

CAPÍTULO I

1.1.Introducción

Los avances tecnológicos y científicos en la última década hicieron posible crear nuevas técnicas de multiplicación vegetativa, como ser la multiplicación mediante esquejes in vitro, obteniendo gran cantidad de plantas libres de enfermedades en un tiempo reducido.

Uno de los pasos fundamentales para el éxito de este método de multiplicación es el proceso de aclimatación, según el cual las plantas obtenidas en laboratorio, mantenidas en condiciones de temperatura y humedad favorables, son llevadas a un sustrato común y a condiciones un tanto más adversas.

Ciento cincuenta familias campesinas de los municipios de Uriondo y Cercado incursionaron en el cultivo de orégano. Actualmente cuentan con más de 70 hectáreas de orégano cultivado y un vivero ubicado en predios del proyecto múltiple San Jacinto, con más 150 mil plantones.

Se trata de las variedades de orégano Maru y Kaliteri, de acuerdo a la experiencia desarrollada son las variedades que mejor se adaptan a las condiciones climatológicas del valle central de Tarija

La propagación vegetativa se ha aplicado en varias especies con el propósito de incrementar la productividad y resolver así problemas con la semilla. La producción puede realizarse a través de varias técnicas entre las que se encuentra el cultivo de tejidos in vitro, realizado en laboratorio.

El proceso de aclimatación de las plántulas obtenidas por cultivo in vitro es muy complejo, por lo que el control estricto de las condiciones ambientales durante esta fase es determinante en un sistema de micro propagación.

En este trabajo se establecen las condiciones ambientales en que deben desarrollarse las plantas in vitro de orégano, sustratos en los cuales puedan

desarrollarse de manera favorable, métodos de desinfección de sustratos, así como las atenciones que deben proporcionárseles para lograr su aclimatación.

1.2. Justificación

Debido a la dificultad y al trabajo que representa para el proyecto múltiple San Jacinto la multiplicación y producción de plantones de orégano, se tiene la necesidad de aplicar tecnología para lograr satisfacer la demanda y llegar a cumplir las metas que tiene planteadas para esta gestión, de esa manera obtener una propagación rápida y masiva de plantas sanas. Para lograr este objetivo, se necesita investigar cómo reaccionarían las plantas ya criadas en laboratorio en un medio externo, tratando de identificar los problemas y las ventajas que posee cada una de las dos variedades con las que se está trabajando.

Para todo esto es necesario realizar un estudio minucioso sobre la “Aclimatación de vitro plantas de orégano” sometiéndolas a condiciones ambientales moderadamente controladas en un entorno forzado utilizando un invernadero, media sombra, bandejas almacigueras y sustratos desinfectados.

1.3. Hipótesis

Se obtiene una alta tasa de supervivencia, rápido crecimiento y un buen macollamiento de vitro-plantas de orégano tanto de la variedad Maru como Kaliteri en la fase de aclimatación, con el uso de dos tipos de sustratos: Uno, tierra vegetal más cascarilla de arroz, otro, turba más acícula de pino y, dos métodos de desinfección como ser: desinfección química o por medio de calor.

1.4. Objetivos

1.4.1. General

Aclimatar dos variedades de vitro plantas de Orégano (*Oreganum vulgare*) en dos sustratos y dos métodos de desinfección, en los invernaderos del Centro experimental de Chocloca

1.4.2. Específicos

- Evaluar el porcentaje de aclimatación de las vitro plantas en las variedades Maru y Kaliteri de orégano frente a los sustratos: Tierra vegetal más cascarilla de arroz y turba más acícula de pino.
- Evaluar o determinar la eficiencia de dos métodos de esterilización del sustrato utilizando desinfectante químico y por medio de calor.
- Determinar el desarrollo de las vitroplantas en la fase de aclimatación.

CAPÍTULO II

2. Marco teórico

2.1.Origen

El orégano es originario de Europa Central, Meridional y Asia Central. Relativamente abundante en el norte de España.

Los principales países productores de orégano son: Turquía, Grecia, Marruecos, Albania, México, Perú y Chile. (FDTA-Valles, 2007)

2.2.Importancia

El orégano está dentro de las hierbas aromáticas y medicinales de gran interés en cuanto a su aprovechamiento en la industria farmacéutica, cosmética, perfumera y alimentaria, y son una alternativa a los cultivos tradicionales, con especies de gran demanda en el mercado actual a nivel mundial

2.3.Descripción de la planta

Planta herbácea o sufruticosa, perenne, rizomatosa. Los tallos son erectos, de unos 90 cm o más, generalmente ramificados en la parte superior, pubescentes, hirsutos o vellosos, raramente glabros. Las hojas, de 10-40(-50) x 4-25 mm, son ovaladas, enteras o ligeramente crenacio-serradas, glabras o pilosas, punteado glandulosas y pecioladas. Flores dispuestas en espiga de verticilastros de 5-30 mm, ovoide, oblonga o prismática, formando en conjunto, una inflorescencia corimbosa densa. Brácteas florales de 4-5 mm, diferentes a las hojas, casi dos veces más largas que el cáliz, ovaladas u oblongas, no apiculadas, pilosas o glabras, sin glándulas o ligeramente punteado-glandulosas, herbáceas, generalmente de color púrpura violáceo o grisáceo. El cáliz, punteado de glándulas amarillas, con 5 dientes iguales, es piloso o glabro. La corola de 4-7 mm, es bilabiada, con el labio superior entero o escotado y el inferior trilobulado, blanco o rojo-púrpura. Androceo formado por 4 estambres fértiles, con los filamentos divergentes, didínamos. Florece desde julio hasta septiembre. (Muñoz, 2002)

2.4.Ecología y corología

Caméfito que vive en lugares secos y montañosos formando pequeñas matas aisladas, suele aparecer en bordes de caminos, bosques marcescentes y caducifolios poco densos y sus linderos, hasta los 2.000 m de altitud. Tiene preferencia por los suelos calizos, es raro encontrarla en terrenos silíceos. Requiere un clima templado y cierta humedad. Es una especie característica de la clase Trifolio-Geranieta Müller 1962.

2.5.Taxonomía

El nombre genérico, *Origanum*, deriva del griego *oros* y *gafos*, que significa adorno o alegría de la montaña, por su aspecto y aroma agradables cuando la planta está en flor; el nombre específico, *vulgare*, indica la relativa facilidad con que la podemos encontrar.

Nombre científico: *Origanum vulgare* L., Sp. Pl. 590 (1753) (*O. Barcense* et al. X, 182 1886)

2.6.Características morfológicas.

El cáliz tubuloso es de color violáceo, con 13 nervios longitudinales y punteado de glándulas amarillas, terminado en 5 dientes casi iguales; presenta numerosos tricomas lectores pluricelulares uniseriados, largos y rígidos en la garganta. La corola es bilabiada de color rosa o púrpura, con el tubo más largo que el cáliz, el labio superior es escotado y el inferior trilobulado; presenta abundantes tricomas tectores y glándulas en su superficie externa. Las brácteas son alargadas, ovaladas, herbáceas, glabras o glabrescentes, de color rojo-violáceo en la superficie externa y más claras en la interna, con los nervios prominentes en la superficie externa y algunos tricomas lectores en la interna; presentan glándulas.

Las hojas, de color verde, más claro en el envés, son ovaladas, enteras o subenteras, aunque pueden presentar algunos dientes marginales; los nervios, prominentes por el envés, son de color verde pardo; el haz es glabro o con algunos tricomas tectores esparcidos; presenta tricomas tectores pluricelulares uniseriados

y curvados en los bordes, en el envés y principalmente sobre los nervios; están punteadas de glándulas, más abundantes por el envés.

El tallo es cuadrangular, de color verde amarillento, con áreas rojizas pilosas; presenta tricomas tectores pluricelulares, uniseriados, retrorsos. (Muñoz, 2002)

2.7. Características organolépticas.

Olor aromático. Sabor un poco amargo.

2.8. Características anatómico microscópicas.

Los tricomas glandulares de las brácteas y del cáliz, presentan un pedicelo corto, unicelular, con las paredes celulares algo lignificadas y la cabeza octocelular; los tricomas lectores son pluricelulares (1-4 células) uniseriados, con las paredes celulares engrosadas.

En la hoja el parenquima en empalizada es monoestratificado y está formado por células largas regulares; parénquima lagunar integrado por células isodiamétricas; en la epidermis se encuentran glándulas sésiles hundidas en el mesófilo, rodeadas por células epidérmicas diferenciadas. En un corte del tallo destaca el córtex delgado con un haz de fibras colenquimáticas en cada ángulo, un periciclo de fibras ectofloemáticas, el sistema vascular formando un cilindro continuo que rodea al parénquima medular y en la epidermis se distinguen tricomas tectores pluricelulares (1- 4 células), uniseriados y tricomas glandulares de varios tipos, unos con un pedicelo largo, bicelular y cabeza bicelular, y otros de mayor tamaño, sésiles y con la cabeza octocelular. (Muñoz, 2002)

2.9. Propiedades y valor nutricional

El orégano es una planta aromática fuertemente olorosa y de gran sabor; en las zonas más cálidas, el aroma es de mayor intensidad, el sabor más picante y el perfume más persistente.

Se cultiva por su demanda en la industria alimentaria, sector farmacéutico, de los licores y cosméticos, además de la industria conservera y semillera. Su uso práctico en la cocina es el aromatizante por excelencia. También la herboristería

lo consume ampliamente por sus propiedades tónicas, digestivas, estomacales y antiasmáticas. (FDTA-Valles, 2007)

La parte útil del orégano son las hojas y las sumidades floridas desecadas. Estos órganos tienen un aroma agradable y sabor algo amargo. Contiene aceite esencial, sustancias tánicas, goma, resina y otros. (FDTA-Valles, 2007)

La esencia es un líquido de color amarillo hasta pardo, cuyo principal componente es el carvacrol, pero también se puede hallar timol, alfa pineno, cimeno levógiro, terpenos, etc. La cantidad de aceite esencial varía, dependiendo de la producción específica de cada especie desde trazas hasta 8 mg por cada 100g de peso seco. El aceite determina el olor, el sabor y varía de acuerdo a varios otros factores (hora de cosecha, condición de secado, nivel de floración, etc. (FDTA-Valles, 2007)

- Ácidos: Rosmarínico (Planta y hojas) palmítico, esteárico, oleico, ursólico, cafeico, cáprico (Planta).
- Aceite esencial rico en timol, cineol, carvacrol, borneol, beta-bisolobeno, limoneno, alfa pineno, beta pineno, mirceno, camfeno, alfa terpineno (Planta).
- Minerales: Potasio, magnesio, manganeso, zinc, cobre, hierro (Planta).
- Taninos: (Planta).
- Vitaminas: Niacina, beta-catoteno (Planta).

2.10. Recolección

La recolección puede hacerse a partir del primer año. Las sumidades floridas se recolectan al inicio de la floración, sobre mediados de agosto. Si se destina a la destilación, la recolección debe hacerse en plena floración. (Muñoz, 2002)

El rendimiento oscila entre 90 y 120 Kg/ a de planta fresca, generalmente 100 Kg de planta fresca se reducen a 60 Kg de planta seca. (Muñoz, 2002)

A partir del cuarto año, empieza a descender el rendimiento, por lo cual no es aconsejable mantener la plantación más de cinco años (Maductio, Le.).

Frecuentemente es parasitada por un ácaro (*Triophyes thomasinai*) y estas plantas dan por destilación una mayor proporción de aceite esencial, pero el contenido en fenoles, es inferior al del aceite esencial obtenido de una planta sana (Batllori, 1991).

2.11. Comercio

Según (CAEMPA, 2004) EL crecimiento anual esperado es del 4%, es decir que a nivel mundial, cada 15 años se duplica el consumo.

Otros factores que favorecen el aumento de la demanda de estas especies son:

- Tanto en Europa como en Estados Unidos surge, favorecida por la publicidad, una corriente de interés por las comidas exóticas, que requieren de mezclas de hierbas y condimentos.
- Los condimentos son utilizados como conservantes y antioxidantes naturales en la fabricación de alimentos industriales. Por ejemplo, al orégano y al romero se los emplea como antioxidantes en la fabricación de salchichas y otros productos cárnicos.
- Los consumidores tienden a eliminar la sal en las comidas, de lo que surge la necesidad de reemplazarla por condimentos y mezclas de hierbas.
- Debido a la preferencia por los alimentos naturales, se ha buscado reemplazar a los colorantes y aromas artificiales, favoreciendo así a las hierbas aromáticas naturales.
- Por el auge de la cocina de microondas, de los alimentos congelados y las comidas rápidas con nuevos gustos, se requiere de más condimentos.
- Las multinacionales de golosinas y cosméticos han desarrollado la demanda de toda clase de esencias, aromas y aceites esenciales.

Kuris et al., 1981 nos dice que de esta planta se cosechan las hojas y las flores. La época ideal para la recolección de las hojas es en plena floración (en general, durante el verano), antes de que abran todas las flores. El rendimiento, expresado en producto verde, oscila entre tres y cuatro toneladas por hectárea en el primer año de plantación. En el secado de las hojas se pierde peso, al pasar de verdes a secas.

El producto puede destinarse también a la extracción de la esencia. Los rendimientos son muy variables según la zona de cultivo, aunque oscilan alrededor de dos kilogramos de aceite esencial por tonelada métrica, lo que significa un rendimiento medio por hectárea de 30 kilogramos de aceite esencial. Las hojas deben ser secadas a la sombra, pues el sol destruye el aceite esencial. Posteriormente, estos aceites se deben guardar en recipientes oscuros.

La mayoría de las especies de orégano poseen notables propiedades medicinales, que se explican por la compleja composición química que tienen estas plantas. En la práctica terapéutica las especies de *Lippia* se administran para dolencias.

La importancia del orégano de monte dentro de la economía familiar, así como el impacto que la cosecha tiene sobre las poblaciones naturales y su hábitat, se desconocen. La respuesta de las plantas a la cosecha y las implicaciones de una baja en la productividad debida a la alta frecuencia o intensidad de la misma, son elementos críticos para el desarrollo de políticas de aprovechamiento (Cunningham, 1994).

Las medidas de manejo y conservación enfocadas a especies particulares conllevan también a la conservación del hábitat en el que éstas se desarrollan (Ticktin y Johns, 2002).

Ticktin y Johns (2002) consideran que una manera de lograr que las comunidades rurales se involucren en programas de conservación y desarrollo sostenible es centrar esfuerzos de investigación en los recursos naturales que son importantes para las economías locales. El caso del orégano es un claro ejemplo del panorama anteriormente descrito.

2.12. Zonas productoras de orégano en Bolivia

Chuquisaca y Tarija en los Valles Meso térmicos, son los principales departamentos productores de esta especie, aportando a la producción nacional, 80 y 20% respectivamente. (FDTA-Valles, 2007)

2.12.1. Zonas de producción

Están ubicadas en Chuquisaca, principalmente en los municipios Tomina, Padilla, Villa serrano, Sopachuy y Redención Pampa.

Otra zona importante en la producción de esta especie son los municipios Cercado y San Lorenzo del departamento de Tarija.

En Cochabamba, en el municipio Aiquile se ha iniciado preliminarmente con la producción de orégano. (FDTA-Valles, 2007)

2.13. Factores que afectan el crecimiento de las plantas

El crecimiento es el desarrollo progresivo de un organismo. Se refiere al desarrollo de un órgano u órganos específicos de las plantas, o a las plantas consideradas en su conjunto, y puede estar relacionado al peso seco, longitud, altura o diámetro. Ortiz (1999)

La planta es un producto, tanto de una constitución genética, como de un medio ambiente. La constitución genética es una cantidad fijada para cada tipo de planta, y determina su potencial de crecimiento máximo bajo unas condiciones favorables a su desarrollo. El crecimiento de las plantas es función de varias condiciones ambientales o factores de crecimiento que pueden ser considerados como variables, y cuya magnitud y combinación determinan el crecimiento que puede obtenerse. (Ortiz 1999)

2.13.1. Por región geográfica.

Como es una planta rústica, el orégano se adapta a una variedad de climas. Se puede encontrar variedades criollas que crecen en condiciones extremas.

La experiencia desarrollada en Bolivia en la producción de orégano, lleva al siguiente análisis para climas de altura, valle húmedo y valle seco. (FDTA-Valles, 2007)

2.13.1.1. Clima de altura

Localidades con altitudes que fluctúan entre 1800 – 2400 msnm. A mayor altura se puede observar que el ciclo vegetativo es más largo, de 5 meses para la primera cosecha y 3 a 4 meses de intervalo después de la cosecha.

Las hojas de orégano producidas en estas zonas son más gruesas y presentan un mayor peso. Las plantas tienen un tamaño promedio de 40 cm. (FDTA-Valles, 2007)

2.13.1.2. Clima de valle húmedo

A menor altura se puede observar que el ciclo de producción de orégano es más corto. EL primer corte se hace a los 4 meses y de 10 a 12 semanas de intervalo después de la cosecha.

La planta presenta un mayor desarrollo que en altura logrando un tamaño de hasta 60 cm. Una de las características es un mayor espacio entre los nudos que hacen una planta con hojas más delgadas y un tallo grueso. La planta es también de un color más claro. (FDTA-Valles, 2007)

2.13.1.3. Clima de valle seco

En estas condiciones la planta alcanza hasta 50 cm con hojas verde claro. El primer corte se realiza de 4 a 5 meses y de 12 a 14 semanas de intervalo después de la cosecha. (FDTA-Valles, 2007)

Los factores ambientales se definen como la suma de todas las condiciones externas e influencias que afectan la vida y el desarrollo de un organismo, entre los principales que afectan el cultivo pueden mencionarse:

2.13.2. Condiciones hídricas

Es una planta exigente en agua. En zonas de climas cálidos y húmedos necesita más de 125 a 150 mm de agua por mes. Sin embargo, la evapotranspiración puede sobrepasar los 200mm, Ortiz (1999) afirma que el cultivo debería sembrarse en un lugar con 2000 mm de Precipitación anual, o en condiciones donde se pueda aportar esta cantidad de agua mediante riego, para un promedio mensual de 100 a 180 mm (Ortiz 1999)

2.13.3. Temperatura

La temperatura afecta el proceso fisiológico de la planta. Influye en la regulación de la humedad del suelo y la evapotranspiración. (FDTA-Valles, 2007)

Según (Ortiz 1999) la temperatura óptima para su desarrollo y crecimiento está cerca de los 27 °C. Algunos autores piensan que el máximo diario debe estar encima de 28 °C y el promedio no debe bajar de 22 °C. Sin embargo las temperaturas óptimas son diferentes según el proceso de que se trate.

2.13.4. Radiación solar

El orégano es una planta de días cortos, una disminución de horas luz da inicio a la floración de la planta. (FDTA-Valles, 2007)

La luz y la radiación solar son parte íntegramente del proceso de la fotosíntesis que realiza la planta de orégano. Influyen en el proceso de transpiración y evaporación del agua del suelo. (FDTA-Valles, 2007)

El orégano tolera bien la intensidad fuerte de luz si se logra satisfacer sus necesidades de agua. En cambio, la nebulosidad alarga el ciclo vegetativo, aumentando el tamaño de los retoños. Un promedio favorable de luz se encuentra entre las 2000 y 2400 horas. Las plantas necesitan de 7 a 16 megajulios por metro cuadrado de hojas por día para un crecimiento normal, el grado óptimo se encuentra cerca de 12 megajulios por metro cuadrado por día de radiación fotosintética activa. Si no se logran por lo menos 5 horas de brillo solar diario, se afecta el crecimiento de la planta, los dedos salen cortos y las plantas se hacen más altas y se extienden los ciclos de cultivo. Ortiz (1999)

2.13.5. Vientos

Vientos secos en combinación con altas temperaturas pueden afectar seriamente las hojas. Hasta 15 km/hora el efecto del viento puede ser benéfico, al producir una mayor transpiración de la planta, y permitiéndole a esta bajar su temperatura. Con vientos de 40 km/hora, las láminas de las hojas se empiezan a rajar. La volcadura de las plantas se presenta con vientos de 55 km/hora y se puede dar una pérdida de peso de hasta el 20%.

2.13.6. Enraizamiento

Las características anatómicas y fisiológicas de las plantas micropropagadas hacen necesaria para su supervivencia en condiciones ex vitro, una gradual adaptación o aclimatación a las condiciones medioambientales del invernadero o del campo. La última fase del proceso de micropropagación, llamada Fase 3, incluye los

procesos de enraizamiento de la microestaquillas obtenidas en la Fase 2 de multiplicación y su aclimatación a las condiciones ex vitro. (Muñoz, 2002)

2.14. Composición química.

Contiene aceite esencial, cuya composición puede variar según su procedencia. Generalmente contiene fenoles (timol y carvacrol); hidrocarburos monoterpénicos (limoneno, a y b-pineno, pcimeno); sesquiterpénicos (b- ariofileno y bbisaboleno); linalol y terpinen-4-ol. El orégano procedente del centro de Europa, produce un aceite esencial pobre, o incluso privado de fenoles. También podemos encontrar ácidos fenólicos (cafeico, rosmarínico y clorogénico), taninos, principios amargos, flavonoides (luteolol, kaempferol, diosmetol y derivados del apigenol), triterpenos derivados de los ácidos ursólico y oleánico. (Arteche et al. 1998; Longo, 1995).

Los minerales influyen en la nutrición y por tanto en el crecimiento y desarrollo de la planta de orégano. (FDTA-Valles, 2007)

2.15. Cultivo de orégano

Crece de forma espontánea en buena parte de Europa (excepto en las Islas Azores, Islas Baleares, Creta, Islandia), centro y norte de Asia y América del Norte. En España es relativamente abundante en el tercio norte. (Bolós et al., I.c., Rivas-Martínez et al. 1984, Tutin et al., I.c.).

El orégano se cultiva con fines comerciales en gran parte del mundo pero, la mayor parte de la planta destinada al consumo, procede de plantas silvestres recolectadas en la región mediterránea y, especialmente, en el sur de Italia.

El cultivo suele durar de 6 a 8 años, aunque a partir del primer año su rendimiento disminuye. Se multiplica por semillas que germinan fácilmente. La siembra debe hacerse en semillero, previamente abonado, hacia finales de febrero. Se trasplantará al terreno de asiento hacia finales de marzo (Madueño, 1973).

2.15.1. Tecnología para producir planta de orégano

La planta se produce en un vivero que debe contar con una casa sombra, charolas de siembra, mesas para su colocación, así como agua para los riegos. Previamente se debe tener la semilla, que deberá provenir de las mejores áreas que se

encuentren designadas para su aprovechamiento según la norma NOM-007-SEMARNAT-1997.

2.15.2. Viabilidad de la semilla

Para tener resultados óptimos es necesario conocer la viabilidad de la semilla que se disponga a sembrar, de tal forma que se tendrá la certeza de la cantidad de semillas a depositar en las cavidades de las charolas. Con base en la experiencia de proyectos de transferencia de tecnología, la semilla de orégano tiene una viabilidad de 70%, por lo cual es necesario agregar de cuatro a cinco semillas por cavidad en las charolas de germinación, esto con la finalidad de asegurar tener tres o cuatro plántulas por cavidad. Conafor (2008)

2.15.3. Siembra

Dado que la siembra es manual, debe cuidarse que el personal esté capacitado a fin de que no se pierda material vegetal en el proceso. Como regla general la semilla deberá enterrarse sólo uno o dos tantos del tamaño de su diámetro; esto se logra poniendo la semilla en la superficie del sustrato húmedo y después espolvorear un poco más de sustrato encima volviendo a humedecer para consolidarlo. Conafor (2008)

2.15.4. Riego en invernadero

El riego se inicia desde el primer día de siembra por la mañana y, si es posible, otro riego ligero por la tarde. El riego habrá de ser con rocío para no levantar el sustrato y perder semillas. Una vez germinadas las semillas (10 a 12 días) se continúa el riego diariamente, de tres a cinco semanas antes de llevar las plantas al campo, con la finalidad de desarrollar un estrés hídrico que les permita sobrevivir fuera del invernadero. Conafor (2008)

2.15.5. Material vegetal.

Las principales variedades, entre muchas probadas, que se utilizan actualmente en Bolivia son el orégano Maru y el Kaliteri. La más popular entre los agricultores es la variedad Maru Por su buen rendimiento. (FDTA-Valles, 2007)

2.15.5.1. Variedad Maru

Es la más aceptada por su posicionamiento en el mercado de los condimentos y también por su rendimiento. Es la subespecie *Origanum Syriacum* L. *Origanum Syriacum* L. var. *Bevanii* (Colmes), nativo del medio este. Es orégano Maru es del tipo Carvacrol.

El orégano Maru prende rápidamente y se adapta bien a diferentes climas y suelos. Resiste bien la sequía y necesita menos agua que la variedad Kaliteri. La planta es menos sensible a las enfermedades y plagas. (FDTA-Valles, 2007)

Altura de la planta: 35 – 80 cm.

Hojas: compuestas.

Tamaño: 1,5 – 2 cm.

Color: verde oscuro, con vellosidades.

Portada: alterna.

Tallo: erecto con poca ramificación.

Raíz: superficial, menos de 30 cm

Fragancia/sabor: suave

2.15.5.2. Variedad Kaliteri

Significa el mejor en griego, es la que tiene resultados más promisorios a nivel mundial. Un estudio de su aceite esencial prueba que la cantidad y calidad pueden variar mucho dependiendo de su localización. La composición del aceite y la proporción del carvacrol y timol varían mucho.

La variedad Kaliteri resiste bien la sequía, pero es muy sensible a las heladas. Esta variedad es delicada al corte y tiene dificultad al rebrotar. Kaliteri tiene un proceso más lento de secado, sin embargo seca siempre verde con mejor contenido de aceite. (FDTA-Valles, 2007)

Altura de la planta: 50 – 60 cm. (Menos macollamiento que Maru)

Hojas: compuestas.

Tamaño: 1,3 – 1,5 cm.

Color: verde plomizo. Más gruesa y pubescente que Maru.

Portada: alterna.

Tallo: erecto con poca ramificación, pubescente.

Raíz: superficial ramificada.

Fragancia/sabor: menta.

2.15.6. Establecimiento de la plantación

Una vez que se preparó el terreno se procede a hacer el surcado (133 surcos por hectárea) y en ese mismo momento puede plantarse el orégano. La disposición de la planta se recomienda a tres bolillos a una distancia de 130 centímetros entre planta y planta. Esto significa que en una hectárea habría 76 plantas por surco que, multiplicado por 133 surcos por hectárea, arroja una densidad de 10,108 plantas de orégano por hectárea. Conafor (2008)

La plantación de orégano se realiza de preferencia a inicio del temporal de lluvias, a menos de que se tenga riego, evitando que sea en época de invierno para no perder plantas con las heladas.

Los meses de temporada de lluvia son los más recomendables para favorecer un mayor rendimiento de las plantas.

Los meses de junio y julio son desfavorables para la plantación por el frío, el cual afecta el prendimiento y el desarrollo de la planta. Esta recomendación es general pero particularmente importante para las zonas de clima de altura.

Se colocan los plantones al fondo de los surcos en el tiempo seco u un poco más arriba en época de lluvia al lado opuesto al sol de la mañana. Es importante apretar la tierra contra la raíz para evitar las bolsas de aire y favorecer un mayor contacto de la planta con el suelo. El primer riego de la nueva plantación deberá

ser lento y suave. Un riego regular es crítico para todo el periodo de prendimiento. (FDTA-Valles, 2007)

2.16. Preparación del suelo para el trasplante

La planta tiene un buen desarrollo en suelos sueltos, permeables y con buen drenaje. No prospera en suelos salinos, además que el orégano es sensible a la asfixia radicular.

La textura puede ser franco-limosa, franco-arenosa o suelo pedregoso franco con buen drenaje. El suelo necesita atención especial para asegurar una buena ventilación.

El suelo apto para el cultivo de orégano requiere de buen drenaje, aireación y ausencia de capas endurecidas que obstaculicen el desarrollo de las raíces y el paso del agua.

No debe contener sales solubles o sodio intercambiable en exceso. El orégano necesita un suelo profundo (hasta 50 cm), con pH de 6 – 8. La planta responde bien en suelos ricos en materia orgánica. (FDTA-Valles, 2007)

2.16.1. Importancia del suelo

El cultivo del orégano ocupa el terreno un mínimo de 4 años, la explotación más prolongada depende del manejo que se realice especialmente de tipo nutricional.

La planta es exigente en materia orgánica, por esta razón, es importante empezar con un buen barbeche y la implementación de abono verde.

Arar el suelo a 10 cm de capa arable, sacar malezas y después cruzar a 30 cm. AL momento de trabajar el terreno es importante no mezclar las capas de suelo para asegurarse de no matar a los micro-organismos del mismo. Un trabajo profundo del suelo facilita el desarrollo de las raíces en un suelo compacto, pero un trabajo superficial es suficiente en muchos casos. (FDTA-Valles, 2007)

El rendimiento de los cultivos está estrechamente ligado a la productividad del suelo, la cual a su vez depende estrechamente del manejo dado. Los siguientes

factores necesitan estar en óptima situación para el buen comportamiento del suelo y, por lo tanto, óptimo crecimiento de la planta:

- Capacidad de retención del agua.
- Densidad.
- Porosidad.
- Estructura.
- Salud

2.16.2. Barbecho

Consiste en remover el suelo con el propósito que al realizarse el trasplante, las raíces de las plantas puedan penetrar en el suelo sin ningún problema para la absorción de los nutrientes. La incorporación de algún abono orgánico (cabra, caballo, etc.) (50 kg m⁻² o 5 t ha⁻¹) facilitará el crecimiento del cultivo en sus primeras etapas de desarrollo. Aguilar (2013)

2.16.3. Preparación de camas de siembra

Según Aguilar (2013) Las camas de siembra, son bordos de tierra que se cubren con plástico (acolchado). Al ser removido el suelo, este se vuelve permeable, poroso, facilitando la penetración de la raíces, aire, agua y nutrientes disponibles en el suelo.

La cama de siembra puede realizarse con un tractor o con palas dependiendo de la superficie que se pretenda sembrar. La distancia entre camas es de 60 cm, ancho de 50 cm, con una altura de 30 y hasta 50 cm aproximadamente, donde las raíces podrán desarrollarse favorablemente.

La utilización de maquinaria en la realización de camas de siembra tiene como ventaja la uniformidad en las camas, disminución de pago de mano de obra y menor tiempo en la realización de esta actividad. Aguilar (2013)

2.16.4. Riegos en la parcela

Como se conoce, los requerimientos de agua de esta planta son mínimos, lo cual la hace atractiva para su cultivo. En el estado de Coahuila se aplicaron cero, dos y

tres riegos al año en las épocas de mayor demanda de la planta, de acuerdo con esa región, que fue en la época de noviembre y abril para el de dos riegos, y octubre-febrero-junio para el de tres riegos, tratamiento que fue el mejor (Ortega, 1991).

En el estado de Chihuahua se estableció una parcela de orégano (*Lippia graveolens*) con la finalidad de evaluar sus requerimientos de agua utilizando una con riego rodado o por gravedad, y otra parcela con riego por goteo, encontrando entre algunos de los resultados que el orégano tolera altos niveles de estrés hídrico. El sistema por goteo permitió mayores porcentajes de supervivencia al trasplante, brotación y longevidad; asimismo, proporcionó incrementos en la producción hasta en 30%, en comparación con el sistema convencional o por gravedad (Galván et al., 2005).

Analizando lo anterior, para la región de Sonora podemos decir que se puede manejar como cultivo y de acuerdo con las épocas de brotación de las poblaciones silvestres, las principales épocas para establecimiento de plantaciones serían a partir del mes de junio a julio para hacer coincidir con el período de lluvias y así poder establecer un programa de riego. El riego quedaría distribuido entre los meses de agosto y abril, ya que en agosto, si las condiciones de lluvia de los meses anteriores son favorables, inicia la brotación de las poblaciones silvestres y se puede comenzar su recolección antes de la floración –que es en los meses de noviembre y diciembre– encontrando brotación, floración y fructificación hasta los meses de marzo y abril en algunos años. Conafor (2008)

2.16.5. Densidades de siembra

Para la variedad Maru la distancia entre surcos recomendable es de 50 cm y entre plantas 40 cm, obteniendo un total de 50000 plantones por hectárea.

En cuanto a la variedad Kaliteri se recomiendan 40 cm entre surcos y una distancia entre plantas de 30 cm con un número de plantones por hectárea de 83000. (FDTA-Valles 2007)

En el caso de las densidades de siembra, no existe aún una distancia definida entre plantas o entre hileras; algunos autores recomiendan 50 centímetros entre plantas y 100 centímetros entre surcos, lo que hace una densidad de población de 20,000 plantas de orégano por hectárea, lo cual se traduciría en un cultivo de muy alta densidad, que repercutiría en un alto requerimiento de agua.

Si nuestro objetivo es la optimización del agua, habría que definir la densidad óptima para obtener el mayor rendimiento al más bajo costo.

Trabajos realizados con *Lippia graveolens* en Chihuahua, con densidades de 31,250 plantas por hectárea, obtuvieron en promedio 2,593 kilogramos por año bajo riego por goteo en los tres años de estudio, contra 1,906 kilogramos en riego por gravedad. También en Delicias, Chihuahua, se realizaron pruebas de densidad de siembra, encontrando que en poblaciones de 25,000 plantas por hectárea se obtenía un rendimiento promedio de 1,816 kilogramos de materia seca por hectárea (Valdéz y Meléndez, 1991). Habría que determinar la densidad óptima por hectárea para cada región y sobre todo con la especie endémica del estado de Sonora, *Lippia palmeri*, ya que no se tiene información alguna sobre esta especie. Conafor (2008)

2.16.6. Fertilización

Siendo el orégano una planta silvestre en proceso de domesticación, habría que realizar varios trabajos sobre el uso y requerimientos de nutrientes por la planta ya que, como es sabido, su valor comercial está en las hojas, por lo que tendrá más demanda de nitrógeno; pero como también tiene otros usos además del alimenticio, habría que evaluar sus requerimientos nutricionales como cualquier otro cultivo.

En Delicias, Chihuahua, experimentos que se realizaron con *Lippia berlandieri* encontraron muy buena respuesta con 92 kilogramos por hectárea de nitrógeno (Valdéz y Meléndez, 1991). En el caso de *Origanum vulgare*, conocido como orégano europeo, en las regiones de Chile se aplican de 120 a 150 kilogramos de nitrógeno por hectárea, de 80 a 100 kilogramos de fósforo por hectárea y de 100 a 120 kilogramos de potasio.

2.16.6.1. Los nutrientes y sus funciones en el suelo y la planta

Generalmente los nutrimentos del suelo no están disponibles en las cantidades y proporciones requeridas por los cultivos para maximizar rendimientos; por lo tanto, es necesario determinar la concentración de estos en el suelo y con base en ello, definir las fuentes y cantidades de correctivos y fertilizantes, acorde con los requerimientos de cada especie. La fertilidad del suelo es la capacidad para proveer de nutrientes a las plantas. De acuerdo a los requerimientos que las plantas tienen de los elementos minerales y considerando los diversos beneficios que obtienen de ellos, éstos se pueden clasificar según se señala Aguilar (2013)

Cuadro N°1

Nutrientes esenciales más su forma de absorción.

ELEMENTO	SÍMBOLO	FORMA DE ABSORCIÓN	ELEMENTO	SÍMBOLO	FORMA DE ABSORCIÓN
CARBONO	C	CO ₂	ZINC	Zn	Zn ²⁺ , Zn(OH) ₂
HIDRÓGENO	H	H ₂ O	MANGANESO	Mn	Mn ²⁺
OXÍGENO	O	H ₂ O, O ₂	COBRE	Cu	Cu ²⁺
NITRÓGENO	N	NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻	BORO	B	B(OH) ₃
FÓSFORO	P	H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻	MOLIBDENO	Mo	MoO ₄ ²⁺
POTASIO	K	K ⁺	CLORO	Cl	Cl ⁻
CALCIO	Ca	Ca ²⁺	SILICIO	Si	Si(OH) ₄
MAGNESIO	Mg	Mg ²⁺	SODIO	Na	Na ⁺
AZUFRE	S	SO ₄ ²⁻	COBALTO	Co	Co ²⁺
HIERRO	Fe	Fe ²⁺ , Fe ³⁺	VANADIO	V	V ⁺

Fuente: Bennett 1997. Citada por Aguilar (2013)

Cuando se prevé un plan de fertilización de cultivos, el mismo incluye dos etapas, el diagnóstico de las necesidades de fertilización (que nutrientes y cuanto aplicar) y el manejo de la fertilización (que fuentes utilizar, cuando y como aplicar). El

diagnóstico de la fertilización se basa en el conocimiento de la demanda nutricional del cultivo, que depende del rendimiento esperado y de la oferta nutricional del sistema evaluado a partir del análisis del suelo, las condiciones de suelo, clima y el manejo del suelo y del cultivo. Aguilar (2013)

2.17. Periodos de corte o cosecha

El proceso de corte en forma natural va a depender de la presencia de las lluvias. La humedad va a determinar la presencia de follaje en la planta. El corte de la hoja se deberá iniciar cuando la planta haya concluido la floración y la semilla esté madura, cuando la hoja ya alcanzó su estado de madurez y un tamaño importante. Conafor (2008)

2.18. Poda inicial

Para la zona norte de Baja California Sur, si el trasplante se realiza a inicios de enero, entonces para el mes de abril tendremos floración por lo que es necesario realizar una poda que consiste en la eliminación de los racimos y botones florales, favoreciendo el crecimiento de ramas laterales, teniendo la debida precaución de realizar aplicaciones de fungicidas y bactericidas para prevenir alguna enfermedad en los cortes realizados en la poda. Cuando no se realiza una poda inicial, la planta crece con sus tallos débiles y no hay formación de brotes (amacollamiento).

En la producción de orégano fresco y seco se requiere gran volumen de follaje para obtener un rendimiento favorable al momento de la cosecha, es por ello, que se requiere una poda inicial, de esta manera la planta amacollará para obtener abundante follaje. La herramienta utilizada para la poda debe ser desinfectada antes y después de realizar esta labor. Las plantas que son podadas en un inicio crecerán con abundante follaje y uniformidad. Aguilar (2013)

2.19. Deshierbes

El deshierbe de malezas es una labor cultural sumamente importante para evitar la competencia entre maleza y cultivo, de luz, agua, espacio y nutrientes que se encuentran en el suelo, asimismo, pueden hospedar ciertas plagas ocasionando la

disminución de la calidad del cultivo. Los deshierbes deben realizarse en cuanto la maleza comience a crecer. Aguilar (2013)

2.20. Aporque

El primer aporque se realiza después del trasplante cuando las plantas han alcanzado 15 – 20 cm, generalmente 45 días a 2 meses después de la plantación. Es una de las labores más importantes para favorecer la aireación del suelo, como también la incorporación de materia orgánica. (FDTA-Valles 2006)

Esta labor consiste en acumular tierra alrededor de la planta con la finalidad de protegerla y favorecer la multiplicación de ramas (macollamiento). (FDTA-Valles 2006)

FDTA-Valles 2006 recomienda realizar la incorporación de material orgánico al suelo al mismo tiempo que el aporque. Luego, se necesita aporcar mínimo después de cada cosecha con la incorporación de fertilizantes según el tipo de suelo. En caso de exceso de riego o compactación, se recomienda acciones de ventilación del suelo ya que el orégano sufre mucho de asfixia en casos de anegación.

2.21. Corte apical

Esta labor se realiza una vez que las plantas han alcanzado un 100% de prendimiento y una altura de 12 a 15 cm (30 a 45 días después de la plantación). (FDTA-Valles 2006)

Consiste en cortar la parte apical (2cm) sobre todo la parte de la inflorescencia, con la ayuda de tijeras de podar previa desinfección con alcohol, cloro u otro desinfectante. Luego de la plantación y dependiendo del material utilizado, es frecuente que la planta empiece a florecer. Esto puede ocasionar un retraso en el desarrollo del cultivo, es por eso que se recomienda despuntar o cortar las flores apenas se encuentran en el estado de botón. Despuntando también se favorecerá al macollamiento y la formación de tallos nuevos, incrementando el volumen de la planta en cada golpe. (FDTA-Valles 2006)

FDTA-Valles 2006 recomienda después del corte apical se debe aplicar una dilución de compost o caldo sulfo-cálcico y fertilizar con biol, urea o 16-46-0. En el primer caso, para prevenir la infección de hongos, y en el segundo, para acelerar el desarrollo de nuevas ramas.

El corte apical o poda se realiza cuando las plantas de orégano estén adaptadas después de 30 a 40 días después del trasplante, favoreciendo al amacollamiento y ramificaciones de la parte baja de la planta. Aguilar (2013)

2.22. Deshierbe

Si se quiere producir un orégano de buena calidad, es muy importante mantener la parcela libre de malezas.

Es importante sacar las malezas antes de su floración, evitando de esta manera la diseminación de semillas. Asimismo, se evitara la competencia por los nutrientes del suelo y la incidencia de plagas. El deshierbe debe ser más frecuente en temporada de lluvia y menor en temporada de sequía.

Se puede tener otro cultivo alrededor de la parcela de orégano, el cual será una barrera que evite la diseminación de las semillas de malezas y también el hospedaje de plagas. (FDTA-Valles 2006)

La FDTA-Valles 2006 identifica que los principales problemas que provocan las malezas son:

- Disminución del crecimiento de las plantas ya que compiten por agua, luz y nutrientes.
- En plantas jóvenes pueden reducir hasta el 75% del crecimiento
- Algunas malezas son hospederas de plagas.
- Dificulta las labores de manejo como el riego, fertilización y control fitosanitario.

Hay varias estrategias para el manejo de malezas. La elección de alguna de ellas o su combinación depende de las condiciones del cultivo, la cantidad y clase de maleza presente.

Control mecánico: Es la eliminación de hierbas con rastra, yunta, azadón o machete.

Control vegetal: Consiste en cubrir parte del suelo con material vegetal como aserrín, paja de avena o cebada, restos de cosecha, guano, etc. (FDTA-Valles 2006)

Control químico: Consiste en aplicar herbicidas específicos para el control de malezas de acuerdo al estado de desarrollo en que se encuentren. Se elige el herbicida de acuerdo a las principales especies y estado de desarrollo de las malezas a controlar. Los herbicidas deben ser registrados y permitidos y se deben utilizar equipo de seguridad para su aplicación.

Cultivos trampa y refugios: Se pueden utilizar en plantaciones como franjas o parches de cultivos alternos que sirvan ya sea de refugio a los enemigos naturales o cultivo trampa a las plagas de interés. (FDTA-Valles 2006)

2.23. Cortes o cosecha

La cosecha se inicia en la parte de la parcela que presenta mejores condiciones para su aprovechamiento, donde prevalezca la población vigorosa con abundante follaje y que no haya sido cosechada el año anterior. Los cortes se pueden hacer de diferentes formas, pero de tal manera que el aprovechamiento sea sustentable. Aguilar (2013)

Dependiendo del tamaño de la planta, se pueden realizar cortes del 50% de la planta y hasta el 80% del total de su altura. Los cortes deben hacerse en plantas sin hojas amarillas ni presencia de plagas o enfermedades. La cosecha puede ser manual o mecánica, pero debe evitarse hacerla a pleno sol, con rocío o en tiempo de lluvia, porque se podrían ocasionar pudriciones. Aguilar (2013)

2.23.1. Recomendaciones para la cosecha

- Lavar manos con hipoclorito al 2%.
- Lavar las herramientas en hipoclorito al 2%, manteniéndolas de 3 a 5 minutos sumergidas en esta solución.
- Utilizar cubre bocas.

- Utilizar cofias.
- No utilizar anillos, aretes, cadenas, pulseras, etc.
- No maquillarse, no uñas largas ni pintadas.
- No consumir alimentos mientras se empaca.
- Personas enfermas no deben realizar ninguna actividad (ni en la cosecha ni el empaque).

Sugerido por Aguilar (2013)

2.23.2. Desinfección de herramienta y manos

Antes de cualquier actividad dentro del invernadero de hierbas aromáticas, es recomendable lavar las herramientas con que se hará la cosecha, cada vez que se cambie de cultivo iniciar el procedimiento de desinfección.

Las herramientas de trabajo que se utilizan para el manejo de las plantas en vivero, como navajas, tijeras u otros utensilios, deberán desinfectarse con una solución de hipoclorito de sodio al 3% ó cloralex al 50%, antes de pasar de una planta a otra. Aguilar (2013)

La manera correcta de cosechar el orégano es tomando toda la planta para dejar descubierta la parte inicial y cortar a una altura de 8 cm aproximadamente.

Cuando se inicia la cosecha de cualquier hierba aromática, es importante que el corte sea de 8 a 10 cm de altura, esto es, para que la planta pueda recuperarse y reproducirse en dos o tres semanas. Las cajas de cosecha deben estar encima de jabas llamadas “burreras” para no estar en contacto con el suelo. Aguilar (2013)

Cuando se realiza la cosecha es importante tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

1. Hacer el corte dejando aproximadamente unos 8 cm de altura de la planta para que tenga un buen rebrote.
2. Que el corte sea uniforme, es decir, no dejar tallos sin cortar debido a que estos engrosaran y no serán de calidad para el siguiente corte.

3. Plantas enfermas no deben podarse con la herramienta que se utiliza para la cosecha.
4. Evitar cosechar plantas enfermas y mezclarlas con las plantas cosechadas sanas.
5. La herramienta utilizada en el corte no debe ser colocada en el suelo.

Aguilar (2013)

2.24. Manejo post cosecha

Al cosechar se debe dejar orear el material verde durante 12 o 48 horas en un lugar sombreado, evitando que los rayos de sol incidan directamente en las hojas y cualquier contacto con agua.

2.25. Obtención de la hoja

Con la finalidad de desprender la hoja de la rama, se golpea la rama con una vara a lo que se le denomina vareo, hasta desprender toda la hoja, y después de una limpieza se encostala para el traslado a los lugares de procesamiento o a centros de acopio. El empaque se debe realizar en costales limpios que no contengan impurezas o contaminantes.

La extracción por arrastre de vapor de agua es uno de los principales procesos utilizados para la extracción de aceites esenciales. Los aceites esenciales están constituidos químicamente por terpenoides y fenilpropanoides, compuestos que son volátiles y por lo tanto arrastrables por vapor de agua. CONAFOR (2008)

2.26. Trabajos en laboratorio

Para la realización de la presente tesis era necesaria el uso del laboratorio de biotecnología para las primeras fases de la misma, las cuales son: Propagación y formación de raíces.

2.26.1. Organización del laboratorio

Cuadro N° 2

Organización del laboratorio de Biotecnología.

Áreas de laboratorio	Equipos más recomendados	Materiales necesarios
Área de lavado y esterilización	<ul style="list-style-type: none"> • Destilador de agua con condensador de vidrio • Des ionizador de agua • Autoclave para la esterilización por vapor de sólidos y líquidos. • Estufa a calor seco para esterilización de cristalería, pinzas, escarapelos y otros 	<ul style="list-style-type: none"> • Detergentes • Esponjas de lavado • Colas de zorro de diferentes dimensiones • Recipientes e almacenamiento para agua destilado y/o des ionizada. • Recipientes para eliminación de residuos de laboratorio.
Área de preparación de medios	<ul style="list-style-type: none"> • Balanzas de 0,1gr y 0,1 mg de precisión. • Refrigerador y congelador. • Agitadores magnéticos • Estufa agitadora • Horno micro ondas • PH metro 	<ul style="list-style-type: none"> • Bandejas de plástico para transporte • Gradillas autoclavables para tubos de ensayo • Dosificador automático de medios de cultivo • Probetas de diferentes volúmenes • Pipetores y pisetas • Cuadernos de registro • Jeringas desechables.
Área de siembra	<ul style="list-style-type: none"> • Cámara de flujo laminar • Microscopio • Estereoscopio • Cronómetros • Contador de células 	<ul style="list-style-type: none"> • Estuche de disección • Bisturís • Navaja. • Tijeras. • Pinzas. • Lámpara de alcohol.
Área de crecimiento	<ul style="list-style-type: none"> • Agitadores de medios de cultivo en suspensión • Estanterías para incubación • Sistemas de programación horaria • Acondicionador de aire 	<ul style="list-style-type: none"> • Frascos de diferentes dimensiones para cultivo de explantes. • Tubos de neón y reactancias.
Área de aclimatación	<ul style="list-style-type: none"> • Caldero a vapor • Sistema de riego por nebulización • Bomba de agua 	<ul style="list-style-type: none"> • Mallas semisombras. • Cajas de cultivo. • Maceteros. • Mesones. • Cámaras de aclimatación.

		<ul style="list-style-type: none"> • Detergentes. • Mangueras de riego. • Sustratos.
--	--	---

(Aguirre G. y Calle M. 2010)

2.26.2. Aclimatación de las plantas regeneradas in vitro

Durante el período de incubación, los cultivos son expuestos a condiciones ambientales disímiles al ambiente externo. La atmósfera interna se caracteriza por presentar una considerable variación diurna en la concentración de CO₂, humedad relativa elevada, temperatura constante e intensidad lumínica baja. A su vez, el medio de cultivo compuesto por concentraciones elevadas de azúcares (en aquellos sistemas heterótrofos y semiautótrofos de micropropagación), sales y reguladores del crecimiento, sumado a la ausencia de microorganismos, generan anormalidades morfológicas, anatómicas y fisiológicas que las plantas deberán corregir cuando son transferidas al ambiente externo. Este período de adaptación al nuevo hábitat es llamado fase o etapa de aclimatación. La estrategia a implementarse durante el mencionado ciclo deberá contemplar el control minucioso de los parámetros ambientales (humedad, temperatura y luz) de tal manera que permita disminuir la deshidratación y, al mismo tiempo, estimular la fotosíntesis con el objeto de generar un rápido crecimiento de los plantones. (Valenzano, Bari, Italy 1996)

2.26.3. Métodos de propagación

2.26.3.1. Micropropagación

La micropropagación se considera como un procedimiento aséptico que comprende la manipulación, en las plantas, de órganos, tejidos o células que produzcan poblaciones de plántulas y que permitan el desvío, tanto del proceso sexual normal como de la propagación vegetativa, no aséptica que se practica convencionalmente

El uso de plantas propagadas in vitro (conocido popularmente como meristemas) mediante la técnica de cultivo de tejidos, ha tenido gran desarrollo en los últimos 10 años en las exportaciones bananeras alrededor del mundo. Por ser plantas sanas, el sistema radicular es también sano y se da una buena nutrición de las

plantas. La cantidad de las raíces totales de plantas generadas in vitro es mayor en peso, así como las raíces funcionales tiene un 93 % en función del peso total, mientras que las plantas generadas a partir de cormos o el método convencional solo tienen el 46% de su peso total de raíces funcionales (Carrillo 2004).

El cultivo de tejidos ha revolucionado el cultivo y ha sustituido a los vástagos vegetativos convencionales utilizados en muchas de las regiones productoras. Se calcula que anualmente se producen hasta cincuenta millones de plantas procedentes de este tipo de cultivos. La técnica permite producir clones en serie bastante más deprisa que recogiendo vástagos de las plantas en crecimiento. Las plántulas recién arrancadas son tiernas, y exigen un buen tratamiento en las semanas siguientes a su extirpación del medio en el que crecen, pero una vez plantadas en el campo y arraigadas, su crecimiento y rendimiento definitivo son superiores al de las plantas cultivadas por los medios tradicionales. Se estima que el vigor y el rendimiento potencial se deben a la naturaleza joven del material y a la mayor eficiencia fotosintética, al aumento de la superficie funcional de las hojas, al mayor vigor de las raíces y a la acumulación total de la masa seca en comparación con las plantas obtenidas mediante la producción convencional. El aumento del rendimiento en cuanto a los frutos de las plantas procedentes de cultivos de tejidos puede durar tres cosechas (FAO, CR. 2001).

- Procedimiento para obtener plantas de cultivo in vitro

Los meristemos se obtienen de hijos de espadas de madres seleccionadas; las puntas de los cormos se cortan en cubos de 5 mm de lado y se ponen en medios de cultivo. En dicho medio, se mantienen a 28 °C, a 70% de humedad relativa y en ciclos de 16 horas de luz (Ortiz,).

De 4 a 6 semanas después, los talluelos verdes se ponen en medios ricos en citoquininas (reguladores de crecimiento vegetal) para su crecimiento y la formación de múltiples talluelos. La multiplicación se hace cortando los diferentes talluelos que se van transfiriendo a nuevos medios de cultivo. Cada 4 a 5 días se vuelven a cortar hasta unas 3 ó 5 veces.

A las 6 u 8 semanas, los explantes se ponen a enraizar en un medio rico en auxinas (otro regulador de crecimiento vegetal) pero bajo en citoquininas.

Se esperan otras 6 a 8 semanas para el enraizamiento y las plántulas de 50 mm de alto con 4 ó 5 hojuelas se deben aclimatar a condiciones ex vitro. La aclimatación se hace entre 25 y 32 °C, con buena iluminación y alta humedad relativa, en bandejas plásticas.

A los 7 o 10 días tiene nuevas hojas y raíces, y puede comenzarse con la fertilización foliar. Las plantas se transfieren a bolsas pequeñas para que terminen de crecer en un vivero con 50% de sombra.

En un periodo de 6 a 8 semanas, las plantas están listas para salir al campo. En general se necesitan de 50 días desde el comienzo hasta la etapa de aclimatación y otros 68 días entre el comienzo de la etapa de aclimatación y el vivero (Ortiz).

Ramírez (1996), describe de una manera más detallada la fase de trasplante y aclimatación en la micropropagación, usando otros métodos y materiales; se deben trasplantar cuando tengan de 5 a 8 cm, con tres a cuatro hojas y un buen sistema radicular. Se sacan las plantas de los frascos, se les eliminan residuos de agar para evitar problemas de pudrición de raíces, posteriormente se siembran en una caja de plástico que contiene suelo + pomas en una relación 1:1, se cubre con plástico para evitar la desecación de las plantitas, se retira gradualmente a los ocho días del trasplante. A los 30 días son transferidas a bolsas individuales de polietileno con una mezcla de suelo.

Deben permanecer otros 30 días bajo condiciones de invernadero. Cuando han alcanzado una altura de más 30 cm, pueden ser llevadas al campo definitivo (Ramírez, AE. 1996).

13 Según Nava (1998), una vez cumplido el proceso de laboratorio con las plántulas enraizadas por 2 a 3 semanas o 5 a 8 cm de altura son pasadas al vivero, donde se cumplen 2 fases (Nava, C; Villareal, E; Villalobos, R. 1998):

Condición de invernadero

- Aclimatación, bajo sombra con cierta humedad.

La mayoría de las plantas en la aclimatación, muestran un crecimiento óptimo a temperaturas de 21° y 27 °C.

Temperaturas extremas o fluctuaciones drásticas de la misma, producen un crecimiento irregular. Es necesario proporcionar sombra extra, para evitar problemas subsiguientes por alta intensidad lumínica y alta temperatura ambiental (Guzmán N, N; Berthouly, M. 1987).

Rouweler (1990), menciona la importancia de la fase de aclimatación de las plantas en vivero, luego de salir de invernadero; una vez que las plántulas son entregadas al cultivador, es imprescindible el buen cuidado que se les dé.

Las plantas pequeñas son extremadamente vulnerables - o puede incluso morir - cuando están expuestas a la alta insolación. Por tal motivo es indispensable el uso de sombra leve para protegerlas, es necesario el suficiente abastecimiento de agua, los sustratos deben ser bien drenados y fértiles (el pH 6) y estas instalaciones recompensarán al cultivador con el desarrollo acertado de las plantas. Dependiendo del desarrollo y de la ramificación del sistema radicular, el tiempo en vivero tomara entre 1-2 meses para que las plantas puedan ser transferidas al campo. El sistema radicular es de importancia vital para un crecimiento continuo y enérgico de la planta pues las raíces son responsables del absorber del agua y los nutrimentos (Rouweler, H. 1990.).

Ventajas de las plantas producidas in vitro en comparación con las plantas convencionales

- Se puede producir un gran número de plantas, en forma higiénica y segura, para poder transportarse a cualquier parte del mundo sin problemas fitosanitarios.

- Las plantas producidas in vitro son relativamente fáciles de establecer en el campo, ya que tiene un sistema radicular formado dentro de la bolsa. Las únicas plantas que deben remplazarse son los mutantes somaclonales que se identifican en el campo; sin embargo, el número de plantas por remplazar es bajo sin la selección previa en el vivero fue buena.

- Se obtiene uniformidad de crecimiento y de la cosecha; así como la posibilidad de programar la cosecha. Las plántulas en bolsas se seleccionan por tamaño y número de hojas, de forma que su crecimiento en el campo es homogéneo y se pudiera cosechar durante un período relativamente corto. Los meristemas son más precoces y tiene una mayor productividad que el plantío (primera generación) de semillas convencionales. Estas ventajas se mantienen durante el segundo ciclo de producción, las plantas de meristemas tienen mayor vigor, tiene pseudotallos más gruesos y de mayor altura, mayor área foliar, más macollos por planta y menos tiempo para producir cosecha.

- El rizoma de una planta in vitro tiene 77% mayor cantidad de materia seca que el de un cormo convencional cinco meses después de la siembra. También, las hojas nuevas producidas por plantas in vitro, tiene una tasa fotosintética 18% mayor que las hojas de plantas convencionales, por lo que se duplica el área foliar funcional y el 14 total de la materia seca cinco meses después de la siembra. Se ha calculado hasta un 20% de aumento en la productividad por año con plantas de meristemas, en comparación con plantas propagadas convencionalmente.

- Las plantas producidas in vitro son plantas libres de plagas y enfermedades, semillas de malezas, etcétera, por provenir del laboratorio; presentan una rápida multiplicación, lo que sería conveniente de modo especial, si se encontrara o produjera una mejor variedad. Como se dijo anteriormente se pueden producir 2000 plantas por cultivo de tejidos de un solo meristemo. Con el sistema convencional, apenas 10 plantas pueden producirse en un año de una sola planta.

- Las plantaciones de alta densidad en hileras podrían ser sujetas a mayor mecanización y a un aumento en el ahorro en mano de obra en comparación con las plantaciones convencionales (Ortiz).

- Algunas desventajas del cultivo in vitro en comparación con los sistemas convencionales

- Mayor costo. Su costo es generalmente cinco veces mayor que el de un rebrote en bolsa listo para sembrar.

- Requerimiento de un manejo cuidadoso al establecerlas en el campo. Como tiene un bajo contenido de nutrientes y carbohidratos, cualquier tipo de estrés puede afectarlas fuertemente; esto conlleva costos adicionales.

- Variación somaclonal. Como se dijo anteriormente, las plantas de cultivo de tejidos pueden presentar mutantes desde un 2% hasta un 50%. Para evitar esto, el laboratorio debe usar genotipos estables y no producir más de 1000 plantas del mismo meristemo; posteriormente, la selección en el vivero debe ser muy cuidadosa para evitar que dichas plantas lleguen al campo.

- Propagación de virus que no son eliminados durante el proceso in vitro. Sin embargo, la indexación permite saber cuáles plantas tiene virus.

- Pérdida de la estabilidad. Por el vigor de la planta in vitro, la cepa tiene a subir a la superficie del suelo y pierde su estabilidad, por lo que un viento puede volcarla fácilmente (Ortiz Vega, RA. *et al.* 1999).

- Algunas restricciones que hay que tener presentes a medida que se avanza en el mejoramiento de técnica de multiplicación de plantas in vitro

- Evitar desviaciones genéticas mediante controles regulares;

- Haber estudiado los problemas de fisiología y nutrición que plantea la producción en masa;

- Estudiar con cuidado las fechas de suministro de plántulas, las condiciones de vivero, los ciclos de producción, de uno a dos años y haber dominado la fase de aclimatación (Vidalie, H. 1986. Citada por Carrillo 2004).

- Características de las plantas al momento de salir del vivero (diámetros, alturas, raíz, pigmentación)

Las plantas producidas in vitro requieren un período de aclimatación que les permita crecer y adquirir los caracteres morfológicos y fisiológicos necesarios para sobrevivir en el campo. Estas plantas cultivadas bajo condiciones de asepsia han permanecido en un ambiente controlado, y necesitan fuentes de carbono exógeno para su crecimiento, debido a que su aparato fotosintético es pobremente

desarrollado. Además, se ha desarrollado en presencia de una humedad relativa cercana al 100%; esta condición favorece el desarrollo de un sistema foliar sensible a la deshidratación (mesófilo de empalizada con grandes espacios intercelulares, pocas estomas y una cutícula delgada desprovista de ceras). El éxito de la micropropagación in vitro depende en gran parte, de la capacidad para manejar las plantas a gran escala durante el periodo de aclimatación, con un alto grado de supervivencia y a bajo costo (Alves E, JA. 1999).

Según Ballester (1992), la planta estará lista para salir del vivero después que lleguen a 15 cm de acuerdo a la intensidad de luz en el vivero y la densidad de plantas por metro cuadrado. Si la densidad es muy alta la plántula puede estiolarse y se queda muy débil al momento de sacársele al campo

Reyes (2003) afirma que, las plantas duran dentro del vivero un total de 6 semanas, tiempo en el cual alcanzan un tamaño de 25 cm de altura y pueden ser trasplantadas al campo definitivo; la plantilla debe tener un mínimo de 17 hojas funcionales y una buena pigmentación.

Ramírez especifica que luego que las plantas alcanzan en bolsas de polietileno con una mezcla de suelo, una altura de más 30 cm, pueden ser llevadas al campo definitivo

2.26.3.2. Cultivo de órganos.

La organogénesis es un evento morfogénico que se caracteriza por el desarrollo en la formación de un primordio unipolar a partir de una yema con el subsiguiente desarrollo de este en un brote vegetativo, existiendo siempre una conexión entre los nuevos brotes y el tejido paterno. Estos brotes vegetativos son posteriormente enraizados. Los brotes pueden formarse a partir del explante o callo (Perez Jimenez y Agramonte, 1998)

2.26.3.3. Regeneración in vitro

En la fase de aclimatación se pretende que las plantas que han crecido in vitro y por lo tanto sólo han estado expuestas a un microambiente escogido por ofrecer unas condiciones mínimas de estrés y cuasi óptimas condiciones para la

multiplicación de las plantas, se adapten a condiciones ex vitro donde las condiciones no son asépticas, ni la luz, temperatura y humedad están controladas, y donde el crecimiento a ser autotrófico y no heterotrófico como in vitro. Es pues necesario reconstruir y desarrollar los sistemas que por adaptación a la condiciones in vitro, es el caso de la lignificación, cubiertas cuticulares, estomas y estructuras fotosintéticas. Todas estas deficiencias o disfunciones provocadas por o durante la incubación in vitro es necesario corregirlas de forma gradual, e incluso como ya hemos citados comenzar la adaptación en condiciones in vitro, incluso induciendo fotoautotrofia in vitro mediante incrementos de la tasa de CO₂ y de irradiancia en los contenedores de cultivo, al objeto de mejorar la calidad de la planta, los niveles de producción y los costes del proceso de micropropagación.

2.27. Ventajas del cultivo in vitro

Según (Aguirre G.; Calle M. y Pierre J. 2010) En comparación con los sistemas convencionales, la mayoría de los autores coinciden en que el cultivo in vitro presenta las siguientes ventajas:

- Posibilidad de producción masiva de plantas homogéneas en una superficie reducida a bajos costos y tiempos reducidos
- Ahorro de espacio con respecto a los sistemas tradicionales
- Mejor control sobre la sanidad del material vegetal que propaga.
- Facilidad para transportar el material in vitro de un país a otro.
- Posibilidad de multiplicar rápidamente una variedad de la cual solo existen pocos individuos
- Propagación de plantas recalcitrantes a las técnicas convencionales.
- Posibilidad de conservar germoplasma a mediano y largo plazo.

Es una práctica corriente realizar in vitro el enraizamiento de la microestaquillas, pero esto produce problemas en muchas ocasiones.

2.28. Aclimatación

2.28.1. Influencia de la luz y temperatura sobre las plantas

2.28.1.1. Balance fotosíntesis-respiración

Las plantas sintetizan materias orgánicas utilizando la energía de la luz y el carbono del ácido carbónico. Pero al mismo tiempo las plantas respiran, queman carbono para cumplir sus funciones vitales.

La diferencia fotosíntesis-respiración es en general positiva en las plantas y se llama fotosíntesis neta; pero durante cortos periodos, por ejemplo la noche, la fotosíntesis neta es negativa. (Papadakis, 1980)

Para la fotosíntesis las plantas necesitan poca luz. La luz natural de día es casi siempre suficiente para la fotosíntesis máxima, que las otras condiciones (contenido en ácido carbónico de la atmósfera, agua, toxinas de pickering, etc.) permiten. Momentáneamente un aumento de la intensidad luminosa puede aumentar la fotosíntesis pero el aumento raramente persiste cuando el experimento dura varias semanas.

La temperatura afecta tanto la fotosíntesis, como la respiración. Por consiguiente se debe considerar la influencia sobre la fotosíntesis neta. En la noche no hay fotosíntesis, pero sí respiración. Por lo tanto la fotosíntesis neta es negativa la noche y las noches cálidas son agobiantes; sin embargo este efecto no es tan grande como se pensó. (Papadakis, 1980)

2.28.2. Influencia de las condiciones hídricas sobre las plantas

2.28.3. Transpiración. Evapotranspiración potencial

Para que haya fotosíntesis, el ácido carbónico debe entrar dentro de la hoja. Por lo tanto las hojas tienen estomas (aberturas) por las cuales entra el ácido carbónico. Pero mientras que entra ácido carbónico, sale vapor de agua. En el interior de la hoja el aire está saturado de humedad, mientras que el aire exterior casi nunca está saturado; por consiguiente hay más moléculas de agua por unidad de volumen interior de la hoja, y el número de moléculas que salen es superior a las que entran. (Papadakis, 1980)

2.29. Sustratos y fertilización

Siendo el orégano una planta silvestre en proceso de domesticación, habría que realizar varios trabajos sobre el uso y requerimientos de nutrientes por la planta ya que, como es sabido, su valor comercial está en las hojas, por lo que tendrá más demanda de nitrógeno; pero como también tiene otros usos además del alimenticio, habría que evaluar sus requerimientos nutricionales como cualquier otro cultivo.

En Delicias, Chihuahua, experimentos que se realizaron con *Lippia berlandieri* encontraron muy buena respuesta con 92 kilogramos por hectárea de nitrógeno (Valdéz y Meléndez, 1991).

En el caso de *Origanum vulgare*, conocido como orégano europeo, en las regiones de Chile se aplican de 120 a 150 kilogramos de nitrógeno por hectárea, de 80 a 100 kilogramos de fósforo por hectárea y de 100 a 120 kilogramos de potasio.

El caso más reciente que se ha experimentado en la producción de planta de orégano es corteza de pino en 70%, 20 % de excretas de res y 10 % de tierra común.

Es importante utilizar sustratos locales con características similares para reducir costos de producción de la planta. (Villavicencio G. Contreras de la R. y Cano P. 2009.)

2.29.1. Sustratos

El uso de sustrato en la fase de vivero tiene gran importancia en el desarrollo inicial del cultivo ya que el sistema radicular se desarrolla en esta fase. Como la planta proviene de cultivo in vitro tiene una gran exigencia nutricional que no será suplida por el sustrato, pero este debe presentar características estructurales y químicas que facilite el desarrollo de la plántula. Si se tiene un buen sustrato la planta tendrá un buen desarrollo radical y aproximadamente 6 semanas después de entrar en el vivero estarán listas para la siembra (Ballesteros, MS. 1992)

El suelo que se utilice como sustrato, debe estar preferiblemente esterilizado o proveniente de lugares libres de plantas de la Familia del orégano para evitar problemas de plagas, y además debe permitir un buen drenaje y óptimo desarrollo radicular. Con frecuencia se preparan mezclas (1:1:1) de suelo, arena y fibra vegetal (Ballesteros, MS. 1992)

En la caracterización de los sustratos se suelen distinguir tres tipos de propiedades: físicas, químicas y biológicas; del conocimiento de estas propiedades dependerá el manejo adecuado de fertilización y del riego y por lo tanto, el éxito del cultivo (Bures, S. 1997).

El sustrato es considerado como un sistema de matriz sólida o porosa, que puede generar una combinación de poros distinta. La estructura física de un sustrato está formada básicamente por un esqueleto sólido que conforma un 16% espacio de poros, que pueden estar llenos de agua o de aire, y que corresponden a espacios situados entre las partículas de sustratos o dentro de las mismas partículas.

El esqueleto sólido y el espacio poroso de los sustratos dependen de la naturaleza del material y del tipo de empaquetamiento. El esqueleto sólido depende del tipo de material y de su distribución granulométrica (tamaño de partícula) y del grado, mezclado e isotropía (igualdad de las propiedades físicas en todas las direcciones) del empaquetamiento o configuración espacial. Un mismo material tendrá distintas propiedades en función de la granulometría y del estado de empaquetamiento de la partícula.

Las características del material que pueden conferir propiedades específicas a un sustrato son: composición, masa, densidad, comprensibilidad, rugosidad, estructura interna, forma, características superficiales, isotropía y tamaño. La combinación de la estructura generada por las partículas en el espacio y las características del material (naturaleza, composición elemental y estructura interna) determinarán las propiedades físicas y químicas de un sustrato (Bures, S. 1997):

a) La estructura interna de las partículas del material determina la porosidad interna y la densidad real, mientras que la granulometría y el tipo de empaquetamiento determinan la distribución del tamaño de poros interparticulares. La densidad aparente es función de la distribución espacial y de la estructura interna del material. La porosidad es la suma de los poros internos y externos, de ella dependen las propiedades hídricas del sustrato, como la retención de humedad y la permeabilidad.

b) La composición elemental y el modo de estar los elementos fijados a la matriz de una material determinan el contenido de nutrientes y el contenido de elementos fitotóxicos, como los materiales pesados, y las actividades de intercambio de iones; también el pH, la capacidad de tampón y el contenido de sales del sustrato se derivan de la actividad química del material. (Bures, S. 1997)

Tradicionalmente se han clasificado los sustratos en orgánicos e inorgánicos. La materia orgánica fresca es susceptible de descomposición dando como productos finales los ácidos húmicos y fúlvicos. También la materia orgánica confiere una serie de propiedades a los sustratos, como son la actividad enzimática, actividad reguladora del crecimiento y actividad supresora frente a patógenos.

Características de las partículas que constituyen los sustratos Los sustratos están constituidos por partículas de características diversas que forman empaquetamiento al azar. Los sustratos tienen mayor porosidad que un suelo natural, puesto que la mayoría de los materiales que se utilizan tiene poros dentro de sus partículas, además de los poros intraparticulares. Los poros de los sustratos tienen un porcentaje más elevado de poros de mayor tamaño. (Carrillo 2004)

La mayoría de los materiales que constituyen los sustratos son dinámicos en cuanto a su composición química.

Las condiciones de uso de los sustratos, que implican una elevada humedad, favorecen reacciones químicas que pueden afectar a su comportamiento físico, como los proceso de descomposición de la materia orgánica, solubilización o 17% agregación de las partículas. La presencia de partículas de carácter coloidal afecta

las propiedades hídricas, independientemente de otros parámetros como la forma o tamaño de la partícula.

La composición de los sustratos puede hacer variar sus propiedades cuando se realizan mezclas o se pretenden comparar materiales distintos (Bures, S. 1997).

2.29.2. Características físicas

Las propiedades físicas de un sustrato pueden considerarse constantes en cuanto al tiempo, debido que resulta muy difícil prever las reacciones que puedan dar lugar a inestabilidad de los materiales.

- Formas de las partículas

Los sustratos suelen clasificarse desde el punto de vista de sus partículas integrantes en granulares y fibrosos.

Los granulares tiene estructuras sueltas formada por partículas quasi-esféricas (arena o materiales inorgánicos). La mayoría de materiales orgánicos de origen vegetal son fibrosos, es decir, que sus partículas forman fibras más o menos alargada (Bures, S. 1997).

2.29.2.1. Granulometría

La distribución del tamaño de las partículas que componen un material se expresa mediante la granulometría, que puede caracterizarse fácilmente mediante tamizado. El tamaño de las partículas define a su vez el tamaño de los poros situados entre ellas. Normalmente la granulometría se determina por tamizado de muestras secas al aire o a la estufa, utilizando una batería de tamices de tamaño de mayas distintos ordenados sucesivamente por tamaño de mallas, recogiendo las fracciones que quedan en cada tamiz y determinando generalmente su peso. La frecuencia, amplitud de vibración y el tiempo de tamizado influyen en el porcentaje de material que pasa a través de los tamices.

La granulometría, o tamaño de las partículas de los sustratos, muchas veces puede caracterizarse como índice único de su estructura (Bures, S. 1997).

2.29.2.2. Porosidad y densidad aparente

La porosidad es la cuantificación del espacio ocupado por poros en un sustrato, y también se denomina espacio de poros, espacio poroso o espacio vacío. Normalmente se expresa como porcentaje respecto a volumen aparente del sustrato. El volumen aparente es el volumen que ocupa un sustrato incluyendo la materia sólida y los poros internos o externos, tanto los abiertos como los cerrados. La densidad aparente (DA) es la relación entre la masa o peso de las partículas y el volumen aparente que ocupan.

Los sustratos por lo general tiene dos tipos de porosidad: interna y externa. La primera es la que se genera por el propio empaquetamiento de las partículas y depende del modo de empaquetamiento, tamaño del recipiente que lo contiene, forma, tamaño y naturaleza de la partícula. La porosidad interna depende de la naturaleza de las partículas, estado e interconexión de los poros. La porosidad interna puede estar abierta o cerrada. Los poros abiertos son los que tienen conexión con el sistema de poros externos y también se les denomina poros percolantes, los poros cerrados son los que no tienen conexión con el sistema de poros externo y se le denomina no percolantes. La porosidad efectiva es la percolante, que es la que contribuye con la retención y movimiento de agua en el sustrato.

La porosidad disminuye cuando aumenta la densidad aparente de un material dado. Al comprimirse una muestra de sustrato, se observa un aumento de la densidad aparente y una disminución de la porosidad (Bures, S. 1997).

2.29.3. Características químicas

La reactividad de un sustrato se plasma en un intercambio de materia entre el material sólido que forma el sustrato y la solución del mismo. La reactividad química de los sustratos es el conjunto de reacciones químicas que tiene lugar por la interacción del agua con el material (reactividad química principalmente por disolución e hidrólisis), por interacción de cargas electrostáticas en la superficie del material que dan lugar al intercambio de iones entre la fase sólida y la fase

líquida (reacciones de origen físico-químico) y por la biodegradación de la materia orgánica (reacciones de tipo bioquímico). Estos tres tipos de reactividad constituyen los parámetros químicos fundamentales en la caracterización de sustratos y permiten definir dos tipos extremos de sustratos desde el punto de vista químico (Bures, S. 1997):

- a) Sustratos químicamente inertes, son aquellos que no se descomponen químicamente o bioquímicamente, no liberan elementos solubles de forma notable ni tienen capacidad de adsorber elementos añadidos a la solución del sustrato. En los sustratos inertes no existe transferencia de materia entre el material sólido y la solución.
- b) Sustratos activos químicamente o no inertes, reaccionan liberando elementos debido a la degradación, disolución y reacción de los compuestos que forman el material sólido del sustrato o bien absorbiendo elementos en su superficie que pueden intercambiar con los elementos disueltos en la fase líquida.

Algunas determinaciones químicas que se utilizan generalmente para la caracterización de sustratos son:

2.29.3.1. Reacción del sustrato

La reacción del sustrato es la expresión del valor en el que su pH está dentro de esta escala. Algunos materiales se hidrolizan reaccionando con el agua de modo que los iones no combinados contribuyen a acidificar o alcalinizar la solución del sustrato. El valor de pH varía en función de la dilución, por lo que cuando se comparen pH deben estar realizados con las mismas proporciones de sustrato: agua. Una disolución se denominara ácida si la concentración de iones H^+ excede a la de OH^- y básica en el caso contrario; la disolución será neutra cuando la concentración de H^+ y de OH^- sea igual (Bures, S. 1997).

2.29.3.2. Conductividad eléctrica

La fase líquida del sustrato consiste en una solución acuosa de diversas sales de composición y concentración no homogénea. La composición de la solución del

sustrato depende del material que forma al mismo y su concentración depende del contenido de humedad y de cómo se llena el espacio poroso, aumentando la concentración a medida que disminuye el contenido de humedad del sustrato.

La conductividad eléctrica es el valor recíproco de la resistencia eléctrica, que es la resistencia de una columna de líquido de sección 1 cm² y longitud 1 cm. Se expresa en dS/m o mmho/cm y expresa de una manera aproximada la concentración de sales ionizadas en la solución del sustrato. La concentración total de sales afecta al potencial osmótico que está relacionado con la concentración iónica en la fase líquida. El potencial osmótico está también relacionado con la conductividad eléctrica (Bures, S. 1997).

2.29.3.3. Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

Es la capacidad de un sustrato de adsorber e intercambiar iones. Se expresa generalmente en mili equivalente por 100 gr de sustrato o, mejor, por litro de sustrato. La CIC es la suma de todos los cationes intercambiables o complejos de cambio. Los cationes divalentes generalmente están adsorbidos con más fuerza que los monovalentes y se intercambian con más dificultad, excepto el H⁺.

La capacidad de intercambio catiónico depende del pH. Los materiales muy ácidos, o que tienen el complejo de cambio saturado de H⁺, liberan iones H⁺ que se intercambian con los iones de la solución. Se puede saturar el complejo de cambio de un sustrato con iones determinados mediante su titulación, los cuales pueden mantenerse mediante aportes continuos de una misma solución y actúan como tamponadores de esta solución después del tiempo.

En los sustratos con CIC elevada, conviene cargar el complejo de cambio con cationes en equilibrio compatible con la solución nutritiva (Bures, S. 1997).

2.29.3.4. Elementos nutritivos

En algunas ocasiones los materiales usados como sustratos pueden aportar directamente nutrientes, esta disponibilidad de nutrientes depende no solo de la concentración de la solución del sustrato sino también de la capacidad de tampón

del sustrato, que es la capacidad del sustrato para mantener la concentración de nutrientes.

En el sustrato, los nutrientes pueden transportarse por dos mecanismos distintos: por flujo de masas o por difusión. El flujo de masas es el movimiento de convección de la solución del sustrato y en este caso, la tasa de movimiento de agua influye en la nutrición de la planta. La difusión tiene lugar por gradientes de concentración, moviéndose los nutrientes hacia aquellos puntos donde la concentración es menor, por ejemplo la superficie de las raíces. En los sustratos el fenómeno de la difusión es más importante que el de convección (Bures, S. 1997).

2.29.3.5. Relación C/N

Es un parámetro de carácter químico, que indica el estado de descomposición de la materia orgánica. La relación C/N se ha utilizado ampliamente como indicador del origen, del grado de madurez y de la estabilidad de la materia orgánica, puesto que su valor depende del material y decrece a medida que fermenta la materia orgánica. En general varía entre 5 y 30 para un material compostado y un valor inferior a 20 se suele tomar como indicador de madurez y estabilidad. La relación C/N por sí sola no puede considerarse fiable para indicar la madurez de un compost. Existen algunas variantes a este índice que se consideran más fiables, como la determinación de la relación C/N-orgánico o la capacidad de intercambio catiónico (Bures, S. 1997).

2.30. Materiales utilizados como sustratos

2.30.1. Suelo

La tierra, o suelo natural, se puede clasificar de distintos modos (en función de su formación, composición mineralógica, etc.). Sin embargo, la clasificación textural es quizá la más utilizada a nivel agronómico, puesto que es indicativa de las propiedades físicas y de intercambio iónico del suelo. La tierra fina, es decir, la fracción de partículas de tamaño inferior a 2 mm, puede separarse en tres tipos de materiales siguiendo una escala logarítmica de la distribución de tamaños de partículas o granulometría. Estos tres materiales son las arcillas (0,002 mm), los

limos (0,002 – 0,02 mm) y las arenas (fina, de 0,02 a 0,2 mm y gruesa, de 0,2 a 2 mm).

La proporción de arcilla, limo y arena define la clase textural de suelo (arenoso, franco, arcillo-arenoso, etc.).

Mientras que en edafología el estudio de la textura no debe desligarse del estudio de la estructura del suelo, definiendo conjuntamente las propiedades físicas del mismo, en su uso en el ámbito de los sustratos, la textura es muy importante, puesto que las tierras utilizadas carecen de estructura, que se deshace en el proceso de extracción y mezcla.

Es importante también conocer el tipo de arcillas, puesto que según su composición mineralógica pueden tener propiedades físicas y químicas distintas. Las arcillas tienen una superficie específica muy elevada, por ser el volumen de las partículas muy pequeño en relación con el limo o la arena.

Las tierras tienen propiedades físicas muy distintas en función de su textura y del grado de empaquetamiento de las partículas. Estas características definen el tamaño de los poros, y por lo tanto la retención de agua de los suelos, que en materiales arcillosos y limosos tiene lugar a tensiones muy elevadas ya que a los poros son muy pequeños.

La porosidad de la tierra es baja, inferior al 60% en volumen, puesto que no existen poros internos, aunque en suelos naturales la porosidad puede aumentar hasta tomar valores similares a la de los sustratos por formarse agregados que actúan como partículas independientes con poros externos mayores y poros interiores a los agregados de tamaño reducido (la formación artificial de agregados, por ejemplo, mediante la adición de polímeros absorbentes, se utiliza para mejorar la capacidad de retención de agua y la aireación de los suelos). (Bures, S. 1997).

En general, los suelos de textura fina no son adecuados como sustratos pues su potencial de entrada de aire es superior a la altura de los contenedores que se utilizan para el cultivo y su permeabilidad es baja. Actualmente, sin embargo, se

está empezando (o volviendo a empezar, puesto que el uso de tierra en mezclas de sustratos es muy antiguo) a utilizar arcilla mezclada con otros materiales tradicionales en la preparación de sustratos, como la turba. No se conoce bien el papel de la arcilla en los sustratos pero se sabe que aumenta el agua difícilmente disponible por tener poros de pequeño tamaño. Esto hace pensar que la adición de arcilla puede tener un efecto beneficioso en el trasplante, en cuanto a que mejora la continuidad hidráulica entre el sustrato contenido en el cepellón o que da soporte a las raíces, y el suelo circundante de la zona en que se trasplanta. (Bures, S. 1997).

La densidad de la tierra es elevada, del orden de 1200 –1500 kg de materia seca por m³, lo que debe tenerse en cuenta si el peso del contenedor con la planta es limitante.

El suelo natural tiene una fertilidad inicial, poder amortiguador físico y químico, y capacidad de intercambio catiónico elevada, que depende de la textura, así, un suelo franco puede tener entre 80 y 150 meq/l de capacidad de intercambio catiónico, mientras que un suelo arcilloso puede tener entre 200 y 450 meq/l (Bures, S. 1997).

2.31. Producción de orégano en Bolivia

Según datos de la Fundación Valles En al 1ra Cumbre Nacional de Productores de Orégano Tomina, 2010 se tiene por resultados:

La producción actual de orégano es de 630 toneladas comercializadas, el 95% de esta es para la exportación y un 5% como producto para mercado interno. Las ventas ascienden a 1.5 millones de dólares, se establecieron 120 hectáreas teniendo 1494 familias beneficiarias con 95% de adopción de tecnologías y un 45% de incremento de ingresos en 14 municipios involucrados con 10 proyectos.

CAPÍTULO III

2. Materiales y métodos

2.1.Localización

La primer fase del presente trabajo de investigación se desarrolló en el departamento de Tarija, Provincia Cercado, en las instalaciones del laboratorio de Fitopatología y Cultivo In Vitro de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales de la Universidad Autónoma “Juan Misael Saracho”, Campus Universitario, Zona El Tejar, ubicado geográficamente entre los paralelos 21° y 15` de latitud sur y el meridiano 64° 21` de longitud Oeste, a una altitud de 1850 m.s.n.m.

La segunda fase de aclimatación se llevó a cabo en el departamento de Tarija, Provincia Uriondo, ubicado geográficamente entre los paralelos 21°43'0" S y 64°43'60" W con una altura promedio de 1784 msnm En las instalaciones del Centro Experimental de Chocloca dependiente de la carrera de Ingeniería Agronómica Universidad Autónoma “Juan Misael Saracho”.

2.2.Materiales

2.2.1. Material Vegetal

El material vegetal fue dotado por el proyecto múltiple San Jacinto producido en sus instalaciones ubicadas en la comunidad de el Portillo, provincia Cercado, departamento de Tarija , se trata de la variedades de orégano (*Oreganum vulgare*) Maru y Kaliteri.

2.2.2. Material de Laboratorio

2.2.2.1.Área de Preparación

- Frascos o tubos de cría
- Balanza de precisión
- Potenciómetro

- Pipetas

- Matraz

2.2.2.2.Área de esterilización

- Autoclave

- Estufa de esterilización para el material in Vitro

2.2.2.3.Área de siembra

- Cámara de flujo laminar

- Mechero

- Pinzas

- Agujas

- Bisturí

- Tijeras

2.2.2.4.Área de crecimiento

- Luz fluorescente

- Control de temperatura

2.2.2.5.Materiales de campo

- Cajas de cultivo.

- Maceteros.

- Detergentes.

- Mangueras de riego.

- Sustratos

2.3. Metodología

2.3.1. Metodología

En el presente trabajo de investigación se estudió la respuesta de vitroplantas de dos variedades de orégano frente a dos tipos de sustrato y a dos métodos de desinfección, durante el proceso de aclimatación.

El material vegetativo que fue utilizado en la investigación fue de dos variedades de vitro-plantas de orégano; Maru y Kaliteri, dotadas al laboratorio de biotecnología por el Proyecto Múltiple San Jacinto. Estas variedades son las que actualmente se están introduciendo al departamento de Tarija mediante proyectos de incentivo. Las vitro-plantas fueron regeneradas por métodos de micro propagación en el laboratorio de Biotecnología de la facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales de la Universidad Autónoma “Juan Misael Saracho”.

2.3.2. Ensayos

El ensayo se llevó a cabo desde el mes de julio del 2014, con un total de cuatro repeticiones, utilizando diez plantas por réplica, con un total de 320 plantas.

2.3.3. Factores de estudio

2.3.3.1. Factor A

El factor A lo constituyen las dos variedades de orégano

- Kaliteri (V1)
- Maru (V2)

2.3.3.2. Factor B

El factor B lo constituyen los tipos de Sustrato:

- Sustrato 1 (S₁)= Cascarilla de Arroz (25%) y Tierra Vegetal (75%)
- Sustrato 2 (S₂)= Acícula de pino (20%) y turba (80%)

2.3.3.3.Factor C

El factor C lo constituyen los Métodos de desinfección

- Desinfectante químico “Almacigol” (M1)
- Desinfección a Vapor (M2)

2.4.Evaluación estadística

La evaluación estadística se realizó a través de un diseño de bloques completamente al azar, con un arreglo tri factorial, donde las unidades experimentales lo formaron 10 vitroplantas. Los tratamientos contemplaron una variedad de vitroplanta de orégano Kaliteri en comparación a la variedad Maru (V1 y V2), con un tipo de sustrato Cascarilla de arroz y tierra vegetal frente a Acícula de pino más turba. (S1 y S2) y un método de desinfección Químico frente a desinfección por calor (M1 y M2). Se realizaron cuatro repeticiones.

Cuadro N° 3

Detalle de repeticiones

Variedad	Tipo de Sustrato	Método de desinfección	Tratamientos	Repeticiones			
				1	2	3	4
V1	S1	M1	T1	V1S1M1	V1S1M1	V1S1M1	V1S1M1
	S1	M2	T2	V1S1M2	V1S2M2	V1S2M2	V1S2M2
	S2	M1	T3	V1S2M1	V2S1M1	V2S1M1	V2S1M1
	S2	M2	T4	V1S2M2	V2S2M2	V2S2M2	V2S2M2
V2	S1	M1	T5	V2S1M1	V2S1M1	V2S1M1	V2S1M1
	S1	M2	T6	V2S1M2	V2S1M2	V2S1M2	V2S1M2
	S2	M1	T7	V2S2M1	V2S2M1	V2S2M1	V2S2M1
	S2	M2	T8	V2S2M2	V2S2M2	V2S2M2	V2S2M2

2.5. Variables de Respuesta

Las variables de respuesta determinadas para el presente trabajo de investigación fueron:

3.5.1. Porcentaje de aclimatación o Tasa de supervivencia de plantas

Para esto se realizó un recuento de plantas una vez por semana, para poder ver cuál fue el motivo y la etapa en la cual se malogra cada muestra, finalmente se hizo un recuento general para poder determinar qué sustrato y qué método de desinfección fue el más adecuado, así como la variedad que responde mejor al proceso de aclimatación.

3.5.2 Altura de las plantas (cm)

El control de altura de las plantas es fundamental en un proceso de aclimatación de vitroplantas, ya que es una variable indispensable para observar el desarrollo y vigor de las plantas.

Se empezó a medir desde la primera semana en el vivero, se tomaron datos semanalmente hasta que las plantas cumplieron 6 semanas, para esto se utilizó un flexo. La medición se la realiza a partir de la base del tallo hasta la yema terminal.

3.5.3 Macollamiento

Este se determina con el número de macollos que desarrolla cada planta medidos a partir de la tercera semana. Es una forma de observar el vigor que tiene cada planta además del tamaño.

2.6.Etapas

Cuadro No 4

Etapas en las que se llevó a cabo el trabajo de investigación

Actividad	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Etapas o fase de Micro propagación			⊖					
Etapas o fase de Formación de raíces				⊖				
Trasplante en vivero				⊖				
Etapas o fase de Aclimatación					⊖			

2.6.1. Micro propagación

Micro propagación de plantas. Es el conjunto de técnicas y métodos de cultivo de tejidos utilizados para multiplicar plantas asexualmente en forma rápida, eficiente y en grandes cantidades.

Se utiliza para multiplicar o propagar plantas nuevas, en este caso para obtener grandes cantidades de plantas que no se propagan eficientemente.

Esta fase se realizó en el mes de julio, en el laboratorio de biotecnología de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales, siguiendo los protocolos de laboratorio internacionales.

Se comenzó con la preparación del medio de cultivo, el cual es guiado con el protocolo utilizado para la reproducción de esquejes de orégano.

El segundo paso fue la esterilización de este medio de cultivo sometiéndola a vapor húmedo y elevando la presión atmosférica en la autoclave. También se esterilizaron los materiales en un horno sometiéndolos a una temperatura de 150 °C durante tres horas.

El tercer paso fue la multiplicación de las plantas realizada en la cabina de flujo laminar siguiendo el protocolo de laboratorio para evitar cualquier tipo de contaminación. Aquí se efectuó la siembra en las respectivas magentas.

2.6.2. Formación de raíces

Se llevó a cabo en la sala de crecimiento del laboratorio de biotecnología que consta del control de temperatura y la luz necesarios para el óptimo desarrollo de plántulas en desarrollo.

El periodo que permanecieron en esta sala fue de un mes aproximado, de acuerdo a cómo respondan las plantas al tratamiento dado. Para esto se observa el tamaño de las plantas y fundamentalmente el desarrollo radicular que presenta en este periodo.

2.6.3. Trasplante en vivero

Una vez que las raíces alcanzaron un tamaño adecuado se procedió al trasplante en invernadero antiáfidos, este procedimiento se ejecutó en instalaciones del centro experimental de Chocloca.

El trasplante fue realizado en bandejas almacigueras con capacidad de 50 plantas, en los sustratos previstos anteriormente de acuerdo a la metodología ya planteada, de la siguiente manera:

Cuadro N° 5

Distribución de los tratamientos en campo

T3 V1S2M1	T5 V2S1M1	T6 V2S1M2	T7 V2S2M1
T7 V2S2M1	T2 V1S1M2	T4 V1S2M2	T8 V2D2M2
T3 V1S2M1	T7 V2S2M1	T5 V2S1M1	T1 V1S1M1
T6 V2S1M2	T1 V1S1M1	T3 V1S2M1	T5 V2S1M1
T7 V2S2M1	T2 V1S1M2	T4 V1S2M2	T8 V2D2M2
T3 V1S2M1	T7 V2S2M1	T5 V2S1M1	T1 V1S1M1
T8 V2S2M2	T2 V1S1M2	T2 V1S1M2	T6 V2S1M2
T8 V2S2M2	T1 V1S1M1	T2 V1S1M2	T4 V1S2M2

V1 = Kaliteri

V2 = Maru

S1 = Tierra vegetal más cascarilla de arroz

S2 = Turba más acícula de pino

M1 = Método de desinfección Químico

M2 = Desinfección en horno

2.6.4. Aclimatación

Ya formadas las raíces se procedió al trasplante de las magentas a las bandejas almacigueras de acuerdo al orden establecido.

Se trató de controlar en lo posible las condiciones óptimas para el desarrollo de las plantas, esto se logra desinfectando los sustratos, realizando un tratamiento preventivo contra los hongos, controlando la intensidad de los rayos solares con la ayuda de una cubierta de media sombra y un invernadero que controla la pérdida de humedad y el ingreso de patógenos así como de sus vectores.

El proceso de aclimatación consiste en el paso de condiciones in vitro como ser: la humedad adecuada, temperaturas ideales y no variables, luz de acuerdo a sus necesidades, inexistencia de patógenos y los nutrientes necesarios para vivir, a las condiciones del medio exterior, teniendo una humedad más baja e inestable, temperaturas variables, luz directa del sol, abundancia de patógenos y una menor cantidad y facilidad para encontrar los nutrientes necesarios, en esta situación la planta debe adaptarse para poder sobrevivir desarrollando sus raíces y su capacidad fotosintética para elaborar su propio alimento.

2.7. Manejo del experimento

2.8. Preparación de sustratos

Materiales como la turba paceña fue dotada por el centro experimental, el resto de los materiales fueron recolectados de diferentes lugares. La cascarilla de arroz fue la

única que se sometió a calor en un tanque hasta dejarla tostada. Los demás materiales no sufrieron ningún tipo de tratamiento para su descomposición.

Una vez mezclados los materiales fueron sometidos a dos tipos de desinfección una química y otra por medio de calor, sometiéndola a vapor seco durante 30 min. Esto se realizó para no tener problemas con hongos ni patógenos que atacan a plantas reproducidas in-vitro debido a su vulnerabilidad.

2.9.Llenado de bandejas

Se llenaron 6 bandejas con capacidad de 50 plantas cada una, llegando a un total de 320 plantas, correspondiendo a cada tratamiento 40 plantas, ubicadas aleatoriamente dentro de las 6 bandejas de acuerdo a la metodología planteada, dejando un espacio para poder diferenciar unas de otras y evitar que se mezclen los sustratos e impedir el contacto.

Previo al llenado de bandejas se hizo una mezcla homogénea de los materiales en diferentes proporciones de acuerdo con la metodología.

2.10. Trasplante

Para el trasplante se humedeció previamente el sustrato para luego hacer los hoyos donde entraría cada planta con la ayuda de un trozo de madera con forma de cono. Se utilizaron plantas de 4 semanas. Las plantas fueron tratadas con un fungicida antes de ser colocadas en el hoyo correspondiente para evitar la contaminación y el malogre de las mismas. Finalmente, se regaron nuevamente las plantas hasta humedecer completamente el sustrato.

El proceso se llevó a cabo dentro del invernadero antiáfidos dejando las plantas dentro de éste con una malla de sombreado del 50%.

2.11. Riego

En la primera semana se aplicó riego todos los días, 30 minutos en la mañana y 30 minutos en la tarde utilizando un pulverizador manual hasta llegar a humedecer completamente el sustrato.

Una vez cumplida la primera semana se regó una vez al día durante 30 minutos en la mañana.

2.12. Control de malezas

El control de malezas se lo hizo de manera manual, una realizada a las 3 semanas dentro del invernadero y otra, a las 5 semanas. La cantidad de malezas que se llegó a retirar no es considerable.

2.13. Control de plagas y enfermedades

El control de plagas y enfermedades se lo realizó mediante métodos pasivos: Uno fue utilizando el invernadero antiáfidos para impedir el ingreso de insectos y áfidos, los cuales son los principales vectores de las enfermedades transmitidas a las plantas. El otro, fue la desinfección de todo material con el que se trabajó y por último, un tratamiento preventivo de las raíces con un fungicida, antes de su trasplante.

Las precauciones tomadas fueron suficientes para impedir el ataque de patógenos y plagas que pudiesen haber afectado el proceso de aclimatación.

2.14. Análisis de la información

2.14.1. Análisis estadístico

En base a los resultados obtenidos en el experimento se procedió a efectuar los cálculos de varianza necesarios para los 8 tratamientos.

El tiempo en que se realizaron todas las mediciones fue de 6 semanas, cuando teóricamente las plantas ya eran aptas para ser llevadas a campo.

El diseño con el que se trabajó fue un diseño de bloques completos al azar, el modelo con el que se trabajó fue:

$$Y_{ij} = m + t_i + r_j + e_{ij}$$

En donde (Y_{ij}) es la variable de respuesta ij - ésima unidad experimental, el modelo en el cual se basa el análisis nos dice que una observación es el efecto de una media general (m), de un tratamiento particular (t_i), de una repetición dada o bloque (r_j), y finalmente el componente aleatorio o error experimental (e_{ij}).

El mayor uso de este diseño está dado por la feliz combinación de utilidad, simplicidad y flexibilidad.

Cuadro N° 6

Modelo de un cuadro de ANOVA en los diseños de bloques completos al azar

Fuentes de Variación (Fv)	Grados de libertad (gl)	Suma de Cuadrados(S.C.)	Cuadrado Medio(C.M.)	Relación F (Fc)
Total	$t * r - 1$	$\sum Y_{ij}^2 - Fc$	-----	-----
Bloques	$(r - 1)$	$\sum \frac{r_j^2}{t} - Fc = A$	$\frac{A}{(r - 1)} = (1)$	$\frac{(1)}{(3)}$
Tratamientos	$(t - 1)$	$\sum \frac{t_i^2}{r} - Fc = B$	$\frac{B}{(t - 1)} = (2)$	$\frac{(2)}{(3)}$
Error experimental	$(t - 1)(r - 1)$	$A - B = C$	$\frac{C}{(t - 1)(r - 1)} = (3)$	-----

Dónde:

t = tratamiento

r = réplicas o repeticiones

Y = observación individual

Fc = Factor de corrección.

Cuando existió diferencia estadística significativa en los correspondientes análisis de varianza para las variables en estudio, se realizaron pruebas de medias.

CAPÍTULO IV

2. Resultados y discusión

La toma de datos para las variables de respuesta se realizó semanalmente a partir del sexto día después del trasplante, hasta los 42 días para conocer los cambios en las variables según los sustratos, variedades y métodos de desinfección evaluados en relación con el tiempo en semanas de vivero. Para las variables respuesta se evaluó el porcentaje de aclimatación, altura y macollamiento en el número de días previstos en los que las plantas deberían tener todas las condiciones para llevarlas a campo.

Para verificar si existió diferencia significativa entre los tratamientos y determinar cuál fue el mejor tratamiento, se procedió a realizar un análisis de varianza para las variables de respuestas evaluadas.

Cuadro No 7

Detalle de tratamientos

Tratamiento	Variedad		Sustrato		Método de desinfección	
T1	Kaliteri	V1	Tierra vegetal más cascarilla de arroz	S1	Química	M1
T2	Kaliteri	1	Tierra vegetal más cascarilla de arroz	1	Por calor	2
T3	Kaliteri	1	turba más acícula de pino	2	Química	1
T4	Kaliteri	1	turba más acícula de pino	2	Por calor	2
T5	Maru	2	Tierra vegetal más cascarilla de arroz	1	Química	1
T6	Maru	2	Tierra vegetal más cascarilla de arroz	1	Por calor	2
T7	Maru	2	Turba más acícula de pino	2	Química	1
T8	Maru	2	Turba más acícula de pino	2	Por calor	2

2.1. Altura de la planta

2.1.1. Altura media de plantas en los tratamientos

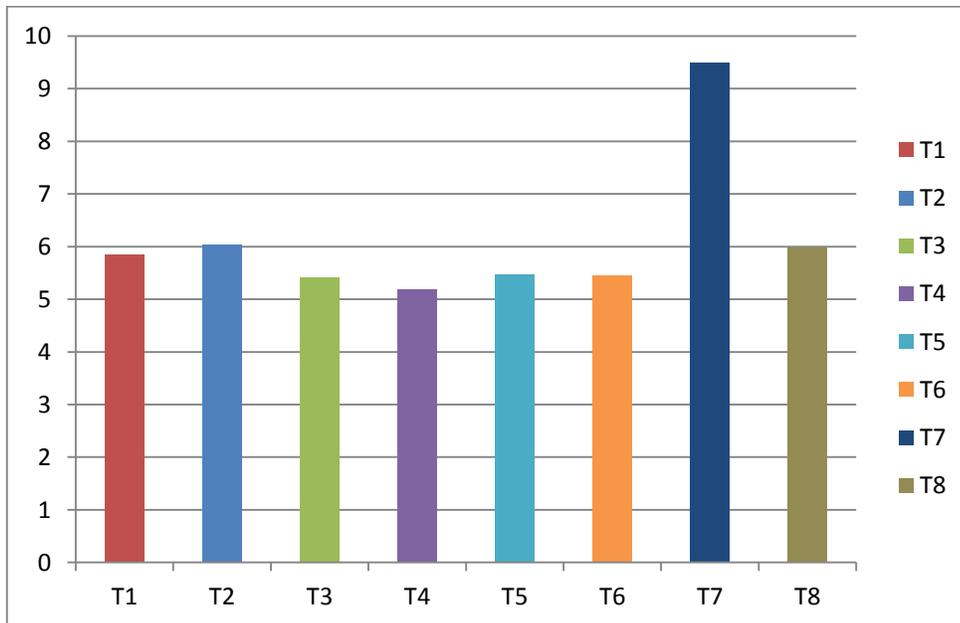
Cuadro N° 8

Media de alturas de los tratamientos.

TRATAMIENTOS	DETALLE	\bar{X}
T1	V1 S1 M1	5,84
T2	V1 S1 M2	6,03
T3	V1 S2 M1	5,42
T4	V1 S2 M2	5,19
T5	V2 S1 M1	5,47
T6	V2 S1 M2	5,46
T7	V2 S2 M1	9,50
T8	V2 S2 M2	5,98

La altura obtenida a las 6 semanas (42 días) fecha en la cual se realizó el trasplante es de 9.5 cm en el tratamiento 7, siendo éste notorio respecto a los demás, siguiendo el tratamiento 2 y 8, seguido de los demás teniendo éstos una menor diferencia de altura, esto se ve más claramente en la Figura No. 1.

Figura N° 1 Altura media de los tratamientos, expresada en centímetros



En la figura No 1 se puede observar que existe una diferencia notoria en el tratamiento 7 con respecto a los demás tratamientos.

El tratamiento con menor éxito fue el tratamiento 4 sin alejarse mucho de las medias de los demás tratamientos en lo que se puede ver en la figura, para corroborar se procede a realizar un análisis de varianza.

2.1.2. Altura media de plantas en los bloques.

Se observa que en las réplicas de cada tratamiento son relativamente homogéneas por lo que se puede asumir que los factores como la ubicación, diferencias en cuanto a riego y demás son mínimas.

Cuadro N° 9

Media de alturas de cada réplica.

TRATAMIENTOS	REPLICAS			
	I	II	III	IV
T1	5,10	6,43	6,00	5,84
T2	5,78	5,80	7,05	5,50
T3	4,60	6,31	5,33	5,42
T4	6,13	4,25	5,19	5,19
T5	7,88	5,50	4,00	4,50
T6	5,35	4,85	6,17	5,46
T7	9,65	9,25	9,60	9,50
T8	6,10	5,25	6,58	5,98

Cuadro N° 10

Análisis de varianza de altura de planta

Fuentes de Variación	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F tabulada		
					5%	1%	
Total	31	107,324188					
Bloques	3	6,8487625	2,28292083	1,45256367	3,07	4,87	
Tratamientos	7	67,4707875	9,63868393	6,1328461	2,49	3,65	**
Error	21	33,0046375	1,5716494				
V	1	15,2628125	15,2628125	9,71133413	4,32	8,2	**
S	1	11,9805125	11,9805125	7,62289125	4,32	8,2	**
M	1	1,94045	1,94045	1,23465831	4,32	8,2	
V/S	1	8,8410125	8,8410125	5,62530834	4,32	8,2	*
V/M	1	13,005	13,005	8,27474624	4,32	8,2	*
S/M	1	15,3458	15,3458	9,76413693	4,32	8,2	*
V/S/M	1	1,0952	1,0952	0,69684753	4,32	8,2	

Según el análisis de varianza visto en el cuadro N° 9 se asume que sí existe una diferencia estadística altamente significativa en cuanto a tratamientos, variedades y sustratos, así como una significancia entre variedad - sustrato, variedad - método de desinfección, sustrato - método de desinfección, no así en el método de desinfección que no tuvo significancia alguna al igual que los bloques y variedad – sustrato – método de desinfección.

Se ve necesaria la aplicación de una prueba MDS.

Cuadro N° 11

Prueba de medias por tratamientos con respecto a la altura

Tratamiento	Tratamiento	Media (cm)	MDS
T7	Variedad Maru, turba más acícula de pino, desinfección química.	9,5	A
T2	Variedad Kaliteri, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección por calor.	6,03	B
T8	Variedad Maru, turba más acícula de pino, desinfección por calor.	5,97	B
T1	Variedad Kaliteri, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección química.	5,64	B
T6	Variedad Maru, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección por calor.	5,47	C
T5	Variedad Maru, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección química.	5,47	C
T3	Variedad Kaliteri, turba más acícula de pino, desinfección química.	5,42	C
T4	Variedad Kaliteri, turba más acícula de pino, desinfección por calor.	5,19	D

Con la prueba de medias se puede observar que existe una diferencia estadística altamente significativa del tratamiento 7 con respecto a los demás tratamientos, viendo la tabla entre los demás tratamientos se observan diferencias significativas.

Se tiene como resultado que existe una diferencia muy significativa entre los tratamientos, siendo clasificadas en 4 grupos existiendo diferencias significativas el uno del otro, En el grupo A conformado por el tratamiento 7 siendo éste el que dio el mejor resultado según los resultados obtenidos.

El grupo B está conformado por los tratamientos 2, 8 y 1 siguiendo el segundo grupo según la prueba de medias, este tiene marcadas diferencias con respecto al grupo A, el grupo C conformado por los tratamientos 6, 5, 3 y 4 con promedios más bajos llevan una diferencia significativa respecto al grupo B y no así entre los tratamientos de este grupo los cuales tienen poca diferencia.

Queda un tratamiento conformando un grupo D quedando como el tratamiento menos recomendable debido a su bajo desarrollo.

2.2. Tasa de supervivencia de plantas

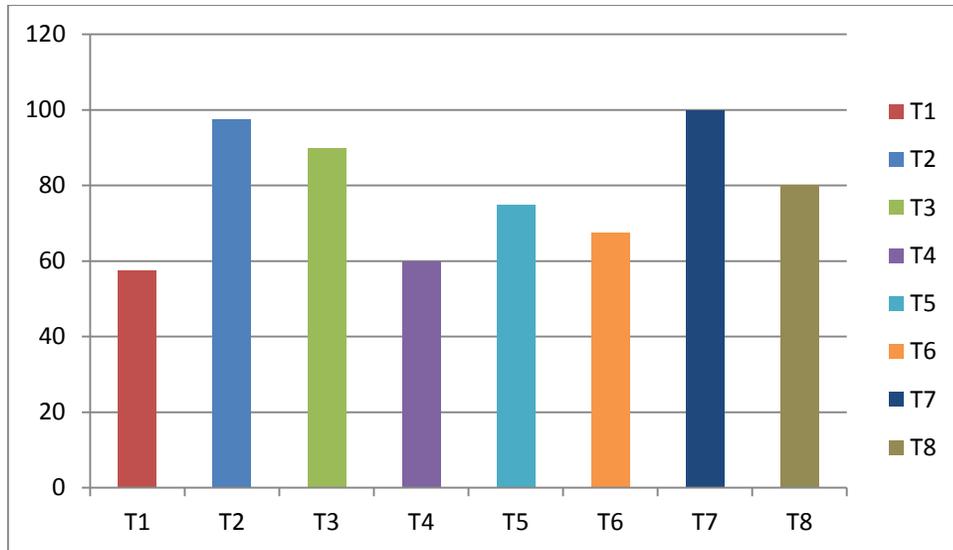
Cuadro No 12

Media de supervivencia de cada tratamiento más réplicas

TRATAMIENTOS	RÉPLICAS				\bar{X}
	I	II	III	IV	
T1	50	60	70	50	57,5
T2	100	90	100	100	97,5
T3	90	100	80	90	90
T4	40	80	60	60	60
T5	60	80	90	70	75
T6	30	90	80	70	67,5
T7	100	100	100	100	100
T8	100	60	80	80	80

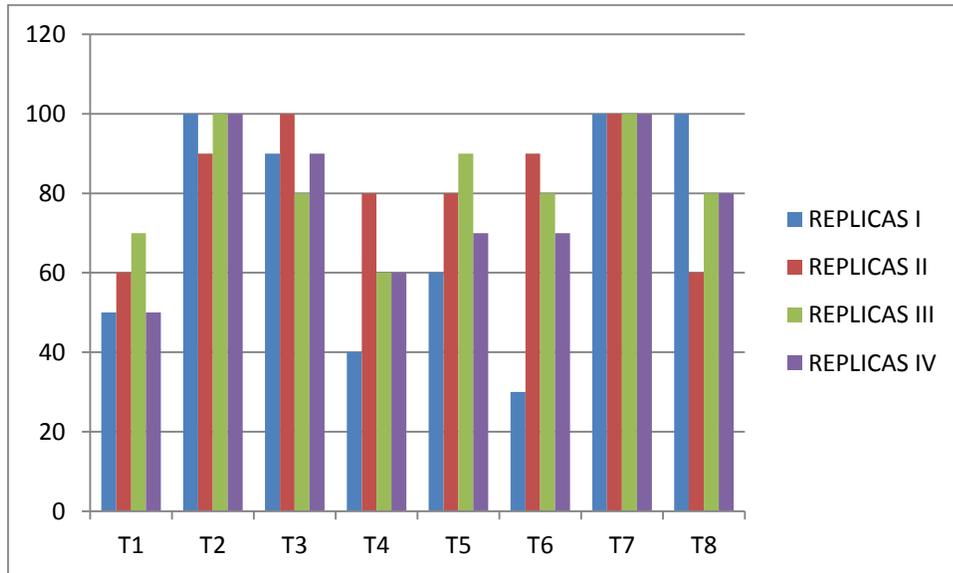
La tasa de supervivencia fue tomada en la sexta semana de vivero de las plantas, se ve diferencia en los tratamientos 7 y 2. Con la respecto a los demás habiendo diferencias que se pueden observar en la figura 2 tanto como en la tabla se procede a realizar el análisis de varianza.

Figura N° 2 Porcentajes de supervivencia de los tratamientos



En la Figura No 2 se pueden observar los porcentajes de aclimatación y sus diferencias entre los distintos tratamientos, siendo el tratamiento 7, tratamiento 2 y tratamiento 4 los mejores tratamientos con porcentajes de 100%, 97.5% y 90% de plantas aclimatadas, respectivamente.

Figura No 3. Porcentaje de supervivencia en las réplicas de cada tratamiento.



Observando la figura N° 3 se destaca la réplica 7 teniendo 4 réplicas homogéneas con un 100% de éxito en su tasa de aclimatación, seguido por el tratamiento 2 y 3 con réplicas menos homogéneas.

El tratamiento 1 es el que menor tasa de supervivencia tuvo, con réplicas heterogéneas al igual que los demás tratamientos que tuvieron bajos porcentajes de aclimatación.

Cuadro N° 13

Análisis de varianza del porcentaje o tasa de aclimatación.

Fuentes de Variación	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F tabulada		
					5%	1%	
Total	31	12221,9					
Bloques	3	684,4	228,1	1,19	3,07	4,87	
Tratamientos	7	7496,9	1070,9	5,57	2,49	3,65	**
Error	21	4040,6	192,4				
V	1	153,1	153,1	0,79	4,32	8,2	
S	1	528,1	528,1	2,74	4,32	8,2	
M	1	153,1	153,1	0,79	4,32	8,2	
V/S	1	903,1	903,1	4,69	4,32	8,2	*
V/M	1	703,1	703,1	3,65	4,32	8,2	
S/M	1	3403,1	3403,1	17,69	4,32	8,2	**
V/S/M	1	1653,1	1653,1	8,59	4,32	8,2	*

Existen diferencias altamente significativas en tratamientos y los factores sustrato/método de desinfección, diferencias significativas en factor variedad/sustrato y variedad/sustrato/método de desinfección.

Es necesario realizar una prueba de medias para ver la significancia entre los tratamientos y poder determinar si las diferencias entre los tratamientos son muy significativas.

Cuadro N° 14

Prueba de medias con respecto a la tasa de supervivencia.

Tratamiento	Tratamiento	Media %	MDS
T7	Variedad Maru, turba más acícula de pino, desinfección química.	100	A
T2	Variedad Kaliteri, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección por calor.	97.5	A
T3	Variedad Kaliteri, turba más acícula de pino, desinfección química.	90	A
T8	Variedad Maru, turba más acícula de pino, desinfección por calor.	80	B
T5	Variedad Maru, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección química.	75	B
T6	Variedad Maru, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección por calor.	67.5	B
T4	Variedad Kaliteri, turba más acícula de pino, desinfección por calor.	60	B
T1	Variedad Kaliteri, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección química.	57.5	C

Los tratamientos 7, 2 y 3 forman parte del primer grupo siendo éstos los que tienen el mayor porcentaje de aclimatación siguiendo los tratamientos 8, 5, 6 y 4 en ese orden los del grupo B con un menor porcentaje de prendimiento. Y finalmente un grupo C conformado por un solo tratamiento llegando a ser este el menos recomendable.

Con estos resultados se ve una diferencia un tanto significativa entre los tratamientos de acuerdo al porcentaje de aclimatación o tasa de sobrevivencia de las plantas teniendo un 21% de mortandad y un 79 % de éxito en aclimatación de las vitroplantas.

2.3. Número de macollos por planta

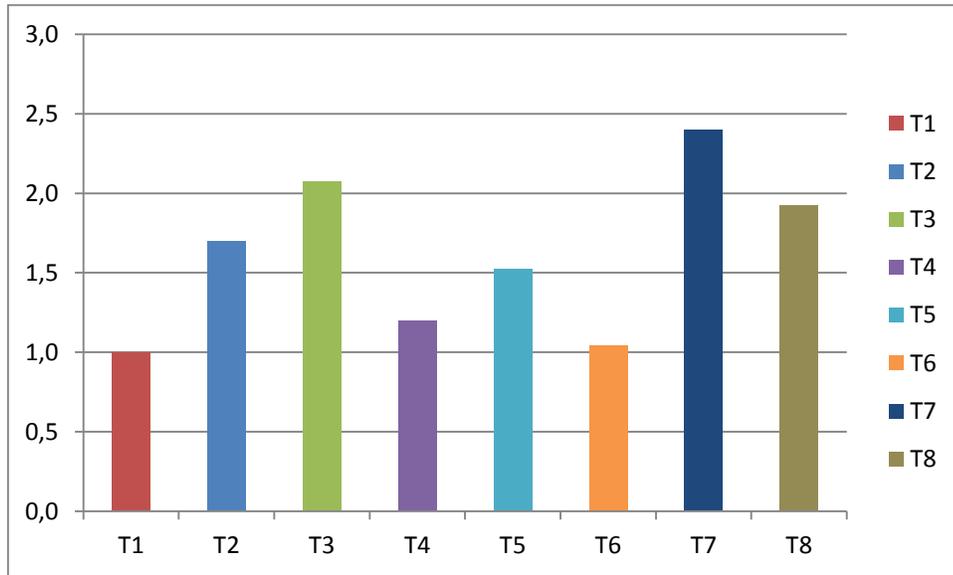
Cuadro N° 15

Media de macollamiento de tratamiento y sus réplicas.

TRATAMIENTOS	RÉPLICAS				\bar{X}
	I	II	III	IV	
T1	1,6	2	1,3	1,6	1,6
T2	1,4	1,7	2	1,6	1,7
T3	2	2,6	2,3	2,1	2,3
T4	1,9	2,3	2,1	2,1	2,1
T5	2	2,1	1,8	2	2
T6	1,5	2	1	1,5	1,5
T7	2,1	2,5	2,6	2,4	2,4
T8	2,2	2,6	2,17	2,3	2,2

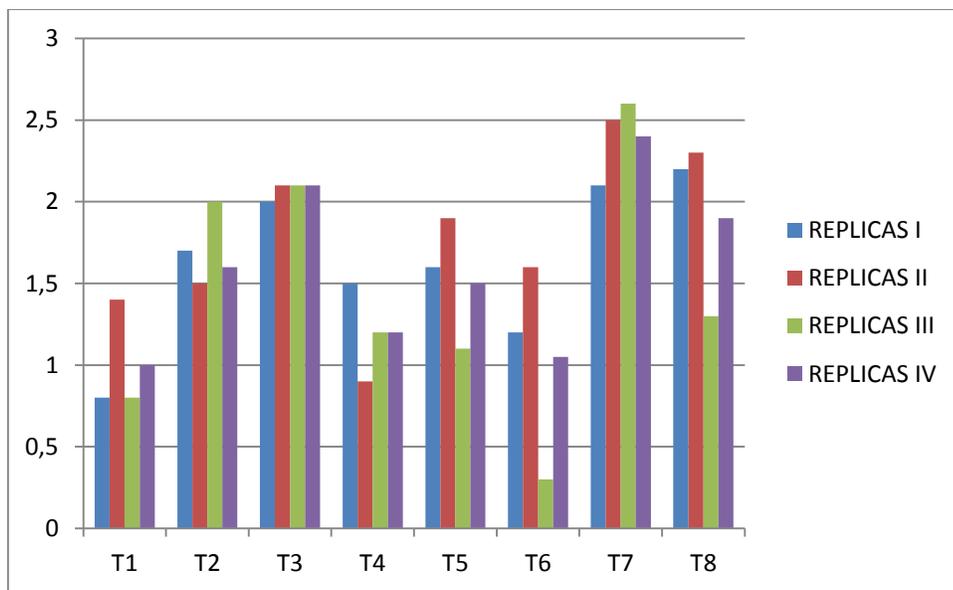
Se ve cierta diferencia entre un tratamiento y otro, no tan notables a simple vista, teniendo nuevamente el tratamiento 7 la mejor respuesta a la aclimatación, siendo el que mayor promedio tiene en cuanto a macollos.

Figura N° 4. Número de macollos por planta en cada tratamiento.



Se puede observar más claramente en la gráfica las diferencias entre los diferentes tratamientos viéndose el 7, 8 y 3 con diferencias no muy marcadas, seguidos por el 4 y 5, finalmente el 2, 1 y 6 con los promedios más bajos.

Figura No 5. Número de macollos en cada réplica.



Viendo los tratamientos con sus réplicas individualmente se observan diferencias en los mismos tratamientos teniendo replicas poco homogéneas, excepto los dos tratamientos con promedios más altos en los cuales se puede evidenciar mucha más homogeneidad que en los demás.

Cuadro N° 16

Análisis de varianza con respecto al número de macollos.

Fuentes de Variación	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F tabulada	
					5%	1%
Total	31	8,12				
Bloques	3	1,53	0,5096	2,97	3,07	4,87
Tratamientos	7	2,99	0,4282	2,50	2,49	3,65
Error	21	3,60	0,1713			
V	1	0,0038	0,00382	0,022	4,32	8,2
S	1	1,29	1,292	7,541	4,32	8,2
M	1	0,96	0,9626	5,618	4,32	8,2
V/S	1	0,091	0,09138	0,533	4,32	8,2
V/MD	1	0,533	0,53302	3,111	4,32	8,2
S/MD	1	0,114	0,114	0,665	4,32	8,2
V/S/MD	1	0,00025	0,00025	0,00147	4,32	8,2

*
*

El conteo del número de macollos fue realizado en la última semana de vivero de las plantas, se observan diferencias significativas entre un tratamiento y otro por lo cual es necesario realizar una prueba de medias para comprobar la significancia.

Existen diferencias significativas entre sustratos, también se ven diferencias significativas entre métodos de desinfección.

Para verificar la significancia es necesario realizar una prueba de medias.

Cuadro N° 17

Prueba de medias de los tratamientos de acuerdo al número de macollos

Tratamiento	Tratamiento	Media	MDS
T7	Variedad Maru, turba más acícula de pino, desinfección química.	2.4	A
T3	Variedad Kaliteri, turba más acícula de pino, desinfección química.	2.27	A
T8	Variedad Maru, turba más acícula de pino, desinfección por calor.	2.23	A
T2	Variedad Kaliteri, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección por calor.	2.06	A
T5	Variedad Maru, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección química.	1.98	A
T4	Variedad Kaliteri, turba más acícula de pino, desinfección por calor.	1.67	B
T6	Variedad Maru, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección por calor.	1.64	B
T1	Variedad Kaliteri, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección química.	1.5	B

Las diferencias entre número de macollos también son significativas de acuerdo a la prueba de medias formando dos grupos, estando en el primero los tratamientos 7, 3, 8, 2 y 5, en el grupo B tenemos el tratamiento 4, 6 y finalmente el 1. Teniendo una relación con las variables de anteriores factores como el crecimiento y tasa de aclimatación, siendo siempre el tratamiento 7 el más desarrollado.

CAPÍTULO V

2. Conclusiones y recomendaciones

2.1. Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye:

- Se observa que las vitroplantas se desarrollan de mejor manera con el tratamiento 7 utilizando (Variedad Maru, turba más acícula de pino, desinfección química). Este fue el tratamiento que tuvo mayor porcentaje de aclimatación, tasa de crecimiento y mayor número de macollos por planta. Teniendo diferencia significativa según prueba MDS con respecto a las demás, seguido por el tratamiento 2 (Variedad Kaliteri, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección por calor).
- Se llegó a una aclimatación con relativo éxito, teniendo un crecimiento demasiado lento, con un promedio de 6,11 cm y 1,6 macollos por planta en cuanto al tamaño y desarrollo.
- En cuanto a la tasa de supervivencia se tuvo un promedio de 78.4% de plantas prendidas, con diferencias muy significativas de un tratamiento a otro, teniendo en el tratamiento 7 (Variedad Maru, turba más acícula de pino, desinfección química) un 100 % de éxito en sus 4 réplicas y en el tratamiento 2 (Variedad Kaliteri, Tierra vegetal más cascarilla de arroz, desinfección por calor) con 97,5% de éxito.
- El número de macollos igualmente tuvo diferencias significativas entre tratamientos siendo el tratamiento 7 nuevamente el que presentó una mejor respuesta en cuanto a macollamiento con un promedio de 2,4 macollos por planta siendo el que tuvo mayor éxito entre todos.
- Contrario a la hipótesis sí existieron diferencias entre los tratamientos siendo el tratamiento 7 utilizando la Variedad Maru, turba más acícula de pino, desinfección química el que tuvo un mayor éxito respecto a todas las variables, tanto en porcentaje de aclimatación, tasa de crecimiento como número de macollos por planta.

- Las variedades tuvieron diferencias significativas en cuanto al tamaño, no así en porcentaje de aclimatación ni macollamiento.
- El sustrato conformado por cascarilla de arroz con tierra vegetal, no dio un buen resultado teniendo diferencias significativas comparadas con la turba paceña más acícula de pino, se asume que es debido a las proporciones utilizadas.
- En cuanto a la desinfección no se observaron pérdidas por daño de patógenos por lo cual se podría decir que ambos tratamientos funcionaron de manera adecuada evitando el desarrollo de hongos en las raíces.

2.2.Recomendaciones

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede recomendar:

- Para aclimatar vitro plantas de orégano en la etapa de vivero se recomienda utilizar ambas variedades con un sustrato compuesto de 25% acícula de pino y un 75% de turba ya sea con una desinfección química o por medio de calor.
- Se recomienda acompañar el proceso de aclimatación con el uso de fertilizantes para tener un mejor desarrollo, asumiendo que fue por la falta de nutrientes que se tuvo un bajo crecimiento y por lo mismo se dio el acame de las plantas.