

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN AGRONÓMICA**



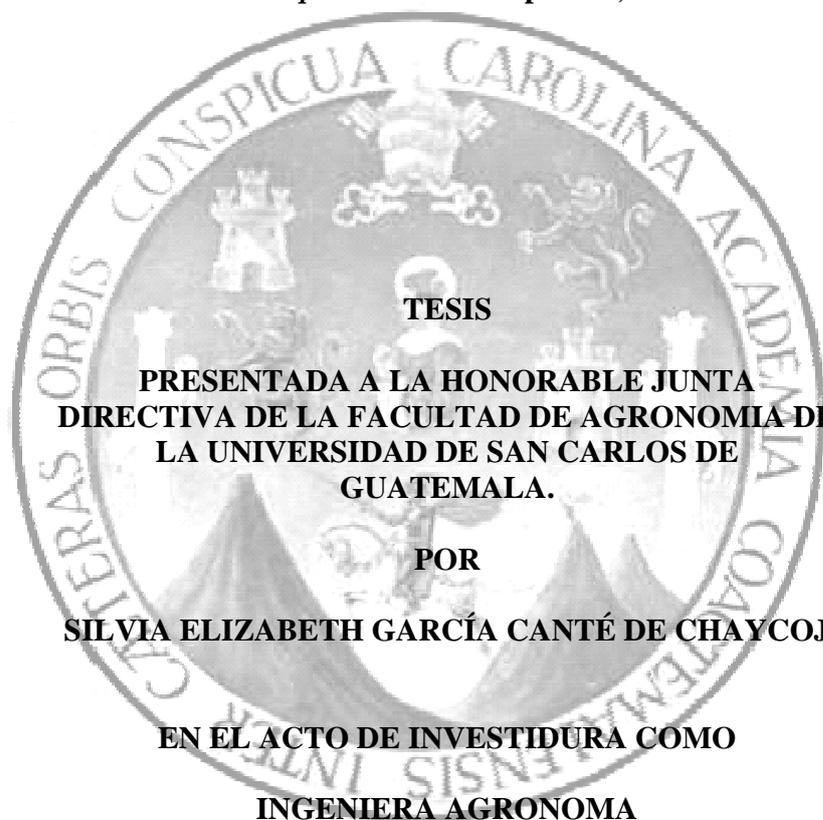
**EFEECTO DE LA BENCILAMINOPURINA,  
EL ACIDO GIBERELICO Y EL ACIDO  
INDOLACETICO EN LA  
MICROPROPAGACION DE MORA (*Rubus  
hadrocarpus* forma adenophorus).**

**Silvia Elizabeth García Canté de Chaycoj**

**Guatemala, julio del 2004.**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN AGRONÓMICA**

**EFFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA, EL  
ACIDO GIBERELICO Y EL ACIDO  
INDOLACETICO EN LA  
MICROPROPAGACION DE MORA (*Rubus  
hadrocarpus* forma *adenophorus*).**



**TESIS**

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA  
DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE  
LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE  
GUATEMALA.**

**POR**

**SILVIA ELIZABETH GARCÍA CANTÉ DE CHAYCOJ**

**EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO  
INGENIERA AGRONOMA**

**EN**

**SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA**

**EN EL GRADO DE**

**LICENCIADA**

**Guatemala, julio del 2004.**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA**

**RECTOR**

**M.V. LUIS ALFONSO LEAL MONTERROSO**

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA**

**DECANO**

**VOCAL PRIMERO**

**VOCAL SEGUNDO**

**VOCAL TERCERO**

**VOCAL CUARTO**

**VOCAL QUINTO**

**SECRETARIO**

**Dr. Ariel Abderraman Ortíz López**

**Ing. Agr. Alfredo Itzep Manuel**

**Ing. Agr. Manuel de Jesús Martínez Ovalle**

**Ing. Agr. Erberto Raúl Alfaro Ortiz**

**Prof. Juvencio Chom Canel**

**Prof. Byron Geovani González Chavajan**

**Ing. Agr. Pedro Peláez Reyes**

Guatemala, julio de 2004.

Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala.

Distinguidos Miembros:

De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, trabajo de tesis titulada:

EFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA, EL ACIDO GIBERELICO Y EL ACIDO  
INDOLACETICO EN LA MICROPROPAGACION DE MORA (Rubus hadrocarpus forma  
adenophorus).

Como requisito previo a optar el título de Ingeniera Agrónoma en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado de académico de Licenciada.

Esperando que le presente trabajo de investigación llene los requisitos para su aprobación, me suscribo.

Atentamente,

Silvia Elizabeth García de Chaycoj.

## **ACTO QUE DEDICO A:**

**Dios:** Con amor, por ser mi creador y principal proveedor de todo cuanto soy y cuanto tengo.

**Virgen María:** Por su amor y apoyo en cada acontecimiento de mi vida.

**Mis padres:** José León García Dávila y Hortensia Canté por brindarme cuanto han podido.

**Mi esposo:** José Luis Chaycoj Sian por su apoyo y amor en el transcurso de la carrera.

**Mis hermanos:** Verónica, Margarita, Giovanni, Maricela por su apoyo y cariño compartido.

**Mi abuelita:** Antonia Canté por su cariño y apoyo en cada etapa de mi vida.

**Mis suegros:** Virgilio Chaycoj Sequén y María Ciriaca Sian García por su cariño.

**Mis cuñados:** German, Carmen, Furgencio, Victor Manuel, José Manuel, Miriam Elizabeth, Luis Aniceto y Marta Dilia Chaycoj Sian, Erick Castillo y Oscar del Cid por su cariño y apoyo.

**Mis sobrinos:** Principalmente a Melissa, María José y Gabriela Castillo por su cariño.

**Mis tíos y primos:** por el cariño que me han brindado, principalmente a Victor Salazar y Victorino García.

**Mi comadre y ahijado:** Dora Baca y Erick Baca por su cariño.

**Mis amigos:** Edgar Franco, Jorge García, Lourdes Velásquez, Yessica Monzón, Lucrecia Pocón, Mak Milan Cruz, Alfredo Cabrera, Rolando Aragón, Miriam de la Roca, Susana Yessi de Gonzáles, Edna Villatoro, Edgar Castillo, Familia del Cid Borja por el cariño compartido.

**TESIS QUE DEDICO A:**

Guatemala

Universidad de san Carlos de Guatemala

Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Laboratorio de Cultivo de Tejidos

Escuela de comercio No. 5

Municipalidad de San Juan Ostuncalco

Facultad latinoamericana de ciencias sociales.

A todas aquellas personas que contribuyeron a mi formación profesional.

**AGRADECIMIENTOS A:**

Mi asesor: Ing. Domingo Amador por su valiosa colaboración y apoyo en la elaboración de este documento.

Laboratorio de Cultivo de Tejidos: Principalmente a Mak Milan Cruz y Raúl Aspuac.

Herbario de BIGUA: Principalmente Ing. Mario Veliz.

Unidad de Estadística de la Universidad de San Carlos de Guatemala y de la Facultad de Agronomía.

## ABREVIATURAS

BAP	Bencilaminopurina
GA <sub>3</sub>	Ácido giberélico
AIA	Ácido indolacético
2,4-D	Ácido 2,4-diclorofenoxiacético
AIB	Ácido indolbutírico
ANA	Ácido naftalacético
AMP	Adenina monofosfato
ARNt	Ácido ribonucleico de transporte
ARN	Ácido ribonucleico
ADN	Ácido desoxirribonucleico
MS	Murashige y Skoog
P/V	Peso sobre volumen
gr/l	Gramos por litro
mm	Milímetro
cm	Centímetros
mg/l	Miligramo por litro
ppm	Partes por millón
ha.	Hectárea

## CONTENIDO GENERAL

1. Introducción	1
2. Definición del problema	2
3. Marco teórico	3
3.1 Marco conceptual	
3.1.1 Aspectos generales de la mora	
3.1.1.1 Clasificación taxonómica	
3.1.1.2 Rubus hadrocarpus forma adenophorus standl & Steyerm	4
3.1.1.3 Importancia de Rubus hadrocarpus forma adenophorus	
3.1.1.4 Propagación de la mora	5
3.1.1.5 Manejo agronómico de <i>Rubus hadrocarpus</i>	
A Siembra	
B Limpieza de plantaciones	
C Podas	6
D Control de plagas	
E Control de enfermedades	
F Cosecha y clasificación	
3.1.2 Micropropagación	
3.1.2.1 Ventajas y desventajas de la micropropagación	7
A Ventajas	
B Desventajas	
3.1.2.2 Etapas de la micropropagación	8
A Fase de iniciación	
B Fase de proliferación	
C Fase de regeneración	
D Fase de aclimatación	
3.1.2.3 Medio de cultivo	
A Tipos de medios de cultivos	9
B Componentes del medio de cultivo	
C Cualidades del medio de cultivo	11
3.1.2.4 Tipo de cultivo in vitro	13
A Cultivo de plántulas	
B Cultivo de embriones	
C Cultivo de órganos	
D Cultivo de tejidos	14
E Cultivo de células	
F cultivo de protoplastos	15
G Formación de órganos de almacenamient	
H Por microingerto	

3.1.2.5	Reguladores de crecimiento	
A	Auxinas	
B	Citocininas	18
C	Interacción auxinas-citocinina	20
D	Giberélinas	
3.1.2.6	Problemas durante la micropropagación	21
3.1.2.7	Estudio de cultivo de tejidos en berries	22
A	Micropropagación de frambuesa	
B	Micropropagación de fresa	
3.2	Marco referencial	23
3.2.1	Ubicación del experimento	
3.2.2	Estudios realizados en micropropagación de <i>Rubus glaucus</i>	
4.	Objetivos	25
4.1	Objetivo general	
4.2	Objetivos específicos	
5.	Hipótesis	26
6.	Metodología	27
6.1	Inducción de brotes	
6.1.1	Tratamientos	
6.1.2	Selección y colecta de material vegetal	28
6.1.3	Lavado y desinfección del material vegetal	
6.1.4	Siembra	29
6.1.5	Incubación	
6.1.6	Análisis experimental	
6.1.6.1	Diseño experimental	
6.1.6.2	Modelo estadístico	
6.1.6.3	Unidad experimental	30
6.1.6.4	Variables respuesta	
A	Otras variables	
6.2	Inducción de raíces	
6.2.1	Tratamientos	
6.2.2	Cultivo de explantes	31
6.2.3	Incubación	
6.2.4	Toma de datos	
6.2.5	Diseño experimental	
6.2.5.1	Modelo estadístico	32
A	Variable respuesta	
B	Unidad experimental	
6.3	Presentación de resultados	

7. Resultados y discusión	33
7.1 Número de brotes	
7.2 Tamaño de brote	36
7.3 Número de hojas	39
7.4 Longitud y número de nudos	41
7.5 Número de raíces	45
8. Conclusiones	51
9. Recomendaciones	52
10. Bibliografía	53
11. Anexo	55

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Tiempo mínimo requerido para esterilización de medio de cultivo	12
Cuadro 2	Desinfectantes comúnmente utilizados en el cultivo de tejidos	12
Cuadro 3	Tratamientos para la inducción de brotes en yemas axilares de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	27
Cuadro 4	Tratamientos para inducción de raíces en <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	31
Cuadro 5	Análisis de la varianza del efecto de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el número de brotes de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	33
Cuadro 6	Prueba de Tukey con 5% de significancia para el efecto de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el número de brotes de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	35
Cuadro 7	Análisis de la varianza de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el tamaño de brotes de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	36
Cuadro 8	Prueba de Tukey con 5% de significancia sobre la interacción de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el tamaño de brotes de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	37
Cuadro 9	Análisis de la varianza del ácido giberélico y la bencilaminopurina sobre el número de hojas de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	39
Cuadro 10	Prueba de tukey con 5 % de significancia para la interacción bencilaminopurina-ácido giberélico sobre el número de hojas en <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	40
Cuadro 11	Análisis de la varianza de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el número de nudos de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	41
Cuadro 12	Prueba de tukey con 5 % de significancia sobre el efecto de la interacción de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el número de nudos	42
Cuadro 13	Análisis de la varianza de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre la longitudes nudos de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	43
Cuadro 14	Prueba de tukey al 5% de significancia de bencilaminopurina y ácido giberélico sobre la longitud de nudos de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	44
Cuadro 15	Análisis de la varianza de la bencilaminopurina y el ácido indolacético sobre el número de raíces en <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	45
Cuadro 16	Prueba de tukey al 5% sobre el efecto de la bencilaminopurina en el número de raíces en <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	46

Cuadro 17 Caracterización de las raíces de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i> producidas <i>in vitro</i>	47
Cuadro 18A Soluciones patrón para preparar el medio MS	54
Cuadro 19A Preparación del medio MS a la mitad de su concentración	55
Cuadro 20A Análisis del tiempo de exposición de los explantes a la solución antibiótico Antioxidante	
Cuadro 21A Análisis de hipoclorito de sodio para controlar la contaminación	56
Cuadro 22A Análisis de antioxidantes para el control de oxidación de los explantes	57
Cuadro 23A Análisis de la concentración del medio MS para la inducción de brotes	57
Cuadro 24A Datos de tamaño y número de brotes	58
Cuadro 25A Datos de número de hojas y número de nudos	61
Cuadro 26A Datos de longitud entrenudos y número de raíces	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura química del ácido indolacético	15
Figura 2 Estructura química de la bencilaminopurina	18
Figura 3 Efecto de la interacción auxina – citosinina en el cultivo de tejidos	20
Figura 4 Estructura Química del ácido giberélico	21
Figura 5 Distribución de los tratamientos de acuerdo al número promedio de brotes	35
Figura 6 Distribución de los tratamientos de acuerdo a la longitud promedio de brote	37
Figura 7 Fotografía de alturas promedio de brote	38
Figura 8 Fotografía de altura promedio de brote	38
Figura 9 Grafica de distribución de los tratamientos de acuerdo al número de hojas	40
Figura 10 Grafica de distribución de los tratamientos de acuerdo al número de nudos	42
Figura 11 Grafica de distribución de los tratamientos de acuerdo a la longitud de los nudos	44
Figura 12 Grafica de distribución de los tratamientos de acuerdo al número de raíces	48
Figura 13 Fotografía de raíces producidas <i>in vitro</i> de <i>Rubus hadrocarpus</i> forma <i>adenophorus</i>	49

EFFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA, EL ACIDO GIBERELICO Y EL ACIDO INDOLACETICO EN LA MICROPROPAGACION DE MORA (*Rubus hadrocarpus* forma adenophorus).

EFFECT OF THE BENCILAMINOPURINA, THE GIBBERELIC ACID AND THE INDOLEACETIC ACID IN THE MICROPROPAGACION OF BLACKBERRY (*Rubus hadrocarpus* forma adenophorus).

**RESUMEN**

La mora (*Rubus Hadrocarpus* forma adenophorus) es un producto nativo de Guatemala con potencial de mercado a nivel nacional e internacional. La Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales considera necesario definir cultivares de alta calidad para propagarlos a escala comercial, de tal manera que se produzcan al mismo tiempo gran cantidad de plantas sanas y rendidoras. El método de propagación que más cumple con estas perspectivas es la micropropagación, por tanto el objetivo general de esta investigación fue establecer una metodología para la micropropagación de esta especie vegetal.

La metodología constó de dos etapas: la etapa de proliferación y la de regeneración, en cada etapa se utilizó el medio Murashige y Skoog a la mitad de su concentración. En la etapa de proliferación se evaluó la combinación de cuatro niveles de bencilaminopurina y cuatro niveles de ácido giberélico. Las variables de respuesta fueron: número de brotes, tamaño de brotes, número de nudos, longitud entrenudos y número de hojas.

En la etapa de regeneración se evaluó la combinación de tres niveles de bencilaminopurina y cuatro niveles de ácido indolacético, la variable respuesta evaluada fue número de raíces.

El diseño experimental que se utilizó fue Completamente al Azar con Arreglo combinatorio y la prueba de medias Tukey al 5%, siendo necesario el ajuste de datos por medio de transformaciones logarítmicas y de raíz cuadrada.

El tratamiento que produjo mejor resultado en cuanto a crecimiento y desarrollo del explante fue el conformado por la combinación de 3 ppm de bencilaminopurina y 1 ppm de ácido giberélico y el tratamiento que indujo el mayor número de raíces fue el conformado por la combinación de 1 ppm de bencilaminopurina y 0.5 ppm de ácido indolacético. El testigo produjo resultados aceptables para la micropropagación por lo que se recomienda el análisis de costos y tiempo de desarrollo de plántulas para establecer si es necesaria la aplicación de reguladores de crecimiento.

## 1 INTRODUCCIÓN.

La mora es un producto no tradicional, que ha tenido desde hace quince años, aceptación en el mercado nacional y demanda en el mercado internacional. Se cultiva principalmente en la zona central de Guatemala en una extensión aproximada de 200 hectáreas, destinando 625 toneladas métricas de producción a la exportación (1).

Los principales mercados a nivel internacional son Estados Unidos y la Unión Europea.

Las variedades Brazos, Rosborough, Brison y Womack de Estados Unidos, son las de mayor aceptación, debido a que se producen con mayor nivel tecnológico que la mora originaria de Guatemala, por lo que la calidad es superior (17), sin embargo desde el año 2001 La Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales, se ha interesado en la evaluación de cuatro variedades de mora con potencial para exportación, tres originarias de Estados Unidos y la mora silvestre proveniente de las montañas de Tecpán, Chimaltenango (7).

La mora es originaria de Europa y América, Nash y Dieterle(15), han reportado un total de 18 especies en Guatemala de las cuales algunas ya han sido domesticadas y se cultivan preferentemente en altitudes de 1,800 a 2,400 metros sobre el nivel del mar.

La mora esta compuesta por un alto porcentaje de agua, aproximadamente un 84.2 %, el resto se compone de proteínas 0.67 %, grasa 0.69 %, carbohidratos 8.33 %, fibra 4.17 %, vitamina C y microelementos (17).

La presente investigación tuvo como finalidad obtener una metodología para propagar en forma masiva la mora (*Rubus hadrocarpus* forma *adenophorus*) por medio de cultivo de yemas axilares, por lo que se evaluó el efecto de la bencilaminopurina en combinación con ácido giberélico para la inducción de brotes y el efecto del ácido indolacético en combinación con bencilaminopurina para la inducción de raíces.

## **2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.**

La Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales ha calificado a la mora producida en Tecpán como un producto nativo que posee potencial de mercado importante, por lo que cree necesario definir cultivares de alta calidad para luego multiplicarlos a escala comercial, de tal manera que se pueda lograr calidad uniforme, característica necesaria tanto para productos frescos como procesados (7).

Según información proporcionada por los pobladores de la aldea La Cumbre, Tecpán la propagación se realiza sin previa selección, observándose plantaciones enfermas carentes de vigorosidad y uniformidad, por lo tanto del total de la producción únicamente el 5% se destina a la exportación, constituyendo esta forma de propagación un problema que requiere atención.

De acuerdo a la Federación Nacional de Cafetaleros de Colombia (8), la mora se propaga por vía sexual y asexual, siendo el método asexual el más utilizado debido al bajo porcentaje de semillas fértiles que se producen por planta y periodo germinación largo.

La reproducción asexual se realiza por acodo, esquejes de raíz o por estaca. Los métodos por estaca y por acodo son los más utilizados, debido a que la planta produce pocos esquejes de raíz, sin embargo el método por estaca presenta el problema de rápido brotamiento de yemas, formándose ramas sin que aún exista sistema radicular y el método por acodo presenta la desventaja, que para producir plantas rendidoras deben sacrificarse las ramas productivas.

La micropropagación es una técnica eficiente para multiplicar especies vegetales en forma masiva y libre de enfermedades, que a partir de muy pequeñas porciones de planta (en el caso de esta investigación brotes axilares de mora) se produce una planta completa, utilizando un medio artificial y aséptico (23).

### 3 MARCO TEÓRICO

#### 3.1 MARCO CONCEPTUAL.

##### 3.1.1 ASPECTOS GENERALES DE LA MORA.

###### 3.1.1.1 Clasificación Taxonómica del género *Rubus* por Nach y Dieterle (15):

Reino:	Plantae
Subreino	Embryobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Rosales
Familia:	Rosaceae
Genero:	<i>Rubus</i>

Nach y Dieterle(15), han reportado 18 especies en Guatemala, las cuales se enlistan a continuación:

<i>Rubus adenotrichus</i> Schlecht	<i>Rubus coriifolius</i> Liebm.
<i>Rubus hadrocarpus</i> Standl	<i>Rubus leptosepalus</i> Donn. Smit
<i>Rubus fagifolius</i> Schlecht	<i>Rubus miser</i> Liembm
<i>Rubus rosaefolius</i> J.E. Smith	<i>Rubus smithii</i> Rydb
<i>Rubus urticaefolius</i> Poir	<i>Rubus alpinus</i> Macfad
<i>Rubus eriocarpus</i> Liebm	<i>Rubus glaucus</i> Benth
<i>Rubus irasuensis</i> Liebm	<i>Rubus macrogongylus</i> Focke.
<i>Rubus pringlei</i> Rydb	<i>Rubus sapidus</i> Schlecht.
<i>Rubus trilobus</i> Seringe in DC.	<i>Rubus hadrocarpus</i> , forma <i>adenophorus</i> Standl & Steyerm

De las especies enlistadas anteriormente *Rubus macrogongylus* (19) y *Rubus hadrocarpus*, forma *adenophorus* Standl & Steyerm se propagan y comercializan en Tecpán, de éstas *Rubus hadrocarpus*, forma *adenophorus* Standl & Steyerm es la que presenta mejor característica en cuanto al tamaño del fruto.

### **3.1.1.2 Descripción de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus Standl & Steyerm.**

De acuerdo a Nach y Dieterle (15), *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus Standl & Steyerm es un arbusto de dos metros de alto, armado con espinas y ramas densamente pubescentes y pelos glandulares de 1 a 2 milímetros de longitud.

Hojas compuestas con el borde doblemente aserrado y dientes lanceolados dirigidos hacia el extremo distal de la hoja, las venas secundarias sobresalen en el dorso de la misma.

Inflorescencia panícula de 3.5 a 6 centímetros de largo y de 3 a 5 centímetros de ancho, flores perfectas color blanco, sépalos 5, pétalos 5. Pecíolos densamente glandulares, de colores pálidos.

Fruto de 1.5 a 2.2 centímetros de largo. Esta especie se encuentra en altitudes de 2600 a 3000 metros sobre el nivel del mar, característica importante ya que las variedades de mora introducidas al país son susceptibles a heladas.

### **3.1.1.3 Importancia de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus en Guatemala.**

*Rubus hadrocarpus* forma adenophorus, es una de las productos denominados por la Asociación de exportadores de productos no tradicionales, como producto nativo que posee potencial de mercado importante, tanto en Guatemala como en Centroamérica, Europa y Estados Unidos, lográndose para este último país la admisibilidad como producto fresco. (7)

De acuerdo a la información proporcionada por Asociación de exportadores de productos no tradicionales<sup>1</sup>, los principales mercados de comercialización son la terminal de la zona 4 de la ciudad de Guatemala, las agroexportadoras Hortifruta, Unispice y Profruta e intermediarios de El Salvador.

La comercialización en el mercado interno se realiza en los meses de mayo a octubre con un precio promedio de Q4.00 a Q4.50 la libra, produciéndose de 32 a 51.2 libras por hectárea semanalmente.

La fruta de exportación se comercializa en los meses de noviembre a abril obteniéndose diariamente 80 cajas de 4.5 libras por hectárea. El precio por caja oscila entre Q15.00 y Q50.00, dependiendo la demanda existente en el mercado, siendo esta mayor en los meses de octubre a enero.

Las diferentes agroexportadoras se encargan del acopio directo de la mora, actividad realizada por estas empresas desde hace 5 años. El mecanismo de acopio es la distribución de canastillas entre los productores, las cuales deben ser llenadas por éstos, previo a la selección de la fruta. Los requerimientos de exportación son: fruto con color uniforme, sin daño mecánico, tamaño de 3 cm. de largo por 1cm. de ancho.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> España, R.. 2002. Comercialización de berries (entrevista). Guatemala, Asociación de exportadores de productos no tradicionales.

Los principales mercados a nivel internacional son Estados Unidos y la Unión Europea.

Palma (16) indica que Estados Unidos consume el 71% de la demanda nacional.

Xum (26) expresa que la mora es utilizada por la industria para la elaboración de jaleas, jugos, refrescos, esencias, yogurt, compotas, concentrado, purés, jarabe, gelatinas, mermeladas, relleno de pasteles y golosinas. El precio de la mora en libra en agroindustrias oscila entre Q.0.80 a Q.1.00 quetzal. La demanda de la mora procesada en el mercado interno se da mayoritariamente en los supermercados, restaurantes, hoteles y pequeña industria.

#### **3.1.1.4 Propagación de la Mora.**

Existen distintos métodos de propagación. Según la Federación Nacional de Cafetaleros de Colombia (8), los métodos asexuales que comúnmente se utilizan son el acodo y la estaca. En ambos casos es importante escoger plantas sanas, vigorosas y productivas, para obtener el material; las ramas más apropiadas para propagar son las productivas (hembras), sin embargo muchos agricultores utilizan los fuetes (machos) con el fin de no sacrificar ramas productivas en su plantación. Los fuetes darán lugar a plantas que producirán mayor número de ramas vegetativas que productivas. Las moras también se multiplican por retoños enraizados, pero éstas desarrollan pocos retoños, por lo que no es muy utilizado este método de propagación.

El método de propagación más utilizado en Tecpán es esquejes de raíz, actividad realizada durante la época lluviosa.

#### **3.1.1.5 Manejo Agronómico de la mora *Rubus hadrocarpus forma adenophorus*.**

De acuerdo a información proporcionada por pobladores de la aldea La Cumbre, Tecpán<sup>2</sup> las prácticas agronómicas que comúnmente realizan los productores de mora son:

**A. Siembra.** Debido que la mora tiene un promedio de vida de 12 a 15 años, esta práctica únicamente se lleva a cabo cuando una planta ha sido atacada por una plaga o cuando ha terminado su vida útil. El método comúnmente utilizado es la siembra de esquejes de raíz, el cual consiste en la extracción y separación de éstos de la planta madre, para luego sembrarlos en un área apropiada.

**B. Limpieza de las plantaciones.** La limpieza consiste en la eliminación de plantas no deseadas que interfieren en el desarrollo adecuado de las plantaciones y en el acceso a las mismas. Esta actividad

---

2. García, M. 2002. Producción y comercialización de mora (entrevista). Aldea La Cumbre, Tecpán Guatemala.  
Rucux, C. 2002. Producción y comercialización de mora (entrevista). Aldea La Cumbre, Tecpán Guatemala.

se realiza por los productores de mora durante la época seca del año, utilizando como herramientas azadones o machetes.

**C. Podas.** Con el objeto de inducir la producción de nuevas ramas productivas o de eliminar ramas enfermas, los pobladores realizan una poda anual en el mes de agosto, mes en que los tallos son fáciles de cortar. Esta práctica es realizada por medio de la utilización un machete.

**D. Control de Plagas.** La mora es atacada por diversas plagas, principalmente por el gusano barrenador del tallo (*Epialus sp*) y las aves. El control realizado es la eliminación de las partes afectadas, inclusive plantas completas.

**E. Control de Enfermedades.** Entre las principales enfermedades que afectan a la mora, se encuentra el Mildiu (*Sphaerotheca macularis*), el cual ataca la parte aérea de la planta sin exclusión de los frutos, por lo que los productores de mora utilizan como medida de saneamiento la eliminación de las partes afectadas, evitando con ello la diseminación de la enfermedad.

**F. Cosecha y Clasificación.** La cosecha se realiza un día a la semana escogiendo los frutos que ya han completado su madurez. Se cortan teniendo el cuidado de no lastimarlos con las espinas. En el caso de la mora para exportación ésta se clasifica durante la cosecha, frutos grandes con coloración morado uniforme. Se colocan en recipientes de plástico que poseen papel absorbente en la parte interna. A cada recipiente se le colocan 160 gramos de mora.

### **3.1.2 MICROPROPAGACIÓN.**

De acuerdo a la Universidad de Agricultores de Praga (23), la micropropagación es un sistema de multiplicación en un medio artificial y aséptico que a partir de pequeñas porciones de plantas, tales como: semillas, embriones, tallos, brotes de tallos y de raíces, células y polen, se produce una planta entera.

Puede utilizarse potencialmente este método de propagación al conocer los requerimientos hormonales y alimenticios de las especies.

Según Hartmann y Kester (9), el éxito de la micropropagación varía según los explantes que se utilicen y depende de la aplicación de las hormonas apropiadas.

Los explantes de punta de tallo se pueden tomar de segmentos de yemas laterales que esencialmente son estacas de un solo nudo. Los explantes de un solo nudo se reproducen por el alargamiento del meristemo terminal, acompañado por un desarrollo limitado de los meristemos axilares. Las fases de la multiplicación resultan de la supresión del meristemo terminal y de la estimulación de las yemas

axilares, para que crezcan y se alarguen. La división repetida y la transferencia de los propágulos a un nuevo medio de cultivo conducen a un considerado incremento, pero la cantidad está limitada por el número de yemas axilares presentes en el explante. La producción de brotes axilares puede ir acompañada de la proliferación de yemas en el callo que se forma en la base del propágulo. En estos casos se puede obtener tasas de multiplicación más elevadas, ya que el incremento no depende del número de nudos. La propagación por punta de tallo se adapta para la propagación *in vitro* de casi cualquier especie de planta, si se conoce o determinan la secuencia y el requerimiento de cultivo apropiados. A menudo este sistema se prefiere a otros métodos debido a que tiene menos probabilidad de producir cambios genéticos.

### **3.1.2.1 Ventajas y desventajas de la Micropropagación.**

Efferson (6) indica que la micropropagación presenta las siguientes ventajas y desventajas.

#### **A. Ventajas.**

- a. Propagación acelerada. Es posible teóricamente obtener en un año a partir de una sola planta, un millón de clones de ella.
- b. Ahorro y ganancia de espacio. En espacio reducido es posible mantener cantidades considerables de clones que servirán como semilla en el campo y permite hacer uso de áreas verticales, acumulando varios niveles para el efecto.
- c. Ausencia de infecciones y factores climáticos adversos. Debido a las condiciones asépticas en que se tienen los explantes están libres de contaminantes, por lo que se cuenta con material que tiene la capacidad de someterse a las pruebas más rigurosas de cuarentena.
- d. Disponibilidad inmediata y permanente de material. Permite la propagación de plantas en épocas en que las condiciones de campo no son las adecuadas.

#### **B. Desventajas.**

- a. Altos costos de mantenimiento e instalación de laboratorio.
- b. Necesidad de tener mano de obra calificada.
- c. Falta de precisión en la selección de materiales.
- d. Pérdida de variabilidad.

### 3.1.2.2 Etapas de la micropropagación.

De acuerdo a Weaver (24), La micropropagación se realiza en las siguientes etapas:

**A. Fase de Iniciación.** Esta etapa consiste en aislar el ápice vegetativo, esterilizarlo en forma superficial y luego colocarlo en un medio de proliferación.

**B. Fase de Proliferación.** En la fase de proliferación se estimula la formación y multiplicación de brotes. El medio de proliferación comúnmente es un medio inorgánico de Murashige y Skoog (1962), con un balance de concentraciones de citocininas/auxinas.

La transferencia consiste en tomar el cultivo de brotes y cortarlo con bisturí en brotes individuales e introducirlos en un nuevo medio de proliferación. Así se pueden establecer ciclos de multiplicación cada 4 a 6 semanas. Este proceso se puede continuar más o menos por un año. La tasa de multiplicación varía entre 2 y 8 ciclos, dependiendo de la variedad. Cuando el máximo número de brote es adquirido se separan en forma individual para subcultivarlos en un medio apto para la formación de raíces, lo cual forma la segunda etapa, la etapa de regeneración.

**C. Fase de Regeneración.** En esta etapa se usa el medio de Murashige y Skoog (1962) con un balance de concentraciones de citocininas/auxinas específico para cada planta, el cual promueve una prolongación del tallo y la formación de raíces. Esta etapa tiene una duración de unos dos meses.

**D. Fase de Aclimatación.** Las plantas de 7cm de longitud, con raíces bien formadas y con por lo menos tres hojas verdes se pueden transferir al invernadero para aclimatarlas a las condiciones fuera del laboratorio. Las primeras semanas se meten las plantas debajo de plástico, manteniendo la humedad a un 90% y reduciéndola poco a poco durante dos semanas, tiempo a partir del cual las plantas pueden ser transferidas a un vivero con buenas condiciones de temperatura y humedad. Las plantas están listas para sembrar en el campo después de 2 meses.

### 3.1.2.3 Medio de Cultivo.

Hurtado y Merino (10), indican que el éxito del cultivo de tejidos de plantas está influenciado por la composición química de los medios de cultivo. Se ha determinado que utilizando las sustancias químicas necesarias y las cantidades apropiadas de nutrientes, se han establecido cultivos para casi todas las partes de una planta en diversas especies vegetales.

## **A. Tipos de medios de cultivo.**

Los medios comúnmente utilizados son los siguientes:

- a. Murashige y Skoog o MS (1962). Es un medio que con ligeras modificaciones ha probado ser exitoso para muchas especies vegetales. Este medio contiene concentraciones elevadas de nitrato de amonio lo que permite su uso en el cultivo de meristemos y además en estudio de organogénesis.
- b. Medio B5 (Gamborg *et al*, 1968). Su uso se ha generalizado en el cultivo de células. Presenta bajos contenidos de amonio.
- c. Schemk y Hidelbrant (1972). Es utilizado para la proliferación de callos tanto en monocotiledóneas como dicotiledóneas.
- d. Woody plant Médium (Lloyd y Mc Cown, 1980). Es utilizado en plantas leñosas que han manifestado problemas en el medio MS por su alto contenido mineral. Su bajo contenido iónico lo hace adecuado para la fase de regeneración. (4)

## **B. Componentes del medio de cultivo.**

Torres, Texeira y Campos (22), indican que los componentes de un medio de cultivo son los siguientes:

- a. Agua. Este componente que se encuentra en mayor proporción en el medio de cultivo. El agua a utilizarse debe ser destilada y estéril.
- b. Nutrición mineral. La mayoría de los medios de cultivo incluye en su composición los elementos esenciales para las plantas. Estos elementos son: nitrógeno (nitrato, nitrito o amonio), fósforo (fosfato), potasio (fosfato de potasio, nitrato de potasio o cloruro de potasio), magnesio (sulfato de magnesio), calcio (cloruro de calcio o nitrato de calcio), hierro (quelato de hierro), manganeso (sulfato de manganeso), zinc (sulfato de zinc), cobre (sulfato de cobre), cobalto (cloruro de cobalto) y boro (ácido bórico).
- c. Nutrición orgánica. Los compuestos orgánicos importantes para las plantas son: carbohidratos, sustancias reguladoras de crecimiento, vitaminas, aminoácidos, amidas, ciertas purinas, pirimidinas y ácidos orgánicos.
- d. Fuentes de carbono y energía. Al extraer parte de la planta y cultivarla *in vitro*, las células no son fotosintéticamente activas y necesitan de carbohidratos para su crecimiento y desarrollo. Los azúcares están involucrados además en los procesos de diferenciación celular favoreciendo la

formación de elementos vasculares y de la clorofila, tienen influencia además sobre la organogénesis.

Los carbohidratos más comúnmente usados son: sacarosa, glucosa, fructosa en los niveles de 2% al 5%.

- e. Vitaminas. Son compuestos orgánicos que en bajas concentraciones desempeñan funciones reguladoras catalíticas en el metabolismo celular. Las vitaminas comúnmente utilizadas en el medio de cultivo son: tiamina (B1), ácido nicotínico (B3) y piridoxina (B6), pero sólo la tiamina es indispensable en el medio.
- f. Purinas y pirimidinas. Generalmente se ha reconocido que la malta, algunas levaduras y extractos selectos de tejidos vegetales, así como endosperma líquido, pueden suministrar purinas o pirimidinas.
- g. Ácidos orgánicos. El ácido ascórbico y el ácido cítrico son usados para prevenir la oxidación de los explantes. La solución preparada con estos ácidos es una mezcla de 100 mg de ácido ascórbico y 150 mg de ácido cítrico.
- h. Compuestos fenólicos. Muchos derivados fenólicos promueven el desenvolvimiento de la parte aérea y el desarrollo de las raíces. La diferenciación de la parte aérea es estimulada por compuestos fenólicos (mono-OH), y el enraizamiento es estimulado por los compuestos fenólicos (bi-OH).
- i. Extractos naturales. Entre los extractos naturales más utilizados están: leche de coco, agua de coco y extractos de levaduras.
- j. Materiales de soporte. Entre los materiales de soporte más comúnmente utilizados está el agar, el cual es un polisacárido de algas marinas, es alcalino, líquido a 80 °C y sólido a 40 °C. La concentración a utilizar varía de 0.5 a 1%, y depende del tipo de tejido o embrión, ya que en algunos casos la alta densidad retarda el crecimiento.
- k. Carbón activado. Es utilizado para eliminar sustancias tóxicas producidas por el explante in vitro en el proceso de oxidación, cuando existe decoloración del medio de cultivo, en la formación de callos en la fase de regeneración. La cantidad de carbón activado a aplicar es diferente para cada especie.
- l. Reguladores de crecimiento. Según Ruiz (18), las hormonas son por definición, compuestos orgánicos sintetizados por las plantas superiores, que influyen sobre el crecimiento y desarrollo y actúan regularmente en lugares diferentes en donde son producidas, además se encuentran activas en muy pequeñas cantidades. También se ha desarrollado otro tipo de hormonas sintéticas que pueden tener un efecto semejante a las naturales.

### C. Cualidades del medio de cultivo.

De acuerdo a Ruiz (18) para un desarrollo adecuado de los explantes, los medios de cultivo deben presentar las siguientes cualidades:

- a. PH. El pH debe ser tal que no altere la función de las membranas celulares o el sistema buffer del citoplasma. Sus funciones son importantes en la regulación fisiológicas. El pH condiciona las sales que permanecen en forma soluble, influye en la asimilación de nutrientes del medio y modifica la gelificación del agar. El crecimiento del tejido *in vitro* en medio líquido es mejor en pH 5.0. En medios gelificados con agar el pH debe ser ajustado a 5.8. El pH se ajusta con hidróxido de sodio o con ácido clorhídrico y varía durante el período de incubación.
- b. Cantidad del medio. Como regla general cuanto menor es el explante menor debe ser el medio de cultivo a utilizar.
- c. Condiciones de incubación. Deben ser consideradas las exigencias de luz, temperatura y acumulación de productos tóxicos en el medio. Las tres características de la luz, intensidad, período de exposición y calidad, son fundamentales.

La intensidad lumínica en la fase inicial de desenvolvimiento del explante *in vitro*, debe ser baja (1,000 lux). En la fase de multiplicación las exigencias son de 1,000 a 3,000 lux. En cuanto a la calidad de la luz, las lámparas recomendadas son fluorescentes blanco-frías, groluz u otro tipo de lámparas con emisiones en las regiones de rojo (430nm) y azul (660 nm). Estas regiones del espectro influyen los procesos morfogenéticos.

Las exigencias de fotoperíodo deben ser satisfechas. En general 16 horas de iluminación y 1,000 lux de intensidad luminosa, se utilizan para la mayoría de especies.

Las exigencias de temperatura para el desarrollo de las plantas en condiciones naturales, deben ser consideradas como punto de partida para establecer un cultivo *in vitro*.

Las plantas producen oxígeno, dióxido de carbono, aldehído y otros compuestos volátiles. La acumulación de CO<sub>2</sub> en altas concentraciones conduce a la anaerobiosis, fermentación y producción de alcoholes. En algunos casos, altas concentraciones de gas carbónico inducen disturbios en el crecimiento y desarrollo de la planta *in vitro*.

- d. Esterilización del medio de cultivo. Según Izaguirre (11), el medio de cultivo es generalmente esterilizado a 121 °C y 1.05 kilogramos por centímetro cuadrado de presión. El tiempo requerido para esterilización depende del volumen del medio en el recipiente (cuadro 1).

**Cuadro 1:** Tiempo mínimo requerido para la esterilización de diferentes volúmenes del medio:

Volumen del medio por recipiente en mililitros.	Tiempo mínimo de autoclavado en minutos.
25	20
50	25
100	28
250	31
500	35
1000	40
2000	48
4000	63

Fuente: Catalogue plant cell culture, SIGMA.

La contaminación bacterial o por hongo es detrimental en el cultivo de tejidos. Los explantes son esterilizados con soluciones desinfectantes (cuadro 2).

**CUADRO 2:** Desinfectantes comúnmente utilizados en el cultivo de tejidos de plantas.

Desinfectante	Concentración (%)	Tiempo de exposición (minutos)
Hipoclorito de calcio	9-10	5-30
Hipoclorito de sodio	0.5-5	5-30
Agua Oxigenada	3-12	5-15
Alcohol etílico	70-95	5-15
Nitrato de plata	1	5-30
Cloruro de mercurio	0.1-1	2-10

Fuente: Catalogue plant cell culture, SIGMA.

### **3.1.2.4 Tipos de cultivo *in vitro***

Según la Universidad de Agricultura de Praga (23), existen ocho tipos de cultivo *in vitro*, los cuales se describen a continuación:

#### **A. Cultivo de plántulas.**

Las plántulas son obtenidas por medio del cultivo de semillas en un medio adecuado. El cultivo de plántulas se realiza cuando se desea propagar plantas por semillas y éstas presentan problemas de germinación.

#### **B. Cultivo de embriones.**

En un ambiente aséptico se extirpa el embrión y se coloca en un medio estéril. En la medida que el embrión crece, sus requerimientos de alimentos se reducen. Los embriones se desarrollan en agar con relativo éxito. Una vez que las raíces y los brotes crecen, las plantas deben trasplantarse.

#### **C. Cultivo de órganos.**

a. Organogénesis directa. Tallos y raíces son regenerados directamente del tejido puesto en cultivo, sin pasar por la formación previa de callo.

1. Polen. Los capullos de flores se esterilizan antes de abrirlos, luego se abren y se seccionan las anteras, estas son colocadas en un recipiente conteniendo un medio inorgánico con vitaminas A, B, C y hierro.

2. Punta de brote. Este sistema es utilizado para obtener clones libres de agentes patógenos especialmente en los cultivos propensos a los hongos como el clavel, crisantemo, ajo, papa, frutilla, dalia, fresilla, gladiolos y orquídeas. Este método consiste en cortar el meristemo apical y las dos primeras insinuaciones de hojas de los brotes y ubicarlos en un medio estéril de tal manera que les permita formar raíces. Para extirpar el meristemo deben quitarse las hojas que lo cubren, luego se secciona con un escarpelo esterilizado haciendo un corte en forma de “V”. La parte seccionada debe tener aproximadamente 0.5 milímetros.

Agregando sales inorgánicas y azúcar se logra mejores resultados. Antes que los explantes sean realmente brotes serán removidos, seccionados y replantados en diferentes frascos, de esta forma en pocos meses se obtiene una cantidad apreciable de plantas. Si se colocan los envases en aparatos que agiten o giren los frascos se obtienen brotes laterales y más posibilidades de cortar nuevas partes de

tejido con el consiguiente aumento de plantas. Cada 3 o 4 semanas, nuevos brotes aparecerán. Cuando no se desee que el brote madre dé meristemas, se suspende la agitación del frasco, se coloca en medio de agar y así se obtienen en 8 meses plantas con hojas y raíces bien desarrolladas y listas para ser plantadas.

b. Organogénesis indirecta.

Se realiza a través de una proliferación celular rápida que conlleva a la formación de callo, que en condiciones fisiológicas y medios adecuados, se puede inducir la formación de estructuras organizadas que regeneran plantas; los procesos más comunes son: Iniciación indirecta de tallos a partir de callo y la inducción indirecta de embriogénesis del callo formado.

**D. Cultivo de tejidos.**

Todas las partes de una planta están formadas por tejidos, pero en este caso se trata de tejido extirpado de una raíz o de la sección vascular de un tallo (epidermis o cambium).

Tanto los medios a utilizarse como los nutrientes, varían de una especie a otra. También varía la intensidad de luz y los estimulantes o retardadores de crecimiento que se utilicen. Las formas de efectuar las incisiones de tejido son las siguientes: de una raíz carnosa cortada longitudinalmente se extraen círculos transversales y se siembran en una solución de agar. En plantas herbáceas se cortan porciones de 15 cm. de largo, se remueven las hojas y se desinfecta con una solución de alcohol al 95%, luego se cortan estos trozos en secciones de 5 centímetros y los cilindros del tallo interno son extirpados, cortados transversalmente en discos y plantados. De las plantas leñosas pueden obtenerse micropropagaciones partiendo de tallos aún no leñosos en secciones de 1 a 1.5 centímetros que son sumergidos durante 10 a 15 minutos en hipoclorito de sodio y luego se enjuagan en agua esterilizada. Los extremos son eliminados y el segmento restante es cortado en discos que son cultivados posteriormente. En el caso de tallos leñosos se pueden cortar longitudinalmente en lugar de discos y en ese caso la parte que tocará el medio será la no cortada.

**E. Cultivo de células.**

Se utiliza el mismo método de cultivo de tejidos, pero se parte de una sola célula que por división celular llega a formar una planta (suspensiones o agregados celulares).

## F. Cultivo de protoplastos.

Es el cultivo de células separadas de su pared celular.

## G. Formación de órganos de almacenamiento.

Consiste en inducir *in vitro* la formación de estos órganos.

**H. Por microinjerto.** Esta técnica ha permitido multiplicar plantas que por otro medio no ha sido posible. Consiste en tomar una yema de la planta seleccionada, desinfectarla e injertarla sobre un patrón germinado *in vitro*.

### 3.1.2.5 Reguladores de crecimiento.

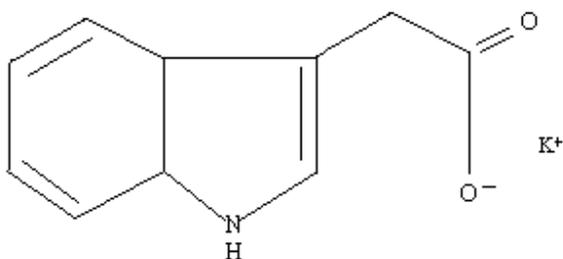
#### A. Auxinas.

a. Auxinas sintéticas empleadas.

1. Ácido indolacético (AIA).

Torres, Teixeira y Campos (22) indican que el ácido indolacético es una auxina natural, que se utiliza para promover la división celular y la diferenciación de raíces, su punto óptimo de aplicación es de 0.1ppm. a 1ppm.

La fórmula química de este regulador de crecimiento es  $C_{10}H_8KNO_2$  y el peso molecular es de 213.28 g/mol (figura 1).



Fuente: Manual de productos químicos Bayer

**FIGURA 1.** Estructura química del ácido indolacético.

2. 2,4 -D (4). Se utiliza sobre todo para la formación de callo. Presenta el inconveniente de producir cambios genéticos importantes.

3. AIB. Es uno de los reguladores más empleados. Se utiliza para la inducción de raíces. También se emplea en bajas concentraciones en la fase de multiplicación.

4. ANA (4). Es un regulador de crecimiento comúnmente utilizado para promover la organogénesis celular.

5. Picloram. Este tipo de regulador es utilizado recientemente para la inducción de callo.

Las auxinas difieren en la actividad fisiológica, en el desplazamiento dentro de los tejidos, en la metabolización y en la conjugación.

La escogencia de una auxina y su concentración en el medio depende de:

1. La clase de crecimiento y desarrollo necesario.
2. Los niveles naturales dentro del explante.
3. La capacidad de los tejidos de sintetizar auxina naturalmente.
4. La interacción entre auxinas sintéticas y auxinas naturales endógenas. (5)

b. Funcionamiento. Las auxinas actúan de tres formas: aumento en el alargamiento celular; incremento del metabolismo energético y cambio en el tipo de ARN. Las enzimas y proteínas son la base de muchos efectos auxínicos, importantes en la agricultura.

Las auxinas desempeñan un papel importante en la fase de alargamiento en muchos órganos. Los límites máximos de concentración para el alargamiento celular varían grandemente en los diferentes tejidos y en las concentraciones. Las auxinas estimulan el crecimiento de tallos y hojas pero en concentraciones diferentes para cada uno. En la raíz el ácido indolacético en concentraciones altas tiene efecto inhibitorio.

c. Modo de acción. Las auxinas parecen tener dos efectos en el proceso de alargamiento celular; aumenta la plasticidad de la pared y participan directa o indirectamente en las reacciones mediante las cuales se depositan nuevas moléculas de célula dentro de las paredes; sin embargo, el efecto de las auxinas en el desarrollo de la pared celular se considera en la actualidad no como un efecto directo sino como una posible reacción final de un proceso metabólico condicionado o regulado por la hormona.

Hay pruebas abundantes que las auxinas actúan primariamente como agentes catalíticos o reguladores en alguna fase del metabolismo de los carbohidratos.

d. Efecto sobre los cultivos *in vitro*. Las auxinas son generalmente necesarias para inducir la formación de callo. El 2,4-D y el picloram son las auxinas utilizadas con más frecuencia, para este propósito.

Para la inducción de callo en dicotiledóneas se utilizan concentraciones entre 1mg/l y 3 mg/l. En el caso de las monocotiledóneas las concentraciones son mas altas, 2 mg/l a 10 mg/l.

Otros efectos producidos en los explantes son: inhibir la formación de clorofila, inducir la formación de embriones y participar en la formación de tallos y raíces, aunque este último proceso es dependiente de la interacción auxina/citocinina. Durante la multiplicación de tallos, bajas concentraciones de auxinas son empleadas con altos niveles de citocininas. Las auxinas también son indispensables para promover el crecimiento inicial de meristemas y ápices.

e. Fijación auxínica. Las auxinas sintéticas agregadas al medio de cultivo pueden ser absorbidas por sitios de fijación en los tejidos y ser liberadas posteriormente, como por ejemplo se ha transferido explante a un nuevo medio que no contiene auxina. Esto constituye un problema a la hora que se quiere reducir la auxina para inducir procesos morfogénéticos. El grado de fijación y liberación varía según el genotipo y la auxina utilizada. En ciertos casos la absorción de auxina es tal, que es necesario transferir varias veces los cultivos a un medio desprovisto de esta sustancia que elimine sus efectos.

f. Regulación de niveles endógenos. La capacidad potencial de diferenciación, división y morfogénesis depende no solo de la concentración de auxina exógena, sino también del nivel endógeno en la planta y de la interacción entre estas dos fuentes.

La regulación del nivel endógeno ocurre por la variación natural de su biosíntesis y su metabolismo. Los tejidos meristemáticos y tejidos juveniles, presentan naturalmente altos niveles de inhibidores de la peroxidasa. Se ha observado que los fenoles y sus derivados son inhibidores de las enzimas oxidativas.

g. Biosíntesis de la auxina. El aumento de AIA es consecuencia del enriquecimiento del medio con el aminoácido triptófano porque éste se convierte en AIA. Las vías de síntesis del AIA se basan en la presencia de intermediarios y su actividad biológica, además en el aislamiento de enzimas capaces de convertir *in vitro* estos intermediarios en AIA. Así se han podido establecer cuatro vías de biosíntesis: la vía del ácido indolpiruvico, la vía de la triptamina, la vía de la indolacetoxima y la vía del triptofol.

h. Antiauxinas. La primera molécula en que se detectó acción antiauxínica fue la del ácido tri-fenilbutírico. Sin embargo la molécula, que más cerca está del prototipo de antiauxina es el ácido 2,4-diclorofenoxi isobutírico.

i. Efecto tóxico de las auxinas. La aplicación de auxinas, en concentraciones relativamente altas, produce como resultado la aparición de deformaciones en las plantas, tales como: distorsiones en las hojas, tallos y raíces, así como en decoloración de las hojas, inhibición del alargamiento del tallo o las raíces, apertura floral y formación de tumores (4).

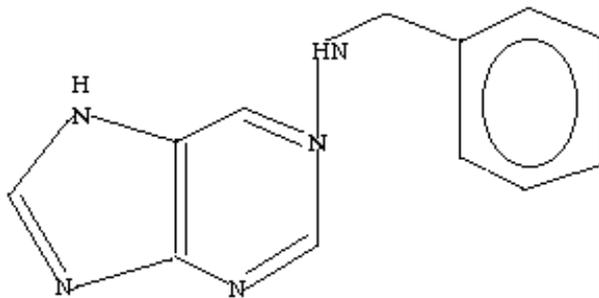
## B. Citocininas.

Las citocininas son derivadas de la adenina y tienen un papel fundamental en la diferenciación y regeneración de plantas en la mayoría de las especies. Inducen la división celular, la proliferación y morfogénesis de la parte aérea.

a. Citocininas comúnmente utilizadas en cultivo de tejidos.

### 1. Bencilaminopurina (BAP).

Según Torres, Teixeira y Campos (22), la 6-bencilaminopurina es una aminopurina, derivada de la adenina. Su peso molecular es de 225.26 g/mol y su fórmula química es  $C_{12}H_{11}N_5$ . Esta pertenece al grupo de la citocininas, las cuales estimulan la división celular y la citocinesis, su punto óptimo está alrededor de 0.03 ppm a 30 ppm (figura 2).



Fuente: Manual de productos químicos Bayer

**FIGURA 2.** Estructura química de la bencilaminopurina

2. Zeatina: promueve el crecimiento de tallo.

3. Cinetina: en la papa es la única sustancia que junto con el ácido giberélico induce la proliferación de tallo (4).

b. Actividad biológica. El efecto de las citocininas es más notable en cultivos de tejidos cuando son usadas con las auxinas, éstos estimulan la división celular y controlan la morfogénesis.

c. Modo de acción. Su efecto es igual al de las condiciones naturales. Sus funciones son: aumenta la cantidad de ADN, estimula la síntesis de proteínas, inhibe las auxinas oxidasas, tiene implicación en el metabolismo de los carbohidratos, en la actividad enzimáticas de las vías glucolíticas y oxidativas de las pentosas fosfato y están presentes en la transferencia molecular del ARN.

d. Especificidad de acción. La acción de las citocininas es dependiente de la luz. El efecto citocinínico varía según el compuesto utilizado y el tipo de cultivo.

e. Efecto en el cultivo de tejidos. Las citocininas son necesarias en la división celular, pues en un medio donde la citocinina es limitada, la división celular puede detenerse en una de sus fases.

Las citocininas son muy efectivas para promover directa o indirectamente la iniciación de brotes, los cuales se forman en una superficie meristemática. La formación de brotes adventicios, es regulada por una interacción entre auxinas y citocininas.

Un balance entre auxinas y citocininas, normalmente dan la más efectiva organogénesis.

Las citocininas pueden promover el crecimiento de las raíces o la formación de raíces adventicias en ausencia de auxinas.

Las bajas concentraciones de citocininas, inducen la formación de callos embriogénicos, especialmente en plantas de hoja ancha. La presencia de citocininas endógenas, puede ser responsable de la inhabilidad para obtener embriogénesis en algunos genotipos.

Biosíntesis de las citocininas. Las citocininas se sintetizan comúnmente en los ápices radicales, la ruta de biosíntesis es desconocida hasta el momento, sin embargo se tienen datos que indican que ésta se produce por la isopentenilación de la adenina monofosfato o por degradación de la molécula de ARNt. (4)

### C. Interacción auxina-citocinina.

Muchos efectos de la diferenciación celular y organogénesis son controlados por esta interacción (figura 3).



**FIGURA 3.** Efecto de la interacción auxina - citocinina en cultivo de tejidos (IICA)

Sin embargo no siempre se tienen estos resultados. En las monocotiledóneas, el callo es inducido por altos niveles de auxinas sin necesidad de aportar citocinina. En estos callos la organogénesis es promovida al transferir los cultivos a un medio carente de reguladores, no obstante en general es necesario un balance entre auxinas y citocininas para la formación de tallos adventicios y meristemos radicales (4).

### D. GIBERELINAS.

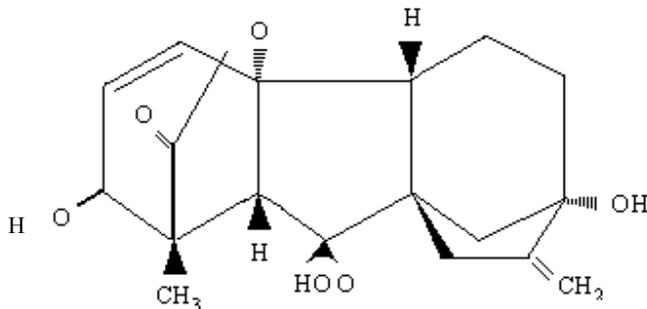
Son compuestos que tienen esqueleto giberelico y estimulan la división o la prolongación celular o ambas cosas. Existen más de 71 giberelinas hasta el momento y su número sigue creciendo, todas las giberelinas tienen la misma estructura química, el ent-gibereleno y se diferencian unas de otras únicamente por las características de los grupos laterales (-CH<sub>3</sub>; -CH<sub>2</sub>OH; CHO, etc.)(4)

a. Efectos fisiológicos de las giberelinas. Los efectos fisiológicos de las giberelinas son: alargamiento de entrenudos, estimulación de la floración, crecimiento de hojas y frutos, germinación y la brotación de yemas y se deben a la estimulación de enzimas específicas o a cambios en disponibilidad de auxina endógena.

b. Efectos *in vitro*. Inhibe la inducción de tallos y raíces por más de 2 o 3 subcultivos, también inhibe la formación de embriones somáticos y tiene poco o ningún efecto en la diferenciación de

células, estimula el crecimiento y el desarrollo en órganos preformados. Generalmente impide la formación de raíces. En el cultivo de ápices estimula el crecimiento y su presencia es generalmente crítica para permitir la elongación de los tallos formados (4).

c. Acido giberélico (GA3). Torres, Teixeira y Campos (22) expresan que el ácido giberélico puede provocar un aumento sorprendente en la prolongación de los brotes en muchas especies vegetales, su actividad biológica es muy variada principalmente en el crecimiento, ya que puede producir una elongación extraordinaria o enanos genéticos. El ácido giberélico incrementa la producción de auxinas y su punto óptimo esta alrededor de 0.1ppm. a 1ppm. Valores mayores de 1ppm. produce toxicidad. El peso molecular es 346.4 g/mol (figura 4).



Fuente: Manual de productos químicos Bayer

**FIGURA 4.** Estructura química del ácido giberélico (Merck MG aA)

### **3.1.2.6 Problemas que se pueden presentar durante el proceso de micropropagación.**

Uno de los problemas frecuentes es la oxidación de células dañadas por el corte (oxidación de fenoles). Este problema no se presenta en todas las especies, pero cuando ocurre es necesario utilizar soluciones antioxidantes como: PVP (5-10 g/l); ácido cítrico, ácido ascórbico y carbón activado.

Otro problema es orientar el desarrollo del explante en función de su naturaleza (4).

### **3.1.2.7 Estudios de cultivo de tejidos en berries.**

#### **A. Micropropagación de la frambuesa (*Rubus ideaus*).**

Welander (25) obtuvo una metodología para la propagación masiva de la frambuesa (*Rubus ideaus*), realizó el estudio en seis variedades de frambuesa utilizó el cultivo de yemas axilares. Los mejores resultados en cuanto a la producción de brotes se obtuvieron agregando en el medio de cultivo (Murashige y Skoog) la mitad de concentración de nitrato de amonio y nitrato de potasio y el regulador de crecimiento bencilaminopurina en una concentración de 1 mg/l.

En cuatro de las variedades se obtuvo 100% de respuesta en enraizamiento. Y en la etapa de aclimatación obtuvo el 90% de respuesta.

#### **B. Micropropagación de la fresa (*Fragaria sp*)**

Slowik y Villalobos (20) realizaron estudios para obtener una metodología para la micropropagación de la fresa. Utilizaron como propágulos estolones de fresa los cuales fueron esterilizados superficialmente con alcohol al 70% y posteriormente con hipoclorito de sodio al 4%. los meristemas de un tamaño aproximado de 0.5 a 1 mm fueron extirpados en un microscopio de disección y sembrados en el medio Murashige y Skoog (1,962) modificado por Vine (1,968), el cual fue suplementado con agua de coco (10%), ácido indolbutírico 1ug/ml y Bacto-agar (0.7%), incubándose el material a una temperatura de 23 °C y un fotoperíodo de 16 horas.

Bajo estas condiciones se obtuvo en los primeros 20 días de la etapa inicial de incubación un 69% de callosidad, el porcentaje de plantas obtenidas con este sistema fue relativamente bajo.

## **3.2 MARCO REFERENCIAL.**

### **3.2.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.**

El experimento se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, bajo las condiciones siguientes:

1. Intensidad lumínica: de 1,000 a 4,000 lux.
2. Fotoperíodo: 16 horas luz por 8 de oscuridad
3. Temperatura: 25 °C (más o menos un grado).

### **3.2.2 ESTUDIOS REALIZADOS EN MICROPROPAGACIÓN DE *Rubus glaucus*:**

Kite y Kleyn (12) elaboraron una metodología en 1,981 para propagar mora *in vitro*, utilizaron el medio Murashige y Skoog suplementado con benciladenina y ácido giberélico.

En 1,990 Angarita y Ramírez (2) propagaron mora (*Rubus glaucus*) por medio de yemas axilares activas de plantas de mora cultivadas en invernadero, realizaron ensayos para determinar el desinfectante y la concentración necesaria para la desinfección y encontraron que el hipoclorito de sodio al 0.5% durante cinco minutos produjo el mejor resultado. Concentraciones y tiempos mayores no promovieron la supervivencia del explante. En segundo término establecieron el uso del mejor antioxidante, ya que se detectó un proceso de oxidación generalizado desde el inicio de cultivo *in vitro*, el antioxidante que presentó mejor resultado fue el ácido ascórbico en la concentración 100 ppm.

Además realizaron ensayos para obtener el balance hormonal óptimo, probando el efecto de la kinetina y la bencilaminopurina en diferentes concentraciones adicionadas a un medio básico MS suplementado con ácido naftalenacético (0.1 ppm), calificando el desarrollo de la plántula, el número de folíolos y la presencia de callo. También determinaron que la bencilaminopurina (3ppm) produjo el mejor resultado. En el siguiente ensayo probaron la interacción citocinina-giberelina; el mejor resultado se obtuvo con ácido giberélico (1ppm) y bencilaminopurina (3ppm). Posteriormente se hizo un ensayo con el objeto de obtener tallos verdaderos y brotes múltiples, para lo cual se probó el ácido indolacético (0.1ppm) en interacción con las hormonas anteriormente probadas, obteniendo como resultado de esta interacción plántulas óptimas para la micropropagación.

En el año 2,000, Muralanda, Gonzaga y Castro (13), desarrollaron una metodología para la propagación industrial de mora de castilla (*Rubus glaucus*). Para la multiplicación masiva de mora utilizaron el medio Murashige y Skoog a la mitad de la concentración con M-inositol 100 mg/l y Tiamina 0.01 mg/l. Como reguladores de crecimiento bencilaminopurina 1 mg/l y ácido giberélico 1 mg/l y phytigel 2.7 g/l como gelificante.

Para la producción de callo utilizaron fragmentos de hoja de plantas propagadas *in vitro*. El medio empleado fue Murashige y Skoog en la mitad de su concentración y suplementado con 1 mg/l de 2,4-D y 1 mg/l de cinetina. La inducción de brotes la obtuvieron utilizando el medio Murashige y Skoog en la mitad de su concentración con niveles de cinetina que oscilan entre 0,2-0,5 mg/l.

Muralanda, Gonzaga y Castro (14) determinaron el tiempo ideal entre subcultivos, que puede oscilar entre 1 y 2 meses, durante la fase de multiplicación. Así mismo definieron una fase de elongación y enraizamiento con ácido indolacético solo o combinado con bencilaminopurina, previo al establecimiento en invernadero. Para el establecimiento *ex vitro* utilizaron como sustrato jiffy pellets por la buena formación de raíz y excelente desarrollo aéreo que produce. Con esta metodología fue posible producir 100,000 plantas anuales.

## **4. OBJETIVOS.**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL.**

- Establecer una metodología para la micropropagación de mora (*Rubus hadrocarpus* forma *adenophorus*).

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Determinar la combinación de bencilaminopurina en los niveles de (0 ppm, 0.5 ppm, 3 ppm, y 7 ppm) y el ácido giberélico en los niveles de (0 ppm, 0.1 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm y 1.5 ppm), que producirá los mejores resultados en el número de brotes, tamaño de brotes y número de hojas en yemas axilares de mora (*Rubus hadrocarpus* forma *adenophorus*).
- Determinar la combinación de bencilaminopurina en los niveles de (0 ppm, 0.1 ppm, 0.5 ppm y 1 ppm) y ácido indolacético en los niveles de (0 ppm, 0.1ppm, 0.5ppm, 1ppm y 3ppm), que producirá los mejores resultados en el número de raíces por explante.

## 5. HIPÓTESIS.

- La bencilaminopurina en una concentración de 3 ppm y el ácido giberílico en la concentración de 1ppm inducirán la formación adecuada de brotes y hojas en yemas axilares de mora (*Rubus hadrocarpus* forma adenophorus).
- La bencilaminopurina en una concentración de 1 ppm y el ácido indolacético en una concentración de 0.1 ppm inducirá la formación adecuada de raíces en explantes de mora (*Rubus hadrocarpus* forma adenophorus).

## 6. METODOLOGÍA

La investigación constó de dos etapas las que se describen a continuación.

### 6.1 INDUCCIÓN DE BROTES.

Para la inducción de brotes se utilizó el medio básico de cultivo de Murashige y Skoog (1,962) a la mitad de su concentración (cuadro 19A) Los reguladores de crecimiento se aplicaron de acuerdo a cada tratamiento.

#### 6.1.1 TRATAMIENTOS.

Los tratamiento para la inducción de brotes, están determinados por las combinaciones de cuatro niveles de bencilaminopurina (BAP y cuatro niveles de ácido giberélico (GA3) más un testigo, para un total de 17 tratamiento con 10 repeticiones, los cuales hacen 170 unidades experimentales (cuadro 3). El número de repeticiones se seleccionó con base en la cantidad de material disponible y no con base al diseño experimental, sin embargo el número de repeticiones seleccionado es válido para minimizar el efecto del error experimental.

**Cuadro 3.** Tratamientos para evaluar la inducción de brotes en yemas axilares de mora (*Rubus hadrocarpus* forma adenophorus).

Tratamiento	BAP (mg/l)	AG3 (mg/l)
1 (testigo)	0	0
2	0.5	0.1
3	3.0	0.1
4	5.0	0.1
5	7.0	0.1
6	0.5	0.5
7	3.0	0.5
8	5.0	0.5
9	7.0	0.5
10	0.5	1.0
11	3.0	1.0
12	5.0	1.0
13	7.0	1.0
14	0.5	1.5
15	3.0	1.5
16	5.0	1.5
17	7.0	1.5

### **6.1.2 SELECCIÓN Y COLECTA DEL MATERIAL VEGETAL.**

Para la selección del material vegetal se realizó un recorrido por la aldea La Cumbre, Tecpán Guatemala y se entrevistó a agricultores<sup>2</sup> con respecto a las plantaciones de mora más productivas.

Luego se colectó material vegetal y se identificó con los siguientes datos: número, fecha, lugar de colecta y características importantes de las plantas.

El material vegetal se colocó en una prensa y se trasladó al herbario de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala para su determinación.

Determinadas las especies se realizó un análisis de la información recopilada para establecer la calidad productiva de cada una.

La planta seleccionada se propagó por el método de siembra, Plántulas Enraizadas, en el Centro Experimental Docente de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Se escogieron las yemas axilares de las partes medias de las ramas, pues según el análisis previo, éstas resultaron ser las más apropiadas para la micropropagación, ya que son menos susceptibles a la oxidación y más fáciles de manipular, el material seleccionado se colocó en una solución de antibióticos y antioxidantes por espacio de dos horas, debido a que tiempos menores no produce efecto sobre la eliminación de microorganismos y tiempos mayores produce la oxidación de los explantes (Cuadro 20 A).

### **6.1.3 LAVADO Y DESINFECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.**

En la cámara de flujo laminar se lavaron los explantes con agua desmineralizada estéril durante 5 minutos por 3 veces seguidas, para eliminar el exceso de la solución de antibióticos y antioxidantes.

Para completar su esterilización se colocaron los explantes en alcohol al 95% por espacio de un minuto. Un lavado posterior eliminó el alcohol para finalizar la esterilización con hipoclorito de sodio al 2% por un espacio de 3 minutos debido a que concentraciones y tiempos mayores producen la oxidación del explante. Por último se eliminó el residuo de hipoclorito de sodio con agua desmineralizada estéril y se colocaron los explantes en una solución de 150 ppm de ácido cítrico (antioxidante), mientras se procedió a la siembra.

---

<sup>2</sup>García, M. 2,002. Caracterización de cultivares de mora. (entrevista). Aldea La Cumbre, Tecpán Guatemala.  
Rucux Coló, C. 2,002. Caracterización de cultivares de mora (entrevista). Aldea La Cumbre, Tecpán Guatemala.  
Sinai, R. 2,002. Caracterización de cultivares de mora (entrevista). Aldea La Cumbre, Tecpán Guatemala.  
Suárez Suy, D. 2,002. Caracterización de cultivares de mora (entrevista). Aldea La Cumbre, Tecpán Guatemala.  
Coló, M. 2002. Caracterización de cultivares de mora (entrevista). Aldea La Cumbre, Tecpán Guatemala.

#### **6.1.4 SIEMBRA.**

En la cámara de flujo laminar se eliminaron las espinas y hojas que recubrían la yema axilar y se sembró el explante en el medio de cultivo para la inducción de brotes. Para evitar la contaminación del propágulo se realizó la siembra cerca de la flama de un mechero y con instrumentos esterilizados con alcohol etílico y calor.

#### **6.1.5 INCUBACIÓN.**

Se colocaron los explantes en el cuarto de crecimiento por espacio de mes y medio. Se realizó una visita semanal al cuarto de crecimiento para comprobar si la contaminación u oxidación afectaban el proceso de desarrollo del explante.

#### **6.1.6 ANÁLISIS EXPERIMENTAL:**

##### **6.1.6.1 Diseño experimental.**

El diseño que se utilizó fue el Completamente al Azar Con Arreglo Combinatorio y el análisis de medias se realizó por medio de la prueba de Tukey al 5%. Para estos análisis fue necesario hacer ajustes de datos, debido a que los originales no cumplieron con el supuesto de normalidad. La prueba de bondad que se utilizó para la normalidad fue la de Shapiro-Wilks por ser la más sencilla de realizar y las transformaciones que se hicieron fueron la Logarítmica ( $\log X+1$ ) en el caso de la variable tamaño de brotes y la Raíz Cuadrada ( $\sqrt{X+0.5}$ ) para el resto de las variables.

##### **6.1.6.2 Modelo Estadístico.**

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Siendo:

$Y_{ij}$  = variable respuesta a evaluar

$\mu$  = media general

$A_i$  = efecto del i-ésimo tratamiento de bencilaminopurina

$B_j$  = efecto del j-ésimo tratamiento del ácido giberélico

$(AB)_{ij}$  = efecto de la interacción del i-ésimo tratamiento bencilaminopurina y el j-ésimo tratamiento del ácido giberélico

$\epsilon_{ijk}$  = error experimental.

### **6.1.6.3 Unidad experimental.**

Consistió en un tubo de ensayo de 150 mm de largo por 25 mm de diámetro, al cual se agregó 10 ml de medio de cultivo.

### **6.1.6.4 Variables de Respuesta.**

Las variables de respuesta que se evaluaron fueron:

- **Número de Brotes:** al mes y medio del proceso de incubación se procedió a contar el número de brotes presentes en los explantes.
- **Tamaño de brotes.** Con la utilización de una regla se realizó una medición estimada en centímetros, de la longitud de los brotes.
- **Número de hojas por brote.** Se contó el número de hojas de cada brote, luego se calculó el promedio de hojas por brote en cada explante.

#### **A. Otras variables.**

Se consideró necesario hacer el análisis de las variables número de nudos y longitud entrenudos ya que éstas son claves en la propagación masiva de las especies.

## **6.2 INDUCCIÓN DE RAÍCES**

Para la inducción de raíces se utilizó el medio Murashige & Skoog a la mitad de su concentración (cuadro 19 A).

### **6.2.1 TRATAMIENTOS.**

Los tratamientos se formaron con la combinación de tres niveles de bencilaminopurina y cuatro niveles de ácido indolacético, más un tratamiento testigo. El número de repeticiones fue de 13. El número de repeticiones se seleccionó con base en la cantidad de material disponible y no con base al diseño experimental, sin embargo el número de repeticiones seleccionado es válido para minimizar el efecto del error experimental. (cuadro 4).

**Cuadro 4.** Tratamientos que se evaluaron para la inducción de raíces.

Tratamiento	AIA (mg/l.)	BAP (mg/l)
1 (testigo)	0	0
2	0.1	0.1
3	0.5	0.1
4	1.	0.1
5	3.	0.1
6	0.1	0.5
7	0.5	0.5
8	1.	0.5
9	3.	0.5
10	0.1	1.
11	0.5	1.
12	1.	1.
13	3.	1.

#### **6.2.2 CULTIVO DE EXPLANTES.**

Los brotes producidos *in vitro* fueron seccionados de tal manera que se dejó un nudo, en cada explante. El cual fue sembrado posteriormente en el medio de cultivo para su enraizamiento.

#### **6.2.3 INCUBACIÓN.**

Los explantes se colocaron en el cuarto de crecimiento por espacio de 2 meses, tiempo en el cual la planta completó el desarrollo de sus raíces. Se realizó una visita semanal al cuarto de crecimiento para comprobar si el proceso de desarrollo del explante había sido afectado o no por la contaminación u oxidación.

#### **6.2.4 TOMA DE DATOS.**

Se contó y anotó el número de raíces producidas por unidad experimental.

#### **6.2.5 DISEÑO EXPERIMENTAL.**

El diseño que se utilizó fue el Completamente al Azar con Arreglo Combinatorio, y el análisis de medias se realizó por medio de la prueba de Tukey al 5%. Para estos análisis fue necesario hacer ajustes de datos debido a que los originales no cumplieron con el supuesto de normalidad. La prueba de bondad que se utilizó para la normalidad fue la de Shapiro-Wilks por ser la más sencilla de realizar. La transformación que se utilizó en la variable número de raíces fue la de Raíz Cuadrada ( $\sqrt{X+0.5}$ ).

### **6.2.5.1 Modelo Estadístico.**

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Siendo:

$Y_{ij}$  = Variable respuesta a evaluar

$\mu$  = Media general.

$A_i$  = Efecto del i-ésimo tratamiento de bencilaminopurina

$B_j$  = Efecto del j-ésimo tratamiento de ácido indolacético

$(AB)_{ij}$  = Interacción del i-ésimo tratamiento de bencilaminopurina y el j-ésimo tratamiento de ácido indolacético.

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental

#### **A. Variable de respuesta.**

La variable que se evaluó fue el número de raíces, las cuales fueron contadas a los dos meses de incubación.

#### **B. Unidad experimental.**

La unidad experimental la constituyó un tubo de cultivo de 150mm de longitud por 25 mm de diámetro y con 10 ml del medio de cultivo para regeneración.

### **6.3 PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.**

Los resultados se presentaron por medio de cuadros, gráficas y fotografías, para facilitar su comprensión.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mora (*Rubus hadrocarpus*) es una planta propensa a la oxidación y contaminación, por consiguiente previo a realizar el experimento fue necesario hacer pruebas previas. Para la desinfección se obtuvo que hipoclorito de sodio al 2% por tres minutos produjo el mejor resultado a diferencia Angarita y Ramirez (2) en *Rubus glaucus* utilizaron este mismo desinfectante pero al 0.05% y por espacio de cinco minutos (cuadro 21 A).

Para erradicar la oxidación se hizo el análisis de tres antioxidantes en diferentes concentraciones, el mejor resultado se obtuvo con carbon activado al 0.5% (22 A). Angarita y Ramirez (2) en *Rubus glaucus* usaron el ácido ascórbico a 100 ppm.

### 7.1 NÚMERO DE BROTES.

El número de brotes en las plantas, está vinculado con el tipo de especie vegetal y la acción de los reguladores de crecimiento. La morfología de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus presenta la existencia de un único brote producido por cada yema axilar, sin embargo el comportamiento *in vitro* y el efecto de los reguladores de crecimiento exógenos produjeron efectos diferentes.

De acuerdo al análisis de la varianza del número de brotes, se llegó a establecer que hubo diferencias significativas en la interacción entre el ácido giberélico y la bencilaminopurina, por lo que se deduce que al menos uno de los tratamientos es significativamente diferente a los otros. (cuadro 5).

Cuadro 5 Análisis de la varianza del efecto de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el número de brotes de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	valor de F	Pr>F
Efecto de BAP	3	0.4546315	0.15154383	5.77	0.001**
Efecto de GA <sub>3</sub>	3	0.09435488	0.03145163	1.2	0.3135 <sup>NS</sup>
Efecto de repeticiones	9	0.49427177	0.05491909	2.09	0.0345 *
Efecto de interacción	9	0.50616653	0.05624073	2.14	0.0302 *
Efecto de error experimental	135	3.5475451	0.02627811		
Total	159	5.09696977			

CV 13.49

\*\* Diferencia altamente significativa<sup>NS</sup> No significativa

\* Diferencia significativa

La concentración de la bencilaminopurina para la proliferación de yemas axilares y del ácido giberélico en la división y prolongación celular depende de los requerimientos de cada especie vegetal. En el caso de *Rubus hadrocarpus* forma *adenophorus*, la prueba de Tukey al 5% (cuadro 6), estableció que el tratamiento 13 (7mg/l BAP, 1mg/l GA<sub>3</sub>), presentó el mayor número de brotes, empero no hubo diferencia significativa entre éste, y el resto de tratamientos con excepción del 16 (5 mr/l BAP, 1.5 mr/l de GA<sub>3</sub>) y 17 (7 mr/l BAP, 1.5 mr/l de GA<sub>3</sub>).

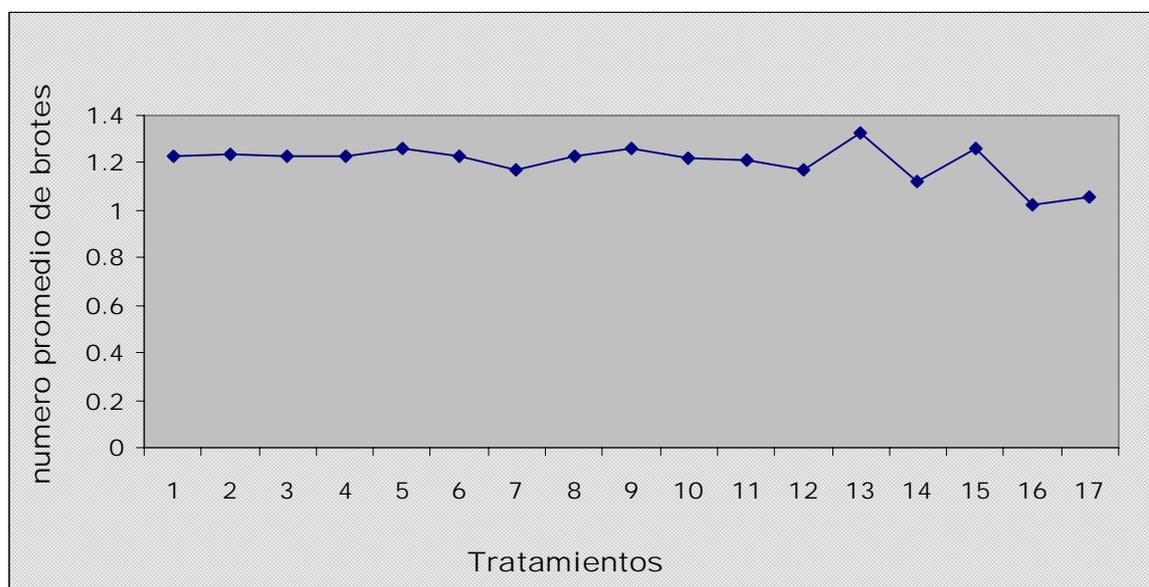
Un hecho importante a destacar es que los tratamientos 13, 9 y 5, en alguna de sus unidades experimentales, produjeron más de un brote aunque la mayoría produjeron un brote por explante. Cuando se analizó estos tratamientos se pudo constatar contenían la mayor concentración de bencilaminopurina y la menor concentración del ácido giberélico.

El resto de tratamientos produjeron un brote por explante con inclusión del testigo, lo que indica que la planta aún en ausencia de reguladores de crecimiento exógenos es capaz de brotar.

Los tratamientos 16 y 17 presentaron resultados no deseables para la micropropagación, ya que el 50% y 30% de las unidades experimentales respectivas no brotaron, presentando serios problemas de toxicidad, la cual se manifestó en oxidación y muerte del explante. Thorpe(21), indica que la concentración de ácido giberélico mayor de 1ppm produce toxicidad en las plantas. En este caso la toxicidad se expresó en los tratamientos de bencilaminopurina y ácido giberélico 5/1.5 ppm y 7/1.5 ppm, sin embargo los tratamientos 14 y 15 con bencilaminopurina y ácido giberélico 3/1.5 ppm y 0.5/1.5 ppm solo presentaron problemas leves de toxicidad (figura 5).

**Cuadro 6.** Prueba de Tukey con 5% de significancia para el efecto de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el número de brotes de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus.

Tratamientos	Descripción		Promedio de brotes	Grupo Tukey
	BAP	GA3		
13.	7	1	1.33	A
9.	7	0.5	1.26	AB
5.	7	0.1	1.26	AB
15	3	1.5	1.26	AB
2.	0.5	0.1	1.24	AB
3.	3	0.1	1.23	AB
4.	5	0.1	1.23	AB
1.	0	0	1.23	AB
6.	0.5	0.5	1.23	AB
8.	5	0.5	1.23	AB
10.	0.5	1	1.23	AB
11.	3	1	1.21	B
12.	5	1	1.17	BC
7.	3	0.5	1.17	BC
14	0.5	1.5	1.12	BC
17	7	1.5	1.05	DE
16	5	1.5	1.02	E



**FIGURA 5** Distribución de los tratamientos de acuerdo al número promedio de brotes.

Los datos de número de brotes por unidad experimental se detallan en el cuadro 24 A.

## 7.2 TAMAÑO DEL BROTE.

La longitud del brote producido *in vitro* está controlada por la concentración de los reguladores de crecimiento endógeno y exógeno y depende de cada especie vegetal. La bencilaminopurina estimula la división celular, y el ácido giberélico la división y el alargamiento celular (4).

De acuerdo al análisis de la varianza de la longitud de brotes, se llegó a establecer que existió diferencia altamente significativa, en cuanto a la interacción entre el ácido giberélico y la bencilaminopurina (cuadro 7).

Cuadro 7. Análisis de la varianza de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el tamaño de brote de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	valor de F	Pr>F
Efecto de BAP	3	8.63744319	2.87914773	21.46	0.0001**
Efecto de GA <sub>3</sub>	3	1.36593051	0.4531017	3.39	0.0199*
Efecto de repeticiones	9	1.05108034	0.1167867	0.87	0.5533 <sup>NS</sup>
Efecto de interacción	9	3.49115878	0.38790653	2.89	0.0037**
Efecto de error exp.	135	18.1117188	0.13416088		
Total	159	14.5456128	0.6060672		

CV 24.8

\*\* Diferencia altamente significativa

<sup>NS</sup> No significativa

\* Diferencia significativa

En cuanto a la información proporcionada en el análisis de las medias, por medio de la prueba de Tukey al 5%, (cuadro 8), se llegó a determinar que el tratamiento 12 con bencilaminopurina y ácido giberélico de 5/1 ppm, presentó la mayor altura, sin embargo no existió diferencia significativa entre éste y los tratamientos 1, 3, 5, 6, 10 y 11, lo que indica que el testigo se encuentra en un rango aceptable para la micropropagación, pues contiene cantidades endógenas de reguladores de crecimiento, suficientes para inducir la brotación y el crecimiento.

El comportamiento *in vitro* de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus es semejante al de *Rubus glaucus*, según estudios realizados por Angarita y Ramírez en 1990 (2), de acuerdo al ácido giberélico en concentración de 1ppm, pero con respecto a la bencilaminopurina es necesario continuar realizando estudios para encontrar la dosis adecuada.

El resto de tratamientos produjo efectos semejantes en cuanto a la variable longitud de brotes, en un rango no aceptable para la micropropagación. Los tratamientos 16 y 17 son los menos indicados para la propagación ya que los reguladores en estas concentraciones limitan el desarrollo del brote (figura 6).

Cuadro 8. Prueba de Tukey con 5% de significancia, sobre la interacción de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el tamaño de los brotes de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus.

Tratamientos	Descripción		Tamaño de brotes	
	BAP	GA <sub>3</sub>	Medias	Grupo Tukey
12	5	1	2	A
11	3	1	1.91	AB
1	0	0	1.78	ABC
10	0.5	1	1.74	BC
3	3	0.1	1.71	BC
5	7	0.1	1.70	BCD
6	0.5	0.5	1.67	BCD
2	0.5	0.1	1.55	CDE
13	7	1	1.48	CDEF
7	3	0.5	1.41	DEFG
15	3	1.5	1.34	EFGH
8	5	0.5	1.33	EFGH
4	5	0.1	1.31	FGH
9	7	0.5	1.24	FGH
14	0.5	1.5	1.16	GHI
16	5	1.5	1.05	HI
17	7	1.5	0.98	J

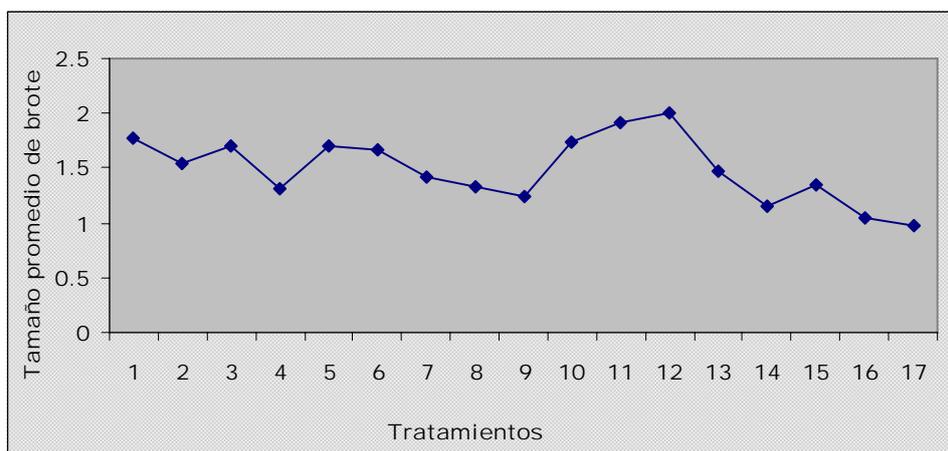
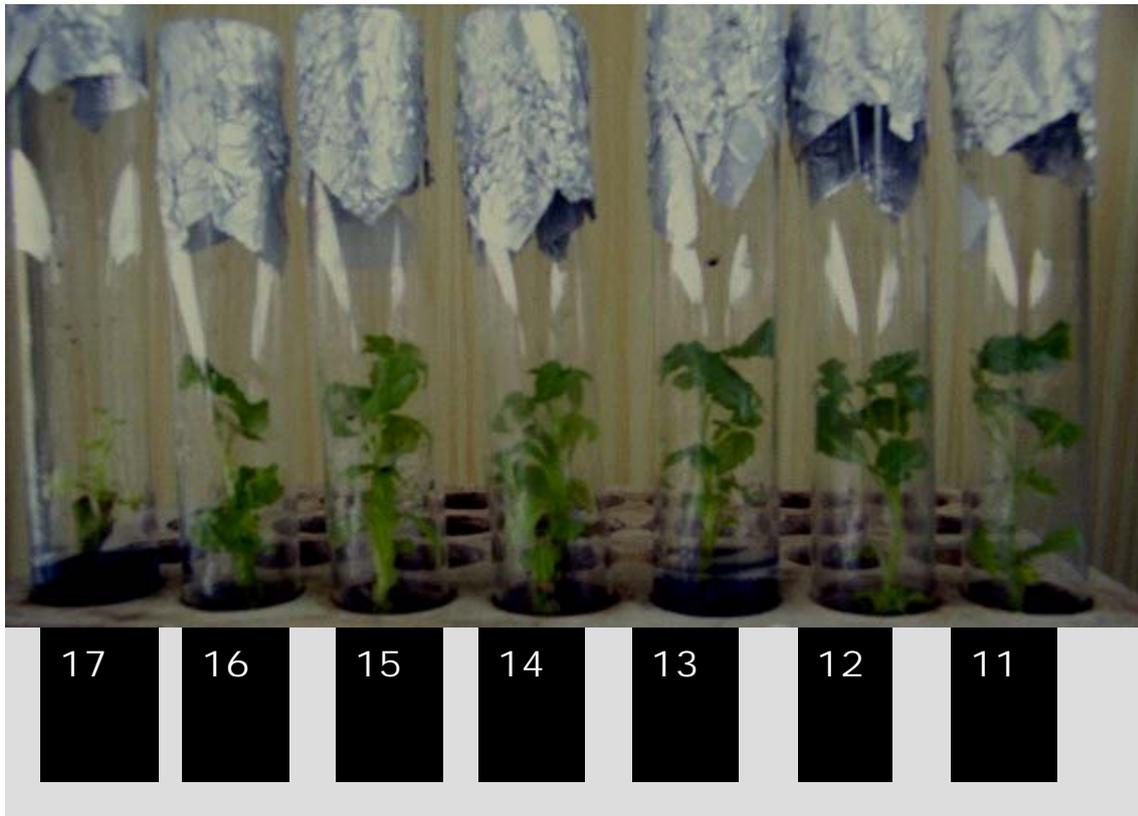


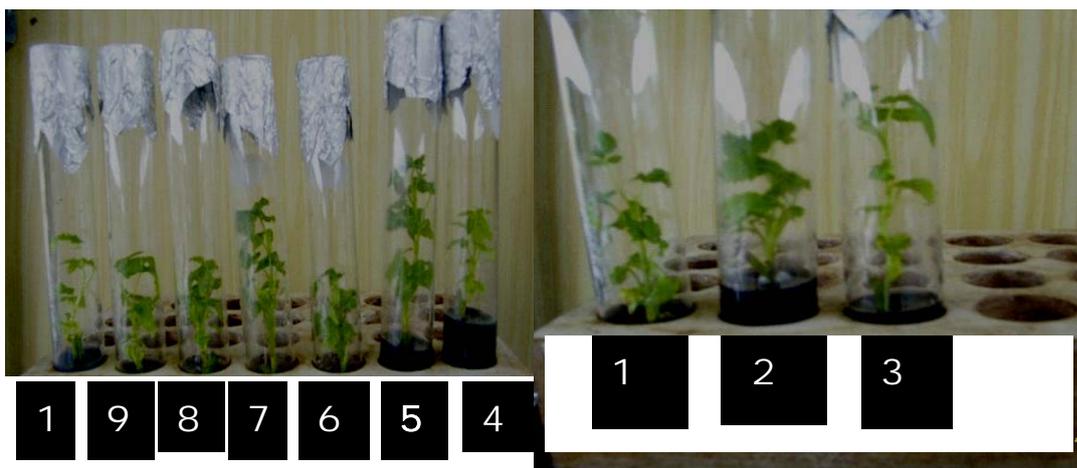
FIGURA 6 Distribución de los tratamientos de acuerdo a la longitud promedio de brotes.

Los valores de altura de brote por unidad experimental se detallan en el cuadro 24 A.



**FIGURA 7.** Fotografía del promedio de alturas en los tratamientos.

Los tratamientos tienen alturas casi homogéneas a excepción de los tratamientos 16 y 17, en los que se observan características de toxicidad (figura 7)



**FIGURA 8.** Fotografía de las alturas promedios de los tratamientos.

Algunos de los tratamientos mostraron deficiencia en crecimiento producto del efecto negativo de la combinación de los reguladores de crecimiento (figura 8).

### 7.3 NÚMERO DE HOJAS

El desarrollo de hojas es un indicador de sobrevivencia de las plántulas. El análisis de andeva indica que existió diferencia significativa en cuanto a la interacción entre la bencilaminopurina y el ácido giberélico, por lo que al menos uno de los tratamientos es estadísticamente diferente (cuadro 9).

Cuadro 9 análisis de la varianza del ácido giberélico y la bencilaminopurina sobre el número de hojas de *rubus hadrocarpus* forma adenophorus.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	valor de F	Pr>F
Efecto de BAP	3	22.0616813	7.35389376	21.14	0.0001**
Efecto de GA <sub>3</sub>	3	2.91068495	0.97022832	2.79	0.0431*
Efecto de repeticiones	9	6.14590923	0.6828788	1.96	0.0484*
Efecto de interacción	9	7.24432825	0.80492536	2.31	0.0188*
Efecto de error exp.	135	46.9708883	0.34793251		
Total	159	38.3626037			

CV 24.35

\*\* Diferencia altamente significativa <sup>NS</sup> No significativa

\* Diferencia significativa

De acuerdo al análisis de medias a través de la prueba de Tukey al 5%, se llegó a establecer que los tratamientos 12 y 11, mostraron los más altos valores en cuanto a número de hojas, por lo que se consideran los tratamientos más apropiados para la micropropagación.

Con respecto a los tratamientos 6, 10, 5, 2, 13, 3, 1, 8, 15 y 14 no existe diferencia estadística entre ellos y los resultados son aceptables para la micropropagación. El testigo se encuentra entre este grupo debido a que el explante contiene cantidades adecuadas de hormonas para completar su desarrollo.

El resto de tratamientos no produjo resultados aceptables por lo que no son recomendables en la micropropagación. El tratamiento 17 presentó resultados deficientes en cuanto al desarrollo de hojas debido a que las concentraciones altas de reguladores de crecimiento produjeron efectos desfavorables en el desarrollo de los explantes (cuadro 10).

Cuadro 10 Prueba de Tukey al 5% para la interacción bencilaminopurina-acido giberélico sobre el número de hojas en *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus.

Tratamientos	Descripción		Promedio de hojas	
	BAP	GA3	Medias	Grupo Tukey
12	5	1	2.745	A
11	3	1	2.702	A
6	0.5	0.5	2.655	AB
10	0.5	1	2.598	AB
5	7	0.1	2.591	AB
4	5	0.1	2.567	AB
2	0.5	0.1	2.558	AB
13	7	1	2.519	ABC
3	3	0.1	2.513	ABC
1	0	0	2.513	ABC
8	5	0.5	2.454	ABC
15	3	1.5	2.411	ABC
14	0.5	1.5	2.321	ABC
7	3	0.5	2.214	BCDE
9	7	0.5	2.114	CDE
16	5	1.5	1.902	DE
17	7	1.5	1.872	E

Se observó distribución homogénea en la variable número de hojas, debido a que no existe diferencia significativa entre los tratamientos a excepción de los tratamientos 16 y 17, los cuales presentaron deficiente desarrollo (figura 9).

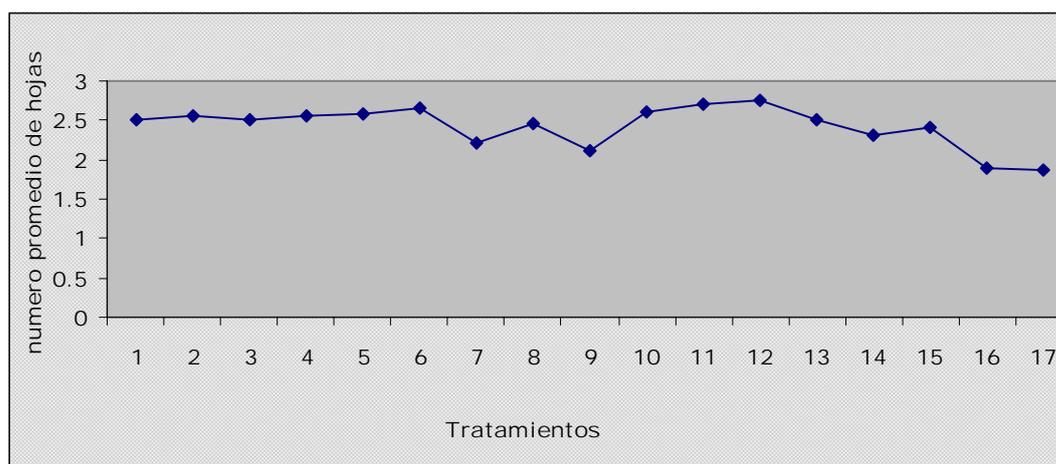


FIGURA 9. Grafica de distribución de los tratamientos de acuerdo al número de hojas.

Los resultados del número de hojas de cada unidad experimental pueden apreciarse en el cuadro 25 A.

## 7.4 NÚMERO Y LONGITUD DE NUDOS

La cantidad de plántulas a multiplicar, *in vitro*, esta determinada por el número y la longitud entrenudos. La longitud entrenudos se estimó dividiendo la altura total del explante entre el número de nudos por explante.

El análisis de la variable, número de nudos, estableció que existe diferencia altamente significativa en la interacción bencilaminopurina-ácido giberélico, lo que indica que por lo menos uno de los tratamientos produjo resultados estadísticamente diferentes (cuadro 11).

Cuadro 11. Análisis de la varianza de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre el número de nudos de *Rubus hadrocarpus* forma *adenophorus*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	valor de F	Pr>F
Efecto de BAP	3	12.2416527	4.0805509	20.5	0.0001**
Efecto de GA <sub>3</sub>	3	1.0002346	0.33341153	1.67	0.1754 <sup>NS</sup>
Efecto de repeticiones	9	1.30833617	1.30833617	0.73	0.6806 <sup>NS</sup>
Efecto de interacción	9	10.2179004	10.21790038	5.7	0.0001**
Efecto de error exp.	135	26.8751206	0.19907497		
Total	159	24.7681239	1.03200516		

CV 28.60

\*\* Diferencia altamente significativa      <sup>NS</sup> No significativa

\* Diferencia significativa

En cuanto al análisis de medias de la prueba de Tukey al 5% se llegó a establecer que el mejor resultado se produjo en el tratamiento 5 con niveles de bencilaminopurina y ácido giberélico de 7/0.01, no existiendo diferencia significativa entre los tratamientos 11, 12, 3, 10, 2, 6, 1 y 8 los cuales produjeron resultados bastante aceptables. Como es de observar el testigo se encuentra entre esta agrupación por lo que se deduce que contiene las cantidades necesarias de hormonas para producir el desarrollo de los explantes.

El resto de los tratamientos produjeron resultados no recomendables para la propagación masiva de mora. Los resultados menos favorables se produjeron en los tratamientos 16 y 17, lo que indica que los explantes no responden adecuadamente en concentraciones altas de ácido giberélico y de bencilaminopurina.

Cuadro 12. Prueba de Tukey con 5% de significancia  
Efecto de la interacción bencilaminopurina - ácido giberélico sobre el número de nudos

Tratamiento	Descripción		Promedio de nudos	
	BAP	GA3	Medias	Grupo Tukey
5	7	0.1	1.86	A
11	3	1	1.81	AB
12	5	1	1.76	ABC
3	3	0.1	1.72	ABCD
10	0.5	1	1.71	ABCD
6	0.5	0.5	1.64	ABCDE
1	0	0	1.64	ABCDE
8	5	0.5	1.58	ABCDE
13	7	1	1.53	BCDE
7	3	0.5	1.51	CDE
2	0.5	0.1	1.51	CDE
15	3	1.5	1.50	CDE
14	0.5	1.5	1.49	CDE
4	5	0.1	1.49	CDE
9	7	0.5	1.36	DE
16	5	1.5	1.32	E
17	7	1.5	1.18	E

Se determinó que los tratamientos 5,11 y 12 produjeron el mayor número de nudos, y los tratamientos 16 y 17 el menor numero de nudos por brote (figura 10).

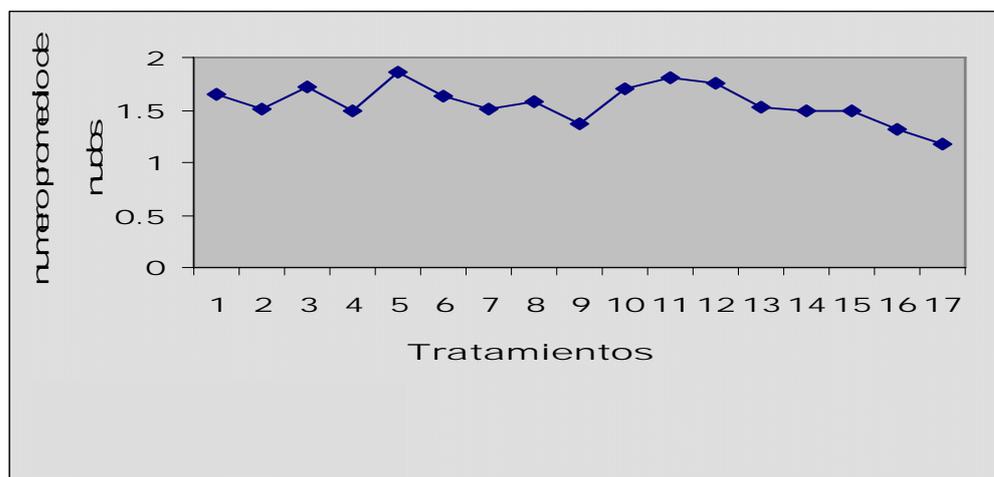


FIGURA 10. Grafica de distribución de los tratamientos de acuerdo al número de nudos.

Los datos del número de nudos están descritos en el cuadro 25 A.

El análisis de la varianza de la longitud entrenudos, mostró diferencia altamente significativa en el efecto de la bencilaminopurina y el ácido giberélico (cuadro 13), esto indicó que al menos uno de los tratamientos produjo resultados estadísticamente diferente y que la diferencia es independiente para cada factor ya que no existe significancia en cuanto a la interacción de factores.

Cuadro 13. Análisis de la varianza de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre la longitud entrenudos en brotes de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	valor de F	Pr>F
Efecto de BAP	3	1.3674	0.4558	11.8	0.0001**
Efecto de GA <sub>3</sub>	3	0.5594	0.1865	4.83	0.0032 <sup>++</sup>
Efecto de repeticiones	9	0.4860	0.054	1.4	0.1947 <sup>NS</sup>
Efecto de interacción	9	0.4286	0.0476	1.23	0.2799 <sup>NS</sup>
Efecto de error exp.	135	5.2128	0.0386		
Total	159	8.0542			

CV 18.28

\*\* Diferencia altamente significativa

<sup>NS</sup> No significativa

De acuerdo al análisis de la prueba de Tukey se pudo constatar que el tratamiento 3 (3ppm Bap y 0.1ppm GA<sub>3</sub>) produjo la mayor longitud entrenudos, sin embargo no existió diferencia significativa entre los tratamientos 6, 14, 7, 8, 10, 9, 15, 2, 5, 4, 11, 1, y 12. El resto de los tratamientos, aunque presentó valores más bajos de longitud entrenudos, estos son aceptables para la micropropagación, ya que el rango de aceptación es de 0.7cm, a 2cm. (cuadro 14 y figura 11).

Cuadro 14 análisis de medias de la prueba de Tukey al 5% de la bencilaminopurina y el ácido giberélico sobre la longitud de los nudos de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus.

Tratamiento	Descripción		Promedio de nudos	
	BAP	GA3	Medias	Grupo Tukey
3	3	0.1	1.16	A
6	0.5	0.5	1.15	A
14	0.5	1.5	1.16	A
7	3	0.5	1.15	A
8	5	0.5	1.12	A
10	0.5	1	1.12	A
9	7	0.5	1.11	A
15	3	0.5	1.09	A
2	0.5	0.1	1.09	A
5	7	0.1	1.08	A
4	5	0.1	1.07	A
11	3	1	1.07	A
1	0	0	1.04	A
12	5	1	1.03	A
16	5	1.5	0.97	B
13	7	1	0.94	B
17	7	1.5	0.92	B

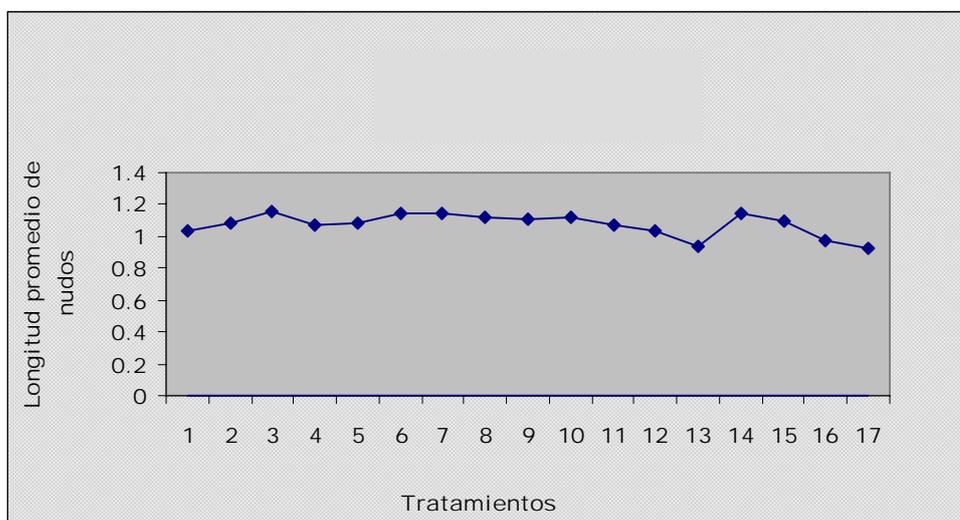


FIGURA 11. Grafica de distribución de los tratamientos de acuerdo a la longitud de los nudos.

Los datos de la longitud entrenudos se describen en el cuadro 26 A.

## 7.5 NÚMERO DE RAÍCES

El análisis de la varianza del número de raíces indicó que no existe diferencia significativa entre tratamientos, en cuanto a la interacción BAP-AIA, los valores para AIA tampoco produjeron significancia por lo que se procedió a evaluar el efecto de la bencilaminopurina la cual fue altamente significativa. Por lo que al menos uno de los tratamientos de bencilaminopurina produjo resultados estadísticamente diferentes (cuadro 15).

Cuadro 15. Análisis de la varianza de la bencilaminopurina y el ácido indolacético sobre el número de raíces en *Rubus hadrocarpus* forma *adenophorus*

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	valor de F	Pr>F
Efecto de BAP	3	5.69569042	1.89856347	6.07	0.0007**
Efecto de AIA	2	1.53101274	0.76550637	2.45	0.0906 <sup>NS</sup>
Efecto de repeticiones	12	8.34252519	0.69521043	2.22	0.0140 <sup>NS</sup>
Efecto de interacción	6	2.060206	0.34336767	1.1	0.3676 <sup>NS</sup>
Efecto de error exp.	135	41.31596	0.3129997		
Total	132	17.6294344	0.76649715		

CV 28.60

\*\* Diferencia altamente significativa

<sup>NS</sup> No significativa

De acuerdo a la prueba de Tukey se llegó a establecer que el mayor número de raíces se produjo con el tratamiento 11 (1ppm Bap, 0.5 ppm AIA) el resto de los tratamientos no produjo diferencia significativa a excepción de los tratamientos 4 (0.1ppm Bap, 1ppm AIA) y el tratamiento 6 (0.5ppm Bap, 0.1ppm AIA) que produjeron menor número de raíces. Como puede observarse el testigo se encuentra en un nivel aceptable de producción de raíces debido a que la planta tiene la cantidad de reguladores de crecimiento endógeno para su desarrollo (cuadro 16).

Cuadro 16. Prueba de Tukey con 5% de significancia sobre el efecto de la bencilaminopurina en el número de raíces de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus.

Tratamientos	Descripción		Promedio de raíces	
	BAP	AIA	Medias	Grupo Tukey
11	1	0.5	3.63	A
10	1	0.1	3.44	AB
3	0.1	0.5	3.32	ABC
8	0.5	1	3.23	ABCD
7	0.5	0.5	3.2	BCD
5	0.1	3	3.18	BCD
13	1	3	3.17	BCD
2	0.1	0.1	3.09	BCD
1	0	0	3.06	CDE
9	0.5	3	2.94	CDE
12	1	1	2.8	DE
6	0.5	0.1	2.78	E
4	0.1	1	2.62	E

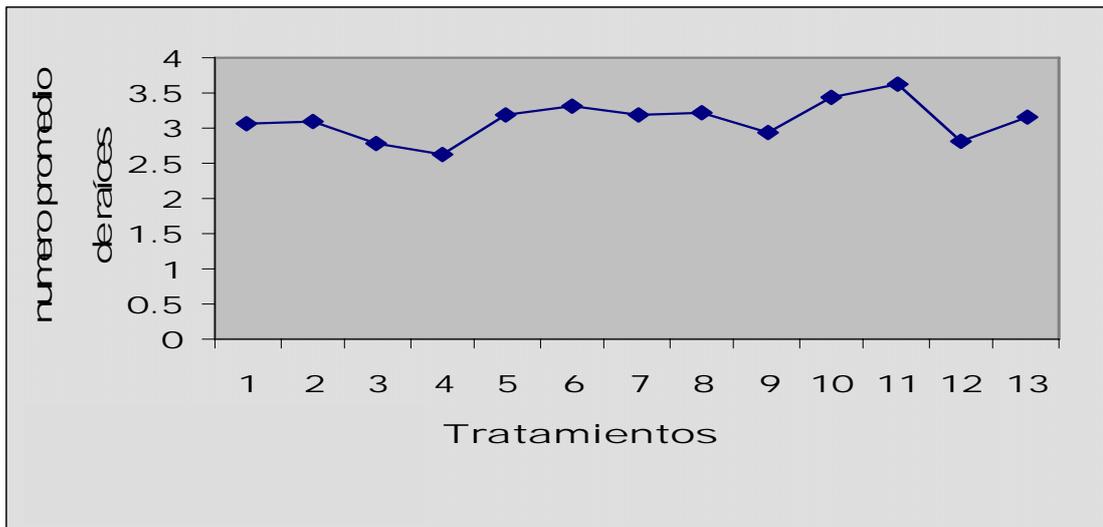
En cuanto al tamaño de las raíces se observó que los tratamientos con menor número de raíces, éstas las produjeron con mayor tamaño, por lo que es importante una descripción de cada tratamiento (cuadro 17 y figura 12).

Cuadro 17. Caracterización de las raíces de *Rubus hadrocarpus* forma *adenophorus* por tratamiento.

Tratamiento	Descripción		Descripción
	BAP(mg/l)	AIA(mg/l)	
1	0.	0	Raíces pequeñas y delgadas con pocas raíces secundarias. La raíz emerge de la base de la plántula.
2	0.1	0.1	Raíces gruesas y largas con varias raíces secundarias. Las raíces emergen de la base de la plántula y de los nudos.
3	0.5	0.1	Raíces largas y delgadas con varias raíces secundarias. Las raíces emergen de la base de la plántula y de los nudos.
4	1	0.1	Raíces larga y delgada con pocas raíces secundarias, que se producen en la base de la plántula y en los nudos.
5	3	0.1	Raíces largas y delgadas con pocas raíces secundarias. La raíz principal se produce en la base de la plántula.
6	0.1	0.5	Raíces largas y delgadas con varias raíces secundarias. Las raíces emergen de la base de la plántula y de los nudos.
7	0.5	0.5	Raíces largas y delgadas con pocas raíces secundarias. Las raíces se producen en la base de la plántula.
8	1.	0.5	Raíces largas y delgadas con pocas raíces secundarias. La raíz principal se produce en la base de la plántula.
9	3	0.5	Raíces largas y delgadas con pocas raíces secundarias. Las raíces se producen en la base de la plántula.
10	0.1	1	Raíces cortas y delgadas con pocas raíces secundarias, las raíces emergen de la base de la plántula.
11	0.5	1	Raíces largas y delgadas con pocas raíces secundarias. Las raíces se producen en la base de la plántula.
12	1.	1	Raíces largas y delgadas con pocas raíces secundarias. Las raíces se producen en la base de la plántula.
13	3.	1	Raíces largas y delgadas con pocas raíces secundarias. Las raíces se producen en la base de la plántula.

Aunque existe mucha variabilidad en cuanto a las características de las raíces producidas, no se observó diferencia durante la aclimatación (figura 13)

En cuanto al tiempo de desarrollo, las raíces de los tratamientos 8, 9, 13 lo concluyeron en 1 mes. Los tratamientos 12, 4, 5, 11, 6 completaron el desarrollo de raíces en 5 semanas, y el resto de tratamiento en 2 meses.



**FIGURA 12.** Grafica de distribución de los tratamientos de acuerdo al número de raíces.



**FIGURA 13.** Fotografía de raíces de *Rubus hadrocarpus* forma *adenophorus* por tratamiento. La fotografía muestra la variedad de características que presentan las raíces de acuerdo a cada uno de los tratamiento.

## 8. CONCLUSIONES

1. El tratamiento 12 para la inducción de brotes con bencilaminopurina y ácido giberélico en el nivel de 5/1ppm fue el más indicado para la propagación de *Rubus hadrocarpus* forma *adenophorus*, debido a que produjo en promedio, un brote por tratamiento. Estos brotes presentaron un desarrollo superior en cuanto a altura y número de hojas e indujo además un número aceptable de nudos, con longitud adecuada para la micropropagación.
2. El tratamiento 11 para la inducción de raíces con bencilaminopurina y ácido indolacético en el nivel de 1/0.5 produjo el mayor número de raíces y mejor desarrolladas en un tiempo de cinco semanas, por lo que fue el más indicado para el enraizamiento *in vitro*.

## 9. RECOMENDACIONES

1. Dado que los tratamientos para la inducción de brotes con 1ppm de ácido giberélico produce los mejores resultados para la micropropagación de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus, es recomendable el análisis de la bencilaminopurina en los rangos de concentración entre 3ppm y 5ppm para obtener el valor óptimo para propagación a nivel comercial.
2. Es importante además realizar el análisis de costos y del tiempo de desarrollo de las plántulas para establecer si es necesario la aplicación de reguladores de crecimiento para la inducción de brotes, ya que el testigo produjo resultados aceptable, debido a que la planta tiene cantidades suficientes de reguladores de crecimiento para completar su desarrollo
3. Los niveles altos de bencilaminopurina (7ppm) y bajos de ácido giberélico (0.1ppm, 0.5ppm y 1ppm) produjeron mayor número de brotes, sin embargo presentaron una longitud y número de nudos considerablemente inferior a las plántulas con un solo brote, por lo que no son recomendables para la micropropagación.
4. Los tratamientos con niveles altos de bencilaminopurina (7ppm, y 5ppm) y ácido giberélico (1.5ppm) no son recomendables para la propagación comercial de *Rubus hadrocarpus* forma adenophorus ya que produjeron toxicidad en los explantes.
5. La planta también posee los reguladores de crecimiento suficientes para inducir enraizamiento en los explantes, sin embargo el tiempo de desarrollo de la raíces fue prolongado (2 meses), por lo que es recomendable la aplicación de bencilaminopurina para acelerar el proceso, la cantidad ha aplicar debe ser evaluada por que se obtuvieron resultados satisfactorios con bencilaminopurina a 0.5ppm y 1ppm.

## 10 BIBLIOGRAFÍA.

1. AGEXPRONT (Asociación de Exportadores de Productos no Tradicionales, GT). 2002. Berries. Guatemala. 4 p.
2. Angarita, A; Ramírez, A. 1990. Estudios preliminares para la propagación clonal “*in vitro*” de mora (*Rubus glaucus* L.). *Agronomía Colombiana* 7:17-25.
3. Crandall, PC. 1984. Bramble production: the management and marketing of raspberries and blackberries. New York, US, The Hawort Press. 213 p.
4. Curso de cultivo de tejidos (2., 1988, Guatemala). 1986. Cultivo de tejidos, memoria. Guatemala, IICA. 28 p.
5. Devlin, RM. 1980. Fisiología vegetal. Trad. por Xavier Llimona Pages. 3 ed. España, Omega. 517 p.
6. Efferson, NJ. 1987. Biotecnología la nueva revolución verde. *Agricultura de las Américas* no. 36:20-25.
7. Encuentro nacional de diversificación agrícola (1., 2001, Guatemala). 2001. Diversificación agrícola. Guatemala, Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales. 303. p.
8. Federación Nacional de Cafetaleros, CO. 1985. El cultivo de la mora de castilla. Bogotá, Colombia. 20 p.
9. Hartmann, HT; Kester, DE. 1987. Propagación de plantas; principios y prácticas. México, CECSA. p. 649-608.
10. Hurtado, MD; Merino, ME. 1988. Cultivo de tejidos vegetales. México, Trillas. 232 p.
11. Izaguirre Hernández, DE. 2000. Efecto de la bencilaminopurina sobre la propagación *in vitro* de tres clones de banano (*Musa acuminata* Colla). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 78 p.
12. Kite, L; Kleyn, J. 1981. Plant from test tubes; an introduction to micropropagation. 3 ed. US, Timber Press. p. 36.
13. Muralanda Angel, ML; Gonzaga Gutierrez, L; Castro Vallejo, A. 2001. Evaluación de la frecuencia de subcultivos, enraizamiento *in vitro* y establecimiento en viveros de vitroplantas de mora de castilla, *Rubus glaucus* Benth. (en línea). Pereira, Colombia. Consultado 4 abr. 2001. Disponible en <http://www.colciencias.gov.co/simbiosis/proyectos/nogal.htm>.
14. Muralanda Angel, ML; Gonzaga Gutierrez, L; Castro Vallejo, A. 2001. Selección y propagación del nogal cafetalero (*Cordia alliodora*), aliso (*Alnus acuminata*) y mora (*Rubus glaucus*) por cultivo de tejidos *in vitro* (en línea). Pereira, Colombia. Consultado 4 abr. 2001. Disponible en <http://www.colciencias.gov.co/simbiosis/proyectos/nogal.htm>.

15. Nach, DL; Dieterle, JVA. 1976. Flora of Guatemala. Chicago, US, Chicago Natural History Museum. Fieldiana Botany. v. 24, pte. 4, p. 472-480.
16. Palma, AP. 1999. Estudio de mercado, estudio técnico y evaluación económica (cultivo de mora eco-hotel). Guatemala, USAC. v. 11, p. 16-48.
17. Picha, DH. 1994. Guía para la producción de mora y frambuesa en Centro América. Lousiana, Estados Unidos, State University. 40 p.
18. Ruiz, D. 1996. Forma de preparación de medios de cultivo Murashige and Skoog. San Pedro Sula, Honduras, Fondo Hondureño de Investigación Agrícola. 25 p.
19. Sánchez Pérez, WR. 2001. Efecto de la cinética, bencilaminopurina y ácido naftalenacético, sobre la regeneración de plantas *in vitro*, a partir de tejido no diferenciado de arroz. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 69 p.
20. Slowik, B; Villalobos Arámbula, VM. 1985. Metodología del cultivo de meristemas de fresa. México, Universidad de Chapingo. p. 181.
21. Thorpe, TA. 1981. Plant tissue culture; methods and applications in agricultura. US, Academic Press. 379 p.
22. Torres, AC; Teixeira Ferreira, A; Campos, M. 1996. Medio de cultivo. Brasilia, Centro Brasileiro Argentino de Biotecnología. p. 21.
23. Universidad de Agricultura de Praga, Instituto de Agricultura Tropical y Subtropical. 2000. Laboratorio de micropropagación y vivero para producción de plantas forestales nativas y frutales (en línea). Praga, Checoslovaquia. Consultado 4 abr. 2001. Disponible en <http://www.elhorticultor.com.ar/bulbosysemillasmicropropagacion1.html>.
24. Weaver, RJ. 1985. Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura. Trad. por Agustín Contín. México, Trillas. 622 p.
25. Welander, M. 1985. Cultivo de tejidos. Journal of Horticultural Science 60(4):493-499.
26. Xum Xuit, S. 1998. Organización empresarial y comercialización; cultivo de la mora. Guatemala, USAC, Facultad de Ciencias Económicas. v3, 95 p.

## 11 ANEXO

### 11.1 PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE.

Para elaborar el medio Murashige y Skoog es necesario preparar previamente una solución patrón, (cuadro 18).

#### Cuadro 18 A.

Soluciones patrón para preparar medio Murashige y Skoog.

SOLUCION	CONCENTRACIÓN	
MACRONUTRIENTES	10 x	cantidad (g) para 500 ml
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>		8.25
KNO <sub>3</sub>		9.5
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O		1.85
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		0.85
MICRONUTRIENTES(solucion A )	1,000 x	cantidad (g) para 100 ml
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>		0.62
MnSO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O		2.23
ZnSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O		0.86
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2 H <sub>2</sub> O		0.025
MICRONUTRIENTES (Solución B)	5,000 x	
CuSO <sub>4</sub> . 5 H <sub>2</sub> O		0.0125
CoCl <sub>2</sub> . 6 H <sub>2</sub> O		0.0125
KI	1,000 x	0.083
VITAMINA	1000x	
Tiamina		0.01
		cantidad (g)para 500 ml
CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	10 x	2.2
MYO-INOSITOL	100 x	0.5
SOL. HIERRO	100 x	Cantidad (g) para 200 ml
Na <sub>2</sub> EDTA		0.74
FE SO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O		0.55
REGULADORES	250 ppm	cantidad(g) para 100 ml
Ácido Indolacético		0.02525
Ácido giberélico		0.0277
Bencilaminopurina		0.02525

### 11.1.1 preparación de medio de cultivo Murashige y Skoog a la mitad de su concentración.

Para preparar 1000 ml de Medio Básico Murashige y Skoog, se mezclaron las soluciones descritas anteriormente en las proporciones descritas en el cuadro 19.

**CUADRO 19A.** Cantidad de soluciones para preparar 1000ml. del medio Murashige y Skoog a la mitad de su concentración.

SOLUCIÓN	CANTIDAD (ml)
Macronutrientes	50
Micronutrientes (A)	0.5
Micronutrientes (B)	0.1
Solución KI	0.5
Solución CaCl <sub>2</sub>	50
Hierro	5
Vitaminas (tiamina)	0.5
Sucrosa (1.5%)	15 gramos
Agar (0.6%)	6 gramos
pH	5.5
Carbón activado	0.5 %

Fuente: Murashige y Skoog (1,962)

### 11.2 solución antibióticos-antioxidantes.

La mora es una planta con mucha vellosidad por lo que tiende a albergar microorganismo, así también es susceptible a la oxidación por lo que fue necesario someterla a un tratamiento de antibióticos y antioxidantes previo a la micropropagación.

Esta solución estuvo constituida por 500 ml de una solución de antibióticos-antioxidantes en las concentraciones descritas a continuación: Fumbac 0.15%, Benomyl 0.1%, Cloranfenicol 500ppm, ácido cítrico 0.4%, ácido ascórbico 0.2%.

El tiempo de exposición de los explantes en la solución de antibióticos-antioxidantes produjo oxidación, por lo que fue necesario evaluarlo (cuadro 20).

### Cuadro 20 A

Análisis del tiempo de exposición de los explantes a la solución antibiótico antioxidante.

<b>Tiempo /hrs.</b>	<b>Porcentaje de oxidación</b>	<b>Porcentaje de contaminación</b>
24	100	0
12	100	0
6	80	0
2	10	0

Para completar el proceso de descontaminación se realizó el análisis de 3 concentraciones de hipoclorito de sodio en cuatro tiempos (cuadro 21A)

### Cuadro 21 A

Análisis tres concentraciones de hipoclorito de sodio y tres tiempos de exposición para controlar la contaminación.

<b>% contaminación</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>	<b>3%</b>
<b>% oxidación</b>			
<b>1 minuto</b>	<b>10%</b>	<b>10%</b>	<b>0%</b>
	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>5%</b>
<b>2 minutos</b>	<b>5%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>
	<b>0%</b>	<b>1%</b>	<b>15%</b>
<b>3 minutos</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>
	<b>10%</b>	<b>10%</b>	<b>15%</b>

Como se expresó anteriormente la mora es susceptible a la oxidación, por lo que se realizó una evaluación previa de antioxidantes en distintas concentraciones (cuadro 22 A).

**Cuadro 22 A**

Análisis de antioxidantes para el control de oxidación de los explantes.

<b>Porcentaje de oxidación</b>								
<b>Ácido cítrico (ppm)</b>			<b>Carbón activado (%)</b>			<b>PVP (%)</b>		
<b>50</b>	<b>100</b>	<b>150</b>	<b>0.5</b>	<b>1</b>	<b>1.5</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>1</b>
40	50	60	0	10	10	40	20	30

**Cuadro 23 A**

Análisis de la concentración de medio M&S en la inducción de brotes.

Concentración de medio M&S.	% de brotamiento
100%	1%
50%	100%

**Cuadro 24 A** datos del tamaño de brotes y Número de brotes

		número de brotes				tamaño brote	
A1	B1	1	1	A1	B1	1	1.00
A1	B2	1	1	A1	B2	1	4.50
A1	B3	1	1	A1	B3	1	1.20
A1	B4	1	1	A1	B4	1	2.50
A2	B1	1	1	A2	B1	1	3.70
A2	B2	1	1	A2	B2	1	0.50
A2	B3	1	1	A2	B3	1	2.00
A2	B4	1	1	A2	B4	1	1.80
A3	B1	1	1	A3	B1	1	2.10
A3	B2	1	1	A3	B2	1	3.20
A3	B3	1	1	A3	B3	1	3.50
A3	B4	1	1	A3	B4	1	3.00
A4	B1	1	1	A4	B1	1	1.00
A4	B2	1	1	A4	B2	1	0.50
A4	B3	1	1	A4	B3	1	2.00
A4	B4	1	1	A4	B4	1	1.00
A1	B1	2	1	A1	B1	2	2.00
A1	B2	2	1	A1	B2	2	3.20
A1	B3	2	1	A1	B3	2	2.50
A1	B4	2	2	A1	B4	2	1.25
A2	B1	2	1	A2	B1	2	1.00
A2	B2	2	0	A2	B2	2	0.00
A2	B3	2	1	A2	B3	2	1.80
A2	B4	2	1	A2	B4	2	2.40
A3	B1	2	1	A3	B1	2	1.80
A3	B2	2	1	A3	B2	2	4.10
A3	B3	2	1	A3	B3	2	2.20
A3	B4	2	1	A3	B4	2	1.70
A4	B1	2	1	A4	B1	2	2.00
A4	B2	2	1	A4	B2	2	0.30
A4	B3	2	1	A4	B3	2	0.70
A4	B4	2	1	A4	B4	2	0.50
A1	B1	3	1	A1	B1	3	3.80
A1	B2	3	1	A1	B2	3	4.00
A1	B3	3	1	A1	B3	3	1.50
A1	B4	3	1	A1	B4	3	2.00
A2	B1	3	1	A2	B1	3	2.00
A2	B2	3	1	A2	B2	3	0.30
A2	B3	3	1	A2	B3	3	0.50
A2	B4	3	1	A2	B4	3	2.10
A3	B1	3	1	A3	B1	3	1.00
A3	B2	3	1	A3	B2	3	2.00
A3	B3	3	1	A3	B3	3	4.50
A3	B4	3	1	A3	B4	3	2.00
A4	B1	3	1	A4	B1	3	1.80
A4	B2	3	1	A4	B2	3	1.00
A4	B3	3	1	A4	B3	3	1.20
A4	B4	3	1	A4	B4	3	1.00

Continuación de los datos de tamaño de brotes y número de brotes.

A1	B3	7	1	A1	B3	7	0.80
A1	B4	7	1	A1	B4	7	4.00
A2	B1	7	1	A2	B1	7	1.60
A2	B2	7	1	A2	B2	7	3.50
A2	B3	7	1	A2	B3	7	1.80
A2	B4	7	3	A2	B4	7	0.30
A3	B1	7	1	A3	B1	7	3.20
A3	B2	7	1	A3	B2	7	4.80
A3	B3	7	1	A3	B3	7	5.80
A3	B4	7	2	A3	B4	7	0.65
A4	B1	7	1	A4	B1	7	1.00
A4	B2	7	1	A4	B2	7	0.30
A4	B3	7	0	A4	B3	7	0.00
A4	B4	7	1	A4	B4	7	0.50
A1	B1	8	1	A1	B1	8	1.70
A1	B2	8	1	A1	B2	8	2.30
A1	B3	8	1	A1	B3	8	0.50
A1	B4	8	1	A1	B4	8	2.70
A2	B1	8	1	A2	B1	8	1.70
A2	B2	8	1	A2	B2	8	0.30
A2	B3	8	1	A2	B3	8	3.00
A2	B4	8	1	A2	B4	8	2.80
A3	B1	8	1	A3	B1	8	4.50
A3	B2	8	1	A3	B2	8	3.00
A3	B3	8	1	A3	B3	8	3.30
A3	B4	8	1	A3	B4	8	2.70
A4	B1	8	1	A4	B1	8	0.50
A4	B2	8	1	A4	B2	8	2.80
A4	B3	8	0	A4	B3	8	0.00
A4	B4	8	0	A4	B4	8	0.00
A1	B1	9	1	A1	B1	9	1.20
A1	B2	9	1	A1	B2	9	2.50
A1	B3	9	1	A1	B3	9	1.10
A1	B4	9	1	A1	B4	9	3.30
A2	B1	9	1	A2	B1	9	3.80
A2	B2	9	2	A2	B2	9	2.50
A2	B3	9	1	A2	B3	9	0.50
A2	B4	9	0	A2	B4	9	0.00
A3	B1	9	1	A3	B1	9	4.30
A3	B2	9	1	A3	B2	9	5.50
A3	B3	9	1	A3	B3	9	4.00
A3	B4	9	2	A3	B4	9	0.80
A4	B1	9	0	A4	B1	9	0.00
A4	B2	9	2	A4	B2	9	2.10
A4	B3	9	0	A4	B3	9	0.00
A4	B4	9	0	A4	B4	9	0.00
A1	B1	10	1	A1	B1	10	1.30
A1	B2	10	1	A1	B2	10	1.50
A1	B3	10	1	A1	B3	10	0.30
A1	B4	10	1	A1	B4	10	2.60

Continuación de los datos tamaño de brotes y número de brotes.

A2	B1	10	1	A2	B1	10	2.30
A2	B2	10	0	A2	B2	10	0.00
A2	B3	10	1	A2	B3	10	1.70
A2	B4	10	0	A2	B4	10	0.00
A3	B1	10	1	A3	B1	10	3.70
A3	B2	10	1	A3	B2	10	2.50
A3	B3	10	1	A3	B3	10	3.20
A3	B4	10	1	A3	B4	10	2.40
A4	B1	10	0	A4	B1	10	0.00
A4	B2	10	1	A4	B2	10	0.30
A4	B3	10	0	A4	B3	10	0.00
A4	B4	10	0	A4	B4	10	0.00

**Cuadro 25 A.** Datos de número de hojas y número de nudos

			número de hojas				número de nudos
A1	B1	1	4	A1	B1	1	0
A1	B2	1	8	A1	B2	1	5
A1	B3	1	7	A1	B3	1	1
A1	B4	1	8	A1	B4	1	3
A2	B1	1	9	A2	B1	1	5
A2	B2	1	1	A2	B2	1	0
A2	B3	1	7	A2	B3	1	3
A2	B4	1	5	A2	B4	1	2
A3	B1	1	8	A3	B1	1	3
A3	B2	1	8	A3	B2	1	3
A3	B3	1	11	A3	B3	1	4
A3	B4	1	9	A3	B4	1	3
A4	B1	1	3	A4	B1	1	1
A4	B2	1	3	A4	B2	1	0
A4	B3	1	6	A4	B3	1	2
A4	B4	1	5	A4	B4	1	1
A1	B1	2	8	A1	B1	2	1
A1	B2	2	8	A1	B2	2	5
A1	B3	2	8	A1	B3	2	3
A1	B4	2	4	A1	B4	2	2
A2	B1	2	7	A2	B1	2	1
A2	B2	2	0	A2	B2	2	0
A2	B3	2	7	A2	B3	2	3
A2	B4	2	7	A2	B4	2	3
A3	B1	2	6	A3	B1	2	3
A3	B2	2	8	A3	B2	2	5
A3	B3	2	8	A3	B3	2	2
A3	B4	2	8	A3	B4	2	2
A4	B1	2	7	A4	B1	2	2
A4	B2	2	2	A4	B2	2	0
A4	B3	2	7	A4	B3	2	2
A4	B4	2	3	A4	B4	2	0
A1	B1	3	9	A1	B1	3	2
A1	B2	3	7	A1	B2	3	6
A1	B3	3	8	A1	B3	3	1
A1	B4	3	7	A1	B4	3	2
A2	B1	3	7	A2	B1	3	4
A2	B2	3	2	A2	B2	3	0
A2	B3	3	3	A2	B3	3	1
A2	B4	3	8	A2	B4	3	2
A3	B1	3	6	A3	B1	3	2
A3	B2	3	8	A3	B2	3	3
A3	B3	3	10	A3	B3	3	5
A3	B4	3	8	A3	B4	3	2
A4	B1	3	5	A4	B1	3	2
A4	B2	3	5	A4	B2	3	1
A4	B3	3	6	A4	B3	3	2
A4	B4	3	5	A4	B4	3	1

Continuación de los datos de número de hojas y número de nudos.

A1	B1	4	8	A1	B1	4	3
A1	B2	4	9	A1	B2	4	5
A1	B3	4	8	A1	B3	4	1
A1	B4	4	8	A1	B4	4	5
A2	B1	4	8	A2	B1	4	3
A2	B2	4	8	A2	B2	4	5
A2	B3	4	6	A2	B3	4	2
A2	B4	4	5	A2	B4	4	1
A3	B1	4	5	A3	B1	4	1
A3	B2	4	6	A3	B2	4	3
A3	B3	4	8	A3	B3	4	3
A3	B4	4	9	A3	B4	4	2
A4	B1	4	6	A4	B1	4	2
A4	B2	4	8	A4	B2	4	3
A4	B3	4	6	A4	B3	4	2
A4	B4	4	3	A4	B4	4	1
A1	B1	5	7	A1	B1	5	1
A1	B2	5	1	A1	B2	5	0
A1	B3	5	9	A1	B3	5	3
A1	B4	5	6	A1	B4	5	2
A2	B1	5	8	A2	B1	5	3
A2	B2	5	7	A2	B2	5	2
A2	B3	5	7	A2	B3	5	3
A2	B4	5	1	A2	B4	5	0
A3	B1	5	6	A3	B1	5	1
A3	B2	5	8	A3	B2	5	3
A3	B3	5	9	A3	B3	5	4
A3	B4	5	9	A3	B4	5	2
A4	B1	5	3	A4	B1	5	1
A4	B2	5	9	A4	B2	5	4
A4	B3	5	8	A4	B3	5	2
A4	B4	5	4	A4	B4	5	0
A1	B1	6	7	A1	B1	6	1
A1	B2	6	7	A1	B2	6	5
A1	B3	6	7	A1	B3	6	1
A1	B4	6	8	A1	B4	6	5
A2	B1	6	7	A2	B1	6	6
A2	B2	6	7	A2	B2	6	3
A2	B3	6	7	A2	B3	6	4
A2	B4	6	1	A2	B4	6	0
A3	B1	6	10	A3	B1	6	5
A3	B2	6	7	A3	B2	6	3
A3	B3	6	9	A3	B3	6	3
A3	B4	6	5	A3	B4	6	1
A4	B1	6	9	A4	B1	6	2
A4	B2	6	1	A4	B2	6	0
A4	B3	6	0	A4	B3	6	0
A4	B4	6	3	A4	B4	6	1
A1	B1	7	7	A1	B1	7	2
A1	B2	7	1	A1	B2	7	0

Continuación de los datos de número de hojas y número de nudos.

A1	B3	7	4	A1	B3	7	1
A1	B4	7	7	A1	B4	7	5
A2	B1	7	9	A2	B1	7	2
A2	B2	7	8	A2	B2	7	4
A2	B3	7	7	A2	B3	7	4
A2	B4	7	3	A2	B4	7	0
A3	B1	7	7	A3	B1	7	4
A3	B2	7	12	A3	B2	7	6
A3	B3	7	10	A3	B3	7	6
A3	B4	7	2	A3	B4	7	3
A4	B1	7	7	A4	B1	7	1
A4	B2	7	1	A4	B2	7	0
A4	B3	7	0	A4	B3	7	0
A4	B4	7	3	A4	B4	7	0
A1	B1	8	6	A1	B1	8	2
A1	B2	8	6	A1	B2	8	5
A1	B3	8	4	A1	B3	8	0
A1	B4	8	8	A1	B4	8	5
A2	B1	8	6	A2	B1	8	2
A2	B2	8	1	A2	B2	8	0
A2	B3	8	7	A2	B3	8	5
A2	B4	8	8	A2	B4	8	3
A3	B1	8	8	A3	B1	8	6
A3	B2	8	7	A3	B2	8	3
A3	B3	8	8	A3	B3	8	3
A3	B4	8	9	A3	B4	8	1
A4	B1	8	2	A4	B1	8	1
A4	B2	8	9	A4	B2	8	3
A4	B3	8	0	A4	B3	8	0
A4	B4	8	0	A4	B4	8	0
A1	B1	9	7	A1	B1	9	1
A1	B2	9	7	A1	B2	9	3
A1	B3	9	8	A1	B3	9	1
A1	B4	9	7	A1	B4	9	5
A2	B1	9	8	A2	B1	9	4
A2	B2	9	5	A2	B2	9	3
A2	B3	9	3	A2	B3	9	1
A2	B4	9	0	A2	B4	9	0
A3	B1	9	8	A3	B1	9	5
A3	B2	9	9	A3	B2	9	6
A3	B3	9	11	A3	B3	9	4
A3	B4	9	1	A3	B4	9	2
A4	B1	9	0	A4	B1	9	0
A4	B2	9	5	A4	B2	9	2
A4	B3	9	0	A4	B3	9	0
A4	B4	9	0	A4	B4	9	0
A1	B1	10	6	A1	B1	10	1
A1	B2	10	8	A1	B2	10	1
A1	B3	10	6	A1	B3	10	0
A1	B4	10	8	A1	B4	10	5

Continuación de datos de número de hojas y número de nudos.

A2	B1	10	8	A2	B1	10	3
A2	B2	10	0	A2	B2	10	0
A2	B3	10	7	A2	B3	10	4
A2	B4	10	0	A2	B4	10	0
A3	B1	10	8	A3	B1	10	5
A3	B2	10	7	A3	B2	10	4
A3	B3	10	6	A3	B3	10	3
A3	B4	10	9	A3	B4	10	2
A4	B1	10	0	A4	B1	10	0
A4	B2	10	3	A4	B2	10	0
A4	B3	10	0	A4	B3	10	0
A4	B4	10	0	A4	B4	10	0

**Cuadro 26A.** Datos de longitud entrenado y número de raíces.

			longitud de nudos				número de raíz
A1	B1	1	0	A1	B1	1	2
A1	B2	1	1	A1	B2	1	5
A1	B3	1	1	A1	B3	1	7
A1	B4	1	1	A2	B1	1	4
A2	B1	1	1	A2	B2	1	3
A2	B2	1	0	A2	B3	1	3
A2	B3	1	1	A3	B1	1	6
A2	B4	1	1	A3	B2	1	2
A3	B1	1	1	A3	B3	1	7
A3	B2	1	1	A4	B1	1	4
A3	B3	1	1	A4	B2	1	6
A3	B4	1	1	A4	B3	1	4
A4	B1	1	1	A1	B1	2	4
A4	B2	1	0	A1	B2	2	5
A4	B3	1	1	A1	B3	2	4
A4	B4	1	1	A2	B1	2	5
A1	B1	2	2	A2	B2	2	8
A1	B2	2	1	A2	B3	2	5
A1	B3	2	1	A3	B1	2	7
A1	B4	2	1	A3	B2	2	9
A2	B1	2	1	A3	B3	2	12
A2	B2	2	0	A4	B1	2	10
A2	B3	2	1	A4	B2	2	4
A2	B4	2	1	A4	B3	2	9
A3	B1	2	1	A1	B1	3	10
A3	B2	2	1	A1	B2	3	0
A3	B3	2	1	A1	B3	3	7
A3	B4	2	1	A2	B1	3	5
A4	B1	2	1	A2	B2	3	8
A4	B2	2	0	A2	B3	3	5
A4	B3	2	0	A3	B1	3	6
A4	B4	2	0	A3	B2	3	4
A1	B1	3	2	A3	B3	3	8
A1	B2	3	1	A4	B1	3	13
A1	B3	3	2	A4	B2	3	4
A1	B4	3	1	A4	B3	3	8
A2	B1	3	1	A1	B1	4	8
A2	B2	3	0	A1	B2	4	5
A2	B3	3	1	A1	B3	4	3
A2	B4	3	1	A2	B1	4	12
A3	B1	3	1	A2	B2	4	10
A3	B2	3	1	A2	B3	4	13
A3	B3	3	1	A3	B1	4	11
A3	B4	3	1	A3	B2	4	10
A4	B1	3	1	A3	B3	4	1
A4	B2	3	1	A4	B1	4	4
A4	B3	3	1	A4	B2	4	8
A4	B4	3	1	A4	B3	4	11

Continuación de los datos de longitud entrenado y número de raíces.

A1	B1	4	1	A1	B1	5	1
A1	B2	4	1	A1	B2	5	9
A1	B3	4	2	A1	B3	5	2
A1	B4	4	1	A2	B1	5	12
A2	B1	4	1	A2	B2	5	8
A2	B2	4	1	A2	B3	5	9
A2	B3	4	1	A3	B1	5	6
A2	B4	4	1	A3	B2	5	5
A3	B1	4	1	A3	B3	5	10
A3	B2	4	1	A4	B1	5	5
A3	B3	4	1	A4	B2	5	7
A3	B4	4	1	A4	B3	5	6
A4	B1	4	1	A1	B1	6	4
A4	B2	4	1	A1	B2	6	4
A4	B3	4	1	A1	B3	6	2
A4	B4	4	1	A2	B1	6	10
A1	B1	5	2	A2	B2	6	8
A1	B2	5	0	A2	B3	6	7
A1	B3	5	1	A3	B1	6	4
A1	B4	5	0	A3	B2	6	9
A2	B1	5	1	A3	B3	6	8
A2	B2	5	1	A4	B1	6	3
A2	B3	5	1	A4	B2	6	6
A2	B4	5	0	A4	B3	6	4
A3	B1	5	2	A1	B1	7	8
A3	B2	5	1	A1	B2	7	7
A3	B3	5	1	A1	B3	7	7
A3	B4	5	1	A2	B1	7	12
A4	B1	5	1	A2	B2	7	6
A4	B2	5	1	A2	B3	7	9
A4	B3	5	1	A3	B1	7	9
A4	B4	5	0	A3	B2	7	11
A1	B1	6	1	A3	B3	7	15
A1	B2	6	1	A4	B1	7	13
A1	B3	6	1	A4	B2	7	4
A1	B4	6	1	A4	B3	7	6
A2	B1	6	1	A1	B1	8	8
A2	B2	6	1	A1	B2	8	9
A2	B3	6	1	A1	B3	8	3
A2	B4	6	0	A2	B1	8	5
A3	B1	6	1	A2	B2	8	9
A3	B2	6	1	A2	B3	8	9
A3	B3	6	1	A3	B1	8	11
A3	B4	6	1	A3	B2	8	2
A4	B1	6	1	A3	B3	8	4
A4	B2	6	0	A4	B1	8	15
A4	B3	6	0	A4	B2	8	9
A4	B4	6	1	A4	B3	8	7
A1	B1	7	1	A1	B1	9	9
A1	B2	7	0	A1	B2	9	4

Continuación de los datos de longitud entrenado y número de raíces.

A1	B3	7	1	A1	B3	9	9
A1	B4	7	1	A2	B1	9	3
A2	B1	7	1	A2	B2	9	8
A2	B2	7	1	A2	B3	9	7
A2	B3	7	0	A3	B1	9	9
A2	B4	7	0	A3	B2	9	6
A3	B1	7	1	A3	B3	9	13
A3	B2	7	1	A4	B1	9	11
A3	B3	7	1	A4	B2	9	6
A3	B4	7	0	A4	B3	9	11
A4	B1	7	1	A1	B1	10	2
A4	B2	7	0	A1	B2	10	3
A4	B3	7	0	A1	B3	10	5
A4	B4	7	0	A2	B1	10	9
A1	B1	8	1	A2	B2	10	7
A1	B2	8	0	A2	B3	10	9
A1	B3	8	0	A3	B1	10	11
A1	B4	8	1	A3	B2	10	5
A2	B1	8	1	A3	B3	10	8
A2	B2	8	0	A4	B1	10	10
A2	B3	8	1	A4	B2	10	5
A2	B4	8	1	A4	B3	10	11
A3	B1	8	1	A1	B1	11	4
A3	B2	8	1	A1	B2	11	0
A3	B3	8	1	A1	B3	11	5
A3	B4	8	3	A2	B1	11	8
A4	B1	8	1	A2	B2	11	5
A4	B2	8	1	A2	B3	11	7
A4	B3	8	0	A3	B1	11	9
A4	B4	8	0	A3	B2	11	3
A1	B1	9	1	A3	B3	11	5
A1	B2	9	1	A4	B1	11	9
A1	B3	9	1	A4	B2	11	4
A1	B4	9	1	A4	B3	11	5
A2	B1	9	1	A1	B1	12	6
A2	B2	9	1	A1	B2	12	9
A2	B3	9	1	A1	B3	12	2
A2	B4	9	0	A2	B1	12	3
A3	B1	9	1	A2	B2	12	11
A3	B2	9	1	A2	B3	12	5
A3	B3	9	1	A3	B1	12	6
A3	B4	9	0	A3	B2	12	2
A4	B1	9	0	A3	B3	12	5
A4	B2	9	1	A4	B1	12	6
A4	B3	9	0	A4	B2	12	4
A4	B4	9	0	A4	B3	12	3
A1	B1	10	1	A1	B1	13	10
A1	B2	10	2	A1	B2	13	7
A1	B3	10	0	A1	B3	13	2
A1	B4	10	1	A2	B1	13	6

Continuación de los datos de longitud entrenado y número de raíces.

A2	B1	10	1	A2	B2	13	9
A2	B2	10	0	A2	B3	13	7
A2	B3	10	0	A3	B1	13	4
A2	B4	10	0	A3	B2	13	6
A3	B1	10	1	A3	B3	13	5
A3	B2	10	1	A4	B1	13	10
A3	B3	10	1	A4	B2	13	6
A3	B4	10	1	A4	B3	13	8
A4	B1	10	0				
A4	B2	10	0				
A4	B3	10	0				
A4	B4	10	0				

**11.3 BOLETA PARA RECOLECTAR INFORMACIÓN SOBRE LA MORA SILVESTRE  
COMERCIALIZADA EN LA ALDEA LA CUMBRE, TECPAN GUATEMALA.**

Número de boleta \_\_\_\_\_

Lugar y fecha de recolección de la información \_\_\_\_\_

**INFORMACIÓN NECESARIA PARA IDENTIFICAR CULTIVARES DE BUENAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS.**

Qué características tiene el fruto de exportación: \_\_\_\_\_

Que cantidad de mora en flat produce: \_\_\_\_\_

Cuántas cuerdas tiene cultivadas con mora? \_\_\_\_\_

Existe diferencia entre los frutos de una u otra cuerda? \_\_\_\_\_

Si existe diferencia, de cual cuerda obtiene más frutos para exportación? \_\_\_\_\_

Existe alguna planta en especial en la cual usted obtiene mayor cantidad de frutos para exportación: \_\_\_\_\_

Si hay diferencia de producción entre plantas, cual cree usted sea la causa: \_\_\_\_\_

Que prácticas de manejo realiza en el cultivo de mora? \_\_\_\_\_

Existe diferencia de manejo agronómico entre cuerdas \_\_\_\_\_

**INFORMACIÓN GENERAL DE LA PLANTA A RECOLECTAR:**

Características de la planta para su identificación: \_\_\_\_\_

Existe diferencia de vigorosidad entre plantas: \_\_\_\_\_

Hay evidencia de ataque de plagas en la planta: \_\_\_\_\_

Hay evidencia de enfermedades entre planta \_\_\_\_\_

Se observa diferencia en tamaño, color y estado fitosanitario de frutos: \_\_\_\_\_



