

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan



“EFECTO DEL RECIPIENTE, INTENSIDAD DE LUZ Y  
MICROAMBIENTE EN EL ESTABLECIMIENTO A  
SUELO DE *Fragaria x ananassa* DUCH. Y *Prunus*  
*cerasifera* OBTENIDAS *in vitro*”

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRICOLA  
PRESENTAN  
GREGORIO ARELLANO OSTOA  
SILVIA GONZALEZ BERNAL

Director de Tesis:  
M. C. ANGEL VILLEGAS MONTER

Cuautitlan Izcalli, Edo, de México

1985



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## C O N T E N I D O

	Pág.
INDICE DE FIGURAS -----	iii
INDICE DE CUADROS -----	v
RESUMEN -----	vii
INTRODUCCION -----	1
1. REVISION DE LITERATURA -----	4
1.1. Generalidades -----	4
1.2. Importancia de la etapa de establecimiento a suelo -----	5
1.3. Principales limitantes de la etapa de estable- cimiento -----	6
1.3.1. Supervivencia -----	6
1.3.2. Tamaño de planta -----	8
1.3.3. Anatomía de la planta -----	9
1.4. Factores que afectan el establecimiento a sue- lo -----	10
1.5. Elementos que participan -----	11
1.5.1. Características inherentes de la planta	11
1.5.2. Tipo de crecimiento -----	12
1.5.3. Sustratos de crecimiento -----	14
1.5.4. Tipo de microambiente -----	16
1.5.5. Recipientes -----	24
1.5.5.1. Forma -----	26
1.5.5.2. Volumen -----	26
1.5.5.3. Profundidad y diámetro -----	27
1.5.5.4. Materiales y color -----	30
1.5.6. Luz -----	32
2. CONCLUSION DE LA REVISION DE LITERATURA -----	39
3. MATERIALES Y METODOS -----	42
3.1. Localización geográfica -----	42
3.2. Condiciones climáticas bajo invernadero -----	42
3.3. Especies vegetales -----	42
3.3.1. Fresa ( <i>Fragaria x ananassa</i> Duch) -----	42
3.3.2. Ciruelo ( <i>Prunus cerasifera</i> ) -----	43

	Pág.
3.4. Establecimiento de los experimentos -----	43
3.4.1. Metodología utilizada en el transplante-----	43
3.4.2. Tratamientos evaluados -----	44
3.5. Manejo bajo condiciones controladas -----	47
3.6. Diseño experimental -----	48
3.7. Toma de datos -----	49
3.8. Análisis de datos -----	50
4. RESULTADOS Y DISCUSION -----	51
4.1. Supervivencia -----	51
4.1.1. Microambiente -----	54
4.1.2. Recipiente -----	61
4.1.3. Fuente luminosa -----	72
4.2. Crecimiento -----	76
4.2.1. Microambiente -----	78
4.2.2. Recipiente -----	81
4.2.3. Fuente luminosa -----	86
4.3. Calidad de planta -----	94
4.3.1. Microambiente -----	96
4.3.2. Recipiente -----	100
4.3.3. Fuente luminosa -----	103
5. CONCLUSIONES -----	110
6. RECOMENDACIONES -----	112
7. APENDICE -----	113
8. LITERATURA REVISADA -----	118

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA		Pág.
1	PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA EN LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO DE CIRUELO Y FRESA. OBTENIDAS <i>in vitro</i> DE OTOÑO-INVIERNO -----	53
2	PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA DE CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS <i>in vitro</i> POR TIPO DE MICROAMBIENTE --	60
3	RELACION ENTRE SUPERVIVENCIA Y CALIDAD VISUAL DE PLANTA, DURANTE LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO DE PLANTAS OBTENIDAS <i>in vitro</i> , POR TIPO DE MICROAMBIENTE -----	62
4	PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA DE CIRUELO Y FRESA POR TIPO DE RECIPIENTE, DURANTE LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO -----	64
5	PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA DE CIRUELO Y FRESA POR TIPO DE RECIPIENTE A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE A SUELO -----	66
6	PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA ENTRE CULTIVARES DE FRESA, OBTENIDOS <i>in vitro</i> A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE -----	73
7	PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA EN CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS <i>in vitro</i> A LOS 30 DIAS AL TRANSPLANTE -----	75
8	PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA EN CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS <i>in vitro</i> A LOS 60 DIAS DEL TRANSPLANTE -----	77
9	CRECIMIENTO DE CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS <i>in vitro</i> A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE POR TIPO DE MICROAMBIENTE -----	80
10	CRECIMIENTO DE CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS <i>in vitro</i> , POR TIPO DE RECIPIENTE A LOS 30 DIAS DEL TRANSPLANTE -----	82
11	CRECIMIENTO DE CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS <i>in vitro</i> , POR TIPO DE RECIPIENTE A LOS 60 DIAS DEL TRANSPLANTE -----	84

FIGURA

Pág.

12	CRECIMIENTO DEL CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS <i>in vitro</i> , POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA, A LOS 30 DÍAS DEL TRANSPLANTE -----	89
13	CRECIMIENTO DE CIRUELO Y FRESA, OBTENIDAS <i>in vitro</i> , POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA, A LOS 60 DÍAS DEL TRANSPLANTE -----	90
14	EFECTO DEL FOTOPERIODO SOBRE LA SUPERVIVENCIA Y CRECIMIENTO DE FRESA OBTENIDA <i>in vitro</i> , EN LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO -----	92
15	EFECTO DEL FOTOPERIODO Y RECIPIENTE SOBRE EL CRECIMIENTO DE FRESA OBTENIDA <i>in vitro</i> DURANTE LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO -----	93
16	CRECIMIENTO POR CULTIVAR DE FRESA OBTENIDA <i>in vitro</i> EN LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO --	95
17	CALIDAD VISUAL DE PLANTA POR TIPO DE MICROAMBIENTE, EN CIRUELO Y FRESA, OBTENIDAS <i>in vitro</i> A LOS 30 Y 60 DÍAS DEL TRANSPLANTE -----	99
18	CALIDAD DE PLANTA DE CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS <i>in vitro</i> , POR TIPO DE RECIPIENTE, A LOS 30 Y 60 DÍAS DEL TRANSPLANTE -----	102
19	CALIDAD VISUAL DE PLANTA DE CIRUELO Y FRESA, OBTENIDAS <i>in vitro</i> A LOS 30 Y 60 DÍAS DEL TRANSPLANTE, POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA -----	105
20	TAMAÑO DE HOJA VISUAL, DE CIRUELO MIROBOLANO, OBTENIDO <i>in vitro</i> A LOS 60 DÍAS DE ESTABLECIDO EN SUELO, POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA -----	108

## INDICE DE CUADROS

CUADRO		Pág.
1	TRATAMIENTOS QUE OBTUVIERON UNA CORRELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA CON LA VARIABLE SUPERVIVENCIA A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE A SUELO EN FRESA OBTENIDA <i>in vitro</i> -----	54
2	COMPARACION DE MEDIAS EN PORCENTAJE PARA LA VARIABLE SUPERVIVENCIA EN FRESA Y CIRUELO POR TIPO DE MICROAMBIENTE -----	61
3	COMPARACION DE MEDIAS EN PORCENTAJE PARA LA VARIABLE SUPERVIVENCIA EN FRESA Y CIRUELO POR TIPO DE RECIPIENTE -----	63
4	COMPARACION DE MEDIAS EN PORCENTAJE PARA LA VARIABLE SUPERVIVENCIA EN CULTIVARES DE FRESA ---	72
5	TRATAMIENTOS QUE OBTUVIERON UNA CORRELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA CON LA VARIABLE CRECIMIENTO A LOS 30 Y 60 DIAS DESPUES DEL TRANSPLANTE A SUELO EN FRESA OBTENIDA <i>in vitro</i> -----	78
6	COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CRECIMIENTO EN FRESA Y CIRUELO POR TIPO DE RECIPIENTE -----	86
7	COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE DE CRECIMIENTO EN FRESA Y CIRUELO POR FUENTE LUMINOSA -	88
8	COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CRECIMIENTO EN CULTIVARES DE FRESA -----	94
9	TRATAMIENTOS QUE OBTUVIERON UNA CORRELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA CON LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA Y TAMAÑO DE HOJA EN FRESA Y CIRUELO OBTENIDAS <i>in vitro</i> -----	96
10	VARIABLES QUE OBTUVIERON UNA CORRELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA CON LA VARIABLE CALIDAD VISUAL DE PLANTA -----	98
11	COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA EN FRESA Y CIRUELO POR TIPO DE MICROAMBIENTE -----	100

CUADRO	Pág.
12 COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA EN FRES Y CIRUELO POR TIPO DE RECIPIENTE -----	103
13 COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CALIDAD VISUAL DE PLANTA EN FRESA POR FUENTE LUMINOSA -	104
14 COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE TAMAÑO VISUAL DE HOJA EN CIRUELO POR TIPO DE RECIPIENTE -----	107
15 COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA EN CULTIVARES DE FRESA -----	107

CUADROS DEL APENDICE

A SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE SUPERVIVENCIA A LOS 30 DIAS EN CIRUELO Y FRESA CONTRA LOS TRATAMIENTOS -----	114
B SIGNIFICANCIA DE LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE SUPERVIVENCIA A LOS 60 DIAS PARA CIRUELO Y FRESA CONTRA LOS TRATAMIENTOS -----	114
C SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE CRECIMIENTO A LOS 30 DIAS, EN CIRUELO Y FRESA CONTRA LOS TRATAMIENTOS -----	115
D SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE CRECIMIENTO A LOS 60 DIAS, EN CIRUELO Y FRESA CONTRA LOS TRATAMIENTOS -----	115
E SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA A LOS 30 DIAS, EN CIRUELO Y FRESA CONTRA LOS TRATAMIENTOS -----	116
F SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA A LOS 60 DIAS, EN CIRUELO Y FRESA CONTRA LOS TRATAMIENTOS -----	116
G SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE TAMAÑO DE HOJA, DESPUES DE LOS 60 DIAS, DEL TRANSPLANTE -----	117



## RESUMEN

Las plantas micropropagadas difieren anatómicamente de las plantas propagadas por métodos convencionales, por ello en su etapa de establecimiento a suelo necesitan tanto de una aclimatización como de una elección adecuada de los sustratos, recipientes, fotoperíodos, etc., para incrementar el porcentaje de supervivencia, que a menudo es el factor a vencer para obtener el éxito comercial de esta técnica. El objetivo del presente trabajo fue el de determinar el efecto que tiene el tipo de recipiente, la intensidad y duración de la luz y el tipo de microambiente en la supervivencia y crecimiento de plantas obtenidas *in vitro*. El experimento se llevó a cabo con plantas de tres cultivares de fresa (*Fragaria x ananassa*, Duch.) y ciruelo mirobolano (*Prunus cerasifera*). Y los tratamientos evaluados fueron: tres tipos de recipiente (charola, vaso y semillero); tres tipos de fuente luminosa (fuente natural, fuente natural más lámparas incandescentes y lámparas fluorescentes), dos microambientes (cubiertas de polietileno transparente (C.P.T.) y cámara nebulizadora (C.N.) y tres cultivares de fresa (Aiko, Tioga y Fresno).

La supervivencia de ambas especies fue influida por los tratamientos evaluados. Resultó mejor la C.P.T. con 74% y 85% de supervivencia para ciruelo y fresa respectivamente

después de 60 días al trasplante. Los recipientes que mayor porcentaje de supervivencia consiguieron, fueron charola para fresa con 80% y semillero para ciruelo con 83%. El mejor cultivar de fresa resultó ser Tioga con 75% de supervivencia. La fuente natural de luz fue la que consiguió el mayor porcentaje de supervivencia, pero estadísticamente igual con el tratamiento de luz emitida por lámparas incandescentes en ambas especies.

El mayor crecimiento se obtuvo en recipiente de charola y lámparas incandescentes para ambas especies y los tratamientos que presentaron mayor correlación fueron recipiente y fuente luminosa.

## INTRODUCCION

Uno de los principales problemas que presenta la fruti cultura mundial, es sin duda, la baja producción de plantas de calidad, que aseguren el éxito de las plantaciones comer ciales.

La producción masiva de portainjertos, así como la mul tiplicación de plantas "madre" de especies económicamente importantes, que presenten un crecimiento rápido en vivero, tengan resistencia a enfermedades, con adaptación a varios ambientes y que conserven las características fenotípicas originales, son de vital importancia para incrementar y de sarrollar la producción frutícola de México.

El ciruelo mirobolano (*Prunus cerasifera*) y la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.), son especies de gran importan- cia en la producción frutícola del país, y que, por ello no escapan a esta problemática. El primero cubre las condicio- nes para comportarse como un portainjerto de buena calidad, compatible con *P. domestica* y *P. salicina* que incluyen a la mayoría de los cultivares comerciales y el segundo, por ser un cultivo principalmente de exportación, reeditando grandes divisas al país (en 1982 se exportaron 17.4 mil toneladas de fresa, ocupándose el sexto lugar en producción a nivel mundial con 44.617 mil toneladas (D.G.E.A. 1982)); además

por tener grandes requerimientos de mano de obra, durante el proceso de producción e industrialización; siendo lo más importante, que actualmente se depende de la importación de plantas "madre"<sup>1/</sup>, para establecer las plantaciones mexicanas (en 1983 se estimó un volumen de 97 millones de plantas, necesarias para cubrir un total de 3,223 ha programadas (D.G.E.A., 1983)). Ambas especies se han propagado tanto por semilla como por métodos asexuales convencionales; sin embargo, no se ha logrado superar los problemas asociados con la sanidad.

Con la técnica de propagación *in vitro*, que en los últimos años ha alcanzado niveles mayores de eficiencia, se ha logrado propagar diversas especies frutícolas, hortícolas, forestales, ornamentales y otras; por lo que se presenta como una alternativa para solventar esos problemas ya que, permite obtener un gran número de plantas en un menor tiempo y libres de patógenos con características cualitativas iguales a las plantas propagadas convencionalmente.

Debido a que la producción comercial de plantas propagadas por el cultivo de tejidos es una realidad, la necesidad de dirigir las investigaciones a la Etapa de Establecimiento a suelo, es imprescindible.

La finalidad del presente trabajo es contribuir al conocimiento del comportamiento de las plantas obtenidas *in vitro*

---

<sup>1/</sup> Feder E. *op.cit.* señala que los productores mexicanos, en su mayoría dependen totalmente de los surtidos de plantas de "segunda mano" procedentes de E.U.

en su establecimiento a suelo bajo condiciones de invernadero, determinando la influencia que tiene el tipo de recipiente, la intensidad y duración de la luz y el tipo de microambiente, sobre la supervivencia y el crecimiento de *P. cerasífera* y *F. x ananassa* Duch.

## 1. REVISION DE LITERATURA

### 1.1. Generalidades

La micropropagación es una técnica que permite la multiplicación rápida de células no diferenciadas de los vegetales sobre un medio de cultivo nutritivo y aséptico, el cual permite desarrollar y diferenciar órganos y plantas completas, Villalobos (1980), Bengochea y Dodds (1983) y Hartmann y Kester (1982). Esta técnica se ha dividido en varias etapas, según Boxus citado por Damiano (1980) y Murashige (1974), siendo las siguientes:

- a) Implantación, se refiere a la desinfección y establecimiento de pequeñas porciones vivas de vegetales en un medio nutritivo y aséptico.
- b) Producción masiva de brotes a partir de los propágulos implantados en el medio de cultivo (proliferación).
- c) Enraizamiento de los brotes y acondicionamiento para que sobrevivan al ser puestas en suelo.
- d) Establecimiento a suelo de las pequeñas plantas.

Boxus citado por Damiano (1980) intercala entre las etapas a y b, al indexage de virus, siendo ésta la prueba que define la existencia o ausencia de virus en las plantas - -

micropropagadas.

Las tres primeras etapas se llevan a cabo en el laboratorio bajo condiciones totalmente controladas mientras que la última se realiza en el invernadero, vivero y campo.

### 1.2. Importancia de la etapa de establecimiento a suelo

Esta etapa de la micropropagación es de gran importancia pues permite transferir las pequeñas plantas de un ambiente totalmente controlado a otro normal, donde generalmente las condiciones se presentan adversas a éstas y en muchas ocasiones son la causa de su muerte.

El establecimiento a suelo consiste en colocar directamente las plantas completas obtenidas asépticamente en una mezcla de suelo con textura friable y desinfectado, contenido en recipientes, proporcionando así los elementos nutritivos y soporte en forma natural, que les permitirá sobrevivir y desarrollarse satisfactoriamente, primero en el invernadero y después en el campo Villegas (1982). Algunos autores han llegado a considerar que el transplante a suelo de las plantas micropropagadas es un técnica muy aleatoria, Boxus y Quoirin (1977).

En la actualidad la mayoría de las investigaciones que se realizan dentro de este campo, están inmersas en las tres primeras etapas antes mencionadas y muy pocas engloban el establecimiento a suelo; y no mencionan haber obtenido un establecimiento satisfactorio, dado que no ha sido el objetivo primordial de las investigaciones.

Poole y Conover (1983), Fuchigami *et al.* (1981) y Zimmerman y Broome (1980); consideran que el establecimiento a suelo de las plantas obtenidas *in vitro* es con mayor frecuencia la etapa que limita en mayor grado el éxito comercial de esta técnica. Por lo que se hace imprescindible dirigir las investigaciones hacia este campo de la propagación *in vitro*. Fossard (1977).

### 1.3. Principales limitantes en el establecimiento a suelo

Por ser la técnica de micropropagación relativamente nueva, se ha enfrentado a una serie de problemas que de alguna manera limitan el desarrollo a nivel comercial. En relación a la etapa de establecimiento los problemas más frecuentes y que deben solventarse son:

- a) Bajos porcentajes de supervivencia.
- b) Tamaño reducido de las plantas micropropagadas.
- c) Plantas adaptadas a condiciones ambientales de *in vitro*.

#### 1.3.1. Supervivencia

La supervivencia es el principal problema con el que se han encontrado los investigadores al tratar de establecer en suelo las plantas micropropagadas, algunos de ellos han considerado que el bajo porcentaje de supervivencia ha limitado a la producción comercial. Fuchigami *et al.* (1981), Poole y Conover (1983).



Este problema se presenta cuando las plantas son cambiadas de un ambiente controlado (*in vitro*) a otro natural (*in vivo*), causándoles un agobio por un desequilibrio en su contenido hídrico al producirse una transpiración elevada, además de estar expuestas a fluctuaciones térmicas provocando con ello un desbalance en la planta; manifestándose en las plantas como marchitez o muerte, Brainerd y Fuchigami (1981), Sutter y Langhans (1979).

A través de los trabajos que se han publicado, se ha podido observar que los porcentajes de supervivencia varían entre especies y aún entre cultivares, algunos de ellos se presentan a continuación: Poole y Conover (1983), encontraron que *Dieffenbachia* se estableció con un 100% de supervivencia; Hasegawa (1979), consiguió establecer el 81% de las plantas de rosa, sin embargo, Skirvin y Chu (1979) reportan haber obtenido el 50% para la misma especie; Rosatti *et al.* (1980) consiguieron cerca del 95% en plantas de ciruelo cv. calita; Cheng (1978), logró un porcentaje de supervivencia del 93% para patrones de pera cv. old home, 84% para el cv. farmingdale 51, 84% para patrones de ciruelo cv. pixy y 92% para el cultivar st. julian x, así como 91% para *Prunus cerasífera* y 89% para newport; por otro lado Broome y Zimmerman (1978) trabajando con zarzamora sin espinas lograron el 50%; Heuser (1983) obtuvo el 96% de supervivencia con *Lythrum virgatum*; Garton *et al.* (1981) consiguieron el 91% al trabajar con *Alnus glutinosa*; Rugini y Fontanazza (1981) lograron el 60% de supervivencia al establecer plantas de olivo; - -

Earle y Langhans citados por Sutter y Langhans (1979) reportan el 50% en plantas de clavel; mientras que Boxus y Quoirin citados por Fuchigami *et al.* (1981) mencionan haber obtenido una pobre supervivencia.

### 1.3.2. Tamaño de planta

Las plantas que se obtienen a través de la micropropagación presentan en un inicio, un tamaño más pequeño, Howard y Heather (1981). Algunos autores consideran que las plantas mayores de 5 cm se establecen mejor que aquéllas que miden menos de 3 cm Poole y Conover (1983); Howard y Heather (1981) utilizaron plantas de *Prunus* cv. pixy mayores de 2 cm; Rosa *ti et al.* (1980) establecieron plantas de ciruelo japonés que tenían 2 cm o más de largo y con 4 ó 5 raíces; Rugini y Fontanazza (1981) trabajaron con microestacas de olivo de 17.5 mm en promedio de longitud, obteniendo un 60% de supervivencia; Heuser (1983) estableció estacas de 5 mm de altura de *Lythrum virgatum*, obteniendo plantas de 13.3 cm en promedio después de dos meses; Broome y Zimmerman (1978) obtuvieron microestacas o brotes de zarzamora con un tamaño de 7 a 15 mm y con raíces de 5 a 10 mm de longitud, las cuales establecieron en suelo, logrando un crecimiento vigoroso dentro del invernadero; presentando un tamaño de 25 cm a las 4 semanas y de 3 m después de las 12 semanas; Schnabelrauch y Sink (1979) establecieron plantas que medían entre 10 y 20 mm de altura; Johnson y Emino (1979) utilizaron tallos de *Mammillaria elongata* mayores de 1 cm las cuales fueron - - -

fácilmente transferidas al invernadero con 100% de éxito, sin embargo, experimentaron con plantas menores de 1 cm y el porcentaje de éxito resultó ser menor.

### 1.3.3. Anatomía de la planta

Las plantas micropropagadas difieren anatómicamente de las plantas que han sido propagadas por métodos convencionales bajo condiciones de invernadero; ya que presentan una cantidad de cera epicuticular menor en las hojas e incluso pueden carecer de ella, como lo reporta Grout *et al.* citados por Fuchigami *et al.* (1981) y Sutter y Langhans (1979) en plantas de clavel y coliflor.

Morrison y Webster (1978) mencionan que la diferencia en la composición y morfología de la cutícula es de tipo inter e intraespecífica a diferentes edades y entre diferentes órganos y que el control fenotípico de la formación de la cera ha sido demostrado, también señalan que la apariencia externa de las hojas ha sido relacionada con: la cantidad, composición química y estructura de la cera epicuticular. Sin embargo, los factores externos que influyen en el desarrollo de la cutícula no han sido totalmente examinados. Skoss y Daly citados por Morrison y Webster (1978) clasificaron las propiedades cuticulares de acuerdo al hábitat y clima, sobre las bases de aumento en características xerófitas. Whitecross y Armstrong, citados por Morrison y Webster (1978) señalan que bajo condiciones controladas es aparente que la temperatura, la luz y la humedad relativa afectan la cantidad y la

estructura de la cera cuticular. Baker, también citado por Morrison y Webster (1978), apoyó esta teoría e incluso menciona que con una alta humedad relativa del 98% se obtienen pequeñas concentraciones de cera.

Brainerd *et al.* (1981) han observado otras diferencias anatómicas en las plantas micropropagadas de ciruelo cv. *pixy* como son: células del parénquima en empalizada más pequeñas, mayor cantidad de espacios intercelulares en el mesófilo y menor frecuencia estomatal por  $\text{mm}^2$ . Estas características anatómicas se identifican con las que presentan aquellas plantas que crecen en ambientes sombreados y húmedos, estudiadas por Esau (1977).

Por otro lado, Snir (1981) menciona que algunas plantas que han sido enraizadas en el medio de cultivo, presentan un sistema radical no funcional, por carecer de pelos absorbentes y que por lo tanto pueden ser dañadas mecánicamente con mayor facilidad, cuando se transfieren al suelo. Poole y Conover (1983) concluyen que los tejidos de las raíces de las plantas micropropagadas pueden estar menos aclimatizadas que las raíces de las plantas propagadas por estacas, aún seis semanas después del trasplante.

#### 1.4. Factores que afectan el establecimiento a suelo

Anderson (1980) menciona que en esta etapa se deben considerar como factores importantes al: ambiente, recipiente y a las mezclas de suelo utilizadas. Poole y Conover (1983) de terminaron que las temperaturas máximas del invernadero, las

dosis de fertilización y el tamaño inicial de la planta, fueron los factores que más afectaron el crecimiento de *Dieffenbachia* obtenida *in vitro* en el establecimiento a suelo.

## 1.5. Elementos que participan

### 1.5.1. Características inherentes de la planta

Las plantas que se obtienen por métodos asépticos, difieren en cuanto a su morfología y calidad entre sí, debido a:

- 1) Las numerosas respuestas diferenciales que tienen los propágulos a la presencia y/o concentración de reguladores del crecimiento y de sustancias enriquecedoras del medio como sacarosa, floriglucinol, carbón activado u otras. Villegas (1982), Sriskandarajah y Mullins (1981), Gautheret, Greenwood y Berley citados por Sriskandarajah y Mullins (1981), estos autores mencionan que la adición de sacarosa al medio es esencial para la formación de raíces *in vitro*. Ochoa (1983) y Rosati *et al.* (1980) emplearon carbón activado para obtener fresa y ciruelo japonés *in vitro* e incrementar la formación de raíces. Rugini y Pontanazza (1981) evaluaron cuatro medios de proliferación diferentes, consiguiendo diferencias significativas en cuanto al número de tallos, longitud de entrenudos, porcentaje de enraizamiento y longitud de raíz.

2) La calidad de la planta es afectada también por el tiempo que permanecen éstas en el medio de enraizamiento después de iniciada la raíz, dado que, la senescencia de las plantas se da a medida que se consumen las diferentes substancias que integran el medio de cultivo, Villegas (1982). Howard y Heather (1981) evaluaron el establecimiento de *Prunus* cv. pixy, transplantado después de 3, 6 y 9 semanas del inicio de la raíz, encontrando supervivencias del 50%, 80% y 90% respectivamente, sin embargo, las plantas de 3 semanas se establecieron y crecieron mejor. En trabajos preliminares a este trabajo de tesis se encontró que cuando las plantas completas de fresa permanecen por 90 o más días en el medio de cultivo, éstas al ser transferidas a suelo no son capaces de sobrevivir, ya que su sistema radical deja de ser funcional.

Por lo anterior, las plantas propagadas *in vitro* varían tanto en número y longitud de raíz como en altura y número de hojas e inclusive en plantas que provienen del mismo pro págulo.

#### 1.5.2. Tipo de crecimiento

Dado que en el reino vegetal existen diversas especies que difieren en morfología, reproducción, hábito de crecimiento, ciclo de vida, adaptación al medio, etc., adquiriendo

necesidades y requerimientos diferentes regidos por su geno tipo particular, es necesario considerar tales características al momento de implantar el cultivo *in vitro*, Boxus y Quoirin (1977) mencionan que para las plantas leñosas el cultivo *in vitro* ha sido más difícil porque la conformación genética del material regenerado es más lento.

Heuser (1983) propagó *in vitro* *Lythrum virgatum* (planta herbácea perenne) consiguiendo una alta proliferación de tallos axilares y una elongación adecuada, estableciendo en suelo el 96% de la población.

Murashige y Lane citados por Rosati *et al.* (1980) mencionan que la micropropagación de muchas especies herbáceas ha sido exitosamente realizada usando diferentes técnicas de cultivo de tejidos. Por otro lado, Hammerschlag (1980) menciona que durante muchos años las especies leñosas se consideraron, como un material de difícil propagación utilizando ésta técnica; sin embargo, Abott citado por Hammerschlag (1980) reporta que se han obtenido cuando menos 40 especies utilizando el cultivo de tejidos en frutales. Boxus y Quoirin (1974) citados por Rosati *et al.* (1980) han trabajado con algunas especies de *Prunus* como *P. pandola*, *P. accolade* y *P. serrulata*; Broome y Zimmerman (1978) con zarzamora sin espinas; Sriskandarajah y Mullins (1981) con cultivares de manzano y Rugini y Fontanazza (1981) con olivo.

Earle y Langhans (1975) citados por Fuchigami *et al.* (1981) Poole y Conover (1983) y Heuser (1983) trabajando con plantas herbáceas en el establecimiento a suelo, obtuvieron

en promedio 82% de supervivencia. Garton *et al.* (1981), Rosati *et al.* (1980), Hasegawa (1979), Skirvin y Chu (1979), Broome y Zimmerman (1978) y Rugini y Fontánazza (1981), trabajando con plantas leñosas en su establecimiento obtuvieron en promedio 40% de supervivencia.

La mayoría de estos autores únicamente reportan el proceso del establecimiento de manera general sin darle la importancia debida a esta etapa, en tanto que, Howard y Heather (1981) mencionan que con un buen acondicionamiento del suelo, riegos cuidadosos y un estricto control de humedad muchas plantas micropropagadas se han establecido perfectamente durante su estación de crecimiento en cualquier recipiente.

### 1.5.3. Sustratos de crecimiento

Las plantas obtenidas *in vitro*, debido a las características que presentan (antes mencionadas), necesitan de un sustrato adecuado que facilite la penetración de las raíces, permitiendo un desarrollo óptimo del sistema radical en condiciones de invernadero y para esto, deben conocerse las características químicas y físicas de las diferentes mezclas utilizadas con este fin, como son: aereación, drenaje, retención de humedad, contenido de materia orgánica, concentración de sales, grado de compactación, fertilidad y textura. La compactación y el encogimiento o reducción de la mayoría de los medios de crecimiento ocurre con la aplicación normal del riego y la descomposición gradual de la materia orgánica, lo que a la vez, influye en el drenaje, ya que éste se ve - - -



obstaculizado por la reducción del espacio poroso Whitcomb (1979).

Snir (1981) trabajó con frambuesa y menciona que hubo dos factores que contribuyeron en la alta eficiencia radical siendo uno, la buena aereación que permitió la mezcla jiffi 7, la cual incrementó el desarrollo de las raíces y el otro el rejuvenecimiento de la frambuesa, que se obtiene a través del sistema de cultivo de tejidos.

Snir (1981) utilizó pelotas de turba que protegieron a las raíces de los peligros (daños mecánicos) al momento del trasplante y obtuvo cerca de 2,000 sobrevivientes sin mencionar el porcentaje equivalente. Poole y Conover (1983) para el establecimiento de *Dieffenbachia* evaluaron tres tipos de sustrato: 1) mezcla vergro, compuesta de turba canadiense, vermiculita, perlita y micronutrientes; 2) mezcla vergro más poliestireno y 3) mezcla vergro con arcilla calcinada sustituyendo a la perlita, y encontraron que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos probados en el proceso de establecimiento. Damiano (1980) menciona que los mejores resultados en cuanto a mezclas de suelo, las ha obtenido con turba y un pH de 5.5 a 7.

Rugini y Fontanazza (1981) utilizaron para el establecimiento de olivo propagado *in vitro* una mezcla de suelo compuesta por arena, turba y tierra en relación 1:1:1 v/v. Broome y Zimmerman (1978) utilizaron una mezcla de turba no esterilizada (jiffi 7) y turba con vermiculita y suelo. Johnson y Emino (1979) trabajando con tallos de *Mammillaria e.* - - -

utilizaron pequeños recipientes y una mezcla de suelo compuesta por 2:1:1 v/v de turba, vermiculita y perlita. Messguer y Melé (1978) transplantaron en macetas de barro plantas de *Pelargonium h.*, utilizando una mezcla de turba, tierra vegetal y arena en partes iguales. Heuser (1983) utilizó para el establecimiento de estacas de *L. virgatum* una mezcla compuesta por una parte de vermiculita y una de musgo esfagníneo v/v. Howard y Heather (1981) ocuparon en el transplante de *P. insisitia* cv. pixy una mezcla de 7:3:1 partes de turba, arena y arcilla esterilizada v/v.

#### 1.5.4. Fase de microambiente

Brainerd y Fuchigami (1981) citan la definición de aclimatación y aclimatación<sup>2/</sup>; ambos son términos que describen los procesos de adaptación de un organismo a un cambio ambiental, sin embargo, la aclimatación es un proceso regulado por la naturaleza y la aclimatación es un proceso regulado por el hombre.

Algunos autores han señalado que la humedad relativa, la cantidad y la distribución de la estructura cerosa en la epicutícula de las hojas, las altas temperaturas en el invernadero y en general las características anatómicas que presentan las plantas micropropagadas, (estudiadas en el apartado 1.3.3) influyen significativamente en la tasa de - - -

---

<sup>2/</sup> Definiciones aceptadas por la Environmental Conditioning Symposium, de 1977, Chicago III.

supervivencia, cuando se ha pretendido transferir estas plantas del medio de cultivo al suelo, bajo condiciones de invernadero, (Brainerd y Fuchigami (1981); Jones y Hepgood citados por Fuchigami *et al.* (1981); Damiano (1980); Sutter y Langhans (1979); Earle Langhans citados por Sutter y Langhans (1979); Poole y Conover (1983); Brainerd *et al.* (1981).

El principal efecto según Brainerd y Fuchigami (1981); es el estado de stress o agobio provocado por la excesiva transpiración que ocurre cuando las plantas son cambiadas a un ambiente de menor humedad relativa, lo que ocasiona una desecación de las células provocando la marchitez en unas y/o la muerte en otras, considerándose esto como la causa principal de la baja supervivencia en suelo de estas plantas, Sutter y Langhans (1979); Anderson (1980) y Fuchigami *et al.* (1981).

Sutter y Langhans (1979) y Brainerd *et al.* (1981) sugieren que otros procesos fisiológicos también pueden contribuir al estado de stress o agobio por déficit de agua como: la baja respuesta estomática, el transporte del agua y las mayores exposiciones de abertura estomática. Schonherr citado por Sutter y Langhans (1979) demostró que los compuestos cerosos de la cutícula determinan la disponibilidad del agua; Brainerd *et al.* (1981) trabajando con plantas de ciruelo cultivado asépticamente encontraron que las hojas no aclimatizadas fueron significativamente más agobiadas y sus estomas permanecieron durante más tiempo abiertos, por lo que perdieron más agua en menos tiempo, que aquellas plantas aclimatizadas

en invernadero. Por otro lado, Brainerd y Fuchigami (1981) aclimatizando plantas de manzano a bajas humedades relativas encontraron respuestas similares, además observaron una correlación altamente significativa ( $r=0.908$ ) entre el porcentaje de pérdida de agua y el porcentaje de estomas abiertos de acuerdo a los dos tipos de plantas evaluadas (obtenidas *in vitro* e invernadero). El desarrollo de la superficie cerosa en las plantas micropropagadas ha sido considerado como el factor principal para que las plantas sobrevivan y logren su aclimatización en un menor tiempo, Brainerd y Fuchigami (1981), Sutter y Langhans (1979), Brainerd *et al.* (1981). Las causas por las que las plantas obtenidas *in vitro* carecen o presentan muy pequeñas cantidades de cera epicuticular se debe a que el crecimiento *in vitro* se da con alta humedad relativa, altas temperaturas y baja intensidad lumínica, influyendo ampliamente la concentración exógena de fitoreguladores, Sutter y Langhans (1979), estas condiciones también influyen en la formación anatómica de estas plantas, (ya descritas anteriormente), Brainerd *et al.* (1981). Zimmerman y Broone (1980) encontraron que las plantas de manzano propagadas *in vitro* carecieron de cutícula o que la presentaban incompleta por lo que se desecaron rápidamente, además detectaron que las hojas originadas en el invernadero presentaban ya una cutícula normal. Fuchigami *et al.* (1981) encontraron pequeñas cantidades de cera sobre el lado abaxial de la hoja después de dos semanas de que las plantas estuvieron en el invernadero y cesó la pérdida de agua. Fuchigami *et al.* (1981)

y Brainerd *et al.* citados por Fuchigami *et al.* (1981), encontraron que la pérdida de agua durante el proceso de aclimatación, puede ser favorecida por la menor cantidad de cera epicuticular en la superficie abaxial de las hojas y por la elevada transpiración estomatal por este mismo lado. Por estas condiciones Fossard (1977) menciona que es importante encontrar la forma de desarrollar la superficie cerosa de estas plantas para que resistan al cambio brusco de condiciones ambientales y así asegurar tanto su supervivencia como su establecimiento en suelo.

Damiano (1980) menciona que se requiere de una humedad relativa mínima del 90% durante los primeros 15 días después del trasplante. Jones y Hepgood, citados por Fuchigami *et al.* (1981) reportan que obtuvieron una buena supervivencia manteniendo una alta humedad relativa inmediatamente después del trasplante. Sin embargo, Brainerd y Fuchigami (1981) lograron aclimatizar plantas de manzano exponiéndolas a humedades relativas bajas (30 a 40%) durante 4 ó 5 días, y encontraron que la velocidad del cierre de estomas se incrementó con la duración de la exposición, es decir que menos del 20% de estomas fueron cerrados cuando las hojas fueron expuestas de 0 a 4 días, mientras que las hojas expuestas en un lapso de 5 y 6 días obtuvieron un cierre del 81% después de 15 minutos del corte. El daño causado por la pérdida de agua en las plantas recientemente transferidas a condiciones de invernadero provoca la producción de etileno de forma mucho más temprana que en las plantas aclimatizadas en invernadero,

demostrándose que las hojas de ciruelo fueron dañadas por el agobio de agua cuando éstas perdieron más del 50% de su humedad, Brainerd *et al.* (1981).

Varios autores citados por Kobayashi *et al.* (1981), señalan que el etileno es producido en los tejidos vivos de las plantas sometidas bajo agobio como: déficit de agua, enfermedades, bióxido de azufre, bajas temperaturas, etc. Y la presencia de etileno se ha utilizado como indicador del grado de agobio, mientras que los tejidos dañados seriamente o ya muertos producen cantidades significativas de etano, que ha sido utilizado para medir el grado de daño causado en los tejidos por el desecamiento. La alta concentración de CO<sub>2</sub> puede afectar la producción de etileno y etano; sin embargo, la presencia de O<sub>2</sub> es esencial para la producción de etileno, disminuyendo su producción con el N<sub>2</sub> (Baur *et al.*, Burg y Bussel y Maxie, citados por Kobayashi *et al.* (1981).

La producción de etileno puede indicar la proximidad a la muerte total de las células bajo agobio, ya que a medida que aumenta el daño por deshidratación la concentración de etileno decrece y la concentración de etano aumenta, incrementándose también la disrupción de las membranas celulares así como su permeabilidad, Kobayashi *et al.* (1981). Sin embargo, Elstner y Konze citados por Kobayashi (1981) mencionan que cuando las células se acercan a su muerte, la concentración de etano disminuye. Por otro lado, los efectos del etileno han sido muy estudiados y algunos autores citados por Bradford y Fa Yang (1981) señalan que el etileno en ----

(1979) colocaron plantas de coliflor bajo nebulización intermitente durante 10 días y después las colocaron sobre una cama sombreada durante una semana más.

Howard y Heather (1981) utilizaron cubiertas de polietileno transparente que removieron de acuerdo a las características de las plantas de ciruelo y a las condiciones ambientales. Johnson y Emino (1979) formaron un microambiente al cubrir los recipientes con bolsas de plástico, mismas que fueron perforando para retirarlas paulatinamente, quedando a las dos semanas totalmente libres, además reportan que durante este período se logró la adaptación de los tallos de *Mammillaria e.* generados *in vitro* a condiciones de invernadero desarrollando un sistema radical funcional. Heuser (1983) utilizó una cámara con alta humedad relativa para aclimatar, establecer y enraizar estacas de *Lythrum virgatum* propagada *in vitro*. Schnabelrauch y Sink (1979) utilizaron una cubierta de plástico clara con recipientes de igual material para mantener una alta humedad relativa en el establecimiento de *Phlox subulata* propagada *in vitro*, durante dos semanas bajo un régimen de 16 horas luz/día a una intensidad de 5.4 Klux y temperatura de 22 a 26°C. Sin embargo, Broome y Zimmerman (1978) lograron un microambiente al invertir un frasco de vidrio proporcionando una alta humedad relativa durante un lapso de 3 semanas, posteriormente las plantas fueron colocadas bajo nebulización intermitente de 16 seg/6 min/11 hr/1 semana finalizando así la aclimatización. Rugini y Fontanazza (1981) mencionan únicamente haber considerado una -

humedad relativa del 90% durante el trasplante de olivo generado *in vitro* bajo condiciones controladas y que después de haber logrado su aclimatización fueron transferidas al invernadero. Por otro lado Chua *et al.* (1981) lograron aclimatizar en condiciones de vivero a *Dracaena marginata* propagada *in vitro*, sin reportar la utilización de microambiente alguno, sin embargo llegaron a transplantarla a campo abierto. Dependiendo de la especie, algunos autores han reportado haber llevado a cabo la fase de aclimatización y el enraizamiento *in vivo* bajo condiciones de invernadero al mismo tiempo. Zimmerman y Broome (1980), enraizaron y aclimatizaron estacas de manzano al mismo tiempo, utilizando cubiertas de polietileno y nebulización intermitente, señalando que esta técnica tiene bastantes ventajas, además consideran que la aclimatización en condiciones de invernadero es un procedimiento más difícil. Por otro lado, Heuser (1983) enraizó y estableció estacas de *Lythrum v.* propagada *in vitro* al mismo tiempo que las aclimatizaba en una cámara con alta humedad relativa.

Puede considerarse que la aclimatización termina cuando se inicia el nuevo crecimiento vegetativo de los brotes, muriendo algunas de las hojas obtenidas *in vitro*, Zimmerman y Broome (1980); mientras que Brainerd y Fuchigami (1981) tomaron como índice de aclimatización el contenido relativo de agua y el por ciento de cierre de estomas.

El intervalo entre destellos de la nebulizadora debe reducirse al mínimo necesario para prevenir la desecación de



las hojas, por lo que Zimmerman y Broome (1980) utilizaron un destello de 1 seg/3 min/24 hr resultando haber sido la mejor; sin embargo, Poole y Conover (1983) evaluaron varios intervalos de destellos con 15 seg/5 min/24 hr/2 días; 15 seg/6 min/24 hr/2 días; 15 seg/10 min/24 hr/5 días; 15 seg/15 min/18 hr/9 días y 15 seg/30 min/10 hr/3 días, no reportando diferencia significativa entre ellos.

La duración del período de microambiente puede variar según el método de aclimatización usado, las formas y materiales utilizados y las especies tratadas. Lineberger (1983) estimó una duración de 7 días para aclimatizar plantas de cereza durante el establecimiento, utilizando una nebulización intermitente de 6 seg/6 min/3 días. Por otro lado, Brainerd y Fuchigami (1981) mencionan que el proceso de aclimatización a bajas humedades relativas involucra un cambio en la función estomática, ocurriendo antes de los 5 días después de la exposición, mientras que la aclimatización a altas humedades relativas involucra el desarrollo de la estructura cerosa en la epicutícula, además de una reorientación de los cloroplastos (según Conover 1978, citado por estos autores), ocurriendo esto después de 10 ó 14 días del trasplante.

En general la mayoría de los autores han conseguido aclimatizar a las plantas en un período comprendido entre 7 y 15 días después del trasplante.

### 1.5.5. Recipientes

Los recipientes utilizados en las prácticas de producción de plantas de vivero e invernadero, varían en forma, tamaño y volumen; así como también, en los materiales de fabricación. Los recipientes utilizados en el establecimiento de plantas obtenidas *in vitro*, frecuentemente son más pequeños que los utilizados normalmente en los viveros e invernaderos debido al tamaño de las plantas y la elección adecuada del recipiente se refleja en el crecimiento satisfactorio de las mismas; en la facilidad de su manejo y en el ahorro económico que implica (Matta y Storey, 1981; Gibson y Whitcomb, 1977).

Algunos autores han reportado las características de los recipientes utilizados en esta etapa de establecimiento como Hasegawa (1979) que utilizó recipientes de plástico de 10 x 40 cm en el establecimiento de rosa. Garton *et al.* (1981) utilizaron recipientes de 7.5 cm no mencionan ni el material ni la forma. Schnabelrauch y Sink (1979) utilizaron recipientes de cápsula de turba expandible de 10 cm con una mezcla artificial de suelo bajo un sistema de riego automático en el invernadero. Mientras que Howard y Heather (1981) ocuparon en el establecimiento de ciruelo cvs. pixy, recipientes de plástico y de barro de 8 cm de diámetro no encontrando diferencias en cuanto al crecimiento de las plantas entre los dos recipientes. Chua *et al.* (1981) ocuparon recipientes de plástico de 5 cm para establecer *Dracaena m.* Por otro lado, Poole y Conover (1983) utilizaron unos recipientes de 2.5 cm

(cell speedling)<sup>3/</sup> y otros de 12 cm de diámetro en el establecimiento de *Dieffenbachia m.* Rugini y Fontanazza (1981) transplantaron en macetas de plástico individuales con capacidad de 200 ml.

No existen trabajos relacionados con la evaluación del efecto del recipiente sobre la supervivencia y el crecimiento sucesivo de las plantas que han sido micropropagadas y transferidas a condiciones de invernadero. Sin embargo, la influencia del recipiente sobre el desarrollo del sistema radical y el crecimiento de los brotes vegetativos en plantas que han sido propagadas por métodos convencionales, ha sido ampliamente discutida por Dickinson y Whitcomb (1977); Whitcomb *et al.* (1977); Laiche y Kilby (1983); Hathaway (1977); Gibson y Whitcomb (1977); Matta y Storey (1981); Conover y Poole (1979); Dickinson y Whitcomb (1977b) y Birchell y Whitcomb (1977).

En trabajos con plantas que han crecido en recipientes y propagadas por métodos convencionales, se ha demostrado que éstos son buenos sitios que promueven el desarrollo de un sistema radical fibroso otorgando un máximo potencial de regeneración, Gibson y Whitcomb (1977), Williams y Whitcomb (1979). Hathaway (1977) menciona que las estacas de vid que crecieron en recipientes después de 8 semanas presentaron un sistema radical más fibroso con una mayor altura que las

---

<sup>3/</sup> Sin traducción al español, por las características descritas por Matta y Storey *op. cit.* se consideró como recipiente tipo semillero.

estacas de vid crecidas directamente en el campo.

Por otro lado, se ha demostrado que la forma, el volumen, la profundidad, el diámetro, el material de construcción y el color de los diversos recipientes; influyen grandemente sobre el crecimiento de las plantas y más aún sobre su supervivencia.

#### 1.5.5.1. Forma

Los recipientes varían en forma. Esta puede ser cuadrada, rectangular, cónica, cilíndrica, semicónica, redonda, etc. Hartmann y Kester (1982). Gibson y Whitcomb (1977) mencionan que los recipientes cuadrados provocan que las raíces crezcan por los lados siguiendo el ángulo de 90° formado en las esquinas hasta llegar al fondo, en contraste con los recipientes redondeados que tienden a formar raíces enrolladas provocando algunas veces ahorcamientos e incluso la muerte de las plantas; influyendo así en el buen desarrollo radical de las plantas. Los recipientes en forma de charola de plástico u otros materiales se han utilizado generalmente para la propagación de plantas por presentar una mayor facilidad en el manejo, Hartmann y Kester (1982).

#### 1.5.5.2. Volumen

El volumen de los recipientes empleados varía desde la charola germinadora de gran capacidad, hasta los semilleros de escaso volumen, Hartmann y Kester (1982). La importancia de evaluar el volumen de los recipientes es debida a que - -

cada especie tiene un requerimiento óptimo para crecer y de sarrollar un sistema radical eficiente, Gibson y Whitcomb (1977) encontraron que plantas de pino propagadas por semilla crecieron mejor en recipientes pequeños. Por otra parte, Matta y Storey (1981) mencionan que el recipiente tipo "Speedling" produjo un sistema radical más fibroso, compacto y pequeño; garantizando el buen establecimiento posterior en campo de las plantas de nogal pecanero obtenidas por semilla, además observaron que no hubo efecto del recipiente sobre la altura de las plantas. Sin embargo, el recipiente de estyreno en forma cilíndrica resultó eficiente para obtener un mayor peso seco del sistema radical y el recipiente "Speedling" no tuvo influencia sobre el diámetro del tallo, mencionando que tal vez esto fue debido a que la mayoría de la energía metabolizada (carbohidratos) fue ocupada en la formación del sistema radical más fibroso. Concluyen que el recipiente tipo "Speedling" puede visualizarse como una unidad compacta y pequeña que podría ser económicamente manejable.

#### 1.5.5.3. Profundidad y diámetro

La profundidad, la ausencia o presencia de fondo y el diámetro del recipiente, son otras características que influyen en la obtención de plantas de calidad. La profundidad del recipiente puede referirse a:

1. La altura del recipiente, desde el borde superior hasta la base o fondo.
2. Relacionada con el nivel de mezcla del suelo,

proporcionada al recipiente (entendiéndose que puede proporcionarse un nivel de suelo del 100, 75, 50 ó 25%), variando así la profundidad.

La capacidad de drenaje está en función de la profundidad del recipiente y la textura del sustrato de crecimiento, Whitcomb (1979). Por lo tanto asegura, que la combinación deseable entre la profundidad y el tamaño de los poros formados en la mezcla de suelo debe ser intermedia, ya que un recipiente muy profundo y un medio de crecimiento con espacios porosos muy pequeños causaría muchas más limitaciones en el drenaje que un recipiente poco profundo conteniendo una mezcla de suelo de textura media. Además al parecer, Whitcomb (1979) menciona que recipientes poco profundos y con un nivel de sustrato de crecimiento del 100% (al ras), resultan con mejor drenaje y proporcionan mejores condiciones para el buen desarrollo de las raíces que recipientes más profundos con el mismo medio y niveles menores al 100%. Por otro lado, los recipientes con fondo almacenan la mayor parte del agua en él, siendo para este caso, entonces mejor aquellos recipientes poco profundos y con niveles de suelo menores al 100%, ya que facilitan el drenaje y proporcionan buenas condiciones para el buen desarrollo radical. Sin embargo, Williams y Whitcomb (1979) mencionan que el uso de recipientes cuadrados sin fondo para la propagación por semilla de algunos árboles ha sido muy estudiado, produciéndose por este método un sistema radical fibroso bastante denso. Además de --

proporcionar otras ventajas a los viveristas relacionadas con este método, ya que permite llevar a cabo el trasplante definitivo sin dañar a las raíces permitiendo un máximo potencial de regeneración y elimina la posibilidad de obtener raíces mal formadas o crecimientos en forma de espiral. Gibson y Whitcomb (1977) mencionan que las plantas que crecen en recipientes sin fondo necesitan, después de algún tiempo de una poda en su sistema radical, provocándose así el desarrollo de raíces laterales secundarias.

Birchell y Whitcomb (1977) aseguran que otra forma de promover el crecimiento de raíces secundarias es utilizando separadores plásticos en el interior de los recipientes con fondo, argumentando que se provocan puntos limitantes para el desarrollo de la raíz parecidos al efecto que tiene el método de ausencia de fondo y la poda. Esto puede ser una solución para disminuir el daño producido a las raíces por el fondo de los recipientes comúnmente utilizados, ya que con este sistema se restringe el desarrollo radical en longitud causando ramificaciones laterales secundarias.

Con lo que respecta al diámetro o ancho del recipiente Whitcomb (1979) señala que manteniendo una misma profundidad del recipiente y con un nivel de mezcla uniforme, el diámetro no tiene efecto sobre la velocidad de drenaje; sin embargo, Williams y Whitcomb (1979) mencionan que la anchura de los recipientes es un factor muy importante y que un recipiente más ancho promueve más crecimiento en plantas obtenidas por semilla que un recipiente más estrecho, aunque los dos --

recipientes contengan el mismo volumen de suelo.

#### 1.5.5.4. Materiales y color

Los materiales más utilizados son barro, fibras, metales, papel parafinado, cartón, plásticos (rígidos y suaves), cápsulas de musgo comprimido, unicel, etc. Hartmann y Kester (1982) y Whitcomb (1979). En cuanto a los colores estos han variado en los últimos años a partir de que los recipientes de plástico se han venido utilizando en mayor escala, Conover y Poole (1979); sin embargo, podríamos clasificarlos únicamente en colores claros y oscuros. Los diferentes colores y materiales de los recipientes influyen en el adecuado crecimiento de las plantas y aún más en la supervivencia, debido a que, según el material de construcción, pueden facilitar o dificultar la entrada del oxígeno por las paredes laterales, Whitcomb (1979) menciona que el oxígeno puede entrar a través de la superficie del recipiente o por los hoyos de drenaje en cualquier material de recipiente; sin embargo, en los recipientes de barro no barnizados el oxígeno se difunde por las paredes laterales siempre y cuando los poros no se hayan obstruido con partículas de suelo o sales. Además de considerar la excesiva concentración de sales que se acumula en los recipientes según el material, debido a la calidad del agua de riego, fertilizaciones altas y otros factores que provoquen serios daños en el crecimiento de las plantas. El tipo de material influye en las temperaturas del medio de crecimiento, Hartmann y Kester (1982) mencionan que en las macetas de metal se tiene una mayor temperatura en el suelo que en las



macetas de plástico.

El color del recipiente influye tanto en la temperatura del medio de crecimiento como en la intensidad de la luz que llega al sistema radical. Hartmann y Kester (1982) mencionan que en zonas donde existen temperaturas elevadas en el verano, el empleo de recipientes claros, puede mejorar el crecimiento de las raíces evitando el daño que les pueda causar el calor, puesto que los recipientes de color oscuro absorben una cantidad considerable de calor cuando se exponen al sol. También Whitcomb (1979b) señala que la alta temperatura del sustrato es con frecuencia la causa principal del pobre crecimiento de las plantas, argumentando que el color del recipiente influye en el incremento de la temperatura. Por otro lado, Maisano, citado por Conover y Poole (1979) observó que las macetas de plástico translúcido estimularon el crecimiento de las raíces hacia el interior del conglomerado de suelo y no hacia el rededor de éste, como sucedería en los recipientes de barro. Conover y Poole (1979) determinaron que el grado visual de enraizamiento de *Ficus* y *Peperomia* no fueron influenciados por los tratamientos de 5 KLx y 14 Klx de translucencia, mientras que los géneros *Chamaedorea* y *Aglaeonema* fueron afectados por los rangos de 14 KLx de luz translúcida. Whitcomb (1979b) señala que en los recipientes translúcidos observó el crecimiento de algas, las cuales incrementaron la concentración de CO<sub>2</sub> en el medio de cultivo.

En resumen, Whitcomb (1979) señala que muchos expertos coinciden en que la principal causa por la que mueren las - -

plantas que crecen bajo el sistema de recipientes es el exceso de humedad, aunado al deficiente sistema de drenaje. Este principio se basa en que al practicar un riego excesivo la cantidad de oxígeno difundido en el sistema radical disminuye, mientras que la cantidad de bióxido de carbono producido por la actividad microbiana y por las raíces vivas aumenta. Por lo que este incremento de  $\text{CO}_2$  causa la lenta difusión de  $\text{O}_2$  a la raíz y por lo tanto la disminución de la respiración.

#### 1.5.6. Luz

La luz manifiesta una naturaleza dual, es decir, ondulatoria y como partícula, Salisbury (1968) se sabe que tanto la rotación de la tierra; así como la latitud, altitud, contaminación del aire, nubosidad y otros factores influyen sobre la intensidad, duración y calidad de la luz en la naturaleza, lo que repercute en las plantas durante su proceso fotosintético, siendo esta función disminuida o aumentada. Las plantas verdes absorben radiaciones electromagnéticas de longitud de onda comprendidas entre los 400 a 750  $\mu\text{m}$ , para realizar la fotosíntesis; sin embargo cada especie tiene sus requerimientos propios en cuanto a intensidad y duración de luz, para realizar sus funciones metabólicas con mayor eficiencia, Devlin (1975), Westwood (1982) y Wald (1959). Además el espectro visible, comprende desde los 360  $\mu\text{m}$  hasta los 550  $\mu\text{m}$  de longitud de onda, y se ha encontrado que con iluminaciones altas en las que existe una elevada proporción de radiaciones ultravioleta se produce una tendencia enanizante, mientras que con bajas intensidades lumínicas y con proporciones

mayores de radiación roja se incrementa el crecimiento, West wood (1982). La utilización de fuentes artificiales de energía luminosa para el desarrollo y crecimiento de las plantas cultivadas bajo condiciones controladas data desde los albores del Siglo XX, siendo esta energía luminosa proporcionada originalmente por las lámparas incandescentes; sin embargo, desde los años 40's estas lámparas o fuentes de energía empezaron a ser sustituidas por las lámparas fluorescentes, Cathey et al. (1978), pero Berthwick y Parker citados por Cathey et al. (1978), observaron que varias plantas evaluadas no habían crecido y desarrollado tan bien como cuando crecieron bajo condiciones normales, por otro lado, la utilización de lámparas incandescentes incrementa casi al doble la temperatura y la radiación infrarroja en los invernaderos, haciendo más difícil controlar la uniformidad del ambiente. Empero, se ha demostrado que la adición de la luz con este tipo de lámparas ha permitido crear un ambiente propicio para el desarrollo y crecimiento normal de muchas especies. Cathey et al. (1978), obtuvieron un mayor crecimiento en un menor tiempo utilizando lámparas incandescentes que emitieron rangos similares de radiaciones rojas e infrarrojas, lo cual demuestra que la energía total y la presencia de radiaciones infrarrojas son esenciales para estimular crecimiento,

Las lámparas fluorescentes difieren de las lámparas incandescentes por:

- a) Tener una menor producción de radiaciones electromagnéticas comprendidas entre los 660 m $\mu$  y

los 730 m $\mu$  que pertenecen a las longitudes de onda del rojo y rojo lejano.

b) Emiten intensidades más bajas de luz.

c) No irradian energía calorífica.

Murashige (1977) menciona que la lámpara fluorescente emite radiaciones significativas entre los rangos del azul y del rojo, siendo aparentemente más efectiva para la propagación de plantas que para el crecimiento de las mismas. Sin embargo, algunos autores citados por Cathey *et al.* (1978) han conseguido tener características deseables en cuanto a crecimiento, color de hojas y floración, en algunas especies que han crecido en invernadero, utilizando lámparas incandescentes suplementadas con luz de lámparas fluorescentes.

En los últimos años los fabricantes de lámparas, preocupados por evitar el excesivo calor que producen las lámparas incandescentes, así como, alargar su tiempo de vida, han intentado desarrollar alternativas con lámparas fluorescentes que emitan radiaciones entre 430 m $\mu$ , 660 m $\mu$  y los 730 m $\mu$  de longitud de onda, correspondientes a los colores azul, rojo e infrarrojo, para obtener el máximo de absorción de la energía radiada sobre las hojas de las plantas, Cathey *et al.* (1978). También mencionan que para seleccionar una lámpara como fuente de energía para promover el crecimiento de las plantas, primero hay que considerar (como factor más importante) a la eficiencia de conversión de luz potencial a radiación visible, que tienen los diferentes tipos de lámparas y segundo habría que tomar en cuenta la calidad de la luz o

la distribución espectral emitida.

Por otro lado, el estudio del efecto del fotoperíodo en el establecimiento a suelo de las plantas micropropagadas, puede ser importante para promover crecimiento, permitiendo reducir el tiempo para su comercialización ya que, la tasa de crecimiento, según Broschat y Donselman (1983) es considerada como factor económicamente importante en la producción comercial de plantas.

Se sabe que el fotoperíodo influye tanto en la inducción floral como en el crecimiento de muchas especies, Westwood (1982), e incluso varios autores citados por Broschat y Donselman (1983), Westwood (1982), Wareing (1956), Struve y Blazich (1980) lo han asociado con el inicio del reposo<sup>4/</sup> de muchas especies adaptadas a climas templados; sin embargo, el reposo puede también ser ocasionado por cambios de temperatura, sequía y por muchos otros factores en combinación Struve y Blazich (1980). Broschat y Donselman (1983) obtuvieron únicamente en el período de septiembre a noviembre una alta significancia en el crecimiento de las plantas de mahogany que crecieron bajo días largos, en contraste con las plantas que crecieron bajo días normales. El reposo puede ser determinado por un cese del crecimiento apical lo cual conlleva a obtener

---

<sup>4/</sup> Definido por Westwood, *op. cit.* como: cuando las yemas están latentes a causa de condiciones fisiológicas internas que impiden el crecimiento, incluso si las condiciones externas son favorables al mismo. Las temperaturas bajas por encima de 0°C y menores de 7°C, conducen a la salida del reposo.

un menor número de entrenudos de reducido tamaño longitudinal, Wareing (1956). Los árboles caducifolios a fines de verano detienen su crecimiento, desprenden sus hojas y adquieren resistencia al clima invernal. Westwood (1982); Wareing (1956) señala que en las especies con hábitos monopódicos<sup>5/</sup> bajo días cortos, el reposo es marcado por la formación de una yema terminal quiescente, mientras que en las especies con hábitos simpódicos está involucrado la abscisión de los brotes apicales.

Durante las primeras etapas del crecimiento de las plantas, la susceptibilidad al frío es mayor y la oportuna entrada al reposo garantiza la supervivencia y el subsecuente crecimiento en la primavera siguiente, Westwood (1982); mahogany detuvo su crecimiento en el otoño e invierno independientemente de la duración del día, ocasionado tal vez por las bajas temperaturas registradas en este período, reanudando su crecimiento en la primavera, Broschat y Donselman (1983). Westwood (1982) señala que el período de reposo debería finalizar con la llegada de la primavera, pero la capacidad de brotación de una yema depende del equilibrio apropiado entre inhibidores y promotores del crecimiento y no del nivel absoluto de uno de ellos. Por otro lado, Overcash y Campbell citados por Westwood (1982) sostienen que un período de frío

---

<sup>5/</sup> Plantas en las que, el eje principal sigue creciendo y promueve crecimientos de ejes laterales secundarios, cuando uno de éstos crece y supera al principal se convierte en planta simpódica; según R. Escobar 1981.

continuo ha demostrado ser más efectivo en promover la salida del reposo, que los períodos intermitentes de calor y frío durante el invierno. Además de considerar que cada planta tiene un requerimiento específico de horas frío y fotoperíodo para salir del reposo. *Fragaria x Ananassa* Duch., en general requiere de cantidades bajas de horas frío para salir del reposo (123 horas frío aproximadamente a temperaturas menores de 7°C y mayores de 0°C) y días largos con temperaturas elevadas para estimular la producción de hojas y estolones. Mientras que *Prunus cerasifera* por su centro de origen (Europa y Asia Occidental) localizado a latitudes medias, presenta mayores necesidades de frío para salir del reposo, Westwood (1982).

Otro factor considerado en el crecimiento de las plantas, es la intensidad de la luz, Arnot citado por Lumis y Johnson (1983) encontró una relación lineal positiva entre la intensidad de la luz y el crecimiento de varias coníferas. Por otra parte, Conover y Poole (1981) encontraron que intensidades de 2 Klx durante 12 hr/día fue suficiente para estimular la floración y el brote de nuevas hojas de violeta africana, inducidas 6 meses antes que aquéllas que recibieron intensidades menores.

Las plantas propagadas *in vitro* son mantenidas en su etapa de laboratorio a intensidades de 3000 a 10,000 lux con exposiciones de 16 hr/día, Murashige (1977) comparado con las que se consiguen en condiciones de invernadero, este cambio obliga a que las plantas tengan que ser aclimatizadas y - -

según Conover *et al.* citados por Fonteno y McWilliams (1978) mencionan que las hojas que crecen en ambientes sombreados son capaces de absorber más energía luminosa de la que entra o llega a un lugar, que aquéllas que crecen en lugares soleados, lo cual permite que las hojas que crecen bajo sombra tengan una mayor eficiencia fotosintética en condiciones de baja intensidad luminosa. Además, se ha encontrado que existe una reducción aparente en la respiración de las plantas aclimatizadas a bajas intensidades, indicando que éste es un factor importante en el proceso de aclimatización, aumentando la eficiencia fotosintética una vez logrado este proceso, Fonteno y McWilliams (1978). También se ha determinado que existe una relación inversa entre la fotosíntesis neta y la respiración bajo sombra, contra la transpiración durante el proceso de aclimatización de plantas follajeras a bajas intensidades, es decir, que al aumentar la transpiración disminuye tanto la respiración en sombra como la fotosíntesis en los lugares soleados.

Varios autores han reportado el uso de lámparas fluorescentes, luz normal y lámparas incandescentes en el establecimiento de plantas obtenidas *in vitro*. Las intensidades luminosas a las que han trabajado estos autores oscilan entre 190 mol/seg/m<sup>2</sup> (días normales), hasta 600 mol/seg/m<sup>2</sup>.



## 2. CONCLUSION DE LA REVISION DE LITERATURA

La propagación de plantas por medio del cultivo de tejidos en los últimos años ha cobrado un gran interés, sin embargo, la mayoría de los trabajos científicos realizados en el mundo se han enfocado principalmente a la etapa de obtención de plantas, descuidándose los aspectos relacionados con el establecimiento a suelo bajo condiciones de invernadero. La etapa de establecimiento a suelo de las plantas obtenidas *in vitro*, presenta una serie de limitantes que deben superarse para conseguir el éxito comercial de esta técnica, tales como:

- 1) La supervivencia que se consigue durante el establecimiento, la cual difiere tanto entre especies y cultivares, como por el hábito de crecimiento (herbáceo o leñoso).
- 2) El tamaño inicial de las plantas; el rango de la altura de planta para varias especies reportado para el trasplante a suelo oscila entre 0.5 cm y 5 cm resultando con mayor probabilidad de establecerse aquellas plantas que miden entre 3 y 5 cm de altura.
- 3) Anatomía de las plantas característica de las plantas desarrolladas en ambientes con alta

humedad relativa e intensidad lumínica baja; dado que presentan células del parénquima empalizada más pequeñas, mayor cantidad de espacios intercelulares en el mesófilo, menor frecuencia estomatal y una menor cantidad de cera epicuticular en las hojas e incluso pueden carecer de ella.

Estas características anatómicas, aunadas a las condiciones ambientales prevalecientes en el invernadero, influyen significativamente en la tasa de supervivencia, cuando se lleva a cabo la transferencia de las plantas del medio de cultivo al invernadero, provocando un estado de agobio, dado que ocurre una excesiva transpiración cuando las plantas cambian a un ambiente de menor humedad relativa.

Para reducir el agobio, varios autores han determinado que es necesario implementar un microambiente inmediatamente después del trasplante, para conseguir la aclimatización adecuada de las plantas bajo condiciones de invernadero. Este microambiente puede proporcionarse utilizando varios materiales, pero los que se han utilizado con mayor frecuencia son: cámara nebulizadora, bolsa de polietileno transparente y cubiertas de vidrio. La duración del período de microambiente, varía según el método de aclimatización, las formas y materiales de microambiente y la especie tratada, pero en general se puede decir que la duración oscila de 7 a 15 días.

Algunos autores mencionan que otros factores deben considerarse durante esta etapa como: ambiente del invernadero, tipos de recipiente, mezclas de suelo y manejo en general. Sin embargo, no existe información sobre el efecto que tiene el tipo de recipiente sobre la supervivencia y crecimiento en plantas obtenidas *in vitro* durante su establecimiento a suelo. Por otro lado, la suplementación de luz con lámparas, para favorecer el crecimiento de las plantas, ha sido ampliamente estudiado en plantas convencionalmente propagadas y el uso de estas lámparas durante el establecimiento de las plantas propagadas *in vitro* ha sido reportado, sin dar una evaluación del efecto causado. En general se han utilizado intensidades de luz que van de  $190 \text{ mol/seg/m}^2$  a  $600 \text{ mol/seg/m}^2$ .

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Localización geográfica

Este trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Fruticultura del Colegio de Postgraduados en Chapingo, México; localizado a 19°29' de Latitud Norte y a 98° 53' de Longitud Oeste, a una altura sobre el nivel del mar de 2,250 m.

#### 3.2. Condiciones climáticas bajo invernadero

Las temperaturas promedio registradas en el invernadero durante los meses de septiembre de 1983 a enero de 1984, fueron de 29°C  $\pm$  2°C y las temperaturas mínimas de 5°C  $\pm$  2°C; mientras que en el cuarto de incubación por su objetivo originario las temperaturas registradas fueron de 30°C  $\pm$  2°C, manteniéndose en forma constante.

#### 3.3. Especies vegetales

##### 3.3.1. Ciruelo mirabolano (*Prunus cerasifera*)

Las plantas de ciruelo se obtuvieron en los meses de agosto a septiembre a partir del cultivo *in vitro* de ápices. Se utilizaron plantas con tamaño promedio de 19 mm, siendo la menor altura que se registró de 5 mm y la mayor de 50 mm; el número y tamaño promedio de raíz fue de (4.1 y 19 mm) - -

respectivamente, en un intervalo de 1 a 9 raíces y de 2 a 70 mm de longitud.

### 3.3.2. Fresa (*Fragaria xananassa* Duch)

Las plantas de fresa se obtuvieron a partir del cultivo *in vitro* de ápices, durante los meses de septiembre a octubre. La altura de la planta promedio al momento del transplante fue de 27 mm registrándose un tamaño mínimo de 7 mm y 70 mm como máximo; el número promedio de raíces registrado fue de 3 en un intervalo de 2 a 32 raíces por planta; el tamaño promedio de raíz fue de 17 mm oscilando entre 2 y 67 mm.

Se utilizaron 3 cvs. de fresa, que fueron: Aiko, Tioga y Fresno siendo estos dos últimos comercialmente importantes en México.

### 3.4. Establecimiento de los experimentos.

Se llevaron a cabo dos experimentos, durante las estaciones de otoño-invierno de 1983 (octubre a enero). El ciruelo mirobolano se transplantó el 27 de octubre de 1983, utilizándose 360 plantas que fueron colocadas en condiciones controladas. La fresa fue transplantada el 16 de noviembre del mismo año, empleándose 648 plantas en total.

#### 3.4.1. Metodología utilizada en el transplante

1. Se retiraron las plantas del medio de cultivo y se enjuagaron las raíces perfectamente, - -

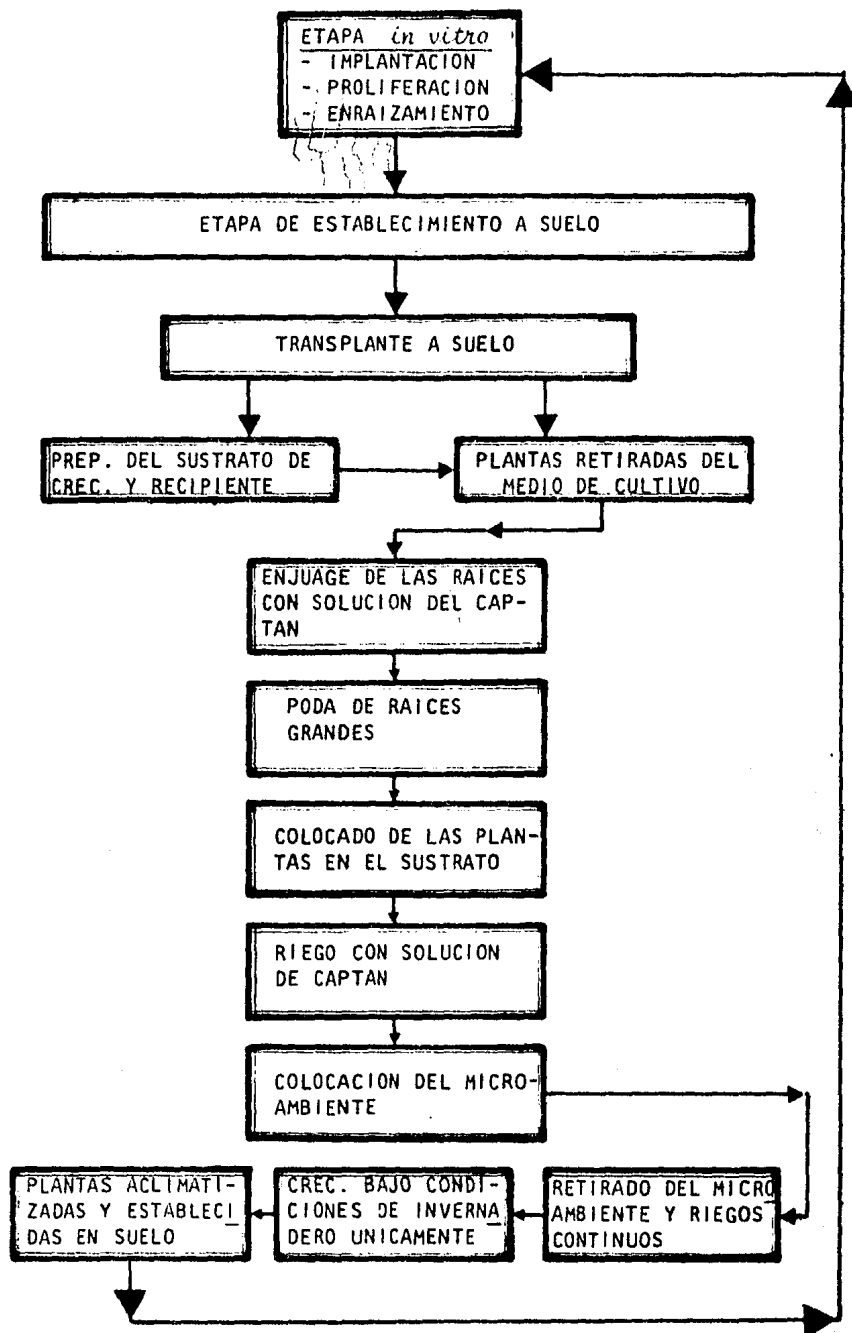
eliminando los restos de agar, utilizando una solución de Captan a una dosis de 2 g/l de agua (inmersión rápida).

2. Las plantas que presentaron raíces mayores de 5 cm fueron podadas con el propósito de evitar lesiones mecánicas, al ser éstas puestas en suelo (después de la poda se enjuagaron nuevamente las raíces).
3. Las plantas se colocaron en una mezcla de suelo desinfectado, compuesta por tierra de monte y arena de río en una proporción de 3:1 v/v, la que fue utilizada como sustrato.
4. Realizadas las operaciones anteriores, se prosiguió a efectuar un riego con la misma solución de Captan y se colocaron los microambientes evaluados. (Lámina 1)

El transplante se llevó a cabo rápidamente para evitar al máximo posible la excesiva deshidratación de las plantas.

#### 3.4.2. Tratamientos evaluados

Para la aclimatización se evaluaron dos tipos de microambiente, que estuvieron formados por: 1) cubiertas de polietileno transparente (C.P.T.) y 2) cámara nebulizadora (C.N.); estos microambientes proporcionaron una alta humedad relativa y minimizaron los cambios bruscos de temperatura entre el medio del invernadero y el laboratorio.



LAMINA 1. PROCESO DE LA OBTENCION DE PLANTAS *in vitro* Y SU ESTABLECIMIENTO A SUELO, BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO.

Se consideraron tres tipos de recipiente; diferentes en tamaño, capacidad, material, forma y color. 1) charola de plástico de forma cuadrada de 24.5 cm x 40 cm x 8 cm de ancho, largo y alto respectivamente; con 7840 cm<sup>3</sup> de capacidad de colores claros, utilizándose por planta un volumen aproximado de 217 cm<sup>3</sup>, 2) semillero de unicel en forma cónica, con un diámetro de 2.5 cm y 7 cm de altura; con 13.35 cm<sup>3</sup> de capacidad de color blanco, 3) vaso de unicel de forma semicónica de 8.5 cm de diámetro y 12 cm de altura con una capacidad de 400.3 cm<sup>3</sup> de color blanco.

Se evaluaron tres fuentes diferentes de luz: 1) fotoperíodo normal de 11 hr/día, proporcionado por la luz solar; 2) fotoperíodo normal más un suplemento con luz artificial suministrada por lámparas incandescentes con consumo individual de 100 watts, activadas automáticamente por un reloj marca Cyclemaster modelo 620-7441, de las 6:00 P.M. a las 11:00 P.M. diariamente, otorgándose una duración de 16 hr/día, la intensidad luminosa conseguida por las lámparas incandescentes fue de 50 candelas/pie<sup>2</sup>, sobre el follaje de las plantas y de 500 candelas/pie<sup>2</sup> a una altura de 80 cm del follaje y a 20 cm abajo de las lámparas; 3) fotoperíodo de 16 hr/día proporcionado por lámparas fluorescentes con consumo individual de 15 watts, que suministraron una intensidad lumínica de 25 candelas/pie<sup>2</sup>, sobre el follaje de las plantas y a 2.8 m se registró una intensidad de 100 candelas/pie<sup>2</sup> (las lámparas estuvieron colocadas a 3 m de altura) estas lámparas estuvieron en el cuarto de incubación y fueron



reguladas automáticamente por un reloj marca Cyclemaster modelo 620-7441; para encenderse a las 6:00 A.M. y apagarse a las 10:00 P.M. diariamente. La intensidad de la luz fue medida con un fotómetro Light & Moisture meter marca Green Thumb Products.

Para la fresa se evaluó también el comportamiento de los cultivares Aiko, Tioga y Fresno, bajo la influencia de los tratamientos anteriores.

Una vez que se llevó a cabo el transplante en cada uno de los recipientes designados, los microambientes fueron colocados dividiendo en dos a las poblaciones de cada especie.

Las ligas que sujetaron a las cubiertas de polietileno transparente se retiraron después de 8 días para facilitar el despojo de dichas cubiertas, que en forma paulatina se hizo durante los 7 días siguientes. Por otro lado, las plantas que estuvieron en la C.N. recibieron destellos de 5 seg/5 min/11 hr/5 días y permanecieron durante 5 días más en la cámara sin funcionamiento. Por tanto, a los 15 días del transplante todas las plantas quedaron únicamente en su recipiente y fueron colocadas en su tratamiento de luz previamente asignado, unas en el invernadero y otras en el cuarto de incubación.

### 3.5. Manejo bajo condiciones controladas

El manejo de las plantas micropropagadas en el invernadero y cuarto de incubación abarcaron las prácticas culturales, normalmente ejecutadas en las demás explotaciones - -

convencionales de propagación.

Desde el momento del trasplante se proporcionó un riego con Captan (2 g/l) procurando "mojar" perfectamente el suelo (sin tocar a la planta), posteriormente, se dieron riegos cada 3 días utilizándose agua potable sin Captan, esto se llevó a cabo después de haber retirado los microambientes. Los riegos se aplicaron con picetas durante los primeros 30 días y después se utilizó un vaso de precipitados, hasta los 60 días, posteriormente se regaron las plantas con regadera para jardín.

Durante la etapa de establecimiento a suelo, se observó el ataque de algunos insectos y enfermedades, tales como: mosca blanca, mosca prieta, fungosis, manchas foliares, pudrición de base de tallo, etc. Sin embargo, éstos no se consideraron como factor que limitara la supervivencia y el crecimiento de las plantas, además se efectuaron aplicaciones de pesticidas.

Cabe aclarar que no se llevó a cabo ninguna fertilización, aunque algunos autores han reportado la aplicación de mezclas fertilizantes al momento del trasplante.

### 3.6. Diseño experimental

Los tratamientos fueron agrupados en un experimento factorial con arreglo combinatorio bajo un diseño de bloques completos al azar, siendo un 3x3x2 con 5 repeticiones y 4 plantas por unidad experimental para el ciruelo mirabolano y un 3x3x3x2 con 4 repeticiones para la fresa con 3 plantas por unidad --

experimental. Con tres niveles para la fuentes luminosas, tres recipientes, tres cultivares y dos microambientes.

### 3.7. Toma de datos

Los datos se registraron cada 15 días durante 2 meses utilizando regla, conteos y apreciaciones visuales. Se cuantificó el crecimiento vegetativo (altura de planta) cada 15 días; para el ciruelo mirobolano se tomó desde la base del tallo hasta la base del ápice y para la fresa se consideró desde la base de la planta hasta la altura media del follaje.

La supervivencia fue obtenida durante el experimento en número de plantas vivas por tratamiento.

La calidad visual de planta para ambas especies, se cuantificó considerando una escala visual de evaluación, dada por: 5 = excelente, 4 = muy bien, 3 = bien, 2 = regular, 1 = mal y 0 = muerta (omitiendo el valor de 5 para ciruelo).

El tamaño de hojas únicamente se consideró para el ciruelo y se evaluó a los 60 días del transplante, estableciéndose una escala visual dada por: 6 = muy grandes, 5 = grandes, 4 = regulares, 3 = grandes y pequeñas, 2 = pequeñas y 1 = muy pequeñas; dado que fue prácticamente imposible hacer una determinación más precisa.

También se evaluó el número de raíces y el tamaño de la raíz por planta al momento del transplante, para conocer la homogeneidad de la población.

### 3.8. Análisis de datos

Los datos fueron procesados en el Centro de Estadística y Cálculo del Colegio de Postgraduados de Chapingo, México, empleando el paquete S.A.S. 828.

Las medias de los tratamientos fueron separadas por la prueba de Tukey (D.M.S.H.), diferencia significativa honesta, dada por:

$$w = q_{\alpha}(p,n) S_{\bar{x}}$$

donde:

q = es el valor al  $\alpha 0.05$  o al  $\alpha 0.01$  de probabilidad

p = es el número de tratamientos

n = son los grados de libertad del error

$S_{\bar{x}}$  = es el error estándar de una media

(tomado de Reyes Castañeda 1979)

También se obtuvieron los coeficientes de correlación existentes para las variables supervivencia, crecimiento y calidad de planta y los tratamientos evaluados.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1. Supervivencia

La supervivencia lograda a los 30 días del trasplante para el ciruelo fue de 81% y para la fresa de 77% (Fig. 1), lo cual indica que tanto las especies leñosas como las herbáceas presentan dificultad durante el establecimiento a suelo, obstaculizando o limitando el desarrollo comercial de esta técnica (Brainerd *et al.* (1981), Poole y Conover (1983), Fuchigami *et al.* (1981) y Broome y Zimmerman (1978)). Este comportamiento pudo ser debido al tamaño que en promedio presentaron las plantas de ambas especies al momento del trasplante; la fresa con 27 mm de altura y el ciruelo con 19 mm, concordando con Poole y Conover (1983) quienes obtuvieron un mejor establecimiento con plantas de *Dieffenbachia* mayores de 3 cm, mientras que Howard y Heather (1981), Rosati *et al.* (1980), Rugini y Fontanazza (1981) y Heuser (1983) utilizaron plantas menores de 2 cm observándose un aumento en el grado de dificultad para el establecimiento.

Analizando el porcentaje de supervivencia a los 60 días en las especies estudiadas, se encontró que fue mayor éste para la fresa con 71% contrastando con el ciruelo que obtuvo 69% (Fig. 1). Dicho comportamiento se explica en función de la facilidad o dificultad con que las plantas micropropagadas

responden a su nuevo ambiente, dependiendo de su tipo de crecimiento (herbáceo o leñoso). Se observa que los porcentajes de supervivencia obtenidos en ambos tipos de crecimiento evaluados guardaron una equivalencia con los reportados por Earle y Langhans citados por Fuchigami *et al.* (1981), Poole y Conover (1983) y Heuser (1983), quienes obtuvieron en promedio un 82% de supervivencia al trabajar con especies herbáceas, mientras que Garton *et al.* (1981), Rosati *et al.* (1980), Hasegawa (1979), Skirvin y Chu (1979), Broome y Zimmerman (1978) y Rugini y Fontanazza (1981) trabajando con especies leñosas consiguieron en promedio 40% de supervivencia. Al parecer las especies herbáceas presentan una menor respuesta a la fase de aclimatización, dado que supuestamente no todas las plantas de fresa regularon su transpiración durante este período, ocasionando que la mortalidad de los 15 a los 30 días fuera mayor que para el ciruelo; mientras que éste por la estructura de su tallo (tendiente a lignificar), continuó perdiendo agua (observándose marchitamiento) aún después de concluida esta fase, aumentando su mortalidad de los 30 a los 60 días (Fig. 1). Aunado a lo anterior otro factor que pudo intervenir fue la rápida regeneración radical que presentó la fresa, permitiéndose su establecimiento en un menor tiempo, ya que se observó un mayor desarrollo radical.

En el Cuadro 1, se aprecia que la supervivencia, tanto a los 30 como a los 60 días manifestada por las plantas de fresa presenta una correlación del 0.36 y 0.39 respectivamente al  $\alpha$  0.01, indicando que la supervivencia depende en -

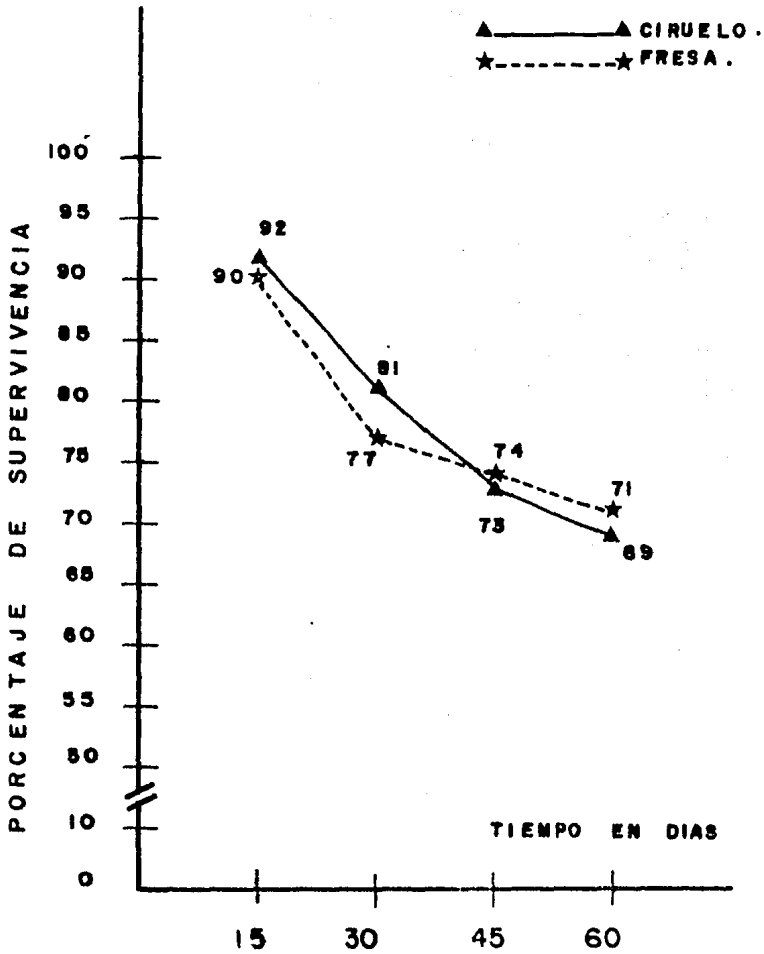


FIG.(i) PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA EN LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO DE CIRUELO Y FRESA. OBTENIDAS in vitro. OTOÑO - INVIERNO.

1983, C. P. CHAPINGO, MEX.

mayor grado del microambiente, ya que también se encontró alta significancia en las dos especies sobre la supervivencia a los 30 días contra el tratamiento de microambiente, (Apéndice, Cuadro A); sin embargo, a los 60 días sólo en fresa resultó altamente significativa esta relación (Apéndice, Cuadro B). No hubo relación alguna entre la supervivencia y los tratamientos evaluados para el ciruelo.

CUADRO 1. TRATAMIENTOS QUE OBTUVIERON UNA CORRELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA CON LA VARIABLE SUPERVIVENCIA A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE A SUELO EN FRESA OBTENIDA *in vitro*.

TRATAMIENTO	VARIABLE	r P > F
Microambiente	Supervivencia a los 30 días	0.36 0.01
	Supervivencia a los 60 días	0.39 0.01

#### 4.1.1. Microambiente

En la Figura 2 se aprecia que la supervivencia con el tratamiento de cubierta de polietileno transparente (C.P.T.) en las dos especies evaluadas resultó significativamente superior al  $\alpha$  0.05, tanto a los 30 como a los 60 días después del trasplante, contra la cámara de nebulización (C.N.), quien obtuvo los porcentajes más bajos, 56 y 64% para fresa y ciruelo respectivamente, Poole y Conover (1983) encontraron resultados diferentes ya que para el establecimiento a suelo de *Dieffenbachia* el tratamiento con nebulizadora resultó ligeramente superior. Ambos tratamientos resultaron ser



eficientes, en la obtención de una alta humedad relativa, sin embargo, una de las razones por las que puede considerarse que el tratamiento de C.P.T. fue mejor, es debido a que el polietileno transparente proporcionó humedad durante más tiempo y en forma constante, provocando que las hojas se mantuvieran turgentes durante la fase de microambiente disminuyendo en lo posible el colapso causado por la elevada pérdida de agua ocasionada por el cambio de ambiente, Brainerd y Fuchigami (1981) y Sutter y Langhans (1979). Además, la necesidad de proporcionar un ambiente con alta humedad relativa, está también estrechamente relacionado con la adaptación que presentan las plantas micropropagadas a este tipo de condiciones ambientales, puesto que Brainerd *et al.* (1981) demostraron con base a los estudios de Esau, que estas plantas presentan una anatomía semejante a la que tienen las plantas adaptadas a ambientes sombreados y con alta humedad relativa.

En los primeros 15 días después del transplante (fase de microambiente), la supervivencia no se vio grandemente afectada, debido a que la alta humedad relativa formada en ambos tipos de microambiente, compensó las desventajas anatómicas presentadas por estas plantas, tales como; ausencia de cera epicuticular, menor frecuencia estomatal por  $\text{mm}^2$ , células del parénquima en empalizada más pequeñas, (Brainerd *et al.* (1981)), sin embargo, la mortalidad registrada en esta fase fue de 8% y 10% para ciruelo y fresa respectivamente (Fig. 1) lo cual puede explicarse en términos de

que, de todas las plantas enraizadas *in vitro*, existe un pequeño porcentaje que no son aptas para ser transplantadas a suelo (Ochoa 1983), puesto que, pueden resultar raíces no funcionales carentes de pelos absorbentes o presentar pelos absorbentes, pero sufrir daños mecánicos al transplante, Snir (1981) además reporta que este problema puede ser superado al enraizar directamente en suelo.

De los 15 a los 30 días (fase de aclimatización), cuando las plantas han terminado su fase de microambiente en ambas especies se obtuvo una mortalidad mayor, marcándose más en los tratamientos de C.N. con 17%, mientras que la C.P.T. registró 6 y 10% para ciruelo y fresa respectivamente (Fig. 2), encontrándose diferencia significativa al  $\alpha$  0.05 entre los dos tratamientos, esto probablemente debido a que los destellos intermitentes de la nebulizadora no proporcionaron una humedad constante como sucedió con la C.P.T., Zimmerman y Broome (1980) mencionan que hay que reducir el intervalo entre destellos al máximo para prevenir la desecación, (1 seg/min/24 hr), aplicándose de esta manera 60 destellos por hora, mientras que en este trabajo se aplicaron 12 destellos por hora, por lo que se perdió una mayor cantidad de agua en las plantas.

Aún más, otra causa que puede explicar la mayor mortalidad en el tratamiento de C.N. es la alta temperatura que predominó en la cámara nebulizadora después de haber sido cerrada y que probablemente provocó un cambio brusco cuando las plantas fueron puestas en condiciones de invernadero - - -

únicamente, a diferencia de la C.P.T., donde la fluctuación de la temperatura fue menor con respecto a la temperatura del ambiente del invernadero, además de que estas cubiertas fueron paulatinamente retiradas.

Tomando en cuenta que otros procesos fisiológicos al parecer, también pueden contribuir al estado de agobio ocasionado por el déficit de agua (Sutter y Langhans (1979) y Brainerd *et al.* (1981)) como la baja respuesta estomática, el proceso de transporte del agua y las exposiciones mayores de apertura estomática, sobre este período también pudieron ser la causa de muerte; ya que al parecer Brainerd *et al.* (1981) encontraron que las hojas de ciruelo no aclimatizadas resultaron significativamente más agobiadas y sus estomas permanecieron durante más tiempo abiertos; lo que significa que a este tiempo existen plantas que aún no han conseguido su aclimatización, ya que a pesar, de que la duración de la fase de microambiente puede variar de acuerdo al método de aclimatización utilizado, a los materiales y a las especies tratadas, existiendo así, individuos que requieren de más tiempo con el microambiente para lograr su adecuada aclimatización. Brainerd *et al.* (1981) mencionan que se puede obtener una aclimatización de las plantas micropropagadas utilizando baja humedad relativa durante 4 ó 5 días, sin embargo, aquí se apreció que tanto las plantas de fresa como las de ciruelo necesitan una alta humedad relativa para obtener su aclimatización adecuada y un buen establecimiento a suelo. Esto presupone que existe una duración del período de - - -

aclimatización específica y diferentes exigencias de humedad para los vegetales propagados *in vitro*, por ejemplo, Poole y Conover (1983) consideraron 6 semanas para el establecimiento de *Dieffenbachia*, consiguiendo un 100% de supervivencia; otros autores consideran al desarrollo de la superficie cerosa en las plantas micropropagadas como el principal factor para lograr la supervivencia y aclimatización de las plantas en un menor tiempo; otros han considerado un lapso de 5, 7 y 15 días según la especie (Brainerd y Fuchigami (1981), Lineberger (1983) y Poole y Conover (1983)), sin embargo, en este período también se ha comprobado que la mayor pérdida de agua se ha dado por la zona abaxial de las hojas que tienen menor cantidad de cera y presentan una elevada transpiración estomatal.

Con base en los resultados (Fig. 1) se considera que la fase de aclimatización duró 30 días, concordando con Zimmerman y Broome (1980) quienes mencionan que la aclimatización puede darse por terminada cuando se inicia el nuevo crecimiento.

De los 30 a los 45 días el porcentaje de mortalidad se vio disminuido, apreciándose en la Figura 2 que en el ciruelo existe un decremento del 5 y 9% para los tratamientos de C.N. y C.P.T. respectivamente, mientras que en la Figura 1 se aprecia un porcentaje de mortalidad entre especies del 8% para el ciruelo y 3% para la fresa, significando esto, que una vez lograda la aclimatización de las plantas que se han obtenido *in vitro*, se facilita el establecimiento en suelo (fase de establecimiento) en el cual los motivos de muerte deben ser - - -

asociados con el manejo de las plantas bajo invernadero, más que por el efecto del microambiente e incluso pueden existir raíces que aún no hayan logrado su aclimatización como lo concluyen Poole y Conover (1983).

En los últimos 15 días de evaluación, es decir, de 45 a 60 días del trasplante, (fase de crecimiento), se observa menos acentuada la mortalidad en ambas especies 3% en fresa y 4% en ciruelo (Fig. 1); sin embargo, se encontró una diferencia significativa al  $\alpha$  0.05 entre las medias de los dos tratamientos de microambiente en ambas especies (Fig. 2 y Cuadro 2), siendo mejor la C.P.T. con 85 y 74% en fresa y ciruelo en ese orden, lo que demuestra que la influencia del microambiente se prolonga hasta la fase de crecimiento y que al combinarse con los demás factores relacionados con la etapa de establecimiento a suelo, tiende a estabilizarse la supervivencia, hasta obtener una mínima cantidad de plantas muertas, al mismo tiempo que la calidad visual de las plantas aumenta (Fig. 3).

Cuando las plantas ya establecidas continuaron con su crecimiento en el invernadero, se observaron leves cambios en el tamaño, color y textura de las hojas principalmente, estos comportamientos pueden ser atribuidos a los cambios anatómicos que observaron Brainerd y Fuchigami (1981) en plantas aclimatizadas después de cierto tiempo en el invernadero.

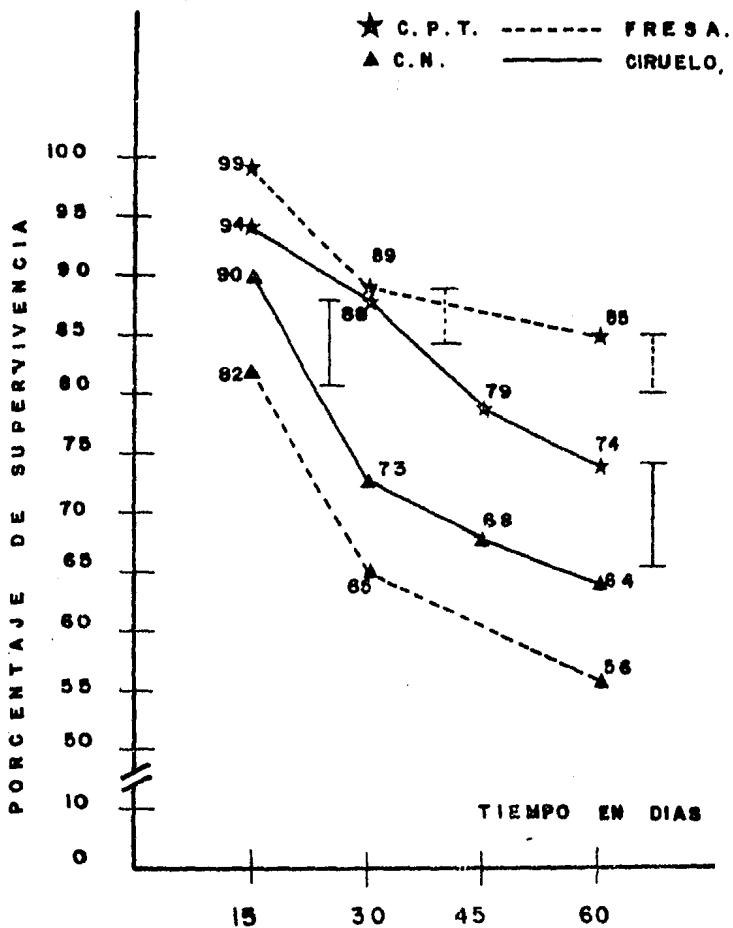


FIG.(2) PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA DE CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS in vitro POR TIPO DE MICRO-AMBIENTE.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN PRUEBA DE TUKEY.

CUADRO 2. COMPARACION DE MEDIAS EN PORCENTAJE PARA LA VARIABLE SUPERVIVENCIA EN FRESA Y CIRUELO POR TIPO DE MICROAMBIENTE.

ESPECIE	TRATAMIENTO	MEDIA A 30**	SIGN.*	MEDIA A 60**	SIGN.*
Ciruelo <sup>1/</sup>	C.P.T.	88%	a	74%	a
	C.N.	73%	b	64%	b
Fresa <sup>2/</sup>	C.P.T.	89%	a	85%	a
	C.N.	65%	b	56%	b

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P \leq 0.05$  = 30 días 6.26% y 60 días 6.9%) de acuerdo a la prueba DMSH de Tukey.

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 5 repeticiones con 72 plantas cada una.

<sup>2/</sup> Medias obtenidas de 4 repeticiones con 162 plantas cada una.

\*\* Días después del trasplante.

#### 4.1.2. Recipiente

La supervivencia en suelo de las plantas micropropagadas, depende también de los recipientes empleados. En el Cuadro 3 y Figura 4 se observa que se obtuvo una diferencia al  $\alpha 0.05$  en la supervivencia de ciruelo y fresa tanto a los 30 como a los 60 días del trasplante de acuerdo a los recipientes evaluados. Mientras que para el ciruelo el mejor recipiente fue el semillero, donde se obtuvo una supervivencia de 91 y 83% en las dos fechas evaluadas; para la fresa resultó mejor la charola con 84% a los 30 días y 80% a los 60. Estas diferencias pueden explicarse por los requerimientos específicos de volumen que tiene cada especie para desarrollar un sistema radical eficiente; como Gibson y Whitcomb (1977)

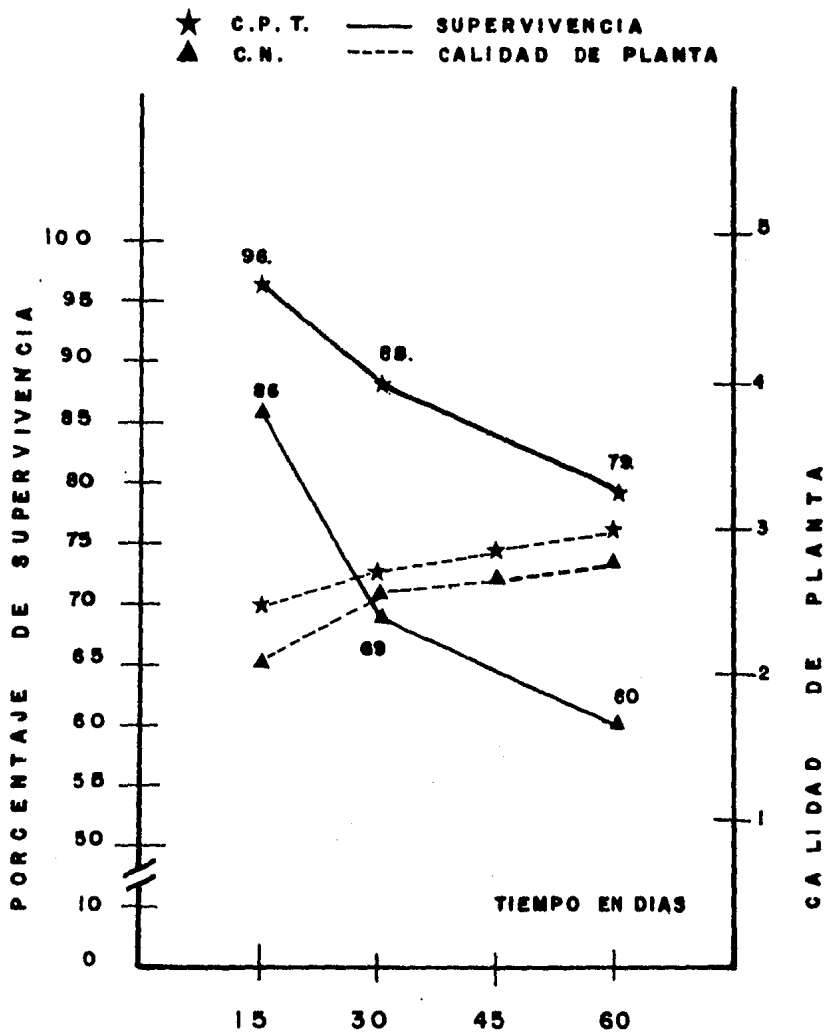


FIG.(3) RELACION ENTRE SUPERVIVENCIA Y CALIDAD VISUAL DE LA PLANTA, DURANTE LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO DE PLANTAS OBTENIDAS *in vitro*, POR TIPO DE MICROAMBIENTE.



lo demostraron al encontrar que plantas de pino habían crecido mejor en recipientes pequeños. Por lo que, se desprende que el tamaño óptimo del recipiente varía de acuerdo a la especie, al tipo de crecimiento y a los requerimientos ambientales, sin embargo, los recipientes evaluados fueron apropiados para el establecimiento a suelo de las plantas micropropagadas de ciruelo y fresa, así como los utilizados por Poole y Conover (1983), Chua *et al.* (1981), Howard y Heather (1981) y otros, mostrándose en el Apéndice, Cuadros A y B el efecto altamente significativo que tuvo este tratamiento contra la supervivencia de ambas especies. Además se consideran buenos sitios para estimular el desarrollo de un sistema radical fibroso proporcionando un adecuado anclaje y la subsecuente asimilación de nutrientes, de tal forma que aseguran el crecimiento de las partes vegetativas, de acuerdo con Gibson y Whitcomb (1977) al referirse a la producción de plantas bajo recipientes.

CUADRO 3. COMPARACION DE MEDIAS EN PORCENTAJE PARA LA VARIABLE SUPERVIVENCIA EN FRESA Y CIRUELO POR TIPO DE RECIPIENTE.

ESPECIE	TRATAMIENTO	MEDIA A 30**	SIGN.*	MEDIA A 60**	SIGN.*
Ciruelo <sup>1/</sup>	Semillero	91%	a	83%	a
	Vaso	79%	b	65%	b
Fresa <sup>2/</sup>	Charola	72%	b	60%	b
	Charola	84%	a	80%	a
	Semillero	74%	b	67%	b
	Vaso	73%	b	65%	b

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P < 0.05 = 30$  días 9.1% y 60 días 10.2%) de acuerdo a la prueba DMSH de Tukey

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 5 repeticiones con 72 plantas cada una.

<sup>2/</sup> Medias obtenidas de 4 repeticiones con 162 plantas cada una.

\*\* Días después del trasplante

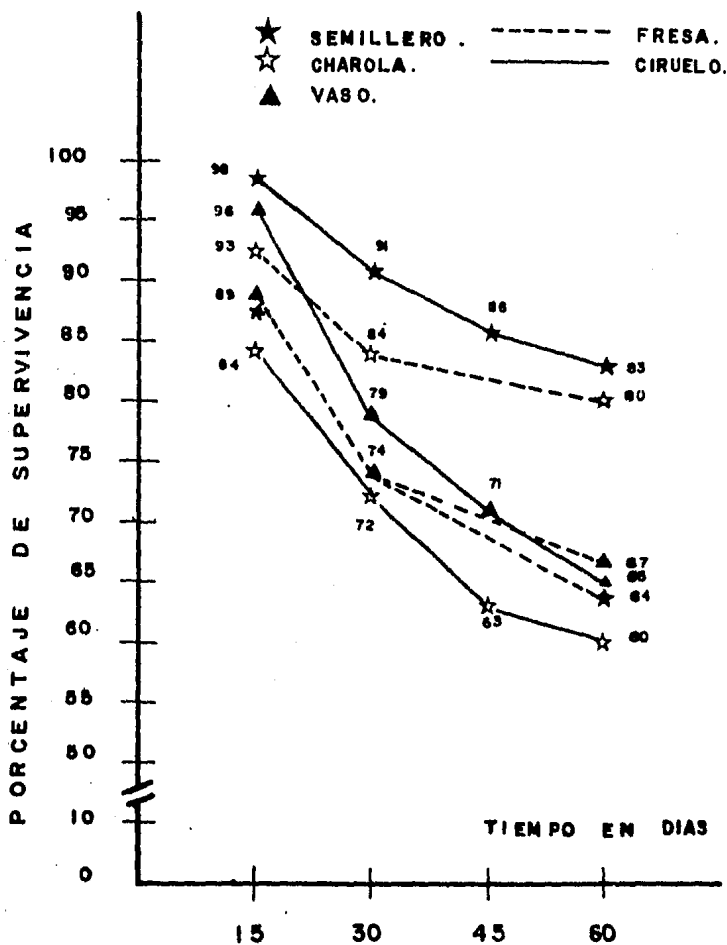


FIG.(4) PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA DE CIRUELO Y FRESA POR TIPO DE RECIPIENTE, DURANTE LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO.

En la Figura 4 se aprecia que en los primeros 15 días, la especie que logró una menor mortalidad fue el ciruelo colocado en semillero con 2%, mientras que para la fresa la charola resultó mejor con 4%, sin embargo, los recipientes que obtuvieron un mayor porcentaje de muerte fueron el semillero y vaso para fresa con 11% y charola para ciruelo con 16%, aunque esto pudo deberse a que en este período, se presentó una plaga (no identificada) en el recipiente de charola bajo el tratamiento de C.P.T., disminuyendo el porcentaje de supervivencia.

De los 15 a los 30 días, el recipiente que obtuvo una menor supervivencia en ciruelo siguió siendo la charola, sin embargo, en la fresa este recipiente fue quien más sobresalió, siendo estadísticamente diferente al  $\alpha$  0.05 (Fig. 5). Por otro lado, el semillero resultó el recipiente que menor mortalidad obtuvo en ciruelo (Fig. 4); además fue estadísticamente diferente al  $\alpha$  0.05 mostrándose en la Figura 5; pero este tratamiento, al igual que el vaso en la fresa obtuvo la mayor mortalidad. Tomando en cuenta que cada especie tiene un requerimiento óptimo en cuanto al volumen, se cree que para la fresa el recipiente de charola facilitó el desarrollo de un sistema radical fibroso, creciendo en dirección perpendicular al fondo, reduciéndose la probabilidad de que las raíces sufrieran daños por enrollamientos que pudieran ocasionar la muerte de las plantas, de acuerdo con Gibson y Whitcomb (1977), Williams y Whitcomb (1979), (Lámina 2).

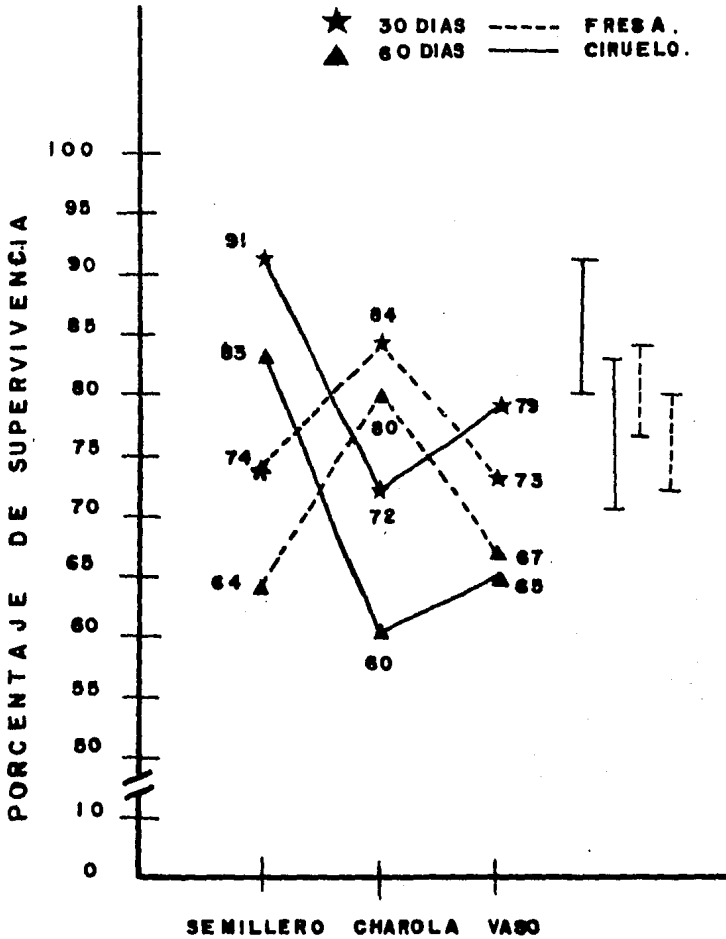


FIG.(B) PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA DE CIRUELO Y FRESA, POR TIPO DE RECIPIENTE A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE A SUELO.

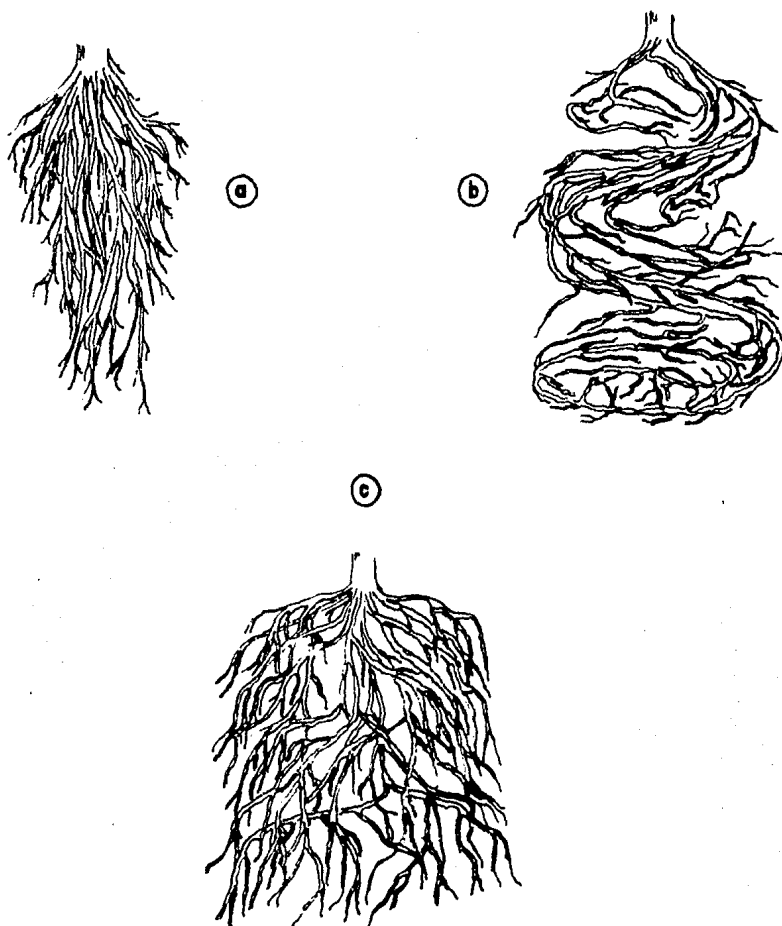
DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN LA PRUEBA DE TUKEY.

Observando al recipiente de semillero que en la fresa resultó con un porcentaje bajo de supervivencia, esto tal vez por el escaso volumen de suelo contenido, dado que la capacidad del recipiente fue ocupada por el sistema radical en corto tiempo, lo que hizo insuficiente la absorción de los nutrientes, interfiriendo así en el desarrollo vegetativo de las plantas, además, de acuerdo con Matta y Storey (1981) este recipiente forma un sistema radical mucho más fibroso que otros, provocando que la energía metabolizada por las plantas se ocupe en la formación de dicho sistema y no en el crecimiento de los brotes, lográndose en poco tiempo una masa compacta, (Lámina 2).

A pesar de haber obtenido plantas de tamaño pequeño con un porcentaje bajo de supervivencia, en el recipiente de semillero, este puede ser económicamente manejable, pues, su tamaño facilita la agrupación de una gran cantidad de plantas en un espacio reducido como Matta y Storey (1981) lo han señalado.

De acuerdo con Gibson y Whitcomb (1977) que encontraron que las plantas de pino (crecimiento leñoso) propagadas por semilla crecieron mejor en los recipientes pequeños, nosotros obtuvimos esta misma respuesta en el ciruelo, ya que al parecer su potencial de regeneración radical puede ser más lenta, equilibrándose la asimilación de la energía metabolizada entre la parte aérea y el sistema radical.

Por otro lado Matta y Storey (1981) comentan que este tipo de recipiente asegura el buen establecimiento posterior



**LAMINA. 2.** ESQUEMA DE LOS SISTEMAS RADICALES, DESARROLLADOS EN LOS TRES DIFERENTES TIPOS DE RECIPIENTE. EVALUADOS PARA EL ESTABLECIMIENTO A SUELO DE FRESA Y CÍTRULO OBTENIDOS DE LA FIG. 1; a) SEMILLERO, NOTÁNDOSE UN SISTEMA RADICAL MUCHO MAS FIBROSO, b) VASO, MOSTRANDO LA TENDENCIA ENROLLADA DE LAS RAÍCES Y c) CHAROLA, CON UN SISTEMA FIBROSO QUE CREE EN DIRECCION PERPENDICULAR AL FONDO.

en campo de las plantas, ya que, conforman un sistema radical más fibroso.

En la Figura 5 se analiza que la respuesta de las plantas en recipientes de vaso resultó similar para ambas especies con un porcentaje de supervivencia del 73 y 79% para fresa y ciruelo respectivamente, esta respuesta la podemos relacionar con el volumen mayor que proporcionó este recipiente ( $400.3 \text{ cm}^3$ ), dado que el tamaño de las plantas al trasplante fue pequeño y posiblemente pudo ser afectada por la capacidad mayor, aumentando la probabilidad de proliferación de hongos u otros patógenos al mantener más humedad éste, comparativamente con los demás recipientes.

Otra situación que afectó la supervivencia en estos reipientes pudo ser la menor velocidad de drenaje que presentan los recipientes más profundos y con un bajo nivel de suelo (70%) según Whitcomb (1979), esto podría explicarse dado que el aire que llega a los recipientes es difundido a través de la superficie y hoyos de drenaje, sin embargo, cuando el recipiente no tiene un llenado completo (al ras) las corrientes de aire se pueden ver afectadas para difundirse al interior de él, manteniendo la humedad en el suelo durante más tiempo, permitiendo la proliferación de hongos, aumentando así la descomposición de los tejidos vegetales que junto con la acción microbiana del suelo incrementan las concentraciones de  $\text{CO}_2$ , dificultando aún más la respiración de las raíces, ocasionando serios disturbios en el metabolismo de las plantas, Whitcomb (1979) señala que los recipientes

poco profundos, con un medio de textura media y lleno al ras, resultan mucho mejor en el drenaje proporcionando mejores condiciones para el buen desarrollo radical; por lo antes dicho los recipientes de charola y semillero tienen una menor profundidad, por lo que al haber sido llenados al ras, facilitaron la difusión del aire al interior del recipiente permitiendo una evaporación más rápida del agua de riego, dificultando la proliferación de patógenos y aumentando la concentración de oxígeno en el suelo.

A los 60 días el comportamiento en la supervivencia para los tres tipos de recipiente guardó la misma relación que a los 30 días aunque registrándose una menor mortalidad para ambas especies (Fig. 5). Las razones por las que pudieron morir las plantas en este período, pueden ser relacionadas con los materiales, capacidad, forma de los recipientes y manejo en el invernadero; siendo que el recipiente de vaso de forma semicónica con paredes redondeadas obtuvo una supervivencia del 67 y 65% para fresa y ciruelo en el mismo orden, pudiéndose presentar crecimientos enrollados de las raíces y provocar la muerte de las plantas, (Lámina 2). Por otro lado, el material de este recipiente (unicel) y su color claro pudo mantener una menor temperatura en el medio de crecimiento, ya que los colores claros reflejan la energía luminosa, además que por sus características térmicas mantienen más tiempo las temperaturas frescas existentes en el medio cuando éste es humedecido por el agua de riego, Whitcomb (1979b) y Hartmann y Kester (1982) mencionan que.



el color y el material del recipiente influyen en el incremento de la temperatura en el medio de crecimiento siendo esto una causa frecuente del pobre crecimiento y la baja supervivencia de las plantas que crecen bajo recipientes.

El recipiente de semillero obtuvo un 64% de supervivencia en fresa (Fig. 5) probablemente debido a que esta especie ocupó en un menor tiempo el volumen contenido en el recipiente, desarrollándose demasiado el sistema radical, provocando que la falta de espacio promoviera enrollamiento, no obstante, que este recipiente resultó más adecuado para el establecimiento de las plantas de ciruelo obteniendo un 83% de supervivencia diferente estadísticamente al  $\alpha$  0.05 después de 60 días, mientras que la charola resultó también diferente estadísticamente al  $\alpha$  0.05 para la fresa. Williams y Whitcomb (1979) han utilizado con gran éxito recipientes cuadrados para la propagación de algunas especies por semilla, produciéndose un sistema radical bastante denso y fibroso, sin embargo, en la Figura 5 se aprecia que este recipiente tuvo un menor porcentaje de supervivencia para el ciruelo (60%) lo que puede atribuirse por un lado, al ataque de alguna plaga en las primeras semanas del establecimiento y por otro, pudo tener alguna desventaja el material plástico de este recipiente, facilitando la entrada de luz al interior y dañando de esta forma el crecimiento radical, concordando con Conover y Poole (1979) que encontraron que el sistema radical de varias especies fue susceptible a la luz y otras no fueron influidas por la luz translúcida que pasa por las paredes de los recipientes.

Para la explotación comercial de la técnica de micro-propagación, en su etapa de establecimiento a suelo, la utilización de vasos como recipientes puede tener ventajas dado que las plantas sufren únicamente una sola vez el proceso de transplante, cuando son transferidas del medio de cultivo aséptico al suelo, aunque en términos de espacio ocupado por individuo, éste sería mucho mayor, lo cual elevaría más los costos de producción.

Analizando los cultivares de fresa evaluados, se observa en la Figura 6 que existe una diferencia significativa al  $\alpha$  0.05 en la supervivencia a los 60 días, siendo el mejor cultivar tioga con 75% de supervivencia y la menor supervivencia la obtuvo el cv. fresno con 66% (Cuadro 4).

CUADRO 4. COMPARACION DE MEDIAS EN PORCENTAJE PARA LA VARIABLE SUPERVIVENCIA EN CULTIVARES DE FRESA.

TRATAMIENTO (cvs.) <sup>1/</sup>	MEDIA A 30**	SIGN.*	MEDIA A 60**	SIGN.*
Tioga	78%	a	75%	a
Aiko	79%	a	72%	a b
Fresno	74%	a	66%	b

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P < 0.05$  = 30 días 7.5% y 60 días 7.9%) de acuerdo a la prueba DMSH de Tukey.

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 4 repeticiones con 162 plantas cada una.

\*\* Días después del transplante

#### 4.1.3. Fuente luminosa

En el Apéndice, Cuadros A y B se puede observar que el tratamiento de luz tuvo una alta significancia sobre la - -

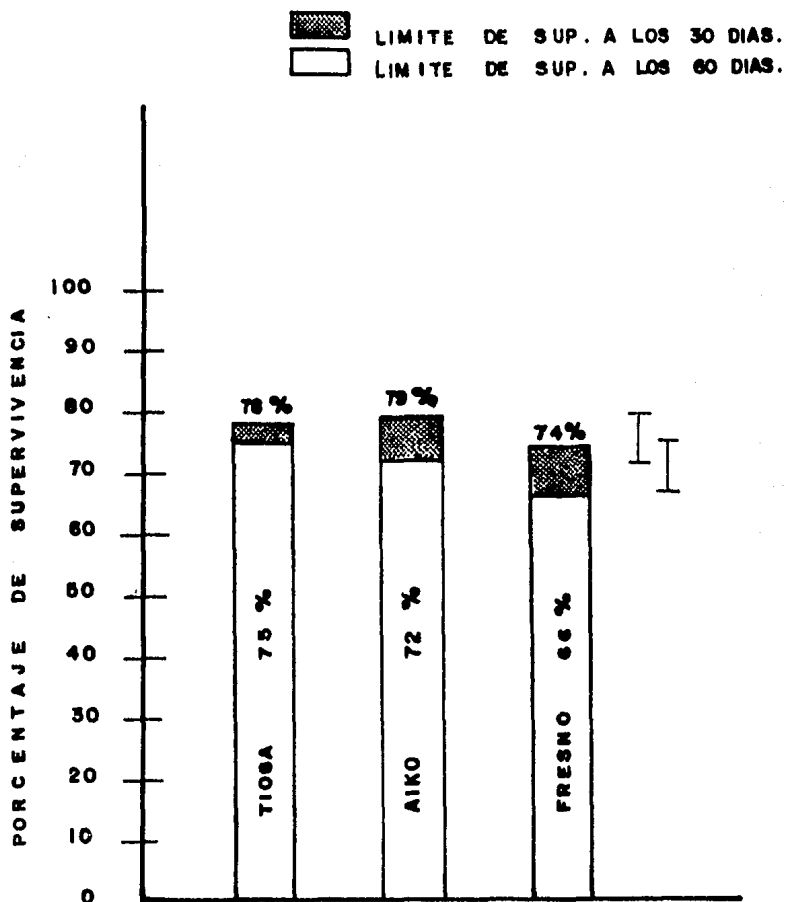


FIG. (6) PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA ENTRE CULTIVARES DE FRESA, OBTENIDOS *in vitro* A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN PRUEBA DE TUKEY.

supervivencia a los 30 y 60 días en las dos especies, sin embargo, la luz normal del día fue la que obtuvo el mayor porcentaje de supervivencia en ambas fechas pero estadísticamente igual al  $\alpha$  0.05 con el tratamiento de luz emitida por lámparas incandescentes, (Figs. 7 y 8). Por ello, se deduce que el efecto de la suplementación de luz con lámparas resultó negativa para la supervivencia, es decir, dado que las plantas micropropagadas tienen que ser aclimatizadas en cuanto a humedad y temperatura, también se debe considerar a la intensidad de luz presente desde el cuarto de incubación (3000 a 10,000 lux, según Murashige (1977)) hasta las condiciones de invernadero donde existen intensidades mucho mayores de luz (dato no registrado), lo que implica una aclimatación a estas condiciones, por lo que de acuerdo a Fonteno y McWilliams (1978) que aclimatizaron plantas follajeras de altas intensidades a bajas intensidades de luz sufriendo un desequilibrio que se expresó en una disminución en las tasas de respiración y asimilación de  $\text{CO}_2$  al elevarse la transpiración durante el proceso de aclimatización, por lo cual se deduce que las plantas de fresa y ciruelo que crecieron bajo luz natural únicamente y las que crecieron bajo luz natural más suplemento con lámparas incandescentes mantuvieron durante los primeros 30 días de su establecimiento una menor asimilación de  $\text{CO}_2$  y una menor respiración, tratando de aclimatizarse a las nuevas condiciones de luz; sin embargo, al parecer la aclimatización a la luz se da en un período más largo, puesto que aún después de 60 días las plantas de ambas especies no presentaron ninguna respuesta al

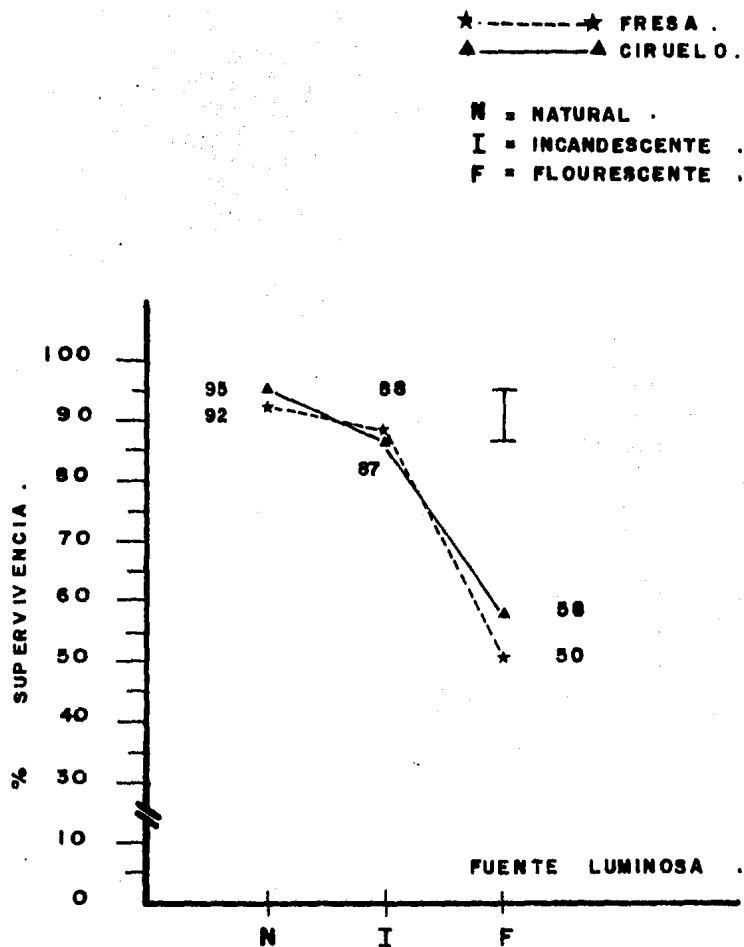


FIG.(7) PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA EN CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS *in vitro* A LOS 30 DIAS AL TRANSPLANTE.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN PRUEBA DE TUKEY.

efecto de la luz, esto sin olvidar los efectos que hemos analizado en apartados anteriores.

El tiempo para la aclimatización a intensidades de luz ha sido estudiada por Fonteno y McWilliams (1978), quienes aseguran que en plantas follajeras adaptadas a ambientes de interior se requiere de 8 a 15 semanas de aclimatización en un ambiente de baja intensidad lumínica. Analizando la respuesta que hubo en cuanto a la suplementación con lámparas fluorescentes, se considera que por emitir éstas una baja intensidad, el mayor descenso en la supervivencia, se debió a otros factores como la baja humedad relativa y alta temperatura registrada en el cuarto de incubación después de que se retiraron los microambientes, dado que estas condiciones incrementan la transpiración aún después de haber concluido el período de aclimatización.

#### 4.2. Crecimiento

En el Cuadro 5 se muestran los tratamientos que tuvieron correlación con el crecimiento de las plantas de fresa a los 30 y 60 días, siendo la fuente luminosa y el recipiente con ( $r=0.33$ ) y ( $r=0.28$ ) respectivamente a los 60 días y ( $r=0.18$ ) para la luz a los 30 días al  $\alpha 0.01$ . Las plantas de fresa a los 60 días obtuvieron una altura de 35 mm en promedio, registrándose un crecimiento de 7 mm, este crecimiento, a pesar de ser muy pequeño, casi inapreciable, se pudo deber a la interacción de otros factores que actuaron regulando la actividad metabólica de las plantas, y que - - -

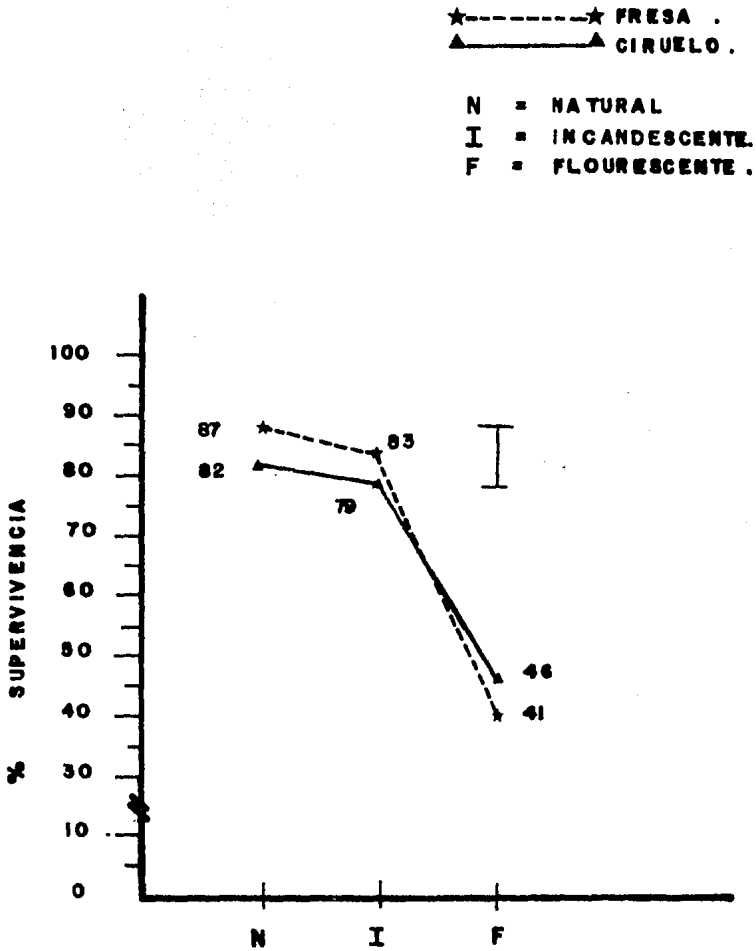


FIG.(8) PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA EN CIRUELO Y FRESA, OBTENIDAS in vitro A LOS 60 DIAS DEL TRANSPLANTE.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL 0.05, SEGUN LA PRUEBA DE TUNEY.

posteriormente serán discutidos. Heuser (1983) obtuvo plantas de 13 cm de altura, después de dos meses de establecimiento de *Lythrum v.* y Broome y Zimmerman (1978) después de 4 semanas obtuvieron plantas de zarzamora de 25 cm de altura, sin reportar la época de transplante.

CUADRO 5. TRATAMIENTOS QUE OBTUVIERON UNA CORRELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA CON LA VARIABLE CRECIMIENTO A LOS 30 Y 60 DIAS DESPUES DEL TRANSPLANTE A SUELO EN FRESA OBTENIDA *in vitro*.

TRATAMIENTO	VARIABLE	T P > F
Recipiente	Crecimiento a los 60 días	0.28 0.01
	Crecimiento a los 30 días	0.18 0.01
Luz	Crecimiento a los 60 días	0.33 0.01

En el Apéndice, Cuadro C se aprecia el análisis de varianza para el crecimiento de las plantas de fresa y ciruelo después de 30 días del transplante, encontrándose una alta significancia para los tratamientos de luz y las interacciones luz x microambiente y luz x recipiente, mientras que para el recipiente se encontró una diferencia significativa al  $\alpha$  0.05 para la fresa. El ciruelo, sin embargo, no registró diferencias significativas para los tratamientos.

#### 4.2.1. Microambiente

El tipo de microambiente en la fresa resultó estadísticamente diferente al  $\alpha$  0.05 después de 60 días, siendo el --



mejor la C.P.T. con un promedio de crecimiento de 9 mm, en contraste con la C.N. que obtuvo un promedio de 6 mm. Aunque no se tuvo una diferencia estadística a los 30 días en ambos tratamientos (Fig. 9), se considera que la C.P.T. proporcionó una mejor y más rápida aclimatización a las condiciones de invernadero, estimulando en forma más temprana el crecimiento, no obstante, otra causa que pudo contribuir al mínimo crecimiento durante los primeros 30 días es debido probablemente, a que las plantas dedicaron sus funciones metabólicas en la obtención de una aclimatización rápida y eficiente, disminuyendo la asimilación de bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) en este proceso, de acuerdo a Fonteno y McWilliams (1978) y aumentando dicha asimilación a medida que obtenían su aclimatización, por lo que se considera que después de 60 días estas plantas aceleran su crecimiento. Por otra parte, las plantas de ciruelo obtuvieron una diferencia estadística al  $\alpha 0.05$  entre C.P.T. y C.N. desde los primeros 30 días, demostrándose nuevamente que la C.P.T. fue mejor en promover más rápido el inicio de crecimiento (Fig. 9).

En el Apéndice, Cuadro D, se puede apreciar que el tratamiento de microambiente resultó altamente significativo en el crecimiento de las plantas de fresa, después de 60 días, este crecimiento puede ser relacionado con las características anatómicas que presentan estas plantas cuando han conseguido su aclimatización y establecimiento respectivo, ya que se observaron leves cambios en su morfología, apareciendo cambios en el tamaño, color y textura de las hojas

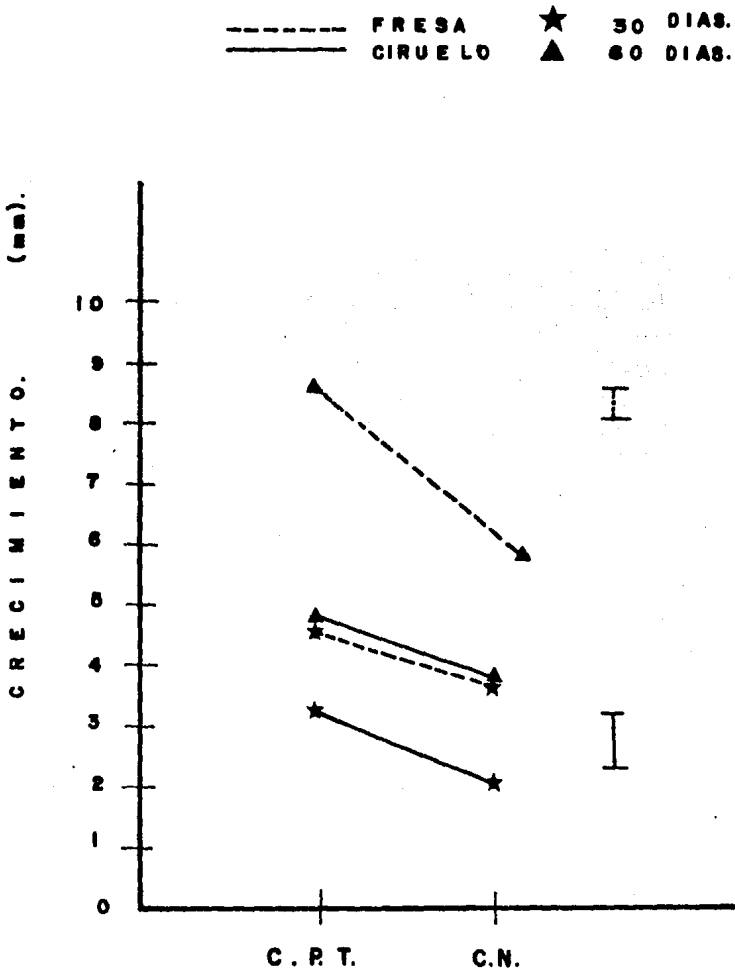


FIG.(9) CRECIMIENTO DE CIRUELO Y FRESA, OBTENIDAS in vitro A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE, POR TIPO DE MICROAMBIENTE.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN PRUEBA DE TUKEY.

principalmente; pudiéndose atribuir estas características a los cambios anatómicos que observaron Brainerd y Fuchigami (1981), Zimmerman y Broome (1980) y Sutter y Langhans (1979) en plantas obtenidas *in vitro* aclimatizadas después de cierto tiempo en el invernadero.

#### 4.2.2. Recipiente

El tratamiento de recipiente tuvo un efecto significativo sobre el crecimiento de las plantas de fresa a los 30 días (Apéndice, Cuadro C) además en el Cuadro 5 se observa que este tratamiento tuvo una correlación de ( $r=0.28$ ) al  $\alpha 0.01$  con el crecimiento de fresa a los 60 días. El tratamiento de recipiente no tuvo efecto significativo sobre el crecimiento de las plantas de ciruelo, tanto a los 30 como a los 60 días (Apéndice, Cuadros C y D). Sin embargo, se presentó alta significancia entre la interacción recipiente x microambiente, (Apéndice, Cuadro D).

El recipiente que obtuvo mayor crecimiento a los 30 y 60 días para la fresa fue la charola, obteniendo en promedio 6 y 12 mm para cada fecha y una diferencia significativa al  $\alpha 0.05$  (Figs. 10 y 11 y Cuadro 6). De acuerdo a Whitcomb (1979), los recipientes poco profundos y con un nivel de suelo al ras, tienen mejor drenaje proporcionando mejores condiciones para el desarrollo radical, además, de que promueve un desarrollo tanto en sentido vertical (siguiendo los ángulos rectos formados en las esquinas de estos recipientes en forma cuadrada (Gibson y Whitcomb, 1977)), como horizontal,

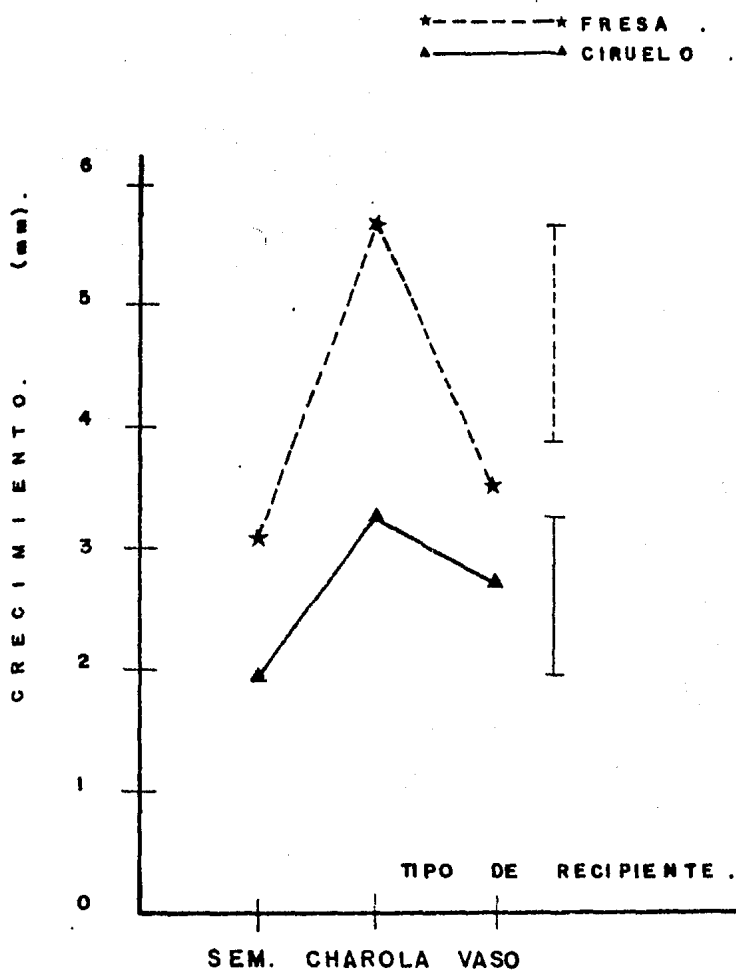


FIG. (10) CRECIMIENTO DE CIRUELO Y FRESA, OBTENIDAS *in vitro*, POR TIPO DE RECIPIENTE, A LOS 30 DIAS DEL TRANSPLANTE.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN PRUEBA DE TUKEY.

facilitado por la ausencia de paredes o barreras que induzcan la formación de raíces secundarias evitando que los metabolitos sintetizados por las plantas sean ocupados para ese fin, ocupando la energía en el crecimiento de los brotes vegetativos (Birchell y Whitcomb (1977) y Matta y Storey (1978)), (Lámina 2). Este tipo de recipiente obtuvo también en el ciruelo plantas de mayor tamaño, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tres tipos de recipiente a los 30 días. Los recipientes que obtuvieron un menor crecimiento en fresa y ciruelo fueron semillero y vaso a los 30 días (Fig. 10), continuando este comportamiento a los 60 días únicamente para la fresa (Fig. 11). Esta relación puede explicarse si se toma en cuenta que el material que conformó a ambos recipientes fue el unicel, (material de color blanco que tiene la capacidad de mantener la temperatura alta o baja en el medio de crecimiento según condiciones ambientales por un mayor tiempo). Dado que estas características permitirían por un lado, reflejar la energía luminosa en mayor cantidad, dificultando la penetración de la energía al interior del recipiente, probablemente manteniéndose por más tiempo temperaturas uno o dos grados abajo de las temperaturas que se pudieron haber registrado en el interior del recipiente de charola. Esta situación pudo favorecerse por las temperaturas registradas en el invernadero durante la etapa de establecimiento a suelo que estuvieron comprendidas entre 5°C y 31°C, ocasionándose que tanto los recipientes de semillero como los de vaso, por un lado hubieran mantenido temperaturas bajas en el medio de --

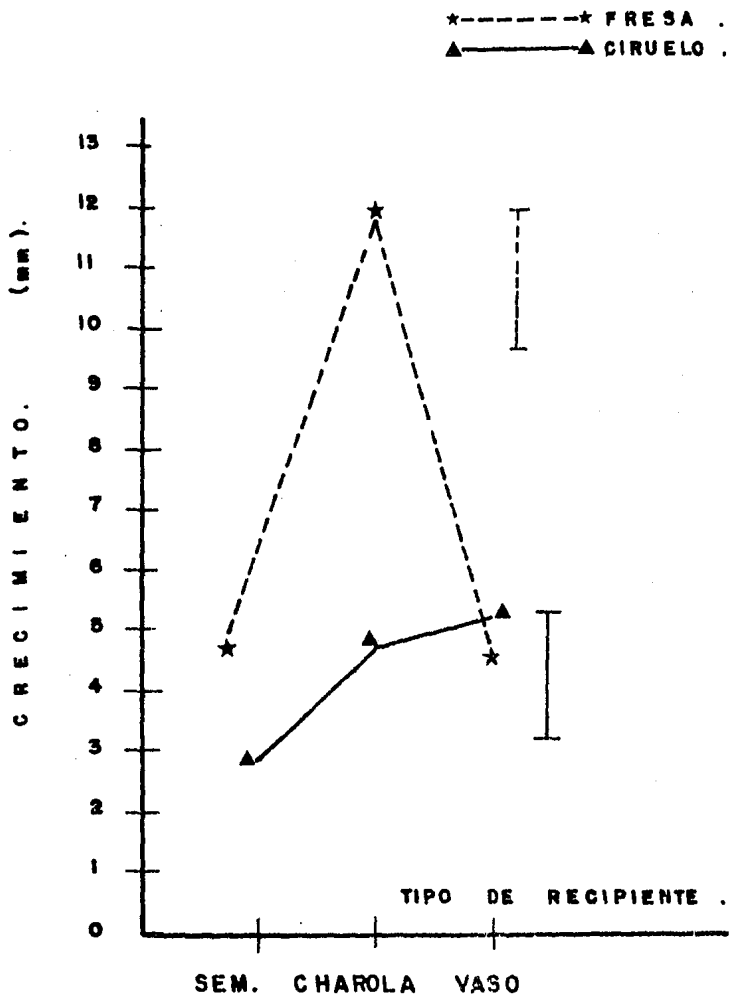


FIG.(II) CRECIMIENTO DE CIRUELO Y FRESA, OBTENIDAS in vitro, POR TIPO DE RECIPIENTE, A LOS 60 DIAS DEL TRANSPLANTE.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN PRUEBA DE TUKEY.

crecimiento durante la noche por un mayor lapso y por el otro, temperaturas altas durante el día, también durante un mayor tiempo. Whitcomb (1979), por ejemplo encontró que la alta temperatura en el medio de crecimiento fue la responsable de ocasionar un pobre crecimiento en las plantas, argumentando que el color del recipiente influyó significativamente en el incremento de las temperaturas.

En la Figura 10, se aprecia que el recipiente de vaso fue mejor que el semillero, aunque estadísticamente iguales para las dos especies, concordando con Williams y Whitcomb (1979) quienes mencionan que los recipientes con un mayor diámetro promueven un mayor crecimiento que aquéllos con menor diámetro, además los recipientes de semillero estimulan un crecimiento radical muy fibroso y de acuerdo con Matta y Storey (1981) la energía metabolizada por las plantas se utiliza en el desarrollo de este sistema. Ellos también observaron que no hubo efecto del recipiente sobre la altura de las plantas de pecanero, propagadas por semilla; coincidiendo con nuestros resultados obtenidos en el ciruelo, ya que no hubo diferencia significativa entre el tratamiento de recipiente y el crecimiento a los 30 y 60 días. Mientras que en la fresa sí se encontró una relación significativa entre estos parámetros, coincidiendo con Hathaway (1977) quien encontró que las estacas de vid que crecieron en recipientes obtuvieron un mayor crecimiento después de 8 semanas que aquellas estacas que crecieron en campo abierto.

CUADRO 6. COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CRECIMIENTO EN FRESA Y CIRUELO POR TIPO DE RECIPIENTE.

ESPECIE	TRATAMIENTO	MEDIA A 30**	SIGN.*	MEDIA A 60**	SIGN.*
Ciruelo <sup>1/</sup>	Vaso	2.7 mm	a	5.2 mm	a
	Charola	3.2 mm	a	4.7 mm	a b
	Semillero	1.9 mm	a	2.9 mm	b
Fresa <sup>2/</sup>	Charola	5.6 mm	a	11.8 mm	a
	Vaso	3.5 mm	b	5.0 mm	b
	Semillero	3.1 mm	b	4.8 mm	b

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P < 0.05 = 30$  días 1.57 mm y 60 días 2.22 mm) de acuerdo a la prueba DMSH de Tukey.

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 5 repeticiones con 72 plantas cada una.

<sup>2/</sup> Medias obtenidas de 4 repeticiones con 162 plantas cada una.

\*\* Días después del trasplante.

#### 4.2.3. Fuentes luminosas

El mayor crecimiento obtenido en las plantas de fresa a los 30 y 60 días fue cuando éstas estuvieron bajo el suplemento con lámparas incandescentes y pudo ser debido a la mayor proporción de radiaciones rojas e infrarrojas que según Cathey *et al.* (1978) son emitidas por este tipo de lámpara, además según Westwood (1982) menciona que se ha demostrado que intensidades bajas de luz con grandes proporciones de radiación roja estimula el crecimiento. Por otra parte, al parecer las lámparas incandescentes utilizadas irradiaron grandes cantidades de energía calorífica, manteniendo una temperatura alta en el invernadero, durante un mayor tiempo (de las 6:00 P.M. a las 23:00 P.M.), además hay que considerar



que estas lámparas emiten un espectro de luz más amplio que las lámparas fluorescentes, lo cual permite una absorción mayor de luz por las plantas, esto aunado a la mayor intensidad de luz que proporcionaron (50 candelas/pie<sup>2</sup>) en contraste con las fluorescentes que emitieron 25 candelas/pie<sup>2</sup>, coincidiendo con Cathey *et al.* (1978).

Analizando el comportamiento de las plantas que crecieron bajo la luz fluorescente en fresa se demuestra, que estas obtuvieron el menor crecimiento (2 mm) después de 60 días, este pobre crecimiento probablemente fue debido a la menor intensidad luminosa emitida por este tipo de lámparas; aunado a las condiciones ambientales en la que prosperó este tratamiento, existiendo alta temperatura (30°C ± 2°C manteniéndose en forma constante) y baja humedad relativa. Mura-shige (1977) menciona que este tipo de lámparas emiten radiaciones entre los colores azul y rojo, siendo más efectivas en la propagación *in vitro* de las plantas que para la promoción de su crecimiento vegetativo.

En el Cuadro 7, se muestra la significancia al  $\alpha$  0.05 obtenida para los tipos de fuente luminosa evaluados en ambas especies, notándose que para la fresa existe una diferencia significativa entre los tres tipos, tanto a los 30 como a los 60 días, mientras que en el ciruelo a los 30 días existe diferencia entre la luz emitida por las lámparas incandescentes y la luz natural al  $\alpha$  0.05. A los 60 días hubo diferencia significativa entre la luz natural con respecto a la fluorescente e incandescente, siendo mejor para ambas

especies en las dos fechas la luz incandescente, también puede observarse que las plantas de fresa alcanzaron mayor crecimiento en cada una de las fechas que el ciruelo e incluso a los 60 días obtiene un crecimiento de casi el doble.

CUADRO 7. COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE DE CRECIMIENTO EN FRESA Y CIRUELO POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA.

ESPECIE	TRATAMIENTO	MEDIA A 30**	SIGN.*	MEDIA A 60**	SIGN.*
Ciruelo <sup>1/</sup>	Incandescente	3.6 mm	a	5.1 mm	a
	Fluorescente	2.3 mm	a b	5.0 mm	a
	Natural	1.9 mm	b	2.4 mm	b
Fresa <sup>2/</sup>	Incandescente	6.6 mm	a	14.1 mm	a
	Natural	4.0 mm	b	5.7 mm	b
	Fluorescente	1.6 mm	c	1.8 mm	c

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P < 0.05 = 30$  días 1.56 mm y 60 días 2.2 mm) de acuerdo a la prueba DMSH de Tukey.

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 5 repeticiones con 72 plantas cada una.

<sup>2/</sup> Medias obtenidas de 4 repeticiones con 162 plantas cada una.

\*\* Días después del transplante.

En el Cuadro 7 y Figura 12, se aprecia un pobre crecimiento para todos los tratamientos de luz en las dos especies (primeros 30 días), probablemente debido a que en este período las plantas se encuentran aclimatizando y según Fonteno y McWilliams (1978) durante este período hay una disminución tanto en la respiración como en la fotosíntesis; siendo estas funciones aumentadas una vez terminado este proceso.

En la Figura 13, se aprecia que el crecimiento máximo para la fresa fue de 14 mm y del ciruelo de 5 mm, mientras

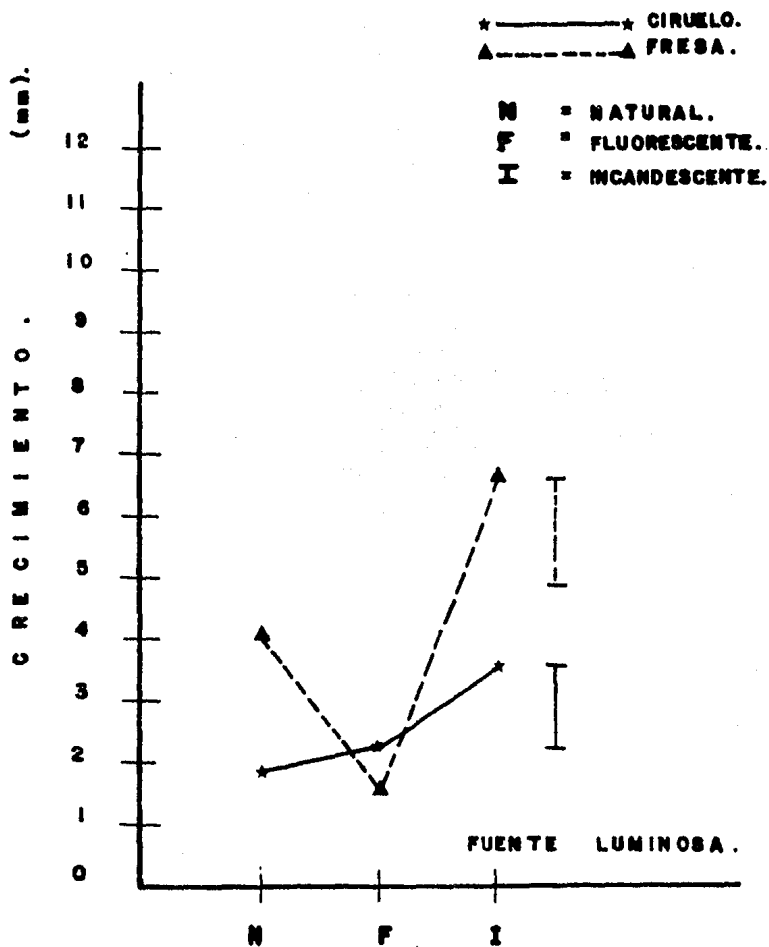


FIG.(12) CRECIMIENTO DE CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS in vitro, POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA, A LOS 30 DIAS DEL TRANSPLANTE.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN PRUEBA DE TUKEY.

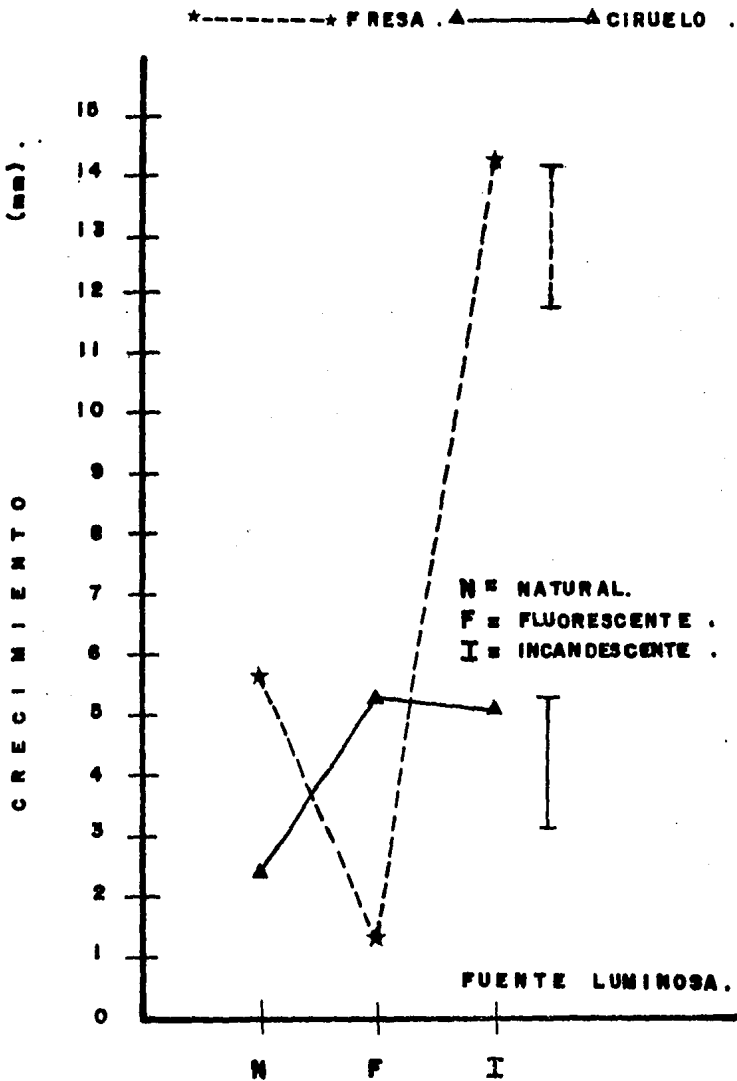


FIG.(13) CRECIMIENTO DE CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS *in vitro*, POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA, A LOS 60 DIAS DEL TRANSPLANTE .

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN PRUEBA DE TURKEY.

que en otro trabajo realizado durante la primavera con ciruelo se lograron crecimientos de 99 mm, después de 60 días utilizando las mismas fuentes de luz. Los crecimientos obtenidos se pueden atribuir a las bajas temperaturas que se registraron en el invernadero de octubre a diciembre ( $5 \pm 2^\circ\text{C}$ ), además del cambio de las plantas del medio de cultivo a un ambiente adverso, por lo que la suplementación con luz artificial durante estos meses no es necesaria, ya que las plantas sólo consiguieron aclimatizarse y retardaron su crecimiento hasta la primavera siguiente.

En la Figura 14, se aprecia que el fotoperíodo no tuvo influencia sobre la supervivencia, dado que ambos tratamientos fueron estadísticamente iguales tanto en fresa como en ciruelo, por lo anterior, se puede decir que la suplementación con luz artificial puede justificarse del mes de marzo hasta octubre. Broschat y Donselman (1983) consiguieron con mahogany una buena altura de planta utilizando días largos de septiembre a noviembre; a todo esto Westwood (1982) menciona que la fresa necesita de días largos y elevadas temperaturas para promover su desarrollo vegetativo.

En la Figura 15, se muestra la interacción del recipiente y el fotoperíodo con relación al crecimiento de las plantas de fresa, se destaca que el fotoperíodo de 16 hr y el recipiente de charola obtuvieron un crecimiento ligeramente mayor de 28 mm en promedio por planta después de 60 días, comparado con los demás tratamientos. Las plantas que crecieron en los recipientes bajo días normales, en general --

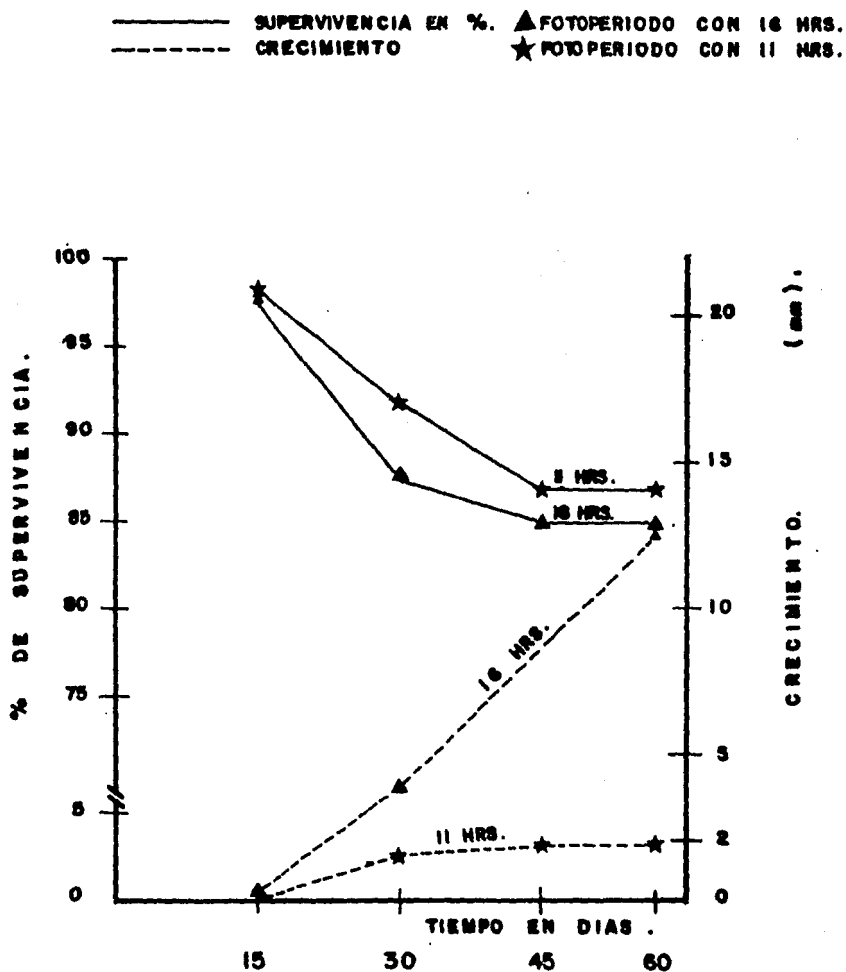
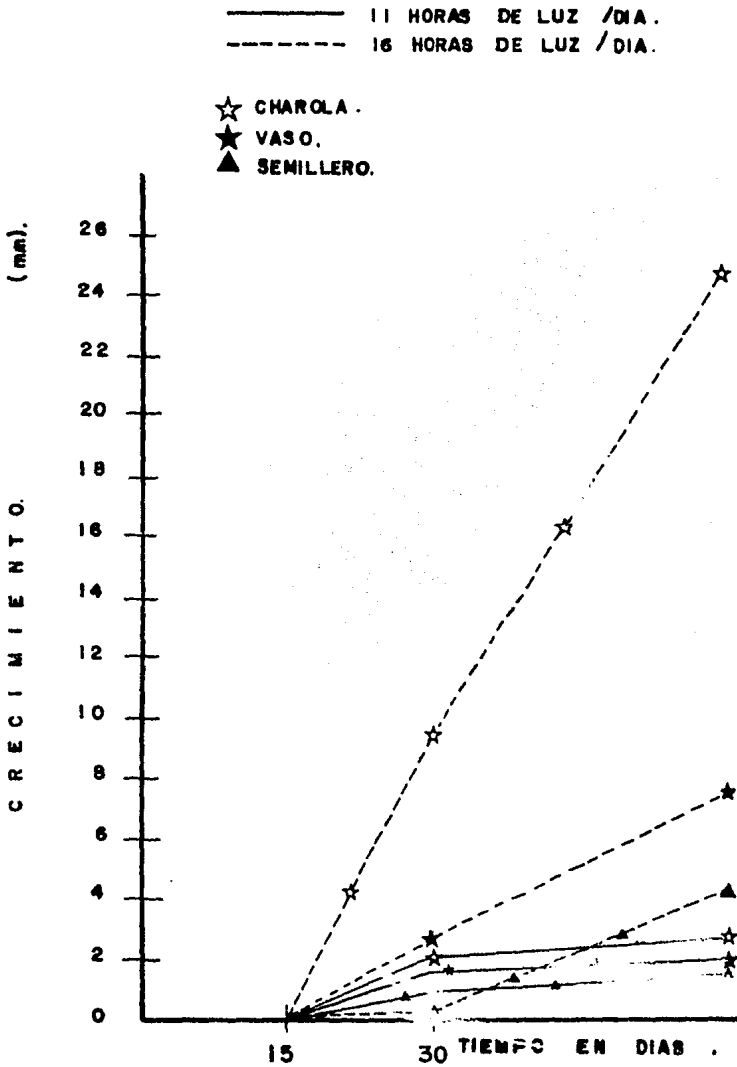


FIG.(14) EFECTO DEL FOTOPERIODO SOBRE LA SUPERVIVENCIA Y EL CRECIMIENTO DE FRESA OBTENIDA *in vitro*, EN LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO.



FM.(15) EFECTO DEL FOTOPERIODO Y DEL RE-  
 CIPIENTE SOBRE EL CRECIMIENTO DE  
 FRESA OBTENIDA in vitro, DURANTE  
 LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A —  
 SUELO.

mostraron un menor crecimiento que aquéllas que crecieron bajo días largos y en los mismos recipientes.

En la Figura 16 y el Cuadro 8, se observa el comportamiento varietal tanto a los 30 como a los 60 días, obteniéndose que en ambos períodos los cultivares de fresno y aiko resultaron con mayor crecimiento, siendo estadísticamente iguales al  $\alpha$  0.05, manifestándose una diferencia significativa al  $\alpha$  0.05 entre fresno y Tioga con 9.0 y 6.0 mm respectivamente a los 60 días.

CUADRO 8. COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CRECIMIENTO EN CULTIVARES DE FRESA.

TRATAMIENTO (cvs.) <sup>1/</sup>	MEDIA A 30**	SIGN.*	MEDIA A 60**	SIGN.*
Fresno	5.00 mm	a	9.00 mm	a
Aiko	4.00 mm	a b	7.00 mm	a b
Tioga	3.00 mm	b	6.00 mm	b

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P < 0.05 = 30$  días 1.7 mm y 60 días 2.3 mm) de acuerdo a la prueba DMSH de Tukey.

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 4 repeticiones con 162 plantas cada una.

\*\* Días después del transplante.

#### 4.3. Calidad visual de la planta

En el Cuadro 9, se exponen los tratamientos que estuvieron correlacionados con la calidad visual de planta. El recipiente, únicamente estuvo relacionado con ( $r=0.34$ ) al  $\alpha$  0.01 a los 60 días, para el ciruelo; mientras que el microambiente resultó correlacionado con la misma variable desde los 30



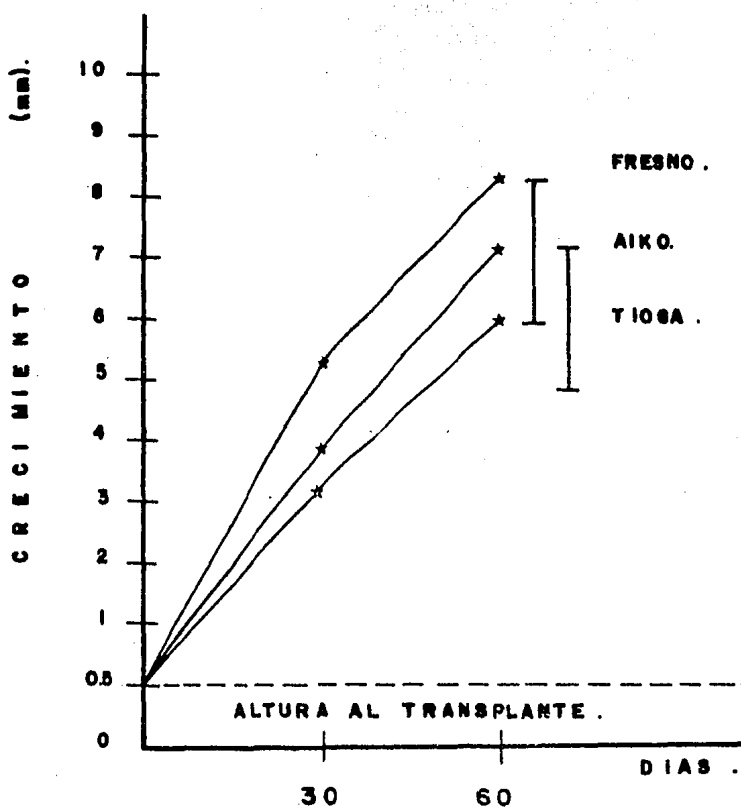


FIG. (16) CRECIMIENTO POR CULTIVAR DE FRESA OBTENIDA *in vitro* EN LA ETAPA DE ESTABLECIMIENTO A SUELO.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN LA PRUEBA DE TUKEY.

días hasta los 60, obteniendo ( $r=0.36$ ) y ( $r=0.40$ ) respectivamente al  $\alpha$  0.01 para el cultivo de la fresa. Además, en el Apéndice Cuadros E y F se observa que este tratamiento fue altamente significativo, también para las mismas fechas de evaluación.

CUADRO 9. TRATAMIENTOS QUE OBTUVIERON UNA CORRELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA CON LAS VARIABLES CALIDAD DE PLANTA Y TAMAÑO DE HOJAS EN FRESA Y CIRUELO OBTENIDAS *in vitro*.

TRATAMIENTOS	VARIABLE	$P > F$	ESPECIE
Recipiente	Calidad visual de planta a los 60 días	0.34 0.01	CIRUELO
	Tamaño visual de hojas	0.36 0.01	
Microambiente	Calidad visual de planta 30	0.36 0.01	FRESA
	Calidad visual de planta 60	0.40 0.01	

#### 4.3.1. Microambiente

Probablemente, el microambiente al ir proporcionando el medio adecuado para la aclimatización de las plantas, éstas fueron mejorando sus características anatómicas (acondicionamiento de sus tejidos) lo que repercutió en una relación directa con la supervivencia final, (a los 60 días); puesto que se encontró una correlación altamente significativa para las dos especies estudiadas, en cuanto a la calidad de planta a los 30 días con la supervivencia a los 60 días (Cuadro 10); siendo corroborado también por las - - -

correlaciones encontradas por el microambiente y la supervivencia de fresa, (Cuadro 1) anteriormente discutidos. La calidad visual de planta, puede estar relacionada con el aumento en la síntesis de cera epicuticular, según Sutter y Langhans (1978), Zimmerman y Broome (1980) y Fuchigami *et al.* (1980), estos autores mencionan haber observado, después de un tiempo en que las plantas obtenidas *in vitro*, habían permanecido en condiciones de invernadero, la promoción de la regulación de la transpiración, evitando la pérdida excesiva de agua, aumentando así la turgencia de las células y vigorizando los tejidos de sostén y reserva. Sin embargo, el efecto del microambiente sobre la calidad visual de las plantas, también debe considerarse desde los primeros 15 días del trasplante (fase de microambiente), ya que las plantas que se obtienen *in vitro* pueden afectarse en calidad, por el tiempo que permanezcan en el medio de cultivo, después de haber enraizado, disminuyendo así la probabilidad de sobrevivir, agravando el problema de estas plantas durante la etapa de establecimiento a suelo, puesto que al momento del trasplante estas plantas entran en un estado de agobio, el cual puede ser superado, dependiendo de la calidad inicial de la planta y la rápida implementación del microambiente; repercutiendo directamente tanto en la supervivencia como en la misma calidad de planta a los 30 días del trasplante.

CUADRO 10. VARIABLES QUE OBTUVIERON UNA CORRELACION ALTAMENTE SIGNIFICATIVA CON LA VARIABLE CALIDAD VISUAL DE PLANTA.

VARIABLE	ESPECIE	VARIABLE	R	P > r
Calidad visual de planta a los 30 días	Fresa	Supervivencia a los 60 días	0.68	0.01
		Supervivencia a los 30 días	0.72	0.01
	Ciruelo	Supervivencia a los 60 días	0.32	0.01
		Tamaño visual de hojas	0.53	0.01

El tipo de microambiente, que proporcionó una mejor calidad visual de planta en ambas especies, fue la C.P.T., resultando significativamente diferente al  $\alpha$  0.05, en las dos fechas de evaluación. (Fig. 17 y Cuadro 11), obteniendo a los 60 días (3 puntos), equivalentes a una planta de aspecto bueno en ambas especies. Sin embargo, la C.N. obtuvo para la fresa una calidad regular y buena para el ciruelo. También en el Cuadro 11 se aprecia que la C.N. en las plantas de fresa, no proporcionó un adecuado ambiente, para la aclimatación de estas plantas, ya que su calidad no se vio incrementada, como se observa en los demás tratamientos. Esto puede indicarnos que las plantas de fresa requieren de una humedad alta y de forma más constante que el ciruelo. Tal vez se puede solucionar esto, si se utilizaran destellos de menor tiempo a intervalos menores para proporcionar una humedad más constante, como Zimmerman y Broome (1980) lo recomiendan.

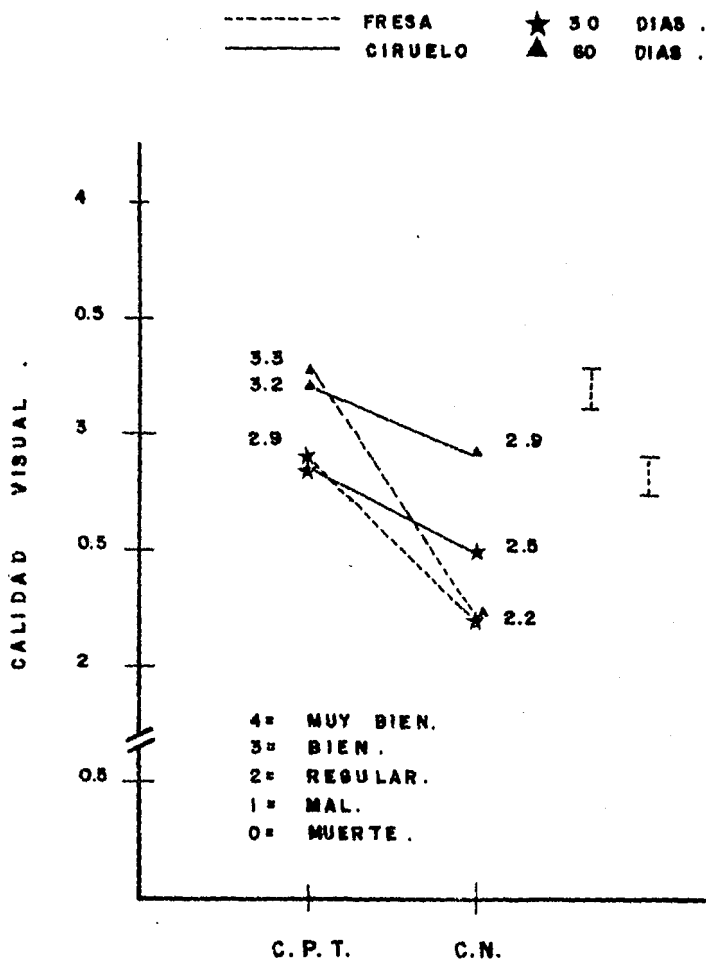


FIG.(17) CALIDAD VISUAL DE PLANTA POR TIPO DE MICROAMBIENTE, EN CIRUELO Y FRESA, OBTENIDAS in vitro A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN LA PRUEBA DE TUKEY.

En la Figura 3, se observa que la calidad visual de planta, con respecto al porcentaje de supervivencia fue manteniendo una relación inversa conforme se lograba el establecimiento a suelo, con una marcada tendencia a mejorar al paso del tiempo.

CUADRO 11. COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA EN FRESA Y CIRUELO POR TIPO DE MICROAMBIENTE.

ESPECIE	TRATAMIENTO	MEDIA A 30**	SIGN.*	MEDIA A 60**	SIGN.*
Ciruelo <sup>1/</sup>	C.P.T.	2.8	a	3.2	a
	C.N.	2.2	b	2.9	b
Fresa <sup>2/</sup>	C.P.T.	2.9	a	3.3	a
	C.N.	2.2	b	2.2	b

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P < 0.05 = 30$  días 0.19 y 60 días 0.21) de acuerdo a la prueba DMSH de Tukey.

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 5 repeticiones con 72 plantas cada una.

<sup>2/</sup> Medias obtenidas de 4 repeticiones con 162 plantas cada una.

\*\* Días después del transplante a suelo.

#### 4.3.2. Recipiente

El recipiente resultó significativo sobre la calidad visual de planta a los 30 días en ciruelo (Apéndice, Cuadro E). En esta fecha, se aprecia en el Cuadro 12 que los recipientes en forma de vaso y semillero proporcionaron la mejor calidad visual de planta, siendo estadísticamente iguales al  $\alpha 0.05$ ; esto probablemente debido, a que el semillero proporcionó un volumen óptimo, para que las plantas de ciruelo - -

iniciaran el desarrollo apropiado de sus raíces, permitiéndose entonces, que las plantas se recuperaran en menor tiempo. No obstante, en la fresa los tipos de recipiente, no fueron estadísticamente diferentes, sin embargo, después de 60 días el tratamiento de recipiente, resultó altamente significativo con esta variable (Apéndice, Cuadro F), al igual que el ciruelo, pero para la primera el mejor recipiente fue la charola y para la segunda el vaso y semillero (Cuadro 12 y Fig. 18). Esta situación podría estar relacionada con la forma del recipiente y el hábito de crecimiento de las especies estudiadas, ya que las plantas leñosas, tienden a desarrollar su sistema radical hacia abajo, con ramificaciones secundarias, facilitando el anclaje y la supervivencia, consiguiendo el mayor porcentaje (Fig. 5). Mientras que la fresa, una especie herbácea, que tiene gran potencial de regeneración de raíces (emitiendo con facilidad raíces adventicias), requiere de una capacidad mayor de recipiente para desarrollar su sistema radical sin límites, siendo la charola el que mejor proporcionó dicho espacio (en sentido horizontal), Gibson y Whitcomb (1977) y Williams y Whitcomb (1979). Además probablemente las temperaturas que proporcionaron los recipientes de charola en el interior del medio de crecimiento, pudieron también favorecer a la calidad visual de planta al proporcionar mejores condiciones para el desarrollo radical, Whitcomb (1979), encontró que las temperaturas elevadas en el medio de crecimiento, en los meses de verano, fueron las culpables de promover una mayor mortalidad. Esto relacionado con el material de los recipientes,

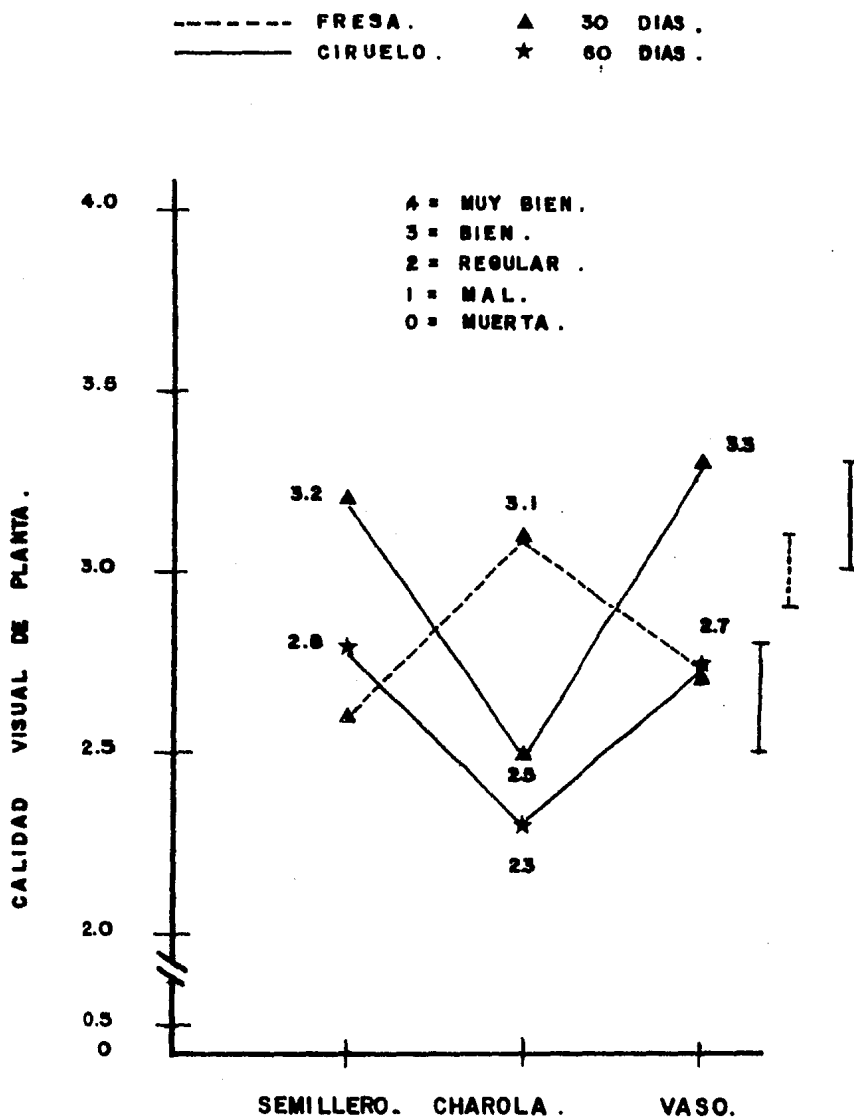


FIG.(16) CALIDAD VISUAL DE PLANTA DE CIRUELO Y FRESA OBTENIDAS *in vitro*, POR TIPO DE RECIPIENTE, A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE.

DIFERENCIA ESTADISTICA AL  $\alpha$  0.05, SEGUN LA PRUEBA DE TUKEY.



ya discutido anteriormente con la variable de crecimiento, que también puede explicar la interacción de luz x recipiente puesto que resultó altamente significativa para ambas especies, (Apéndice, Cuadros E y F).

CUADRO 12. COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA EN FRESA Y CIRUELO POR TIPO DE RECIPIENTE.

ESPECIE	TRATAMIENTO	MEDIA A 30**	SIGN.*	MEDIA A 60**	SIGN.*
Fresa <sup>1/</sup>	Charola	2.7	a	3.1	a
	Semillero	2.5	a	2.6	b
	Vaso	2.5	a	2.7	b
Ciruelo <sup>2/</sup>	Vaso	2.7	a	3.3	a
	Semillero	2.8	a	3.2	a
	Charola	2.3	b	2.5	b

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P < 0.05 = 30$  días 0.3 y 60 días 0.25) de acuerdo a la prueba DMSH de Tukey.

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 4 repeticiones con 162 plantas cada una.

<sup>2/</sup> Medias obtenidas de 5 repeticiones con 72 plantas cada una.

\*\* Días después del transplante.

#### 4.3.3. Fuente luminosa

En el Apéndice, Cuadros E y F, se observa que la luz resultó altamente significativa con la calidad visual de planta, tanto a los 30 como a los 60 días en fresa. En el Cuadro 13 y Figura 19, se aprecia que durante los primeros 30 días la luz natural consiguió una mejor calidad de planta que la lámpara incandescente, pero fueron estadísticamente iguales al  $\alpha$  0.05, sin embargo, la lámpara fluorescente

presentó un efecto negativo sobre las plantas de fresa, de acuerdo a Fonteno y McWilliams (1978) se considera que en estos primeros 30 días la suplementación con luz artificial fue innecesaria, ya que las plantas, se encontraban en su fase de aclimatización. Sin embargo, una vez que las plantas han regulado su metabolismo bajo su nuevo ambiente, les permite tener respuesta a este factor y se observa el efecto altamente significativo que presenta la interacción luz x microambiente desde los 30 días hasta los 60 sobre las plantas de fresa, (Apéndice, Cuadros E y F).

CUADRO 13. COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CALIDAD VISUAL DE PLANTA EN FRESA<sup>1/</sup> POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA.

TRATAMIENTO	MEDIA A LOS 30**	SIGN.*	MEDIA A LOS 60**	SIGN.*
Incandescente	2.8	a	3.4	a
Natural	2.9	a	3.3	a
Fluorescente	1.9	b	1.7	b

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P < 0.05 = 30$  días y 60 días 0.2) de acuerdo a la prueba DMSH de Tukey.

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 4 repeticiones con 162 plantas cada una.

\*\* Días después del transplante.

Se apreciaron hojas de mayor tamaño en las plantas de fresa que crecieron bajo la luz emitida por las lámparas incandescentes, durante este mismo período (60 días) lo que concuerda con lo dicho por Westwood (1982) pues los días largos y la temperatura alta fueron suficientes para estimular el crecimiento vegetativo de las hojas y según Fonteno

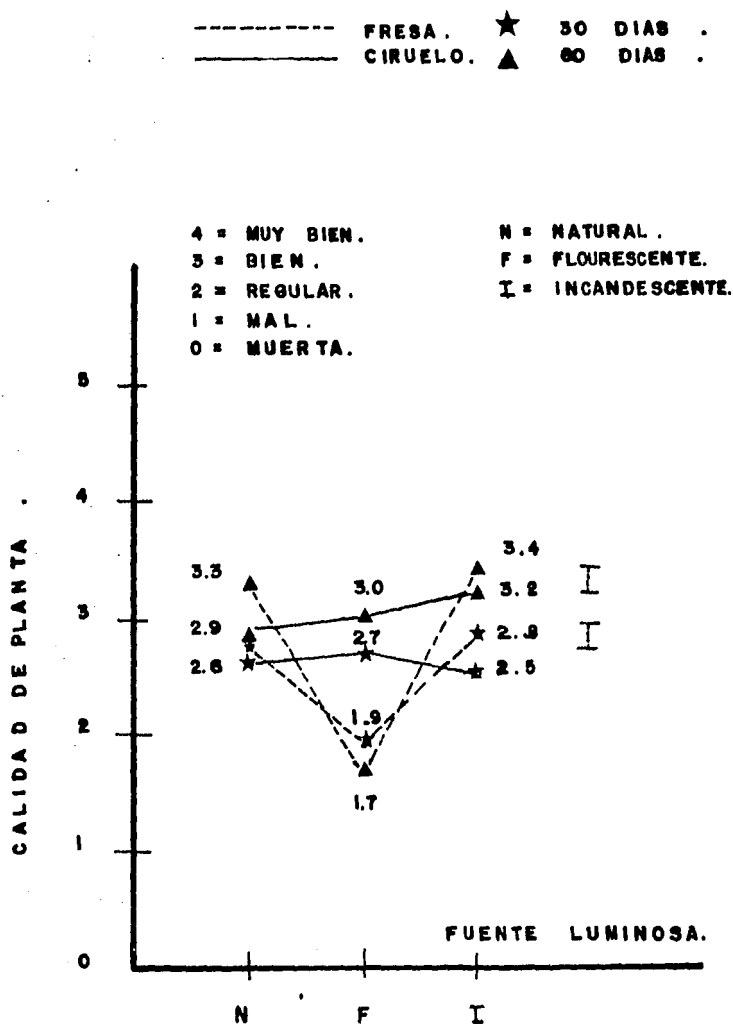


FIG.(19) CALIDAD DE PLANTA, DE CIRUELO Y FRESA, OBTENIDAS *in vitro*. A LOS 30 Y 60 DIAS DEL TRANSPLANTE, POR TIPO DE FUENTE LUMINOSA.

y McWilliams (1978) las plantas durante su aclimatización aunque presenten una mayor área foliar, esto no implica que incrementen su tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$ , sin embargo, se observó que a partir de los 60 días inició en la fresa el crecimiento vegetativo, tal vez disminuyendo el crecimiento radical, que se favoreció de los 15 a los 45 días después del transplante.

En el ciruelo, el tamaño visual de la hoja evaluado después de 60 días, resultó correlacionado al  $\alpha$  0.01 con ( $r=0.36$ ) con el tratamiento de recipiente (Cuadro 9) y altamente significativo con el mismo tratamiento y la luz (Apéndice, Cuadro 6). Este incremento en el tamaño de las hojas pudo estar más relacionado con la mayor energía calorífica irradiada por las lámparas incandescentes, en contraste con las lámparas fluorescentes que no emiten energía calorífica permitiendo mantener el ambiente durante mayor tiempo a una temperatura alta; estos dos tratamientos resultaron diferentes al  $\alpha$  0.05 (Fig. 20), mientras que los tratamientos de luz natural y luz incandescente resultaron estadísticamente iguales al  $\alpha$  0.05.

Los recipientes de vaso y semillero proporcionaron un tamaño mayor de hojas en ciruelo, resultando estadísticamente iguales al  $\alpha$  0.05, pero diferentes con el recipiente de charola al mismo nivel de significancia (Cuadro 14).

CUADRO 14. COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE TAMAÑO VISUAL DE HOJA EN CIRUELO<sup>1/</sup> POR TIPO DE RECIPIENTE.

TRATAMIENTO	MEDIA A LOS 60**	SIGN.*
Semillero	4.5	a
Vaso	4.5	a
Charola	3.5	b

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P < 0.05 = 60$  días 0.45) de acuerdo a la prueba DMSH de Tukey.

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 5 repeticiones con 72 plantas cada una.

\*\* Días después del transplante.

Por otro lado, en el Cuadro 15, se aprecia que la calidad visual de planta fue diferente al  $\alpha 0.05$  a los 30 días con relación a los cultivares de fresa evaluados, observándose que el mejor cultivar fue aiko, sin embargo, a los 60 días todos los cvs. resultaron estadísticamente iguales al mismo nivel de significancia.

CUADRO 15. COMPARACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA EN CULTIVARES DE FRESA<sup>1/</sup>.

TRATAMIENTO (cvs.)	MEDIAS A 30**	SIGN.*	MEDIAS A 60**	SIGN.*
Aiko	2.73	a	2.88	a
Tioga	2.56	a b	2.91	a
Fresno	2.47	b	2.68	a

\* Valores con la misma letra son estadísticamente iguales ( $P < 0.05 = 30$  días 0.23 y 60 días 0.25) de acuerdo a la prueba de DMSH de Tukey.

<sup>1/</sup> Medias obtenidas de 4 repeticiones con 162 plantas cada una.

\*\* Días después del transplante.

- 6 = MUY GRANDE .
  - 5 = GRANDE .
  - 4 = REGULAR.
  - 3 = GRANDES.
  - 2 = PEQUEÑAS.
  - 1 = MUY PEQUEÑAS.
- N = NATURAL .
  - F = FLOURESCENTES .
  - I = INCANDESCENTE .

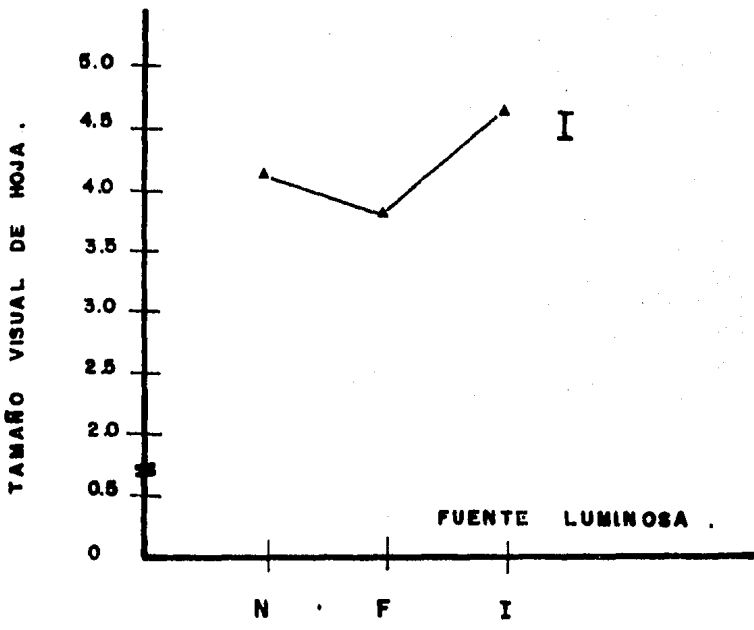


FIG.(20) TAMAÑO DE HOJA VISUAL, DE CI - RUELO MIROBOLANO, OBTENIDO *in vitro* A LOS 60 DIAS DE ESTABLECIDO EN - SUELO, POR EL TIPO DE FUENTE LU - MINOSA.  
 DIFERENCIA SIGNIFICATIVA AL  $\alpha$  0.05, SE - SUN PRUEBA DE TUKEY.

De lo anteriormente expuesto, se sugiere que el éxito del establecimiento a suelo de las plantas que se han obtenido *in vitro*, es resultado de la interacción de una serie de factores que influyen tanto de manera directa como indirecta y que un desequilibrio entre éstos repercute tanto en la supervivencia como en el crecimiento de las plantas.

Dentro de los factores directos (aquéllos que dependen de la composición genética de los individuos, así como de las características fenotípicas que se obtienen *in vitro*) se encuentran: a) tipo de crecimiento (herbáceo o leñoso); b) características morfológicas como: tamaño inicial, tamaño y número de raíces y aspecto de la planta y c) las características anatómicas que presentan estas plantas.

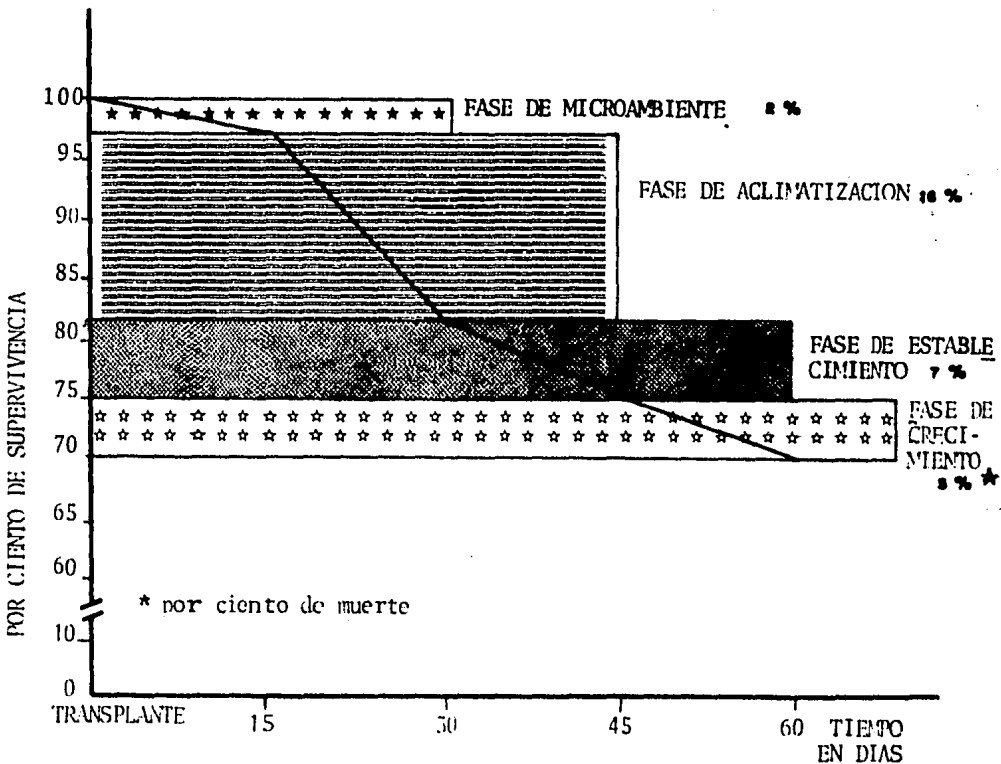
Como factores indirectos (aquéllos que se pueden modificar según las situaciones presentes durante la etapa de establecimiento) se pueden señalar: a) fase de microambiente; b) tipo de recipiente; c) medios de crecimiento; d) fotoperíodo y termoperíodo; e) habilidad del transplantador y f) manejo adecuado bajo condiciones de invernadero.

Del análisis de resultados se desprende que, la etapa de establecimiento a suelo de las plantas micropropagadas presenta el mismo grado de dificultad tanto en las especies (fresa y ciruelo) como en los cultivares, manifestándose diferencias significativas entre la supervivencia y el crecimiento de éstas.

5. CONCLUSIONES

1. La etapa de establecimiento a suelo de plantas propagadas *in vitro*, se da en forma paulatina, afectándola diferentes factores y comprende 4 fases principales, siendo:

- a) Fase de Microambiente
- b) Fase de Aclimatización
- c) Fase de Establecimiento
- d) Fase de Crecimiento



Comportamiento general de especies y cultivares propagados *in vitro* durante la etapa de establecimiento a suelo.



2. Es necesaria la fase de microambiente, proporcionando una alta humedad relativa para lograr la aclimatización adecuada, asegurando así, un mayor porcentaje de supervivencia.
3. El mejor microambiente formado fue el conseguido con la cubierta de polietileno transparente, quien proporcionó una mayor supervivencia y calidad de planta.
4. El recipiente influyó significativamente sobre la supervivencia y crecimiento de las plantas; siendo mejor la charola para fresa y semillero para ciruelo en cuanto a supervivencia y vaso en crecimiento para éste último.
5. La suplementación con luz artificial no se justifica en la época de otoño-invierno. Pero sí en los meses donde existe crecimiento activo.
6. Tioga fue el cultivar de fresa que mejor respondió a la etapa de establecimiento a suelo.
7. La calidad visual de planta aumenta conforme se establecen las plantas en suelo.
8. La fuente luminosa influyó significativamente, resultando mejor la fuente natural en la supervivencia para ambas especies y la incandescente para el crecimiento de fresa.

## 6. RECOMENDACIONES

Es de gran importancia continuar con estas investigaciones, ya que la etapa de establecimiento a suelo, es afectada por muchos otros factores que necesitan ser considerados, como: época de transplante, fotoperíodos y termoperíodos óptimos, medios de crecimiento, fertilizaciones y otros.

## 7. A P E N D I C E

CUADRO A. SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE SUPERVIVENCIA A LOS 30 DIAS EN CIRUELO Y FRESA CONTRA LOS TRATAMIENTOS.

TRATAMIENTOS	GL	CIRUELO PR>F	FRESA PR>F
Luz	2	++	++
Recipiente	2	++	++
Microambiente	1	++	++
Luz x recipiente	4	++	++
Luz x microambiente	2	N.S.	++
Luz x variedad	4	—	+
Recipiente x variedad	4	—	+
Luz x recipiente x variedad x microambiente	28	—	+

C.V. = 23.32%

+ = Dif. est. al  $\alpha$  (0.05)

++ = Dif. est. al  $\alpha$  (0.01)

N.S. = No significativo

— = No evaluado

CUADRO B. SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE SUPERVIVENCIA A LOS 60 DIAS PARA CIRUELO Y FRESA CONTRA LOS TRATAMIENTOS.

TRATAMIENTOS	GL	CIRUELO PR>F	FRESA PR>F
Luz	2	++	++
Recipiente	2	++	++
Microambiente	1	N.S.	++
Luz x microambiente	2	N.S.	++
Luz x microambiente x recipiente	4	++	N.S.
Luz x microambiente x reci- piente x variedad	28	—	+
Recipiente x variedad	4	—	++
Luz x recipiente	4	+	

C.V. = 28.73

+ = Dif. est. al  $\alpha$ (0.05)

++ = Dif. est. al  $\alpha$ (0.01)

N.S. = No significativo

— = No evaluado

CUADRO C. SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE CRECIMIENTO A LOS 30 DIAS, EN CIRUELO Y FRESA CON TRA LOS TRATAMIENTOS.

TRATAMIENTOS	GL	CIRUELO PR>F	FRESA PR>F
Luz	2	N.S.	++
Recipiente	2	N.S.	+
Luz x microambiente	2	N.S.	++
Luz x recipiente	4	N.S.	++

C.V. = 96.7%  
 + = Dif. est. al  $\alpha(0.05)$   
 ++ = Dif. est. al  $\alpha(0.01)$   
 N.S. = No significativo  
 \_\_\_\_\_ = No evaluado

CUADRO D. SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE CRECIMIENTO A LOS 60 DIAS, EN CIRUELO Y FRESA CON TRA LOS TRATAMIENTOS.

TRATAMIENTOS	GL	CIRUELO PR>F	FRESA PR>F
Luz	2	+	++
Recipiente	2	N.S.	++
Microambiente	2	N.S.	++
Luz x microambiente	2	N.S.	++
Luz x recipiente	4	N.S.	++
Recipiente x microambiente	4	++	N.S.
Luz x recipiente x micro- ambiente x variedad	28	_____	+

C.V. = 80.4%  
 + = Dif. est. al  $\alpha(0.05)$   
 ++ = Dif. est. al  $\alpha(0.01)$   
 N.S. = No significativo  
 \_\_\_\_\_ = No evaluado

CUADRO E. SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA A LOS 30 DIAS, EN CIRUELO Y FRESA CONTRA LOS TRATAMIENTOS.

TRATAMIENTOS	GL	CIRUELO PR>F	FRESA P>F
Luz	2	N.S.	++
Recipiente	2	+	N.S.
Microambiente	1	N.S.	++
Luz x recipiente	4	++	N.S.
Luz x variedad	4	—	+
Luz x microambiente	2	N.S.	++
Microambiente x variedad	2	—	++
Recipiente x variedad	4	—	++
Recipiente x luz x microambiente	4	++	N.S.
Luz x recipiente x microambiente x variedad	28		++

C.V. = 22.03%  
 + = Dif. est. al  $\alpha$  (0.05)  
 ++ = Dif. est. al  $\alpha$  (0.01)  
 N.S. = No significativo  
 — = No evaluado

CUADRO F. SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE CALIDAD DE PLANTA A LOS 60 DIAS, EN CIRUELO Y FRESA CONTRA LOS TRATAMIENTOS.

TRATAMIENTOS	GL	CIRUELO PR>F	FRESA PR>F
Luz	2	N.S.	++
Recipiente	2	++	++
Microambiente	1	N.S.	++
Luz x recipiente	4	++	++
Luz x microambiente	2	N.S.	++
Luz x variedad	4	—	+
Recipiente x variedad	4	—	+
Luz x recipiente x microambiente	4	++	N.S.
Luz x microambiente x recipiente x variedad	28		++

C.V. = 20.96%  
 + = Dif. est. al  $\alpha$  (0.05)  
 ++ = Dif. est. al  $\alpha$  (0.01)  
 N.S. = No significativo  
 — = No evaluado

CUADRO G. SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE F PARA LA VARIABLE TAMAÑO DE HOJA, DESPUES DE LOS 60 DIAS DEL TRANSPLANTE.

TRATAMIENTOS	GL	CIRUELO	PR>F
Luz	2		++
Recipiente	2		++
Luz x recipiente	4		++
Luz x recipiente x micro-ambiente	4		++

C.V. = 17.70%

++ = Dif. est. al  $\alpha(0.01)$

## 8. LITERATURA REVISADA

- Anderson, W.C. 1980. Mass propagation by tissue culture: principles and techniques. Proc. conference nursery production of fruit plant through tissue culture application and feasibility. U.S.D.A. Agricultural Research results. p. 1-9.
- Bengochea y Dodds. 1983. Uso del cultivo de tejidos para almacenar material genético en plantas. Ciencia y Desarrollo, C.O.N.A.C.Y.T. Méx. 51:60-64.
- Birchell, R.S. and Whitcomb, C.E. 1977. Effects of container design on root development and regeneration. Okla. Agr. Expt. Sta. Res. Rpt. P 760 p. 39-44.
- Boxus et M. Quoirin. 1977. Comportement en pépinière d'arbres fruitiers issus de culture in vitro. Acta Horticulturae 78:373-379.
- Bradford, K.J. and Fa Yang, S. 1981. Physiological responses of plants to waterlogging. HortScience, February 16:25-30.
- Brainerd, K.E. and Fuchigami, L.H. 1981. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106:515-518.
- \_\_\_\_\_, Fuchigami, L.H., Kwiatkowski, S. and Clark, C.S. Leaf anatomy and water stress of aseptically cultures 'Pixy' plum grown under different environments. HortScience 16:73-75.
- Broome, O.C. and Zimmerman, R.H. 1978. In vitro propagation of blackberry. HortScience 13:151-153.
- Broschat, T.K. and Donselman, K.M. 1983. Effect of photoperiod on growth of west indian mahogany. HortScience 18:206-207.
- Cathey, H.M., Campbell, L.E. and Thimijan, 1978. Comparative development of 11 plants grown under various fluorescent lighting, J. Amer. Soc. Hort. Sci. 103:781-791.



- Conover, CH. and Poole, R. 1979. Foliage plant responses to translucence of the growing container. *HortScience* 14:616-617.
- \_\_\_\_\_. 1981. Light acclimatization of african violet. *HortScience* 16:92-93.
- Cheng, T.Y. 1978. Clonal propagation of woody plant species through tissue culture techniques. *The Intl. Plant. Prop. Soc. Comb. Proc. Vol. 28:139-155.*
- Chua, B.U., Kunisaki, J.T. and Sagawa, Y. 1981. *In vitro* propagation of *Dracaena marginata* 'tricolor'. *HortScience* 16:494.
- Damiano, C. 1980. Strawberry micropropagation. Proc. conference nursery production of fruit plant through tissue culture application and feasibility. U.S.D.A. Agricultural Research results. p. 11-22.
- Devlin, M.R. 1980. *Fisiología Vegetal*. 3a. ed. Ed. Omega. Barcelona, España.
- D.G.E.A. 1982. Consumos aparentes 1925-82, Econotecnia Agrícola. Dirección General de Economía Agrícola, SARH México, D.F.
- \_\_\_\_\_. 1983. Programa siembra-exportación de fresa. Temporada 1982-83. Dirección General de Economía Agrícola. SARH. México, D.F. 31 p.
- Dickinson, S. And Whitcomb, C.E. 1977a. The effects of fall vs. spring planting on establishment of Landscape plants Okla. Agr. Expt. Sta. Res. Rep. p. 760. p. 9-13.
- \_\_\_\_\_. and Whitcomb, C.E. 1977b. Root development of tree seedlings grown in bottomless milk cartons when transplanted into the field. Okla. Agr. Expt. Sta. Res. Rpt. P 760 p.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. 2a. ed. Ed. John Wiley & Sons. Inc. New York.
- Feder, E. 1977. El imperialismo fresa; una investigación sobre los mecanismos de dependencia en la agricultura mexicana. Ed. Campesina, México, D.F.
- Fonteno, W.C. and McWilliams, E.L. 1978. Light compensation points and acclimatization of four tropical foliage plants. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 103:52-56.
- Fossard, R.A. 1977. Tissue culture in horticulturae a perspective. *Acta Horticulturae* 78:455-459.

- Fuchigami, I.H., Cheng, T.Y. and Soeldner, A. 1981. Abaxial transpiration and water loss in aseptically cultured red plum. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106:519-522.
- Garton, W., Hosier, M. Read, P. and Farnham, R. 1981. *In vitro* propagation of *Alnus glutinosa* Gaerth. *Hort-Science* 16:758-759.
- Gibson, J. and Whitcomb, C.E. 1977. Effects of container size and fertility levels on the growth of three seedlings in square bottomless containers. *Okla. Agr. Expt. Sta. Res. Rpt.* p. 760. p. 30-31.
- Hammerschlag, F. 1980. Peach micropropagation. Proc. conference nursery production of fruit plant through tissue culture application and feasibility. U.S.D.A. Agricultural Research results. p. 48-52.
- Hartmann, H.T. y Kester. 1982. Propagación de plantas: Principios y prácticas. 3a. impresión. Ed. C.E.C.S.A., p. 639-666.
- Hasegawa, M.P. 1979. *In vitro* propagation of rosa. *HortScience* 14:610-618.
- Hathaway, R.D. 1977. Propagation of grapes in containers. *Okla. Agr. Expt. Sta. Res. Rpt.* p. 760:36-37.
- Heuser, CH.W. 1983. *In vitro* propagation of *Lythrum virgatum*. *HortScience*. 18:303.
- Howard, B. and Heather, V. 1981. Improved establishment of *In vitro* propagated plum micropropagules following treatment with GA<sub>3</sub> or prior Chilling. *J. Hort. Sci.* 56:1-7.
- Johnson, J. and Emino, E. 1979. "*In vitro*" propagation of *Mammillaria elongata*. *HortScience* 14:605-606.
- Kobayashi, K., Fuchigami, L.M. and Brainerd 1981. Ethylene and ethane production and electrolyte leakage of water-stressed 'Pixy' plum leaves. *HortScience* 16: 57-59.
- Laiche, A.J. and Kilby, W.W. 1983. Root and shoot growth of field and container-grown pecan nursery trees five years after transplanting. *HortScience* 18:328-329.
- Lineberger, R.D. 1983. Shoot proliferation, rooting and transplant survival of tissue cultured 'Hally Jolivette' Cherry. *HortScience* 18:182-185.

- Lumis, G.P. and Johnson, A.G. 1983. Response of container grown 'Hicks' yew to preplant chilling and post-plant night lighting. *HortScience* 18:438-439.
- Matta, F. and Storey, J. 1981. The effects of container design BA, and GA<sub>2</sub> on root and shoot growth of seedling pecan trees. *HortScience* 16:652-653.
- Messeguer y Melé. 1980. Cultivo *In vitro* de ápices meristemáticos de *Pelargonium hortorum*, I.N.I.A., Ministerio de Agricultura, serie de producción vegetal No. 34. p. 1-25. Madrid, España.
- Morrison, B.L.A. and Webster, B.D. 1978. Relative humidity as a factor in the structure and histochemistry of plants. *HortScience*. October, 13:556-558.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 25:135-166.
- . 1977. Plant cell organ cultures as horticulturae practices, *Acta Horticulturae*. 78:17-30.
- Ochoa, L. 1983. Efecto de AIB, ANA y carbón activado sobre el enraizamiento de fresa *In vitro*. Tesis Profesional. FES-C, UNAM. Cuautitlán, Méx. 68 p.
- Poole, R. and Conover, CH. 1983. Establishment and growth of *In vitro* cultured *Dieffenbachia*. *HortScience* 18: 185-187.
- Reyes, C.P. 1980. Diseño de experimentos aplicados, 2a. ed. Ed. Trillas. México, 344 p.
- Rosati, P., Marino, G. and Swierchzewski, CH. 1980. *In vitro* propagation of japanese plum (*Prunus salicina* Lindl cv. Calita). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105:126-129.
- Rugini, E. and Fontanazza, G. 1981. *In vitro* propagation of 'Dolce agogia' olive. *HortScience* 16:492-493.
- Salisbury, F.B. and Parke, R.V. 1968. Las plantas vasculares: Forma y Función. Ed. Herrero Hermanos Sucesores, S.A.
- Schnabelrauch, L. y Sink, K. 1979. *In vitro* propagation of *Phlox subulata* and *Phlox paniculata*. *HortScience* 14:607-608.
- Skirvin, R.M. and Chu, M.C. 1979. *In vitro* propagation of 'forever yours' rose. *HortScience* 14:608-610.
- Snir, I. 1981. Micropropagation of red raspberry, *Scientia Hortic.* 14:139-143.

- Sriskandarajah, S. and Mullins, M.G. 1981. Micropropagation of grammy smith apple: factors affecting root formation *In vitro*. J. Hort. Sci. 56:71-76.
- Struve, D.K. Blazich, F.A. 1980. Effects of selected photoperiods and fertilizer rates on growth of *Pinus thunbergii* seedlings. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 105:85-88.
- Sutter, E. and Langhans, R.W. 1979. Epicuticular wax formation on carnation plantlets regenerated from shoot tip culture. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 104:493-496.
- Villalobos, A.V. 1980. Plantas libres de virus. Ciencia y Desarrollo. C.O.N.A.C.Y.T. Méx. 33:36-49.
- Villegas, A. 1982. Apuntes de clase de propagación de plantas, no publicado. FES-C. UNAM.
- Wald, G. 1959. Vida y Luz; La base molecular de la vida; Introducción a la Biología Molecular; Selecciones de Scientific American; Ed. Blume. 1970. Barcelona, España, p. 354-367.
- Wareing, P.F. 1956. Photoperiodism in woody plants. Annv. Rev. Plant. Physiol. 7:191-214.
- Westwood, N.M. 1982. Fruticultura de zonas templadas. Ed. Mun diprensa, Madrid, España, 461 p.
- Whitcomb, C.E. 1979. Understanding the container System-Nursery Research field. Day-Agr. Exp. Sta. Okla. State University p. 791 p. 14-19. Res. Rept. Oct.
- \_\_\_\_\_ . 1979b. Effects of container and production bed color on summer temperatures in containers. Nursery Research field Day Agr. Exp. Sta. Okla. State University. p. 791 Res. Rept. Oct. p.
- Williams, E. and Whitcomb, C.E. 1979. Effects of growing media and container design on growth of tree seedling. Nursery Research field Day. Agr. Exp. Sta. Okla. State University p. 791 Res. Rept. Oct. p.
- Zimmerman, R. and Broome, O. 1980. Apple cultivar micropropagation. Proc. Conference nursery production of fruit plant through tissue culture application and feasibility. USDA. Agricultural research results. p. 54-59.