparezca una enfermedad por eso el autor recomienda que para obtener los mejores resultados del medio se debe aplicar una esterilización, para evitar cualquier posibilidad de transmitir las enfermedades de unas a otras.

Agramonte *et al.*, (1998), indica que a las condiciones a las que se someten las vitroplantas en la fase de aclimatación, difieren grandemente de las que prevalecen en las cámaras de cultivo de donde provenían. Esto hace que sean más susceptibles al ataque de plagas y enfermedades cuyos agentes pueden estar presentes en el sustrato o en el ambiente mismo de la instalación. Estos microorganismos cuando las condiciones le son favorables provocan daños severos a las vitroplantas que pueden llegar a ocasionar pérdidas considerables.

Para combatir estos microorganismos se han desarrollado varias técnicas o productos que combaten la acción de los mismos:

A. Métodos físicos

Estas técnicas están basadas en la utilización del calor como esterilizante, en sus diferentes formas de aplicación, como son la desinfección por vapor, autoclave y la solarización.

- Agua hirviendo

Chavez y Egoavil; citado por Vásquez (2002), recomienda un método sencillo de desinfección que consiste en verter agua hirviendo al sustrato a razón de 5 litros por cada m² de cama, además de eliminar agentes dañinos eliminamos semillas de malas hierbas.

Calderón y Ceballos (2003), indican que con este método se puede controlar nemátodos e insectos y recomiendan 1 lt/dm³ de sustrato a 100° C.

- Vapor de agua

Para el tratamiento de suelos, el vapor es la mejor fuente de calor y la de empleo más común. El calor húmedo es ventajoso; puede inyectarse directamente al suelo, a

depósitos cubiertos o a los bancos. Al calentar el suelo, que debe estar húmedo, pero no mojado, la recomendación estándar ha sido de una temperatura de 82 °C durante 30 minutos, ya que este tratamiento mata a la mayoría de las semillas de malezas (Hartmann y Kester, 1986).

Calderón y Ceballos (2003), asegura que este método controla organismos como los hongos, nemátodos e insectos.

- **Autoclave**

Se realiza la esterilización por el vapor de agua a presión. El modelo más usado es el de Chamberland.

Esteriliza a 120° a una atmósfera de presión (estas condiciones pueden variar) y se deja el material durante 20 a 30 minutos (Monografías, 1997).

Equipo:

Consta de una caldera de cobre, sostenida por una camisa externa metálica, que en la parte inferior recibe calor por combustión de gas o por una resistencia eléctrica, esta se cierra en la parte superior por una tapa de bronce. Esta tapa posee tres orificios, uno para el manómetro, otro para el escape de vapor en forma de robinete y el tercero, para una válvula de seguridad que funciona por contrapeso o a resorte (Monografías, 1997).

Funcionamiento:

Se coloca agua en la caldera, procurando que su nivel no alcance a los objetos que se disponen sobre una rejilla de metal. Se cierra asegurando la tapa, sin ajustar los bulones y se da calor, dejando abierta la válvula de escape hasta que todo el aire se desaloje y comience la salida de vapor en forma de chorro continuo y abundante (Monografías, 1997).

Hurtado (1994), recomienda que el sustrato sea esterilizado en el autoclave a una temperatura de 121° C por 30 a 60 minutos (dependiendo de la cantidad), lo cual reducirá la incidencia de patógenos.

- **Solarización**

Nadal (2008), señala que la solarización es una técnica de reciente instauración en España que logra desinfectar el suelo recubriendo el terreno con una lamina plástica de polietileno de un espesor entre 0.025 y 0.1 mm durante un periodo de tiempo comprendido entre 4 y 6 semanas, pudiendo efectuar riegos por debajo de la lamina durante este tiempo.

Así se alcanzaran temperaturas de 45 – 50 °C a una profundidad de 10 cm y 38 – 45 °C a 20 cm lo que destruirá todos los parásitos existentes en el suelo.

Además, con la solarización se consigue una reducción de las pérdidas de calor latente de evaporación ya que el plástico impide la evaporación del agua del suelo al producirse una condensación de las gotas de agua en la cara interna del mismo plástico. Asimismo se reducen las pérdidas de calor debidas a la emisión infrarroja del suelo, y aumenta la capacidad calorífica y la conductividad térmica, lo que produce un aumento en la eficiencia de la transmisión del calor.

B. Métodos químicos

Alpi y Tognoni (1999), señalan que los medios químicos disponibles para los tratamientos del terreno pueden ser del mismo tipo que los utilizados para la protección de las plantas, o bien ser escogidos especialmente para un empleo específico en la esterilización parcial del terreno.

Esta técnica está basada en el empleo de los distintos productos químicos y mediante los efectos de los mismos lograr la desinfección del suelo (Nadal, 2008).

Estos productos químicos son los siguientes (Calderón y Ceballos, 2003):

Agente	Organismos que controla	Recomendación
Formol (37-40%)	Hongos, Nemátodos, Insectos y Bacterias. No es eficiente para malezas.	Diluir al 5% y aplicar 10 lts. por m ² . Cubrir durante 4 a 7 días. Airear por una semana o hasta que no se detecte olor antes de usarlo.
Previcur	Hongos, Bacterias.	Seguir Instrucciones de Etiqueta; desde 1 a 3 ml/lit; Se debe mojar completamente el sustrato a tratar.
Benlate Polvo Mojable DU-PONT	Hongos	1 cc por litro de agua. Utilizado en riego con regadera (Drench) para prevenir la dispersión de la pudrición basal de las plantas.
Vitavax 300 Polvo PROFICOL	Hongos: Rhizoctonia sp., Pythium, Sclerotinia y Fusarium. Protectante de semillas y plántulas. Se siembra inmediatamente despues de aplicado.	Aplicación de 3 grs por 1 Kg de semilla. Rociado al suelo 4 grs por litro de agua.
Telone DOW-Ag	Hongos, Insectos, Nemátodos, Malezas.	Se estima entre 70 y 100 cc por mt ³ según el tipo de sustrato.
Trimatón BARPEN	Hongos, Insectos, Nemátodos, Malezas.	1 lt de Producto Comercial/mt ³ de Sustrato
Basamid - G Granulado BASF	Hongos, Insectos, Nemátodos, Malezas.	30 a 40 gr por m ² . Humedecer el sustrato, incorporar el producto entre 20 y 40 cm de profundidad, regar, tapar. A los 8 días, destapar, remover y regar. Los vapores en el invernadero ocasionan daños a las plantas en crecimiento. Sembrar a los 20 días.

2.12 Fertilización

Muchas especies se benefician de la aplicación de fertilizantes mediante el sistema de nebulización. De preferencia fertilizantes foliares muy diluidos sobre todo para aquellos plantines que no tienen desarrollado el sistema radicular (Barba, 2001).

Alpi y Tognoni (1991), afirman que la fertilización foliar consiste en la distribución sobre el aparato epigeo de las plantas de soluciones conteniendo esencialmente macro y microelementos nutritivos. Los mismos señalan que el método más conveniente para suministrar los fertilizantes a los cultivos de invernadero es el de la fertirrigación.

2.13 Riego

En la práctica del riego es de suma importancia la determinación del momento óptimo para su aplicación y de la cantidad de agua a suministrar en cada riego. La decisión de regar puede estar en función del aspecto exterior de la planta, del estado de carencia hídrica en los tejidos de la planta, del contenido en humedad del suelo o de la insolación (Alpi y Tognoni, 1991).

Los mismos autores señalan que en los invernaderos de multiplicación para el enraizamiento de estaquillas, se emplea la aspersión con nebulizadores que distribuyen el agua en forma de gotas finísimas a intervalos de tiempo según el grado higrométrico.

2.14 Instalaciones

Hartman y Kester (1986), señalan que las instalaciones requeridas para propagar muchas especies de plantas, comprenden unidades básicas, una construcción con control de temperatura y abundancia de luz, como un invernadero o una cama caliente donde se logre enraizar. La segunda unidad es una estructura a la cual pueda cambiarse las plantas jóvenes y tiernas para que se endurezcan en preparación para su trasplante a la intemperie.

A. Invernadero

Alpi y Tognoni (1999), definen que el invernadero es una construcción de madera o de hierro u otro material, cubierta por cristales, provista por lo general de calefacción, que a veces, está iluminada artificialmente y en donde se pueden cultivar hortalizas tempranas, flores y plantas verdes, en épocas en las que la temperatura y la luz del lugar en donde se están cultivando serían insuficientes para su crecimiento y fructificación.

Desde el punto de vista de Mantallana y Montero (2001), el invernadero es un sistema productivo capaz de obtener cosechas fuera de la época normal en la que aparecen en el mercado.

De acuerdo con la FAO (2002) indica que los invernaderos son recintos cerrados contruídos con materiales transparentes soportados por varios tipos de estructuras, dentro de los cuales el clima difiere del exterior. Esta modificación climática tiene dos causas principales:

- 1) La propiedad específica de cada material de cubierta para atrapar la energía radiante dentro del recinto cerrado- denominado el efecto invernadero.
- 2) La limitación de la turbulencia.

Cuando el cielo está despejado y la humedad ambiente es baja puede ocurrir el fenómeno de la inversión de temperatura, que consiste en que la temperatura del abrigo es inferior a la del exterior. Si el invernadero no está equipado con calefacción, la ventilación puede ayudar a limitar este efecto. En contraste, durante el día el salto térmico - la ganancia de temperatura (aumenta con la radiación solar y disminuye con la velocidad del viento).

Según Plazola (1996) los objetivos del invernadero son: producir donde el clima lo permita al aire libre, producir productos fuera de temporada, aumentar la producción por unidad de superficie, desarrollar cultivos riesgosos, acortar de ciclos de las plantas permitiendo un mayor número de ciclos, disponer las condiciones de cultivo idóneo para el estudio y la investigación del comportamiento de determinados factores de la producción, disponibilidad económica.

B. Propagadores

Son construcciones o ambientes que evitan la pérdida de agua del medio que rodea a las estacas. Su función es similar a la de un almácigo, pues ambos propician las condiciones ambientales adecuadas para la germinación y establecimiento de las plántulas o para el enraizamiento de las estacas, según sea el caso de que se trate. Se instalan en invernaderos con control de luz y humedad (Vásquez *et al.*, 1997).

C. Cámaras de propagación

Hartman y Kester (1986), indican que aún en el invernadero las condiciones de humedad a veces no son suficientemente altas para permitir el enraizamiento satisfactorio de plantas, haciéndose necesario usar estructuras cerradas o cajas cubiertas con algún vidrio o alguno de los materiales plásticos para lograr un enraizamiento satisfactorio. Hay muchas variaciones de esas estructuras, antiguamente llamadas cajas wardianas. Al usar estas estructuras se debe tener cuidado de evitar que aumente los microorganismos patógenos realizando aspersiones con fungicidas.

Viacha se encuentra situado en la provincia Ingavi, al suroeste de la ciudad de La Paz, con una vía de acceso por la carretera asfaltada La Paz – Viacha (INE, 1999).

El INE (1999), indica que su topografía presenta un relieve ondulado, con presencia de serranías, un clima predominante frío con temperatura promedio de 8° C, y precipitaciones de 500 mm.

3.1.2 Material vegetal

El laboratorio de biotecnología vegetal del IBTEN contaba con protocormos de tres variedades de vitroplantas de piña: Selvagen, Costarricense y Colombiana las mismas se utilizaron para multiplicar y obtener los brotes deseados que en este caso fueron de 90 de cada variedad que suman un total de 270 vitroplantas. Las mismas se encontraban en medio líquido preparado en base al medio básico de Murashige y Skoog (1962) distribuidas en magentas con 20 ml cada uno. Las variedades que se aprecia en las figuras 1, 2 y 3 son vitroplantas que se hallan en medio líquido.



Figura 1. Variedad Selvagen



Figura 2. Variedad Costarricense

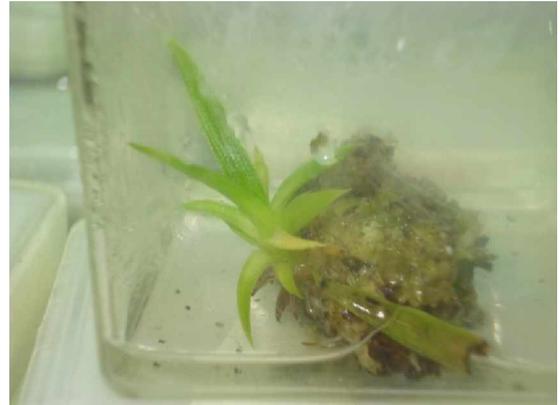


Figura 3. Variedad Colombiana

3.1.3 Material de campo

- Cámara de propagación
- Herramientas de trasplante y repique
- Envases de plástico
- Fuentes de plástico
- Tarima de madera
- Arena
- Turba
- Suelo del lugar
- Cascarilla de arroz
- Ceniza
- Sistema de riego
- Fertilizante Foliar
- Benlate (fungicida)
- Agrofilm
- Aspersores para riego
- Tamizador
- Termómetro
- Estufa
- Agua destilada

3.2 Métodos

El proceso llevado a cabo en la experimentación consistió desde la obtención de los brotes de vitroplantas de piña hasta la aclimatación y adaptación de las mismas.

3.2.1 Etapa de Multiplicación

a. Preparación de medios

El medio de cultivo que se preparó para las vitroplantas de piña fue líquido compuesto por el medio básico de Murashige y Skoog (1962), combinado con 3,4 mg/l Bencilaminopurina (BAP) y 2,6 mg/l Acido naftalenacético (ANA) el cual fue distribuido en magentas cada una con 20 ml y luego fueron esterilizadas en autoclave a una temperatura de 121 °C y a una presión de 1 atmósfera. Los componentes de las soluciones stock se detallan en el anexo 4.



Figura 4. Soluciones stock para preparar el medio de Murashige y Skoog (1962)

b. Multiplicación

Esta etapa consistió en dividir los cormos en dos o cuatro partes dependiendo del tamaño en condiciones totalmente asépticas. Posteriormente se transfirieron a magentas con medio líquido que fueron preparados y esterilizados previamente y fueron sometidas a 16 h luz / 8h sombra en la sala de crecimiento. Esta etapa duró 2 meses realizando las propagaciones cada dos semanas. En el último repique los callos o cormos permanecieron 30 días en el medio para inducir los brotes.

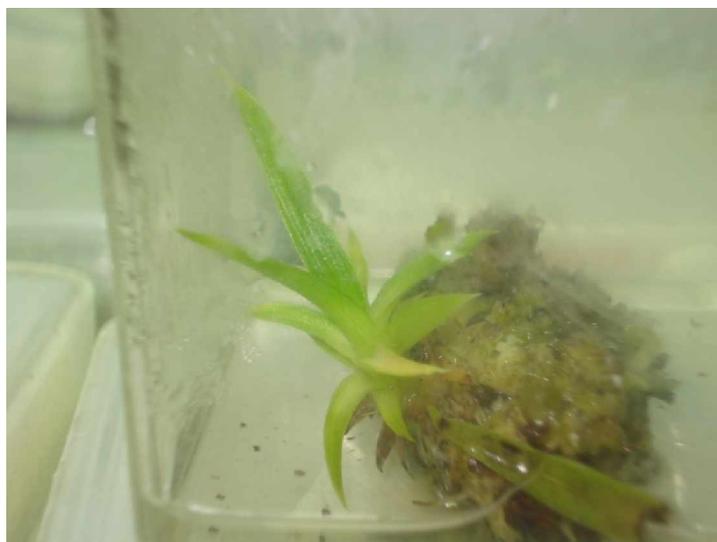


Figura 5. Estructura de vitroplanta de piña en laboratorio

c. Selección de tamaño

En la cámara de flujo laminar se realizó la separación de los brotes y se dividió de acuerdo a la variedad y los tamaños propuestos en la investigación los cuales se observan en el cuadro 1. Esta operación se efectuó de dos a tres días antes de la aclimatación.

Cuadro 1. Tamaños de brote

Nº de tamaño	Clave	Tamaños de brote (cm)
1	t ₁	1.0
2	t ₂	1.5
3	t ₃	2.0

Fuente: Elaboración propia



Figura 6. Tamaños de brotes de la variedad Costarricense en etapa de aclimatación

3.2.2 Etapa de aclimatación

a. Preparación del sustrato

Para la preparación del sustrato se utilizaron: arena, tierra, cascarilla de arroz, turba y ceniza y se realizó la limpieza y mezcla de los sustratos en proporciones volumétricas (Ver Cuadro 2) de la siguiente manera:

- En primer lugar la arena fue tamizada para eliminar restos vegetales y gravas (piedras mayores a 5 mm).
- En el caso de la tierra se uso dos tipos de cernidores: el primero permitía el paso de partículas con diámetros menores de 5 mm y el segundo partículas más finas menores a 5 mm.
- Luego se hizo la mezcla correspondiente con la ayuda de una pequeña pala

b. Distribución de las proporciones de sustrato

La combinación de las diferentes proporciones de los sustratos se explica en el siguiente cuadro.

Cuadro 2. Composición de los sustratos

Nº sustrato	Clave	Proporción en % de volumen					Proporciones
		Arena	Cascarilla de arroz	Turba	Tierra	Ceniza	
1	s ₁	25	50		25		1:2:1
2	s ₂	25		50		25	1:2:1
3	s ₃	25		50	25		1:2:1

Fuente: Elaboración propia

s₁ = Arena : Cascarilla de arroz : Tierra

s₂ = Arena : Turba : Ceniza

s₃ = Arena : Turba : Tierra

c. Esterilización del sustrato

El sustrato fue esterilizado en una autoclave a una temperatura de 121 °C y a una atmósfera de presión durante 60 minutos.

d. Análisis físico químico de los sustratos

El análisis físico químico del sustrato se realizó antes y después de la investigación. Se tomaron muestras de las distintas combinaciones de sustrato las cuales fueron analizadas en el laboratorio de IBTEN con la finalidad de ver los cambios que sufrió antes de usar el sustrato como medio de sostén y después de que las plántulas se adaptaron.

3.2.3 Actividades previas al trasplante

a. Preparación de los envases de plástico

Para establecer los plantines en el sustrato se usaron envases de plástico de 300 cc de volumen en las cuales se llenaron con la mezcla de sustrato hasta $\frac{3}{4}$ partes de su volumen (ver fig. 7). Posteriormente se repicaron con la ayuda de una varilla de madera de 2 cm de diámetro aproximadamente.



Figura 7. Establecimiento del sustrato

b. Construcción del propagador o cámara húmeda

Para la construcción del propagador se utilizaron maderas y agrofilm para recubrir la estructura de la siguiente manera. Se hizo un armazón rectangular que tenía por dimensiones 1.50 m de ancho x 2.00 m de largo x 50 cm de alto en el cual se depositaron los envases que contenían el sustrato estos fueron regados con 10cc de la siguiente solución (primer riego): en 1 litro de agua se mezclaron 1 g de fungicida (Benlate) y 2 g de fertilizante rico en fósforo (Fosfol) para desinfectar y fertilizar al mismo tiempo.

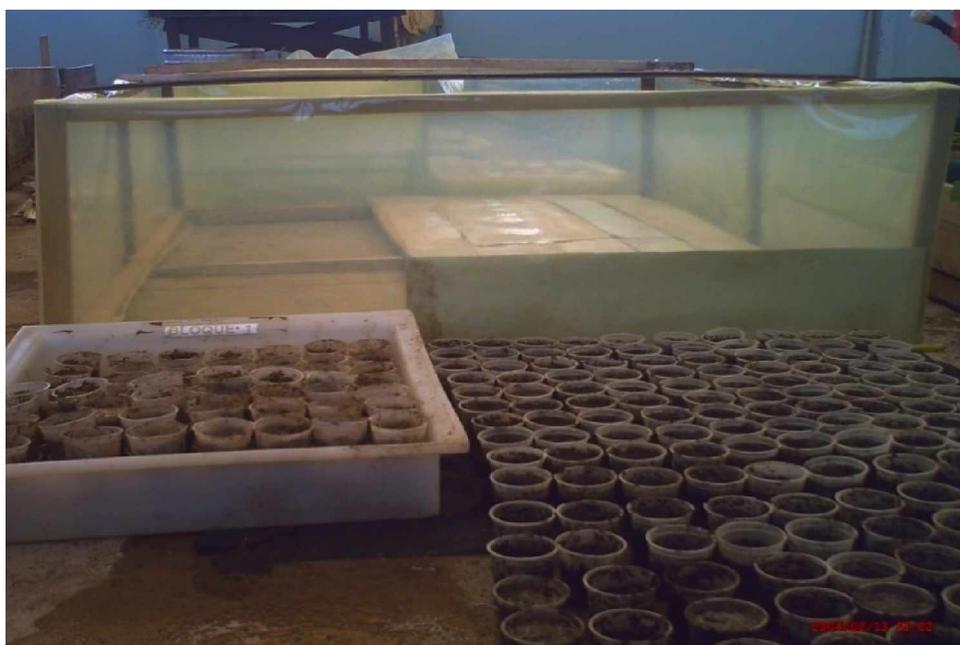


Figura 8. Propagador o Cámara húmeda

c.Registro de la temperatura y la humedad

El registro de la temperatura en el interior del propagador o cámara húmeda se realizó con la ayuda de un termómetro diariamente.

3.3.3 Actividades del proceso de trasplante

a. Extracción de las vitroplantas

Tres días antes de la aclimatación se realizó en laboratorio la separación de los brotes de acuerdo a los tamaños establecidos (Ver cuadro 1). Posteriormente estos brotes se llevaron al invernadero para ser trasplantados de la siguiente manera:

- Los brotes, se extrajeron de las magentas y se colocaron en un recipiente que contenía una solución de agua destilada y desinfectante (1 g Benlate/ 1 l).
- Fueron sumergidos por 2 minutos en la solución desinfectante después de ese tiempo los brotes fueron trasplantados en los diferentes sustratos contenidos en sus respectivos envases de plástico (Ver fig. 9).



Figura 9. Desinfección de los plantines con Benlate

b. Trasplante

Las plántulas fueron transferidas al sustrato que se encontraban en los envases de plástico. Cada plántula se introdujo en el orificio hasta la parte del nivel del cuello y luego se cubrió el orificio con el mismo sustrato, se hizo presión suavemente para que sostenga a la plántula.



Figura 10. Repique y trasplante de los plantines

c. Tratamiento de los plantines trasplantados

Una vez trasplantados se realizó el segundo riego con la solución desinfectante y fertilizadora.

Cada envase se marco con etiquetas donde se escribieron el nombre de la variedad, la fecha y hora de trasplante.

Las plántulas permanecieron cubiertas dentro del propagador por 60 días aproximadamente. En los últimos 5 días dependiendo de la evolución de los plantines, se abrieron las cámaras o propagadores iniciando por una hora y así gradualmente todos los días en horas de la tarde para que los plantines se vayan adaptando al medio

ambiente. Cuando se destaparon definitivamente el techo de la cámara, las plántulas permanecieron 30 días más en el propagador pero sin la cubierta.

d. Riego

Luego de los dos primeros riegos se hicieron riegos diarios con soluciones nutritivas el cual consistía de 2 g fertilizante (Fosfol) y 1g de un fertilizante rico en elementos menores (Fetrilon) en un litro de agua. Cada planta se regó con 10 cc de esta solución. Se procuró no humedecer mucho las hojas para no provocar ataques de algún patógeno. Este riego se realizo en los primeros 60 días que las plántulas estuvieron en el propagador. Luego de este tiempo y cuando se retiro el techo del propagador definitivamente se hicieron riegos diarios con agua corriente por la mañana y por la tarde.

e. Fertilización

Cada ocho días se fertilizaron con macronutrientes y micronutrientes. Primero se aplico un fertilizante rico en fósforo y se alterno con fertilizante completo (macro y micronutrientes). La fertilización se suspendió cuando las plántulas adquirieron las características deseadas, es decir, cuando desarrollaron hojas funcionales a los 60 días después del establecimiento de las plántulas al sustrato. Los fertilizantes a utilizarse fueron foliares ya que las plántulas asimilan mejor por las hojas puesto que estos no tienen todavía desarrollados su sistema radical.

f. Labores culturales

Las labores culturales consistieron en el control de malezas, riego, fertilización, monitoreo de las variables y demás cuidados que exigían los cultivos.

3.3.4 Diseño experimental

Para este experimento se propuso el diseño completamente al azar con arreglo factorial y 10 repeticiones teniendo en total 270 unidades experimentales (tres variedades * tres sustratos * tres tamaños * diez repeticiones).

Este diseño se aplicó al presente trabajo porque permite mayor flexibilidad en cuanto al número de tratamientos y de repeticiones (Cochran, 1987) y el arreglo factorial ofrece un análisis estadístico más preciso (Ochoa, 2004) y fue diseñado para determinar los efectos principales y los efectos de interacción de los factores, por lo que el número de repeticiones es elevado para estos casos ya que todas las unidades experimentales intervienen.

Modelo lineal estadístico:

$$X_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \Omega_k + \alpha\Omega_{ik} + \beta\Omega_{jk} + \alpha\beta\Omega_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

X_{ijkl} = Una observación cualquiera

μ = Media general

α_i = efecto del i-ésimo nivel del factor variedad (**A**)

β_j = efecto del j-ésimo nivel del factor sustrato (**B**)

$\alpha\beta_{ij}$ = efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor A por el efecto del j-ésimo nivel del factor B

Ω_k = efecto del k-ésimo nivel del factor origen de plántula (**C**)

$\alpha\Omega_{ik}$ = interacción del i-ésimo nivel del factor A con el k-ésimo nivel factor C

$\beta\Omega_{jk}$ = interacción del j-ésimo nivel del factor B con el k-ésimo nivel del factor C, interacción B x C

$\alpha\beta\Omega_{ijk}$ = interacción del i-ésimo nivel del factor A con el j-ésimo nivel del factor B y el k-ésimo nivel C

ϵ_{ijkl} = Error experimental

3.3.5 Análisis estadístico

Se realizó una base de datos de las variables de respuesta y fue analizada por el programa estadístico S.A.S (Statistical Analysis System). Este programa también analizó la comparación de medias mediante la prueba de Duncan.

Puesto que los datos de las variables de respuesta para número de hojas y altura de planta son números enteros se realizó la transformación de la raíz cuadrada de los números observados mediante el estadístico χ^2 (X^2) para una mejor interpretación de los resultados (Ochoa, 2004).

3.3.6 Variables de respuesta

La toma de datos para estas variables se realizó al iniciar el experimento a los 30, 60 y 90 días que fue cuando concluyó el experimento.

Los datos para el día 30 para todas las variables que se consideraron en este experimento no tuvieron respuesta, ni cambios debido a que en ese lapso de tiempo los plantines están en proceso de adaptación.

a. Longitud de raíz

Consistió en medir desde el cuello hasta el ápice de la raíz. Esta variable se realizó al finalizar la investigación, es decir, a los 90 días, debido a que las plántulas se adaptaron y lograron desarrollar raíces en ese tiempo. Para medir este parámetro se utilizó una regla graduada en centímetros.

b. Número de raíces

La toma de datos para este parámetro se realizó a los 90 días. Cuando se llegó al día 90 se sacaron los plantines adaptados de los sustratos y se observó si llegó a desarrollar la raíz. Se contaron las raíces de aquellos plantines que lograron desarrollar las mismas. Las raíces que se tomaron en cuenta y se contaron, fueron las primarias.

c. Número de hojas

En cuanto al número de hojas la evaluación se realizó al iniciar el experimento, a los 30 días y a los 90 días. Se evidencia que las vitroplantas que desarrollan hojas en el laboratorio y que luego son aclimatadas en los sustratos, en el proceso de adaptación llegan a morir. Sin embargo como caso especial, las vitroplantas de piña llegaron a conservar sus hojas y desarrollaron nuevas hojas. Debido a que las hojas de las vitroplantas de piña están en contacto con el suelo que las sostiene y a causa del riego, las hojas formadas en la base del tallo llegaron a pudrirse y como consecuencia se produjo la pérdida de estas hojas.

d. Altura de planta

Este parámetro consistió en medir desde la base del cuello hasta el ápice de la hoja de la planta, la cual se midió con una regla graduada en centímetros. Los datos se tomaron desde el inicio del experimento, a los 30 días, a los 60 días y por último a los 90 días. Cabe hacer notar que a los 30 días de observación los plantines se encontraban en proceso de adaptación por tanto no hubo cambios en su crecimiento ni en el número de hojas.

e. **Porcentaje de supervivencia de los plantines**

Del total de plantines que fue de 270 se contaron aquellas que lograron superar el estrés del cambio de medio (de un medio *in vitro* a otro en condiciones normales) y las que murieron en este proceso y de los datos obtenidos se calculó el porcentaje de supervivencia (%S) como se observa en la siguiente fórmula.

$$\% S = (\text{n}^{\circ} \text{ plantines vivos} / \text{n}^{\circ} \text{ total de plantines}) * 100$$

Para obtener este dato se hizo la contabilización de los plantines que no sobrevivieron al finalizar el experimento.

f. **Costos parciales**

Los costos parciales de los tratamientos se realizaron de acuerdo a la metodología propuesta por el CIMMYT (1988) que propone realizar un presupuesto parcial el cual no incluye todos los costos de hechos en la investigación sólo los que son afectados por los tratamiento alternativos considerados.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Los resultados obtenidos de acuerdo a la metodología empleada en el experimento son presentados en el presente estudio con su respectivo análisis, interpretación y discusión.

4.1 Parámetros climáticos

4.1.1 Temperaturas internas de la cámara húmeda y del invernadero

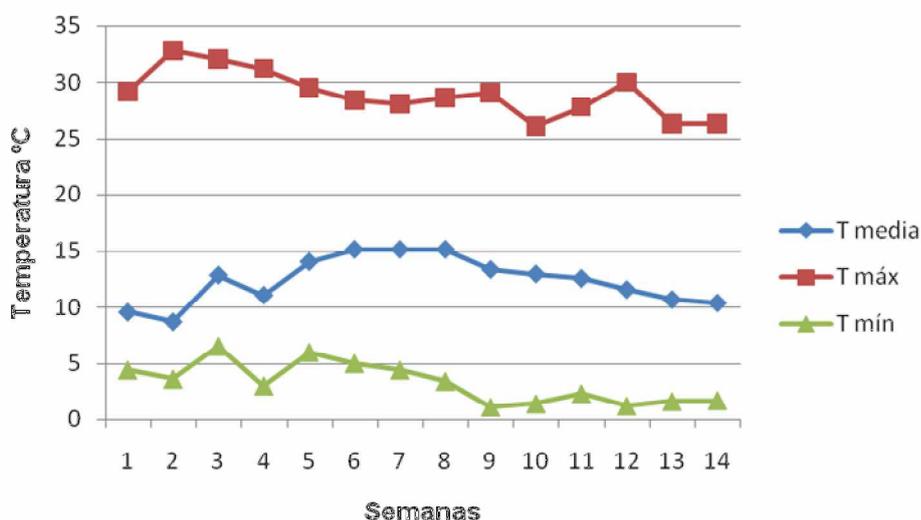


Figura 11. Temperaturas internas del invernadero

En la figura 11, se aprecia que la temperatura ambiental promedio diurna en el invernadero fluctuó entre 8.7 y 15.2 °C, la temperatura mínima promedio varió entre 1.1 y 6.5 °C; y tuvo una temperatura máxima entre los 26.1 hasta los 32.8 °C. La temperatura ambiental diurna fue más estable en el interior del invernadero. Sin embargo las variaciones y bajas temperaturas nocturnas promedio y las temperaturas máximas dentro del invernadero fue consecuencia de la época en la que se comenzó el experimento y tuvo su efecto marcado en la cámara de propagación.

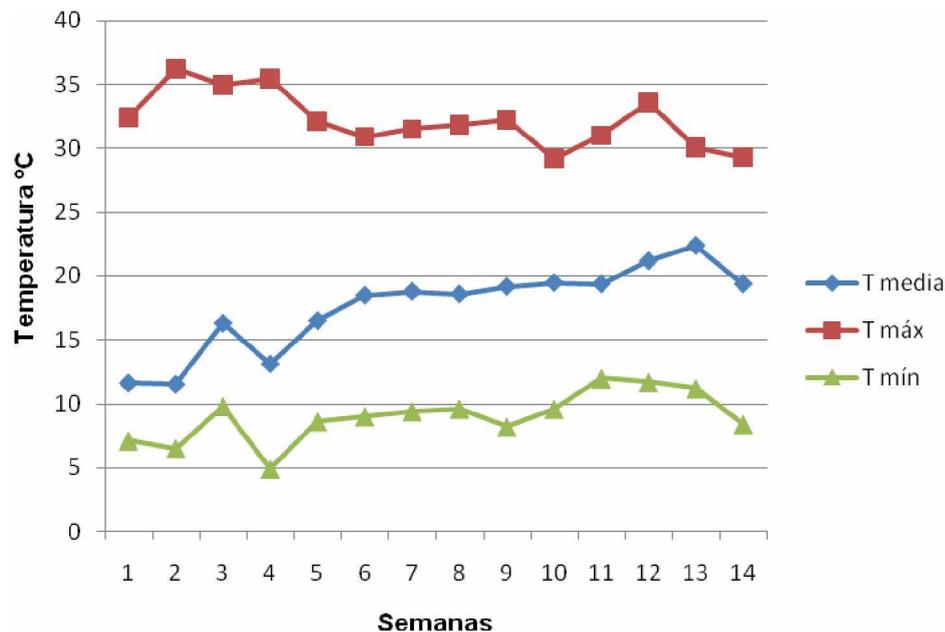


Figura 12. Temperaturas internas de la cámara húmeda

En cuanto a las temperaturas internas de la cámara húmeda, la temperatura ambiental promedio estuvo entre los 11.5 y 22.4 °C. En cuanto a la temperatura nocturna promedio se registró entre los 4.9 y 11,7 °C. Por otra parte la temperatura máxima promediada alcanzó los valores de 29.2 a 36.2 °C (Ver fig. 12).

Granada (1990), recomienda aclimatar a las vitroplantas entre los 20 y 27 °C puesto que en este rango de temperaturas se desarrollan mejor. Sin embargo en el presente estudio a pesar de las bajas temperaturas, como se observa en la figura 12, debido a la época en la que se inicio el experimento, las vitroplantas respondieron significativamente en cuanto a su crecimiento en altura y desarrollo de hojas que se explica más adelante. Además, Proexant (2007), indica que el cultivo de piña puede lograr desarrollarse con un mínimo de 15.5 °C de temperatura. Por tanto, se justifica que las vitroplantas hayan adaptado y resistido a pesar de las temperaturas bajas, puesto que esta intrínseco en su genética.

4.2 Análisis físico químico de los sustratos

El análisis físico químico de los sustratos se realizó antes de realizar el trasplante de las plántulas al sustrato y después de la aclimatación; el propósito fue la de conocer sus propiedades, observar como las plántulas afectaron esas propiedades y de los cambios en los mismos ocurridos después de la aclimatación. Este análisis permitirá concluir si las características de los sustratos fueron ideales para las vitroplantas de piña en el proceso de aclimatación.

4.2.1 Análisis Físico

Cuadro 3. Reporte de análisis físico

Código	Arena %		Arcilla %		Limo %		Tipo		Grava %	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
S ₁	73	69	22	23	9	8	FYA	FYA	2.26	0
S ₂	75	80	15	15	10	5	FA	FA	5.32	3.42
S ₃	62	67	21	22	17	11	FYA	FYA	3.07	0

FUENTE: IBTEN (2008)

S₁ = Arena+Cascarilla de arroz+Tierra
S₂ = Arena+Turba+Ceniza
S₃ = Arena+Turba+Tierra

FA = Franco Arenoso
FYA = Franco Arcillo Arenoso

Textura

De acuerdo al reporte físico del cuadro 3, se interpreta a las tres clases de sustrato como sigue:

Para el sustrato s₂ en condiciones iniciales y finales se reportó que la textura se mantuvo como franco arenoso. Estos suelos franco arenosos se clasifican como suelos de textura moderadamente gruesa. Las características agrícolas de estos suelos en general, son adecuadas para toda clase de plantas y son muy productivas si se las maneja correctamente. Tienen alta permeabilidad para el aire y el agua, de baja

capacidad de retención de agua y la materia orgánica se descompone fácilmente. Proexant (2007), señala que el suelo apropiado para el cultivo de la piña es franco arenoso y Granada (1990), indica que es aconsejable emplear los sustratos en los cuales las especies normalmente se desarrollan al utilizar los métodos convencionales de propagación vegetativa.

Los sustratos s_1 y s_3 , se clasificó como franco arcillo arenoso tanto al inicio como al final del experimento. Los suelos franco arcillo arenoso son suelos que corresponden a suelos de textura fina. Son suelos agrícolamente excelentes y con un manejo adecuado son altamente productivos. Tienen un elevado poder de absorción y retención de elementos nutritivos, adecuada capacidad de retención de agua y son poco permeables al aire y agua.

Cuadro 4. Reporte de análisis químico

Código	Materia orgánica %		C.E (mS/cm)		C.I.C (meq/100g)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
s_1	3.87	4.01	0.17	0.48	5.24	6.20
s_2	8.34	6.35	1.56	2.41	12.35	9.08
s_3	5.17	5.65	0.38	0.52	10.62	8.51

FUENTE: IBTEN (2008)

Observaciones

C.E.: Conductividad eléctrica (Mili Siemens/Cm)

C.I.C.: Capacidad de intercambio catiónico

S_1 = Arena+Cascarilla de arroz+Tierra

S_2 = Arena+Turba+Ceniza

S_3 = Arena+Turba+Tierra

• Materia orgánica

Los sustratos s_2 , con 8.34% y s_3 , con 5.17% al iniciar el experimento muestran, de acuerdo al análisis realizado, porcentajes altos de materia orgánica en comparación con el sustrato s_1 , que obtuvo 3.87%, esta característica se debe a que s_2 y s_3 estaban compuestos por turba. El sustrato s_1 , en condiciones iniciales registró 3.87% de materia orgánica, es más bajo en comparación con los sustratos s_2 y s_3 ya que presentaba como componentes a la arena, cascarilla de arroz y tierra.

Al culminar el experimento s_1 subió el porcentaje de materia orgánica a 4.01, s_2 disminuyó a 6.35 % a causa de la descomposición de la materia orgánica en el suelo y Orozco (1988), menciona que el producto final de la descomposición de la materia orgánica es el humus. El sustrato s_3 no tuvo cambios significativos en el porcentaje de materia orgánica lo que podemos interpretar que no ocurrió una descomposición de la misma.

- **Conductividad eléctrica (CE)**

La conductividad eléctrica para los tres tipos de sustrato (s_1 , s_2 y s_3) se mantuvo en el rango de lo normal. Según lo indicado en el esquema elaborado por Porta *et al.* (1994) los tres tipos de sustratos al inicio y al final del experimento obtuvieron valores menores a 2 mMhons/cm³ que indica que no hubo salinidad en los tres casos. Sin embargo se observa que los tres tipos de sustratos al final del experimento tuvieron un ligero aumento en la cantidad de sales solubles (CE) esto pudo ocurrir como consecuencia del agua utilizada para el riego de las plántulas que se obtuvo de los pozos del Centro de investigación del IBTEN.

- **Capacidad de intercambio catiónico (CIC)**

Para s_1 , la capacidad de intercambio catiónico fue de 5.24 meq/100g, s_2 y s_3 presentaron valores de 12.35 y 10.62 meq/100g respectivamente superiores a s_1 al iniciar el experimento. En la segunda toma de muestras s_1 , sufrió un aumento de la CIC lo contrario ocurrido con s_2 y s_3 , como se puede observar en el cuadro 4. Los sustratos s_2 y s_3 , en condiciones iniciales y finales se encuentran en el rango de los valores permitido para obtener una respuesta favorable de los plantines, además Porta *et al.*, (1994), afirma que valores de CIC de 8 – 10 cmol (+) kg⁻¹ suelen considerarse los mínimos aceptables para un horizonte Ap, para poder obtener una producción satisfactoria bajo riego. Por otra parte s_1 , está por debajo del valor mencionado lo que significa que este es un suelo con baja capacidad para almacenar nutrientes.

Probablemente el valor bajo de la CIC de este sustrato (s1) fue como consecuencia de la clase de arcilla y el porcentaje de materia orgánica que estuvieron como componentes lo que afecto su capacidad de intercambio catiónico.

4.3 Parámetros biométricos

Se realizó el análisis de los parámetros biométricos de los datos tomados a los 60 días y 90 días. Desde los 0 días hasta los 30 días no se hizo el análisis, puesto que los plantines estaban en proceso de adaptación por tanto en este tiempo no hubo cambios en la altura de los plantines ni en el número de hojas.

4.3.1 Número de hojas

I) Número de hojas a los 60 días

Para el análisis de varianza de esta variable, se considero el número de hojas que lograron desarrollar a los 60 días. Se puede observar diferencias muy significativas en la fuente de variación variedad y significativa en el factor sustratos los cuales se muestran en el cuadro 6.

Cuadro 6. Análisis de varianza de X^2 para el número de hojas a los 60 días

FV	GL	CHI2	P>CHI2	Sig.
Variedad	2	10.1179	0.0064	**
Sustrato	2	6.154	0.04609	*
v*s	4	3.5421	0.4715	NS
Tamaño	2	1.9091	0.385	NS
v*t	4	3.2441	0.5178	NS
s*t	4	6.0281	0.1971	NS
v*s*t	8	4.3293	0.8263	NS

* = significativo

** = altamente significativo

ns = no significativo

v = variedad

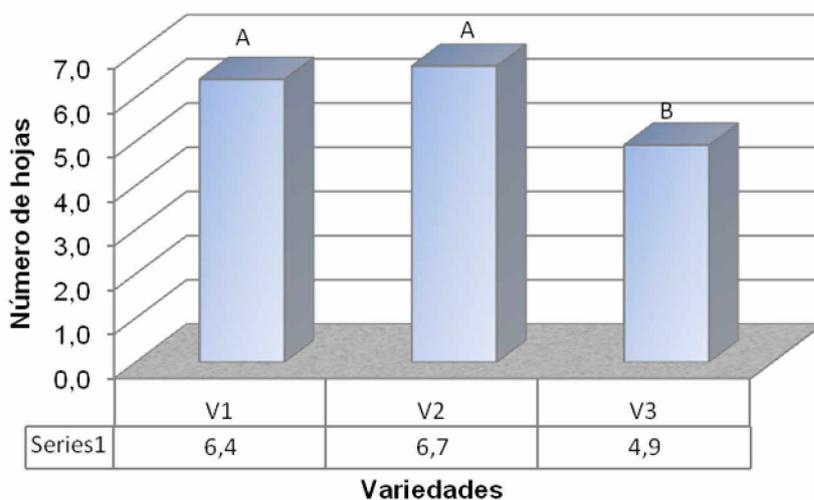
s = sustrato

t = tamaño

En el análisis de varianza se detectan diferencias altamente significativas entre variedades ($P < 0.01$) y significativas entre sustratos ($P > 0.05$), se han evidenciado efectos significativos en cuanto al número de hojas por planta en esta fase de desarrollo debido al crecimiento del sistema radicular de los plantines (cuadro 6).

La diferencia entre variedades se atribuye a características varietales, en tanto la diferencia entre sustratos se atribuye a un efecto diferenciado de acuerdo a la composición que se explica posteriormente en la figura 15.

Por otra parte en cuanto a las interacciones, no se evidencian efectos significativos en Variedad*Sustrato, Variedad*Tamaño, Sustrato*Tamaño, Variedad*Sustrato*Tamaño en el número de hojas por planta en esta fase de desarrollo. Por tanto estas interacciones son independientes al número de hojas a los 60 días y no influyen en su desarrollo.



v₁=Costarricense
v₂=Colombiana
v₃=Selvagen

Figura 13. Comparación de medias del número de hojas a los 60 días por efecto de las variedades

En la figura 13, se observa la comparación de medias realizada mediante la prueba de significancia de Duncan al 5%, se determinó que las diferencias eran significativas a los 60 días del experimento en el número de hojas.

Según los resultados la variedad Colombiana y la variedad Costarricense tuvieron el mayor número de hojas a los 60 días con 6,7 y 6,4 respectivamente. En tanto que la variedad Selvagen presento 4,9 número de hojas a los 60 días. La razón por la cual las variedades Colombiana y Costarricense presentaron mayor número de hojas fue por sus características varietales, además el efecto de los tres diferentes tamaños y la composición de los sustratos hacen suponer que ofrecieron las condiciones requeridas para el desarrollo de los plantines en condiciones normales.

Estadísticamente las variedades v_1 (Costarricense) y v_2 (Colombiana) son mayores a la variedad v_3 (Selvagen). De acuerdo con el cuadro 6 estas diferencias son significativas.

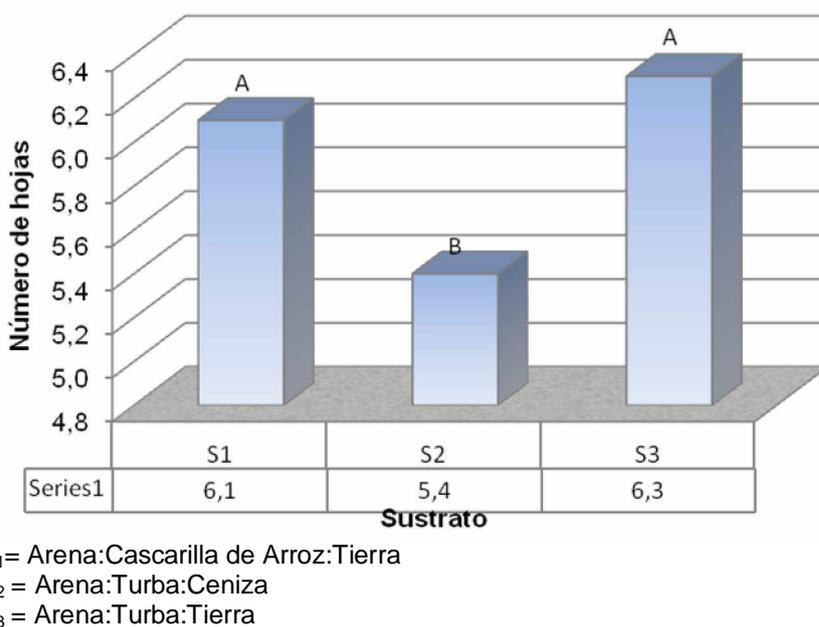


Figura 14. Comparación de medias del número de hojas a los 90 días por efecto del sustrato

En la figura 14, se aprecia que la combinación que ha logrado un mayor desarrollo foliar es el sustrato s_3 (Arena:Turba:Tierra) con 6,3 número de hojas por planta y la combinación ACaT (Arena:Casrcarilla de arroz:Tierra) que corresponde al sustrato s_1 con 6.1 número de hojas por planta. El que tuvo menor respuesta fue la combinación ATuCe (Arena, turba y ceniza) respectivamente con un promedio de 5,4 hojas por planta.

Las medias más altas resultantes de la prueba de Duncan al 5% que corresponden a s_3 y s_1 fueron consecuencia de las combinaciones de sustrato aplicadas como medio de sostén a las plántulas. Pese a que lo recomendado para el cultivo de piña es un suelo franco arenoso, de acuerdo a los resultados los sustratos s_1 y s_3 que corresponde al tipo de suelo franco arcillo arenoso obtuvo los mayores resultados en cuanto al mayor número de hojas que llegaron a desarrollar en el transcurso del período de aclimatación.

Rodríguez (1991), indica que la producción de la planta está íntimamente relacionada con el desarrollo foliar y de acuerdo con Granada (1990), el sustrato puede influir en el porcentaje de sobrevivencia y en el subsecuente desarrollo de las plantas. Por tanto, los sustratos s_1 y s_3 aparentemente tuvieron las características requeridas por parte de los plantines puesto que llegaron a adaptarse y desarrollar más hojas en comparación al sustrato s_2 .

II) Número de hojas finales a los 90 días

El análisis estadístico para el número de hojas se realizó a los 90 días que es cuando finalizó el experimento.

Cuadro 7. Análisis de varianza de X^2 para el número de hojas finales a los 90 días

FV	GL	CHI2	P>CHI2	Sig.
VARIEDAD	2	10.1179	0.0064	**
SUSTRATO	2	7.252	0.0266	**
V*S	4	3.5421	0.4715	ns
TAMAÑO	2	6.126	0.0467	*
V*T	4	3.2441	0.5178	ns
S*T	4	6.0281	0.1971	ns
V*S*T	8	4.3293	0.8263	ns

CV = 27,8%

* = significativo

** = altamente significativo

ns = no significativo

v = variedad

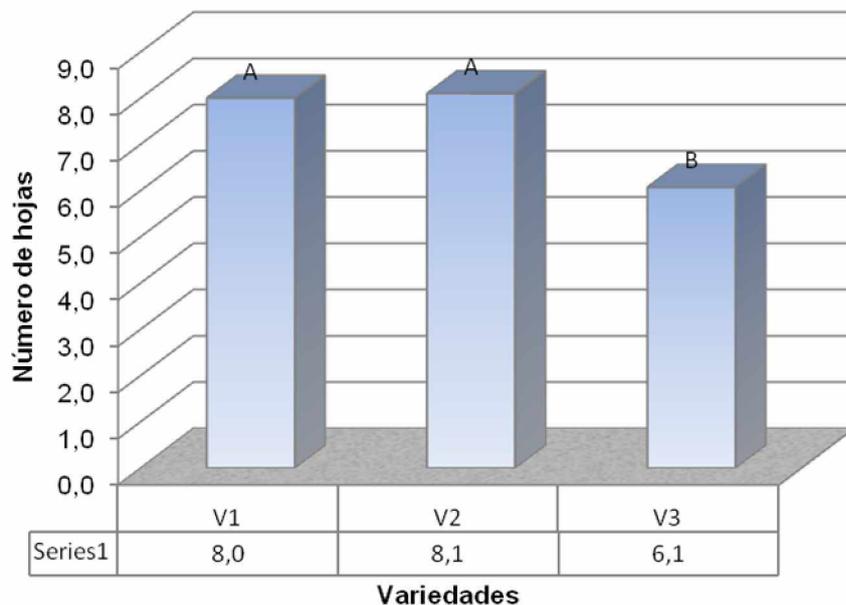
s = sustrato

t = tamaño

Los resultados que se observan en el cuadro 7 demuestran que el factor variedad fue altamente significativo ($P < 0.01$) al igual que el factor sustrato. En cuanto al factor tamaño resultó significativo ($P > 0.05$).

A los 90 días la diferencia del número de hojas entre variedades fue por las características intrínsecas de las mismas. En cuanto al sustrato se debe a la composición de cada sustrato. Y se evidenció crecimiento de los plantines puesto que al finalizar el experimento hubo diferencia de tamaño entre las mismas.

En cuanto a las interacciones “variedad * sustrato”, “variedad * tamaño”, “sustrato * tamaño” y “variedad * sustrato * tamaño” fueron no significativos lo que significa que son independientes y no tuvieron influencia en cuanto al desarrollo de las hojas en la etapa de aclimatación.



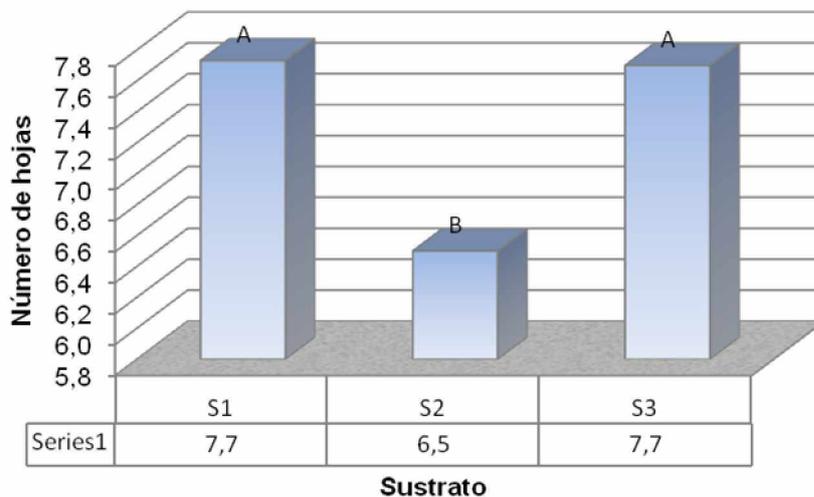
v_1 = Costarricense
 v_2 = Colombiana
 v_3 = Selvagen

Figura 15. Comparación de medias del número de hojas a los 90 días por efecto de las variedades.

Mediante la comparación de medias realizada a través de la prueba de significancia de Duncan al 5% para el número de hojas finales (fig. 15), se pudo determinar que existieron diferencias significativas entre variedades al finalizar el experimento que es a los 90 días.

De acuerdo con los resultados la variedad Colombiana con 8,1 hojas/planta y la variedad Costarricense con 8 hojas/planta fueron las que desarrollaron más hojas a diferencia de la variedad Selvagen con 6.1 hojas/planta estas diferencias se deben a las características de las variedades Colombiana y Costarricense que demostraron durante el experimento. Estadísticamente v_1 y v_3 son mayores que v_1

Estas variedades lograron adaptarse mejor en los sustratos propuestos por tanto desarrollaron más hojas verdaderas esto hace suponer que es debido a las características intrínsecas en ellas.



s_1 = Arena:Cascarilla de Arroz:Tierra
 s_2 = Arena:Turba:Ceniza
 s_3 = Arena:Turba:Tierra

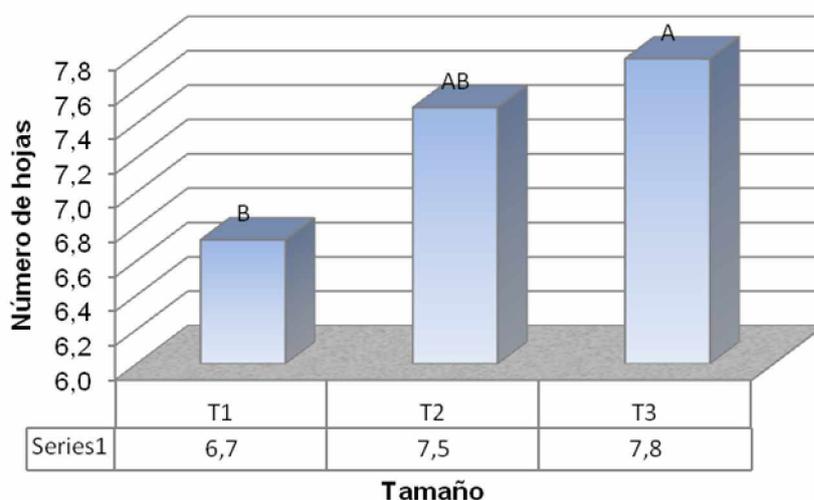
Figura 16. Comparación de medias del número de hojas a los 90 días por efecto del sustrato

Realizada la comparación de medias en la variable número de hojas finales para sustratos mediante la prueba de significancia al 5% se determinó que existieron diferencias significativas entre los sustratos y que fueron estadísticamente diferentes a los 90 días.

Al concluir el ensayo se evidencia que los sustratos s_1 y s_3 de la figura 16 continuaron presentando los mayores valores de número de hojas finales con 7,7 para s_1 y s_3 . Por otra parte s_2 alcanzó 6,5 hojas a los 90 días.

Los índices observados en el número de hojas se pueden atribuir a que los sustratos s_1 y s_3 presentaban una textura favorable para el desarrollo foliar de las vitroplantas de piña puesto que en ellas existió una clara estimulación del desarrollo del sistema radical. Por tanto las hojas observadas a los 90 días corresponden a las hojas verdaderas que llegaron a desarrollar como consecuencia del brote de las raíces. Cabe

aclarar que al iniciar el experimento el número de hojas para s_1 y s_3 fue mayor debido a que en laboratorio también desarrollaron las cantidades observadas en la fig. 15 por tanto el incremento de números de hojas a los 90 días se debe a las características varietales de las vitroplantas de piña.



$t_1 = 1$ cm
 $t_2 = 1,5$ cm
 $t_3 = 2$ cm

Figura 17. Comparación de medias del número de hojas a los 60 días por efecto del tamaño

Realizada la comparación de medias mediante la prueba de Duncan al 5% en la variable números de hojas finales para tamaño se determinó que existieron diferencias entre los diferentes tamaños de vitroplantas para iniciar las aclimataciones propuestas en el experimento.

En la figura 17, se observa que el tamaño t_3 fue el que logró un mayor índice de número de hojas a los 90 días con 7,8; seguido por el tamaño t_2 que obtuvo 7,5 números de hojas y por último el tamaño t_1 con 6.7 hojas. Las vitroplantas que salieron de laboratorio con los tamaños t_2 y t_3 estuvieron en los rangos de 2 a 3.5 cm. Las mismas presentaron una mayor resistencia a los cambios ocurridos en la etapa de aclimatación. Estos tamaños t_3 y t_2 hacen suponer que entre más grande la vitroplanta mejor

adaptación y mayor supervivencia puesto que están más preparados fisiológicamente para un cambio de condiciones *in vitro* a condiciones *ex vitro*.

4.3.2 Altura de planta

Cuadro 8. Análisis de varianza de X² para altura de planta

FV	GL	SC	CM	F	P>F	Sig.
VARIEDAD	2	1.087	0.543	7	0.0012	**
SUSTRATO	2	1.051	0.525	6.77	0.0015	**
v*s	4	1.765	0.441	5.69	0.0003	**
TAMAÑO	2	18.612	9.306	119.92	0.0001	**
v*t	4	0.921	0.230	2.97	0.0215	*
s*t	4	0.828	0.207	2.67	0.0346	*
v*s*t	8	0.468	0.059	0.75	0.6434	ns
Error	149	11.563	0.07760104			
Total	175	36.3485796				

CV = 15,4%

** = Altamente significativo (P<0.01)

* = Significativo (P>0.05)

NS = No significativo

v = variedad

s = sustrato

t = tamaño

De acuerdo al análisis de varianza (Cuadro 8) la altura de las plántulas al cabo de 90 días muestra que existieron diferencias altamente significativas (P<0.01) entre variedades, sustratos, en la interacción variedad * sustrato y tamaño, como significativas (P>0.05) entre las interacciones variedad * tamaño; sustrato * variedad y no así entre variedad * sustrato * tamaño (v*s*t).

Las interacciones v*s*t es no significativa, por lo tanto este factor es independiente en cuanto al número de hojas finales. En el cuadro 8, se puede observar que la diferencia entre variedades se atribuye a factores varietales intrínsecos de cada variedad que se describen en la figura 19. En cuanto al sustrato la diferencia fue consecuencia de los diferentes sustratos que lo componen. Por otro lado la diferencia entre la interacción variedad*sustrato se debe a que las variedades encontraron el medio para desarrollarse. Asimismo el factor tamaño tuvo su diferencia por los distintos tamaños

utilizados en el experimento. La no significancia de la interacción variedad * sustrato * tamaño se explica a que en esta fase final del estudio, los mismos no ejercieron ningún tipo de influencia en la altura. La interacción variedad*tamaño tienen sus diferencias a causa de que el tamaño de los plantines de cada variedad influyó en la adaptación a las condiciones ambientales normales. Por último la interacción sustrato* tamaño tuvo su diferencia desde el punto de vista de que el tipo de sustrato influyó en el establecimiento de los plantines en sus diferentes tamaños.

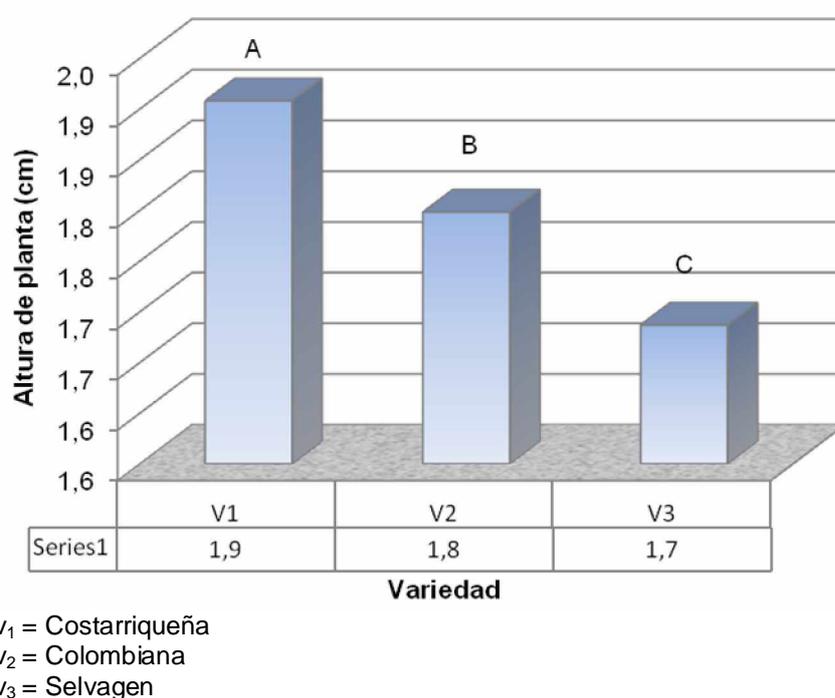


Figura 18. Comparación de medias de altura de planta a los 90 días por efecto de las variedades

La comparación de medias de altura final de planta para variedades mediante la prueba de significancia de Duncan al 5%, determinó que existieron diferencias entre los sustratos y que fueron estadísticamente diferentes a los 90 días.

De acuerdo a los resultados (fig. 18) se observa que la variedad costarricense (v_1) fue el que tuvo mayor crecimiento en cuanto a su altura con 1.9 cm, seguido por la variedad

colombiana (v_2) con 1.8 cm por un lado, por el otro el que tuvo menor crecimiento fue la variedad selvagen con 1.7 cm. Estas diferencias son como consecuencia de las características genéticas de las diferentes variedades empleadas en el experimento y también se puede deber al tipo de sustrato en el cual se encontraba y pudieron desarrollar longitudinalmente.

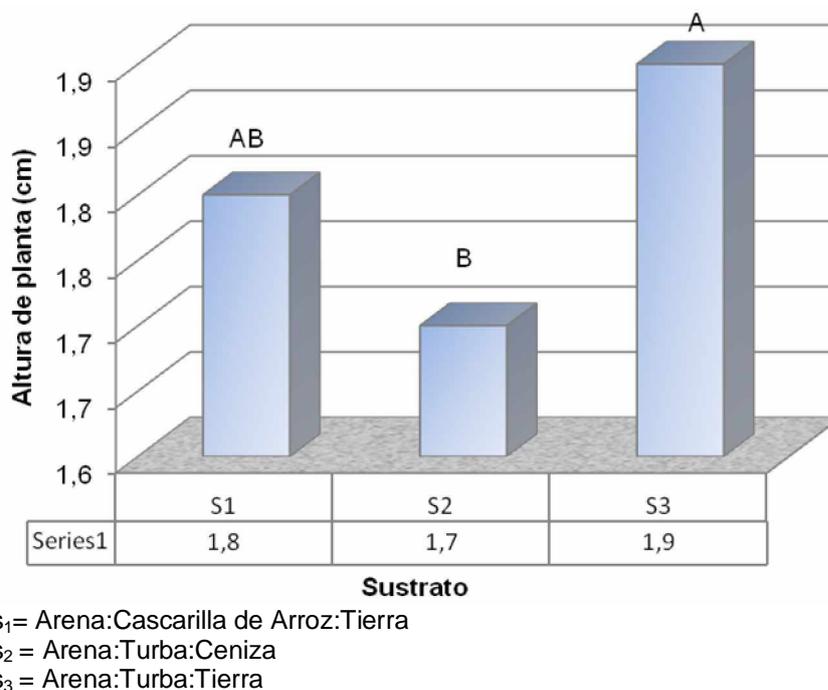
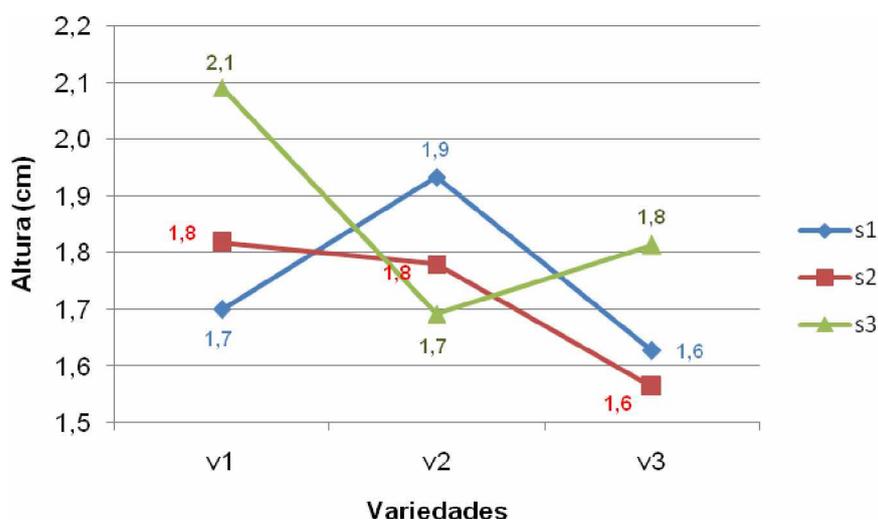


Figura 19. Comparación de medias de altura de planta a los 90 días por efecto del sustrato

Mediante la prueba de significancia de Duncan al 5%, la comparación de medias de altura final de las plántulas para sustrato demostró que si existieron diferencia entre los sustratos y estadísticamente fueron diferentes a los 90 días.

Se observa que el mayor índice promedio de la figura 19, lo obtuvo el sustrato s_3 con 1.9 cm que estadísticamente comprueba que es el que mejores condiciones proporciona a las vitroplantas en su transición y establecimiento de un medio bajo condiciones controladas a otro medio con condiciones ambientales normales. Consiguientemente, s_1 fue el sustrato intermedio, en cuanto a condiciones para desarrollar un sistema radical se refiere, que alcanzó un promedio de 1.8 cm de altura.

Y para culminar s_2 es el sustrato que no ofrece las características requeridas para implantar plántulas de piña obtenidas de laboratorio. Los sustratos s_1 y s_3 corresponden al tipo de suelo franco arcillo arenoso caracterizados por ser suelos con elevado poder de absorción y retención de elementos nutritivos. El sustrato s_2 a pesar de que es el suelo recomendado para un cultivo de piña demuestra que no es el indicado para la aclimatación de vitroplantas de piña.



s_1 = Arena : Cascarina de Arroz : Tierra
 s_2 = Arena : Turba : Ceniza
 s_3 = Arena : Turba : Tierra

Figura 20. Comparación de medias por efecto de la interacción variedad * sustrato

Realizada la comparación de medias para la interacción variedad * sustrato mediante la prueba de significancia de Duncan al 5%, se determinó que existieron diferencias altamente significativas para altura de vitroplantas de piña; los factores en estudio no son independientes (variedades * sustratos) (fig. 21). En el caso del factor A este tuvo una influencia en los niveles s_1 , s_2 y s_3 .

En la fig. 20 se aprecia que los niveles del factor A (variedades) tienen un comportamiento muy diferenciado en los tres niveles del factor sustrato (B). Donde, la variedad v_1 (variedad costarricense) presenta un mayor crecimiento en altura de planta

con 2.1 cm con el sustrato s_3 (Arena + Turba + Tierra), presentando los valores más bajos en crecimiento en altura de planta con 1.8 cm para los sustratos s_1 y s_2 . Para la variedad v_2 (variedad colombiana) del factor A, los niveles s_2 y s_3 con 1.8 cm y 1.7 respectivamente fueron los valores más bajos de altura de planta comparado con el nivel s_1 con 1.9 cm, que registra un mayor crecimiento en altura de planta con la aplicación del sustrato arena + cascarilla de arroz + tierra. Finalmente para la variedad v_3 (variedad selvagen) del factor A, muestra que los niveles s_1 y s_2 con 1.6 cm poseen los niveles más bajos de altura de planta en comparación con el nivel s_3 con 1.8 cm, que indica un mayor crecimiento en altura de vitroplantas de piña en la etapa de aclimatación aplicando el sustrato arena + turba + tierra.

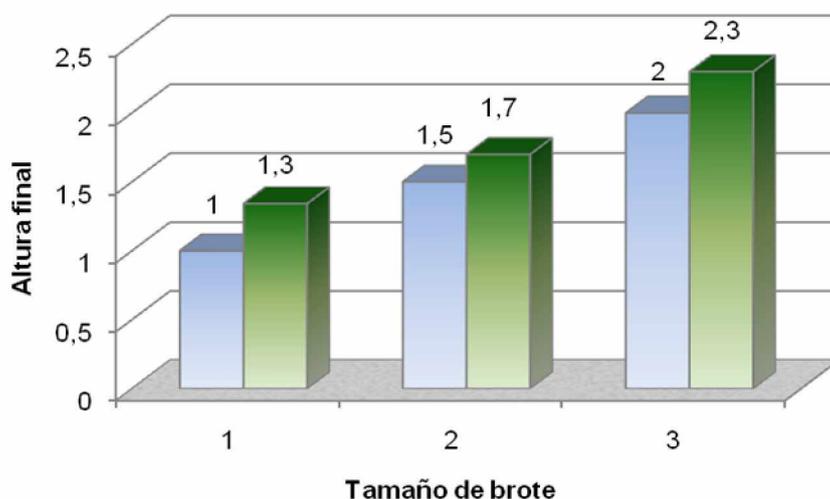
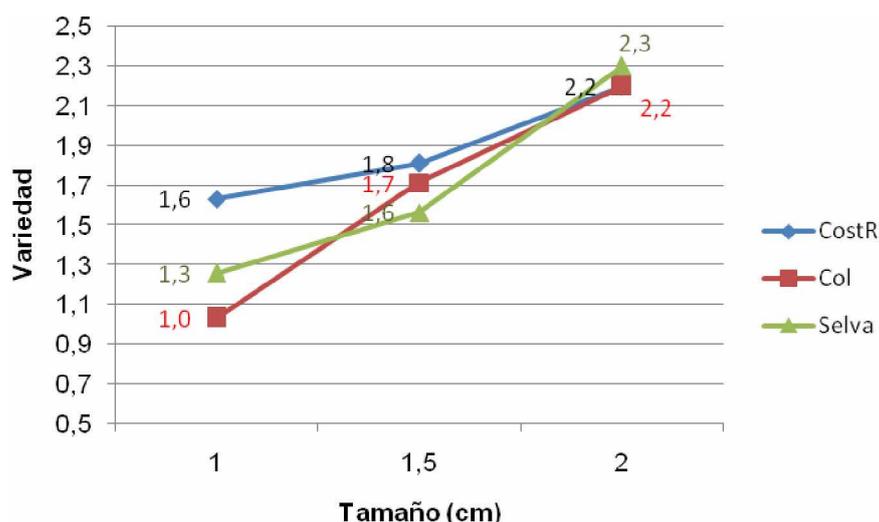


Figura 21. Comparación de medias de la altura de planta a los 90 días por efecto del tamaño del brote de las vitroplantas de piña

De acuerdo a la prueba de significancia de Duncan al 5% que se observa en la figura 22, existen diferencias altamente significativas entre la altura inicial y altura final de las vitroplantas de piña y que son estadísticamente diferentes.

Según los resultados que se observan en la figura 21, las diferencias en crecimiento para la altura inicial (t_1) que fue de 1 cm se observa que a los 90 días tuvo un crecimiento promedio de 1.3 cm en comparación a la altura inicial. Por otra parte, para

la altura inicial (t_2) de planta que fue de 1.5 cm, al concluir el estudio se observó que alcanzó un crecimiento en altura de 1,7 cm en comparación a su altura inicial. Finalmente, para la altura inicial de 2 cm (t_3) logró un promedio de 2.3 cm de crecimiento de vitroplantas de piña.



t1 = 1 cm v1 = Costarriqueña
t2 = 1,5 cm v2 = Colombiana
t3 = 2 cm v3 = Selvagen

Figura 22. Comparación de medias de las variedades por efecto de la interacción variedad * tamaño

Realizada la comparación de medias que se observa en la figura 22, para la interacción variedad * tamaño mediante la prueba de significancia de Duncan al 5%, se determinó que existieron diferencias significativas para variedades de piña; los factores en estudio no son independientes. En el caso del factor C este tuvo una influencia en los niveles v_1 , v_2 y v_3 .

En la figura 22 se aprecia que los niveles del factor C (diferentes tamaños) tienen un comportamiento muy diferenciado en los tres niveles del factor A (variedad). Donde, en el nivel t_1 (1 cm) presenta un mayor crecimiento en altura de planta en el nivel v_1 con 1.6 cm (variedad Costarriqueña), presentando el valor más bajo en crecimiento en altura de planta 1 cm y 1.3 cm en la variedades v_2 (colombiana) y v_3 (selvagen).

En el caso del tamaño t_2 (1,5 cm) del factor C, el nivel v_3 con 1.6 cm presentó el valor más bajo en crecimiento en altura de planta comparado con los niveles v_1 y v_2 con 1.8 cm y 1.7 cm, que registran un mayor crecimiento en altura de planta en comparación con su altura inicial.

En cuanto al tamaño t_3 (2 cm) del factor C, se evidencia que para las variedades v_1 , v_2 y v_3 tuvo un crecimiento en altura de planta de 2.2 cm, 2.2 cm y 2.3 cm respectivamente en comparación a su altura inicial que fue de 2 cm.

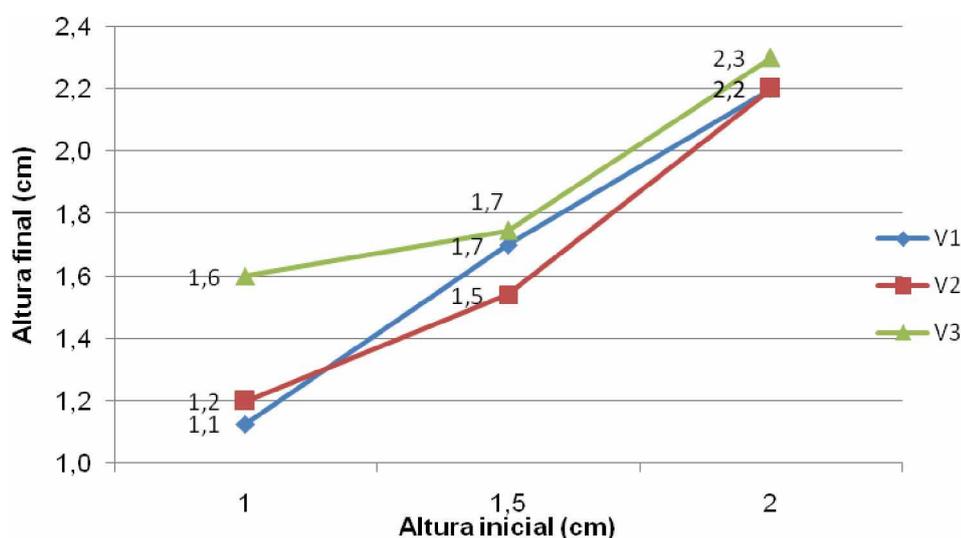


Figura 23. Efecto de la interacción sustrato * tamaño

Realizada la comparación de medias para la interacción sustrato * tamaño mediante la prueba de significancia de Duncan al 5%, se determinó que existieron diferencias significativas para altura de vitroplantas de piña; los factores en estudio no son independientes (fig.24).

En el caso del factor C (Tamaño de vitroplanta) de la figura 23 este tuvo una influencia en los niveles v_1 , v_2 y v_3 del factor A. Se puede apreciar que los niveles t_1 y t_2 del factor C tienen un comportamiento muy diferenciado en los tres niveles del factor A

(Variedades). Donde, en el nivel t_1 (1 cm), presenta un mayor crecimiento en altura de planta en el nivel v_3 (variedad Selvagen), presentando el valor más bajo en crecimiento en altura de planta en los niveles v_1 y v_2 del factor A; en el caso de t_2 (1,5 cm) del factor C, los niveles v_1 y v_3 presentan diferencias siendo los valores más altos de crecimiento comparado con el nivel v_2 . En cuanto al nivel t_3 (2 cm) del factor C, se evidencia que los niveles v_1 , v_2 y v_3 no poseen diferencias en altura de planta.

4.3.3 Longitud de raíces

La variable longitud de raíces fue considerada al finalizar el estudio que fue a los 90 días.

Cuadro 9. Análisis de varianza de X^2 para longitud de raíces a los 90 días

FV	GL	SC	CM	F	P>F	Sig.
Variedad	2	0.09428429	0.04714215	0.72	0.4906	ns
Sustrato	2	1,01255969	0.50627985	7.69	0.0007	**
Var*Sus	4	0.36023775	0.09005944	1.37	0.2486	ns
Tamaño	2	0.71295745	0.35647873	5.41	0.0055	**
Var*Tam	4	0.52761920	0.13190480	2.00	0.0978	ns
Sus*Tam	4	0.46760848	0.11690212	1.78	0.1376	ns
Var*Sus*Tam	7	0.83242920	0.11891846	1.81	0.0912	ns
Error	131	8,62592326	0.06584674			
Total	156	12,6915081				

CV = 30%

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

ns = No significativo

En el cuadro 9, se observa que al cabo de 90 días la longitud de raíces demostró la alta significancia en los diferentes sustratos y la aplicación de diferentes tamaños.

En las variables variedad, variedad * sustrato, variedad * tamaño, sustrato * tamaño y variedad * sustrato * tamaño no existieron diferencias lo que quiere decir que por parte de estas variables no hubo efecto en el desarrollo de las raíces su acción fue independiente a la longitud de las raíces.

La diferencia de longitud de raíces que hubo en los sustratos se explica a que se aplicó diferentes mezclas de sustratos que se explicará más adelante en la figura 25 y con respecto al los diferentes tamaños empleados y seleccionados para la aclimatación se pudo observar que si tuvo una alta significancia en el desarrollo radicular.

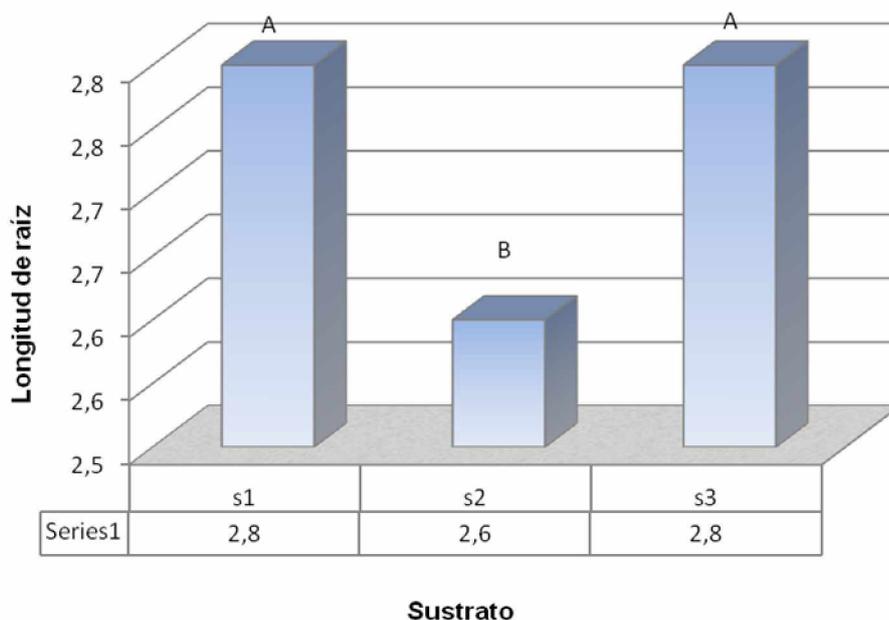


Figura 24. Comparación de medias de longitud de raíz por efecto de los sustratos

La comparación de medias de longitud de raíz para sustratos, mediante la prueba de significancia de Duncan al 5%, determinó que existieron diferencias entre los sustratos y que estadísticamente fueron diferentes a los 90 días (fig. 25).

De acuerdo a los resultados de la figura 24, se comprende que s_1 y s_3 tuvieron las mejores condiciones para el desarrollo radicular de las vitroplantas de piña en la fase de aclimatación que tuvo una duración de 90 días. Según los resultados del análisis químico físico s_1 y s_3 tuvieron un alto porcentaje de materia orgánica el cual influyo en la aireación del sustrato y tuvo su efecto en el desarrollo de las raíces. Es decir, estos suelos ofrecieron menor resistencia a la penetración de las raíces. Taboada y Migucci (2002), indican que las impedancias adicionales impuestas por el suelo, sobre las

células radicales en expansión, son el resultado de la resistencia del suelo a la deformación. Y este efecto de la masividad del suelo en el ritmo de alargamiento radicular es significativo. En cuanto a s_2 este tuvo un menor rendimiento en la longitud de las raíces a causa de la composición del sustrato el cual poseía como componentes a la arena, turba y ceniza, como consecuencia la penetración de las raíces se redujo.

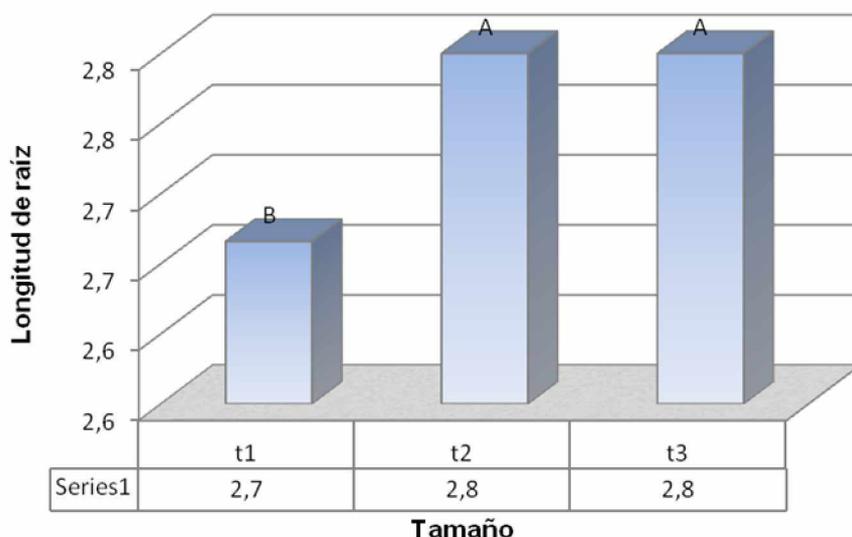


Figura 25. Comparación de medias de longitud de raíz por efecto del tamaño de brote

Mediante la comparación de medias por la prueba de significancia de Duncan al 5% se determinó que hubo diferencias en la longitud de raíces.

En la figura 25, se aprecia que las diferencias en longitud de raíz de acuerdo a los datos presentados para los tres tipos de tamaño de vitroplanta empleados en la investigación, fueron significativas. Estas diferencias aunque mínimas se pueden explicar de la siguiente manera: para t_2 y t_3 con tamaños de 1,5 y 2 el desarrollo radicular fue el mejor. Esto se debe a que las alturas propuestas presentaban mayor vigor y estaban más preparadas para un transplante a condiciones normales.

4.2.3 Número de raíces

La medición de esta variable se realizó al culminar el experimento que fue a los 90 días.

Cuadro 10. Análisis de varianza de X^2 para número de raíces a los 90 días

FV	GL	SC	CM	F	P>F	Sig.
Var	2	0.06874349	0.03437174	3.05	0.0508	ns
Sus	2	0.02551870	0.01275935	1.13	0.3255	ns
Var*Sus	4	0.05308016	0.01327004	1.18	0.3238	ns
Tam	2	0.01918710	0.00959355	0.85	0.4293	ns
Var*Tam	4	0.06147272	0.01536818	1.36	0.2501	ns
Sus*Tam	4	0.04387894	0.01096974	0.97	0.4245	ns
Var*Sus*Tam	7	0.09834181	0.01404883	1.25	0.2822	ns
Error	129	1,45377694	0.01126959			
Total	154	1,91540647				

CV = 2,7 %

Realizado el análisis de varianza, el número de raíces al cabo de 90 días fueron no significativas en todas las variables (cuadro 10).

La comparación de medias para el número de raíz en sus diferentes variables mediante la prueba de Duncan al 5% determinó que no existieron diferencias significativas.

La homogeneidad del desarrollo radicular se debe a que se ofrecieron las condiciones ambientales y nutricionales exigidas por parte del cultivo. Es decir, que en la etapa de aclimatación se proporcionó fertilizantes foliares de manera que los plantines que no contaban con raíces, pudiesen captar los nutrientes precisados para su desarrollo mediante las hojas; nutrientes que por medio de la raíz deberían ser absorbidos.

4.2.4 Costos parciales

Se realizaron los costos parciales de cada tratamiento según los costos de los insumos que se utilizaron para realizar la investigación. CIMMYT (1988) menciona que los diferentes tratamientos planteados son denominados tratamientos alternativos. Cabe aclarar que este presupuesto solo contempla aquellos costos que son afectados por los tratamientos alternativos considerados (CIMMYT, 1988).

Cuadro 11. Análisis de costos parciales de los tratamientos

Detalles	T1-T9	T10-T18	T19-T27
Plantines	720	720	720
Fertilizante	45	45	45
Fungicida	55	55	55
Agua destilada	8	8	8
Cascarilla	25	0	0
Turba	0	20	20
Arena	10	10	10
Ceniza	0	13	0
Tierra	10	0	10
Total	873	871	868

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo con el cuadro 11 los tratamientos T19 – T27 tuvieron un costo de 868 Bs que indica que para dar las condiciones adecuadas a los 90 plantines de piña se necesitaron 868 Bs y fue el que menor costo representó en comparación a los tratamientos T1 – T9 que tuvo un costo de 873 Bs y de T10 – T18 que llegó a costar 871 Bs.

5. CONCLUSIONES

Se tiene las siguientes conclusiones de acuerdo a los objetivos planteados:

- Durante el transplante de vitroplantas para aclimatación, los tamaños 1, 1.5 y 2 cm no mostraron diferencias significativas en cuanto al crecimiento.
- Los tamaños de vitroplanta de 1.5 y 2 cm mostraron mejor porcentaje de supervivencia, registrando 74 y 96%, en el caso del tamaño de 1 cm la supervivencia fue del 56%.
- Durante la aclimatación los sustratos S_1 (Arena: Cascarilla de arroz: Tierra) y S_3 = (Arena: Turba: Tierra) tuvieron un efecto positivo en la supervivencia de vitroplantas, llegándose a obtener un 77% y 87% respectivamente.
- Las variedades Costarricense y Colombiana tuvieron un mayor desarrollo en cuanto a número de hojas y altura en la aclimatación. Registrando un 70% y 78% de supervivencia respectivamente. La variedad Selvagen obtuvo los menores índices en número de hojas y altura. Sin embargo registró 78% de supervivencia.
- En cuanto a la longitud del sistema radical de vitroplantas de las tres variedades se observó que en los sustratos S_1 (Arena : Cascarilla de arroz : Tierra) y S_3 = (Arena : Turba : Tierra) el crecimiento alcanzó 2,8 cm para ambos sustratos.
- Según el análisis físico de los sustratos utilizados en la investigación resultaron ser del tipo franco arcillo arenoso, no obstante, las vitroplantas de piña respondieron positivamente a este tipo de suelo a pesar de que el recomendado es el franco arcilloso. Por lo tanto los sustratos S_1 (Arena : Cascarilla de arroz : Tierra) y S_3 = (Arena : Turba : Tierra) fueron los que mejores condiciones tuvieron para la aclimatación de las vitroplantas a pesar de su textura.
- Se observó un desarrollo de 2.8 cm de longitud de raíz en aquellas vitroplantas que tuvieron una altura inicial de 1,5 cm y 2 cm. Por lo tanto se puede concluir que el tamaño de vitroplanta influye positivamente en la longitud de las raíces.

- El porcentaje de aclimatación determinado en las tres variedades de piña fue del 75% considerando que el promedio de temperaturas durante la aclimatación oscilo entre 11.5 a 22.4 °C.

6. RECOMENDACIONES

En el transcurso del estudio del presente trabajo se dejaron pasar por alto detalles que valen la pena mencionar para futuros trabajos de investigación orientados a buscar las mejores condiciones para el proceso de aclimatación en esta especie y/o que sirva como guía para otras especies tropicales. Por tanto, podemos mencionar las siguientes:

En el transcurso de la investigación se observaron detalles que es necesario mencionarlos para futuros trabajos de investigación orientados a buscar las condiciones más propicias para el proceso de aclimatación de esta especie. Como ser:

1. Realizar el proceso de aclimatación en la época de primavera y verano para obtener porcentajes de supervivencia de vitroplantas superior al 95%.
2. Optimizando el manejo de vitroplantas en la aclimatación es posible también utilizar vitroplantas de 1 cm de tamaño ya que ello representaría menores costos de producción.
3. Se recomienda estudiar diferentes proporciones de los sustratos S_1 (Arena: Cascarilla de arroz: Tierra) y S_3 = (Arena: Turba: Tierra) para mejorar el enraizamiento de vitroplantas en la aclimatación.
4. Se determinó que el enraizamiento es muy importante para el proceso de aclimatación, tomando en cuenta ello sería importante estudiar los efectos de enraizadores comerciales.

7. BIBLIOGRAFIA

ABI (Agencia Boliviana de Información, BO). 2006. Exportaciones-Chapare: Dos mil empleos bananeros (en línea). Bolivia. Consultado 15 ene. 2007. Disponible en http://ns.comunica.gov.bo/index.php?i=noticias_texto&j=20060403211036

Albano, N.; Vilchez, J.; León de Sierralta S.; Molina M.; Chapín P. 2005. Una metodología para la propagación *in vitro* de *Aloe vera* L. (en línea). Venezuela. Consultado 14 oct 2007. Disponible en http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/abril_junio2006/albany.pdf

Alpi, A; Tognoni, F. 1991. Cultivo en invernadero. Ed. C.I, Cerisola. 3 ed. Mundi – Prensa. p. 218, 237 y 318.

Barba Alvarez, A.; Luna Rosales, BS.; Romero Arredondo, J. 2001. Micropropagación de plantas: Enraizamiento. México. Trillas. p 28.

Bolivia country Gateway. 2005. Guía técnica para el cultivo de piña. (En línea). Bolivia. Consultado 5 dic. 2008. Disponible en <http://countrygateway.enbolivia.com/nuevo/documentos/pina.pdf>

Calderón Sáenz, F; Cevallos, F. 2003. Los sustratos. (En línea). Bogotá, CO. Consultado 6 jul 2008. Disponible en http://www.drcaalderonlabs.com/Publicaciones/Los_Sustratos.htm

CIMMYT(Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo), 1988. La formulación de recomendación a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica. ME. p. 9, 10.

CLAYUCA (CONSORCIO LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE DE APOYO A LA INVESTIGACION Y DESARROLLO DE LA YUCA). 2006. La Yuca en el Tercer Milenio: Sistemas Modernos de Producción Procesamiento, Utilización y Comercialización: Metodología para el Endurecimiento Masivo de 'Vitroplantas' De Yuca (en línea). Cali, CO. Consultado 1 oct. 2007. Disponible en

http://www.clayuca.org/PDF/libro_yuca/apendice.pdf

Corporación PROEXANT (Promoción de Exportaciones Agrícolas no Tradicionales) s.f. Piña: Cultivo, Cosecha Y Postcosecha (en línea). Consultado 8 ago. 2007. Disponible en

<http://www.proexant.org.ec/Manual%20de%20pi%C3%B1a.htm>

Darias Rodríguez, R. 1993. Recopilación de Temas sobre técnicas de Cultivo *in vitro*. Universidad técnica de Oruro – dentro de estudios de postgrado y Universidad Camilo Cienfuegos de Matanza – Cuba; Oruro, BO. 120 p.

FAO. 2002. El Cultivo Protegido en Clima Mediterráneo. (en línea). Consultado 10 sep 2007. Disponible en <http://www.fao.org/DOCREP/005/S8630S/s8630s07.htm#bm07>

Fontúrbel F. 2002. Micropropagación de un cultivo perenne (en línea). Consultado 24 oct. 2007. Disponible en http://www.uteg.edu.ec/u_investigacion/biotecnologia/2.pdf

Garita, H. y Gómez, L. 2000. Micropropagación de la variedad de piña Champaka F-153. (en línea). Consultado 4 jun 2007. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=43624107>

García Suárez, MA; Serrano, H. 2005. La piña, *Ananas comosus* (L.) Merr. (Bromeliaceae), algo más que un fruto dulce y jugoso: Investigación en el cultivo de tejidos de la piña. (en línea). Consultado 30 jul 2007. Disponible en <http://www.izt.uam.mx/contactos/n56ne/pina.pdf>

Granada Carreto, L. 1990. Manejo de plantas en invernadero. In. FAO Fundamentos teórico- prácticos del cultivo de tejidos vegetales. Ed. Rossell, CH; Villalobos A, VM. Roma. P. 101 – 105.

Hartmann, H; Kester, D. 1986. Propagación de plantas. CECSA. México.

INE (Instituto Nacional de Estadística). 1999. Atlas Estadístico de Municipios. p. 228

Infoagro. 2006. Tipos de sustratos de cultivo (en línea). Consultado 3 feb. 2007. Disponible en www.infoagro.com

Lucero León, RE. 1998. Conservación in vitro de piña (*Ananas comosus* L.). In II Reunión boliviana de biotecnología. Ministerio de desarrollo sostenible y planificación. Memorias. Cochabamba, BO. p. 94 y 95.

Mantallana Gonzalez, A; Montero Camacho,JI. 2001. Invernaderos. 2 ed. España. Mundi-Prensa. p. 21

Martinez de Caballero, T. 1997. Micropropagación de Piña. *In* Curso teorico – práctico sobre micropropagación “in vitro” de plantas. Caacupe, PA.

Monografías, 1997. Métodos de esterilización. (En línea). Consultado 10 ago 2008. Disponible <http://www.monografias.com/trabajos10/meste/meste.shtml> 1997

Monreal, JL. 1991. Biblioteca práctica agrícola y ganadera. Ed. Román Bayona, CLM. Barcelona, ES. v. 2, p. 197

Nadal, JL. 2008. Desinfección de sustratos de cultivo. (En línea). In INFOAGRO. España. Consultado 6 jul 2008. Disponible en <http://www.infojardin.com/foro/showthread.php?t=120885>

Ochse, JJ. 1991. Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales. Ed. Norieja. Trad. Blackaller Valdez, A. México. Limusa. v. 1, p. 639, 643

Porta Casanellas, J; López-Acevedo Reguerín, M; Roquero de Labaru, C. 1994. Edafología. Ed. Mundi-Prensa. Mdríd, ES. p. 646.

Plazola Cisneros, A. 1996. Enciplopedia de la agricultura. México. Ed. Limusa. v. 5, p 479.

PROEXANT, 2007. Piña: Cultivo, cosecha y postcosecha. (en línea). Consultado 5 sep 2008. Disponible en <http://www.proexant.org.ec/Manual%20de%20pi%C3%B1a.htm>

Red Agrícola, 2009. Universidad de Tarapaca inicia proyecto biochar para mejorar suelos agrícolas. (en línea). Consultado en 31 jul 2009. Disponible en <http://www.redagricola.com/content/view/404/50>

Resh, HM. 1987. Cultivos hidropónicos: Nuevas técnicas de producción. 2 ed. España. Mundi – Prensa. p. 96.

Reyes, R. 2009. Bio-Char: Mejorar el Suelo de Manera Sustentable. In *Árbol urbano*. (En línea). Consultado 31 jul 2009. Disponible en <http://arbolurbano.net/2009/02/bio-char-mejorar-el-suelo-de-manera-sustentable/>

Saucedo, S. y Ramos, L. 2001. Propagación clonal in vitro de piña (*Ananas comosus* L. Merr) Variedades Champaka y Hawaiana. (en línea). Quevedo, EC. Consultado 21 sep. 2007. Disponible en http://www.uteq.edu.ec/u_investigacion/biotecnologia/2.pdf

Soria, H. 2006. Las exportaciones del trópico crecieron 20%, BO (en línea). Bolivia. Consultado en 3 feb. 2007. Disponible en <http://www.ftierra.org/ftierra1104/noticias /9-15ene2006.pdf>

Universidad de Antioquia (UDEA). 2000. *Pulpas De Frutas Tropicales: Caracterización De Frutas Con Potencial Exportador*, CO (en línea). Colombia. Consultado 6 jun. 2007. Disponible en http://huitoto.udea.edu.co/FrutasTropicales/caracterizacion_de_frutas.html 2000

Vázquez, C.; Orozco, A.; Rojas, M.; Sánchez, ME.; Cervantes, V. 1997. *La Reproducción De Las Plantas: Semillas Y Meristemos*, ME (en línea). México. Consultado 25 sep. 2007. Disponible en <http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/lcpt157.htm>

Vásquez Serrate, JE. 2002. Determinación de sustrato para la aclimatación de vitroplantas de roza (*Rosa* sp). Bajo condiciones controladas en Oruro. Tesis Lic. Ing. Agr. La Paz, BO. UMSA. p. 38.

Villalobos A, VM; Thorpe, TA. 1991. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. *In* Cultivo de Tejidos en la Agricultura. CIAT. Eds. Roca, WM; Mroginski, LA. Cali, CO. p. 128 y 131.

WIKIPEDIA, 2007. Ananas comosus (en línea). Consultado 25 sep. 2007. Disponible en http://es.wikipedia.org/wiki/Pi%C3%B1a_tropical

Zacher de Martínez, M. 1997. Micropropagación de Piña. *In* Curso teórico – práctico sobre micropropagación “*in vitro*” de plantas. Caacupe, PA.

SOXEN

Anexo 1. Materiales para la multiplicación de las vitroplantas de piña

- Pinzas
- Hojas de bisturí
- Bisturí
- Placas petri
- Magentas
- Frascos de vidrio
- Alcohol
- Algodón
- Lavandina
- Plastifilm
- Papel aluminio
- Vasos deprecitados de 250 ml y 500 ml
- Mechero
- Pipetas de 5 ml, 10 ml y 20 ml
- Barras magnéticas



- Agitador magnético



- Cámara de flujolaminar



- Autoclave



- pHmetro



- Balanza analítica

Anexo 2. Esterilización del sustrato



Anexo 3. Vitroplantas de piña en la sala de crecimiento



Anexo 4. Composición de la solución stock

Solución A

Nitrato de amonio	NH_4NO_3
Nitrato de potasio	KNO_3
Cloruro de calcio dihidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Fosfato monobásico de potasio	KH_2PO_4
Acido bórico	H_3BO_3
Sulfato de manganeso tetrahidratado	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Sulfato de zinc heptahidratado	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Solución B

Sulfato de magnesio heptahidratado	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
------------------------------------	---

Solución C

Acido etilenediamina	Na_2EDTA
Sulfato ferroso heptahidratado	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Solución D

Ioduro de potasio	KI
Molibdato de sodio dihidratado	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Sulfato de cobre pentahidratado	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Cloruro de cobalto exahidratado	$\text{ClCo}_{12} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Solución E

Tiamina HCl
 Glicina
 Acido nicotínico
 Piridoxina HCl

Anexo 5. Datos de temperatura del ambiente en el interior del invernadero y de la cámara de propagación.

a. Base de datos de temperatura interna del invernadero

Semanas	T media	T máx	T mín
1	9,56	29,2	4,4
2	8,7	32,8	3,6
3	12,9	32	6,54
4	11,1	31,2	3
5	14,1	29,5	6
6	15,2	28,4	5
7	15,2	28,1	4,4
8	15,2	28,6	3,4
9	13,4	29,1	1,1
10	13	26,1	1,4
11	12,6	27,8	2,3
12	11,6	30	1,2
13	10,7	26,3	1,6
14	10,4	26,3	1,7

b. Base de datos de temperatura interna de la cámara húmeda

Semana	T media	T máx	T mín
1	11,6	32,4	7,1
2	11,5	36,2	6,5
3	16,3	34,9	9,8
4	13,1	35,4	4,9
5	16,5	32,1	8,6
6	18,5	30,9	9
7	18,8	31,5	9,4
8	18,6	31,8	9,6

9	19,2	32,2	8,2
10	19,5	29,2	9,6
11	19,4	31	12
12	21,2	33,6	11,7
13	22,4	30,1	11,2
14	19,4	29,3	8,4

Anexo 6. Base de datos de las variables

Trat	Variiedad	Sustrato	Tamaño	nhi	nh	nhf	api	apf	lr(mm)	nr
1	Col	ACaT	1
1	Col	ACaT	1
1	Col	ACaT	1
1	Col	ACaT	1	4	5	7	1	1	.	.
1	Col	ACaT	1
1	Col	ACaT	1
1	Col	ACaT	1
1	Col	ACaT	1
1	Col	ACaT	1
1	Col	ACaT	1	8	7	8	1	1	1	2
2	Col	ACaT	1,5	5	6	8	1,5	1,8	4	1
2	Col	ACaT	1,5	2	3	7	1,5	1,6	3	1
2	Col	ACaT	1,5	4	6	8	1,5	3	1	5
2	Col	ACaT	1,5	6	7	8	1,5	1,6	8	2
2	Col	ACaT	1,5	6	7	10	1,5	1,7	2	3
2	Col	ACaT	1,5	9	4	9	1,5	1,6	2	1
2	Col	ACaT	1,5	7	7	7	1,5	1,5	.	.
2	Col	ACaT	1,5	8	6	8	1,5	1,6	6	2
2	Col	ACaT	1,5	5	10	15	1,5	2,5	5	4
2	Col	ACaT	1,5
3	Col	ACaT	2	6	7	8	2	2,1	7	2
3	Col	ACaT	2	7	10	11	2	2,8	23	5
3	Col	ACaT	2	12	13	14	2	2,7	18	6
3	Col	ACaT	2	4	7	7	2	2	8	3
3	Col	ACaT	2	8	8	10	2	2	10	2
3	Col	ACaT	2	7	10	13	2	2	16	3
3	Col	ACaT	2	6	7	8	2	2	5	1
3	Col	ACaT	2	5	7	10	2	2,1	8	4
3	Col	ACaT	2	7	9	11	2	2	12	1
3	Col	ACaT	2	7	7	8	2	2	1	1
4	Col	ATCen	1
4	Col	ATCen	1	3	4	6	1	1,3	1	2
4	Col	ATCen	1
4	Col	ATCen	1	6	2	3	1	1	.	.
4	Col	ATCen	1
4	Col	ATCen	1	3	4	4	1	1	2	3
4	Col	ATCen	1
4	Col	ATCen	1
4	Col	ATCen	1
5	Col	ATCen	1,5
5	Col	ATCen	1,5
5	Col	ATCen	1,5
5	Col	ATCen	1,5
5	Col	ATCen	1,5

5	Col	ATCen	1,5	7	3	4	1,5	1,5		1	1
5	Col	ATCen	1,5	5	6	8	1,5	1,6		1	1
5	Col	ATCen	1,5
5	Col	ATCen	1,5
5	Col	ATCen	1,5	5	6	8	1,5	1,5		9	2

Trat	Variedad	Sustrato	Tamaño	nhi	nh	nhf	api	apf	lr(mm)	nr
6	Col	ATCen	2	7	8	8	2	2	6	3
6	Col	ATCen	2	6	7	8	2	2,6	8	4
6	Col	ATCen	2	4	7	8	2	2	11	4
6	Col	ATCen	2	5	4	5	2	2	6	1
6	Col	ATCen	2	5	7	7	2	2	1	2
6	Col	ATCen	2	11	4	9	2	2	2	1
6	Col	ATCen	2	9	8	9	2	2	7	2
6	Col	ATCen	2	8	8	10	2	2,2	8	4
6	Col	ATCen	2
6	Col	ATCen	2	5	6	9	2	2	8	6
7	Col	ATuTie	1
7	Col	ATuTie	1	6	7	7	1	1	2	3
7	Col	ATuTie	1	5	6	6	1	1	4	1
7	Col	ATuTie	1
7	Col	ATuTie	1
7	Col	ATuTie	1	12	10	9	1	1	8	4
7	Col	ATuTie	1	7	5	7	1	1	5	2
7	Col	ATuTie	1
7	Col	ATuTie	1
7	Col	ATuTie	1
8	Col	ATuTie	1,5	9	6	6	1,5	1,5	10	1
8	Col	ATuTie	1,5	5	6	4	1,5	2	3	1
8	Col	ATuTie	1,5	12	7	8	1,5	1,5	4	1
8	Col	ATuTie	1,5	7	8	9	1,5	1,6	13	4
8	Col	ATuTie	1,5	6	7	8	1,5	1,5	10	1
8	Col	ATuTie	1,5	7	6	7	1,5	1,6	12	1
8	Col	ATuTie	1,5	5	7	7	1,5	1,7	10	1
8	Col	ATuTie	1,5	6	7	7	1,5	1,5	11	2
8	Col	ATuTie	1,5	5	9	6	1,5	1,5	3	2
8	Col	ATuTie	1,5	12	8	11	1,5	1,8	11	3
9	Col	ATuTie	2	2	2	9	2	2	8	2
9	Col	ATuTie	2	8	8	10	2	2	11	2
9	Col	ATuTie	2	3	3	5	2	2	17	2
9	Col	ATuTie	2	8	9	11	2	2	4	2
9	Col	ATuTie	2	6	7	7	2	2	1	1
9	Col	ATuTie	2	6	7	6	2	2,1	2	1
9	Col	ATuTie	2	9	9	9	2	2	.	.
9	Col	ATuTie	2	3	4	4	2	2,2	10	2
9	Col	ATuTie	2	7	7	10	2	2,1	20	1
9	Col	ATuTie	2	11	11	11	2	2	.	.
10	CostR	ACaT	1	4	7	8	1	1	1	1
10	CostR	ACaT	1
10	CostR	ACaT	1	6	5	5	1	1	.	.
10	CostR	ACaT	1
10	CostR	ACaT	1	7	7	6	1	1	.	.
10	CostR	ACaT	1
10	CostR	ACaT	1
10	CostR	ACaT	1
10	CostR	ACaT	1	5	5	5	1	1,3	2	1
10	CostR	ACaT	1
11	CostR	ACaT	1,5	6	7	9	1,5	1,8	7	2
11	CostR	ACaT	1,5	3	4	7	1,5	1,7	6	3
11	CostR	ACaT	1,5	7	9	12	1,5	2,4	20	8
11	CostR	ACaT	1,5
11	CostR	ACaT	1,5
11	CostR	ACaT	1,5	6	6	8	1,5	1,6	6	1
11	CostR	ACaT	1,5	6	6	8	1,5	1,6	5	1

11	CostR	ACaT	1,5	6	5	6	1,5	1,5	1	1
11	CostR	ACaT	1,5	7	7	8	1,5	1,7	7	1
11	CostR	ACaT	1,5	6	6	9	1,5	1,5	2	1

Trat	Variedad	Sustrato	Tamaño	nhi	nh	nhf	api	apf	lr(mm)	nr
12	CostR	ACaT	2	9	9	10	2	2,1	21	5
12	CostR	ACaT	2	6	8	9	2	2,1	7	5
12	CostR	ACaT	2	4	4	7	2	2	16	8
12	CostR	ACaT	2	5	8	10	2	2,2	13	5
12	CostR	ACaT	2	5	7	7	2	2	13	1
12	CostR	ACaT	2	6	6	6	2	2	9	1
12	CostR	ACaT	2	4	8	9	2	2	3	2
12	CostR	ACaT	2	9	12	13	2	2,1	20	4
12	CostR	ACaT	2	8	4	7	2	2,3	1	1
12	CostR	ACaT	2	8	8	12	2	2,1	2	3
13	CostR	ATCen	1
13	CostR	ATCen	1
13	CostR	ATCen	1
13	CostR	ATCen	1
13	CostR	ATCen	1	5	5	4	1	1,8	2	1
13	CostR	ATCen	1	5	5	6	1	1	1	1
13	CostR	ATCen	1
13	CostR	ATCen	1
13	CostR	ATCen	1	5	6	7	1	1,6	8	1
13	CostR	ATCen	1
14	CostR	ATCen	1,5
14	CostR	ATCen	1,5
14	CostR	ATCen	1,5
14	CostR	ATCen	1,5
14	CostR	ATCen	1,5	4	6	5	1,5	1,5	5	2
14	CostR	ATCen	1,5
14	CostR	ATCen	1,5
14	CostR	ATCen	1,5	6	6	8	1,5	1,5	8	1
14	CostR	ATCen	1,5	6	6	7	1,5	1,6	6	.
14	CostR	ATCen	1,5	5	8	10	1,5	1,7	6	2
15	CostR	ATCen	2	4	5	5	2	2	1	2
15	CostR	ATCen	2	2	2	5	2	2	2	1
15	CostR	ATCen	2	6	6	7	2	2	3	1
15	CostR	ATCen	2	6	6	6	2	2	.	.
15	CostR	ATCen	2	4	4	4	2	2	.	.
15	CostR	ATCen	2	8	8	9	2	2,1	4	2
15	CostR	ATCen	2	5	5	6	2	2,3	3	2
15	CostR	ATCen	2	7	7	8	2	2	4	1
15	CostR	ATCen	2	6	6	8	2	2	5	1
15	CostR	ATCen	2	7	.	7	2	.	.	.
16	CostR	ATuTie	1	7	7	7	1	2	2	1
16	CostR	ATuTie	1	6	8	8	1	2,3	8	2
16	CostR	ATuTie	1	7	9	13	1	2,6	5	3
16	CostR	ATuTie	1	6	8	10	1	2	5	2
16	CostR	ATuTie	1
16	CostR	ATuTie	1	6	6	8	1	1,5	20	3
16	CostR	ATuTie	1	6	6	11	1	2,1	6	1
16	CostR	ATuTie	1	.	3
16	CostR	ATuTie	1	5	5	14	1	1,7	13	3
16	CostR	ATuTie	1	5	8	8	1	1,6	7	1
17	CostR	ATuTie	1,5	5	5	7	1,5	1,5	.	.
17	CostR	ATuTie	1,5	5	5	6	1,5	1,8	6	2
17	CostR	ATuTie	1,5	9	10	10	1,5	3	8	5
17	CostR	ATuTie	1,5
17	CostR	ATuTie	1,5	4	6	10	1,5	2,5	10	5
17	CostR	ATuTie	1,5	7	7	8	1,5	1,8	6	1
17	CostR	ATuTie	1,5	8	8	10	1,5	1,9	7	5
17	CostR	ATuTie	1,5	5	7	10	1,5	2	40	4
17	CostR	ATuTie	1,5	6	6	7	1,5	1,6	4	2

17	CostR	ATuTie	1,5
----	-------	--------	-----	---	---	---	---	---	---	---

Trat	Variedad	Sustrato	Tamaño	nhi	nh	nhf	api	apf	lr(mm)	nr
18	CostR	ATuTie	2	5	5	6	2	2	5	1
18	CostR	ATuTie	2	6	6	7	2	3	5	1
18	CostR	ATuTie	2	4	5	9	2	2,3	2	3
18	CostR	ATuTie	2	5	5	6	2	2	15	2
18	CostR	ATuTie	2	6	6	7	2	2,2	7	2
18	CostR	ATuTie	2	7	10	12	2	2,1	6	1
18	CostR	ATuTie	2	6	6	8	2	2,4	8	4
18	CostR	ATuTie	2
18	CostR	ATuTie	2	7	8	9	2	.	2	2
18	CostR	ATuTie	2	6	8	9	2	2,3	22	4
19	Selva	ACaT	1	4	5	8	1	1	2	1
19	Selva	ACaT	1	4	5	5	1	1	2	1
19	Selva	ACaT	1	5	6	8	1	1,5	4	1
19	Selva	ACaT	1
19	Selva	ACaT	1	5	4	4	1	1	7	1
19	Selva	ACaT	1	4	4	4	1	1	.	.
19	Selva	ACaT	1	5	5	5	1	1	.	.
19	Selva	ACaT	1	5	4	6	1	1,3	3	2
19	Selva	ACaT	1	3	6	7	1	1,5	6	4
19	Selva	ACaT	1	4	6	7	1	1,3	3	2
20	Selva	ACaT	1,5	4	4	4	1,5	1,5	.	.
20	Selva	ACaT	1,5	4	4	5	1,5	1,5	12	1
20	Selva	ACaT	1,5
20	Selva	ACaT	1,5
20	Selva	ACaT	1,5	3	3	5	1,5	1,6	10	1
20	Selva	ACaT	1,5	4	4	9	1,5	1,5	13	2
20	Selva	ACaT	1,5	2	3	4	1,5	1,7	10	3
20	Selva	ACaT	1,5	3	3	8	1,5	.	.	.
20	Selva	ACaT	1,5
20	Selva	ACaT	1,5
21	Selva	ACaT	2	5	8	7	2	2,3	10	1
21	Selva	ACaT	2	4	5	5	2	2	7	1
21	Selva	ACaT	2	2	3	3	2	2	2	1
21	Selva	ACaT	2	2	3	3	2	2	5	1
21	Selva	ACaT	2	4	4	4	2	2	.	.
21	Selva	ACaT	2	5	5	12	2	3	13	3
21	Selva	ACaT	2
21	Selva	ACaT	2	4	7	9	2	2,1	10	1
21	Selva	ACaT	2	4	4	4	2	2	2	1
21	Selva	ACaT	2	6	6	6	2	.	.	.
22	Selva	ATCen	1
22	Selva	ATCen	1
22	Selva	ATCen	1	6	6	6	1	1	.	.
22	Selva	ATCen	1	5	5	6	1	1	2	1
22	Selva	ATCen	1
22	Selva	ATCen	1	3	3	6	1	1,2	3	1
22	Selva	ATCen	1	5	5	6	1	1,1	2	1
22	Selva	ATCen	1
22	Selva	ATCen	1
22	Selva	ATCen	1
23	Selva	ATCen	1,5	6	6	6	1,5	1,5	.	.
23	Selva	ATCen	1,5	5	5	5	1,5	1,5	.	.
23	Selva	ATCen	1,5
23	Selva	ATCen	1,5
23	Selva	ATCen	1,5	6	6	6	1,5	1,5	.	.
23	Selva	ATCen	1,5
23	Selva	ATCen	1,5
23	Selva	ATCen	1,5
23	Selva	ATCen	1,5
23	Selva	ATCen	1,5
23	Selva	ATCen	1,5
23	Selva	ATCen	1,5

Trat	Variedad	Sustrato	Tamaño	nhi	nh	nhf	api	apf	lr(mm)	nr
24	Selva	ATCen	2
24	Selva	ATCen	2	3	3	8	2	2,3	1	2
24	Selva	ATCen	2
24	Selva	ATCen	2
24	Selva	ATCen	2	1	.
24	Selva	ATCen	2	6	6	6	2	2,1	1	1
24	Selva	ATCen	2	4	4	4	2	2	.	.
24	Selva	ATCen	2	4	4	5	2	2	.	.
24	Selva	ATCen	2
25	Selva	ATuTie	1	5	5	5	1	2	7	6
25	Selva	ATuTie	1	5	6	6	1	1,8	5	1
25	Selva	ATuTie	1
25	Selva	ATuTie	1	6	7	7	1	1,5	6	1
25	Selva	ATuTie	1
25	Selva	ATuTie	1
25	Selva	ATuTie	1
25	Selva	ATuTie	1	4	4	4	1	1	5	1
25	Selva	ATuTie	1	4	4	4	1	1	5	1
25	Selva	ATuTie	1	3	4	8	1	1,7	6	2
26	Selva	ATuTie	1,5	4	4	4	1,5	1	3	1
26	Selva	ATuTie	1,5
26	Selva	ATuTie	1,5	6	7	8	1,5	2	5	1
26	Selva	ATuTie	1,5
26	Selva	ATuTie	1,5	5	6	6	1,5	1,7	6	2
26	Selva	ATuTie	1,5	5	5	5	1,5	1,5	.	.
26	Selva	ATuTie	1,5
26	Selva	ATuTie	1,5
26	Selva	ATuTie	1,5	7	9	10	1,5	1,9	3	1
26	Selva	ATuTie	1,5	4	4	4	1,5	1,5	3	1
27	Selva	ATuTie	2	3	3	4	2	2	3	1
27	Selva	ATuTie	2	5	5	6	2	2,6	10	2
27	Selva	ATuTie	2	4	4	6	2	2	4	1
27	Selva	ATuTie	2	5	5	4	2	2	6	1
27	Selva	ATuTie	2	5	5	10	2	2,3	7	2
27	Selva	ATuTie	2	4	6	8	2	2,2	12	2
27	Selva	ATuTie	2
27	Selva	ATuTie	2	4	5	9	2	2,1	6	1
27	Selva	ATuTie	2	3	4	5	2	2	10	3
27	Selva	ATuTie	2	9	9	11	2	2,3	11	2

Anexo 8. Normas para la interpretación del análisis físico-químico de los sustratos

a. Textura

Gruesa	Arena, arena franca (bajos contenidos de M.O)
Moderadamente gruesa	Franco arenosos
Medias	Franco, franco limoso, limoso
Finas	Franco arcillosos, franco arcillo-arenoso, franco arcillo-limoso. Arcillo-arenoso, arcillo-limoso, arcilloso
Muy fino	Mayor de 60% de arcilla

Fuente: Chilon (1997)

b. Conductividad eléctrica

Rango (mMhons/cm ³)	Características
< 2	No hay problemas de sales
2-4	Ligeros problemas de sales
4-8	Medio (problemas de sales)
8-16	Fuerte
> 16	Muy fuerte salinidad

Fuente: Chilon (1997)

c. Materia orgánica

Bajo	< 2%
Medio	2-4 %
Alto	> 4%

Fuente: Chilon (1997)