

VALIDACIÓN Y ESCALAMIENTO DE PLÁNTULAS DE MORA *IN VITRO* Y MANEJO *EX VITRO* PARA ENTREGA A AGRICULTORES DE SILVANIA

Valderrama Ana Milena ¹, Álvarez Roberto ², Barrero Luz Stella ³, Robayo Mónica ³, Núñez Víctor ³

RESUMEN

Después de la selección participativa de seis genotipos promisorios con agricultores del sector Monterrico en Silvania (Cundinamarca) se llevó a cabo el ajuste, validación y escalamiento *in vitro* de estos materiales para la entrega a los productores de la zona. En la fase de establecimiento *in vitro* con tratamiento de desinfección ajustado para material de campo, se obtuvieron porcentajes de supervivencia entre 27.9% y 57.3% dependiendo del genotipo. El genotipo Cerezos fue el más bajo por la presencia de una bacteria endógena. En la fase de multiplicación, se lograron coeficientes entre el 2.2 y 4.7, lo que permitió obtener, por cada yema introducida, entre 100 y 9.000 brotes respectivamente, después de cinco subcultivos. Para la fase de enraizamiento *in vitro* se lograron condiciones apropiadas para cada genotipo. Los genotipos Cerezos y Riosucio fueron los de más tardío desarrollo. Adicionalmente, de cuatro medios evaluados se seleccionó el Basal de Lepoivre modificado, por permitir el mejor desarrollo de brotes con la presencia de un buen sistema radicular para futuros trabajos. Durante la fase de endurecimiento, con el método empleado, se obtuvieron porcentajes de supervivencia entre el 90 y el 95% para los seis genotipos evaluados. Los materiales fueron trasplantados en condiciones de vivero y permanecieron un mes hasta cuando alcanzaron un tamaño aproximado de 10 cm de longitud; presentaron color verde intenso y un sistema radicular bien formado. Un total de 23.000 vitroplantas de mora fueron transportadas a Monterrico y entregadas a los productores, para su siembra en campo.

PALABRAS CLAVE: Mora, micropropagación *in vitro*, endurecimiento, entrega, agricultores.

INTRODUCCIÓN

La mora pertenece a la familia de las Rosáceas, género *Rubus*. Es un arbusto que forma parte de los “berries” o frutos menores (Antía y Torres, 1998). El cultivo de mora tiene características

1 Laboratorio de Micropropagación de Plantas, Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB), CORPOICA, Km. 14 vía Mosquera, Cundinamarca.

2 Centro de Investigación (C.I.) Tibaitatá, CORPOICA, Km. 14 vía Mosquera, Cundinamarca.

3 Laboratorio de Genética Molecular Vegetal, Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB), CORPOICA, Km. 14 vía Mosquera, Cundinamarca.

Autor de correspondencia: Ana Milena Valderrama, M.Sc. Biotecnología, e-mail: avalderrama@corpoica.org.co

agroindustriales promisorias exportables como fruta fresca y como materia prima en la industria alimenticia (Agronet, 2006). Recientemente, se han identificado propiedades medicinales por sus características antioxidantes, lo cual ha influido en su demanda nacional e internacional (Clark et al., 2007). Sin embargo, la Mora de Castilla, presenta limitaciones de susceptibilidad fitosanitaria y bajo contenido de grados Brix. Adicionalmente, existe una baja calidad del material de siembra, desde el punto de vista genético y fitosanitario, lo cual está afectando el posicionamiento de la mora en el mercado internacional (Franco et al., 2000; Franco y Giraldo, 2002).

Tradicionalmente, el cultivo de mora se propaga de manera vegetativa, ya sea por acodo o estaca, lo que ha generado que los productores y los viveros propaguen los materiales regionales sin ninguna norma de calidad fisiológica ni sanitaria. Por cuanto este medio de propagación es la principal fuente de introducción de plagas y enfermedades (Castro y Díaz, 2001), se hace necesario el desarrollo de técnicas alternativas de propagación, mediante el cultivo de tejidos para garantizar una semilla de alta calidad fisiológica, fitosanitaria y genética.

El cultivo de tejidos vegetales *in vitro* o micropropagación, constituye dentro de la biotecnología, la técnica que mayor aporte práctico ha brindado (Cetz, 2005). La micropropagación es un método alternativo para la propagación clonal de plantas. La mayor diferencia entre la propagación convencional y la propagación *in vitro* consiste en que las plantas son producidas bajo condiciones estériles en un medio artificial. En estas condiciones, las plantas no son afectadas por circunstancias adversas del clima y, como consecuencia, el crecimiento se da mucho más rápido que cuando se utilizan los métodos tradicionales (Hannweg, 1997).

Las aplicaciones de la micropropagación son varias: Regeneración de plantas, obtención de plantas libres de agentes patógenos, conservación de germoplasma, producción de metabolitos secundarios y mejoramiento genético (Pérez et al., 1998). La mayor desventaja de la micropropagación *in vitro* es que requiere un ambiente estéril de crecimiento para evitar contaminación con bacterias u hongos (Hannweg, 1997). Sin embargo, las condiciones de asepsia se manejan con éxito en los laboratorios especializados.

La micropropagación de *Rubus* involucra típicamente cultivo *in vitro* de ápices (del inglés "shoot tip culture"), el cual es considerado el método más eficiente para una rápida proliferación y eliminación de la variación somaclonal (Pelto y Clark, 2000). A nivel mundial se tienen varios reportes del cultivo *in vitro* de diferentes especies de *Rubus*, tales como: *R. parvifolius* y *R. caesius* (Chang y Reed, 1999), *R. arcticus* (Kokko et al., 1996), *R. idaeus* (Palonen y Buszard, 1998); Taylor y Harrier, 2000), *R. fruticosus* (mora), e híbridos entre mora y frambuesa (McNicol y Graham, 1990; Swartz et al., 1990) y *R. chamaemorus* (Martinussen et al., 2004). En Colombia, Marulanda y Márquez (2002), obtuvieron plantas procedentes de Caldas y Quindío mediante organogénesis a través de callo, las cuales, junto con las plantas en los subcultivos F4 y F15 del proceso de multiplicación *in vitro*, presentaron alta estabilidad genética (evaluada por marcadores RAPD), lo que llevó a recomendar hasta 10 subcultivos para la multiplicación masiva de *Rubus in vitro*. Castro y Díaz (2001) también han desarrollado propagación de Mora de Castilla *in vitro*, utilizando plantas madre seleccionadas para la obtención de yemas en la etapa de establecimiento.

Desde el año 2005 se ha venido trabajando con la implementación del sistema de micropropagación de mora en el Laboratorio de Micropropagación de Plantas de CORPOICA. Durante este tiempo se han desarrollado y ajustado los protocolos de introducción, multiplicación y enraizamiento de mora *in vitro*. De esta forma, se ha mejorado el sistema de endurecimiento de las vitroplantas para su entrega a los agricultores.

Con este trabajo se implementó el sistema de micropropagación y endurecimiento de plantas de mora desarrollado en CORPOICA, para seis genotipos de importancia agronómica y nutricional, seleccionados con base en resultados de encuestas a agricultores y características

agronómicas y nutricionales (ver artículo Espinosa *et al.*, de esta compilación). Este sistema de propagación permitió la entrega de 23.000 vitropiantas de mora a agricultores del sector Monterrico, vereda Aguabonita del municipio de Sylvania (Cundinamarca) listas para la siembra en campo. Lo equivalente a 2.000 vitropiantas es mantenido por el Laboratorio de Micropropagación de Plantas del Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB) de CORPOICA, para su utilización en futuros proyectos.

Adicionalmente, se busca ajustar la metodología de micropropagación que permita el desarrollo de las etapas de multiplicación y enraizamiento en un solo medio de cultivo. Con este fin se probaron diferentes medios para reducir el tiempo y costos de la etapa de enraizamiento *in vitro*. Actualmente, se busca ir mejorando el sistema de micropropagación de mora con la implementación de nuevas metodologías.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El trabajo se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Micropropagación de Plantas del CBB y en los invernaderos de vidrio, situados en CORPOICA C.I. Tibaitatá, ubicado a una altura de 2542 m.s.n.m y con un promedio de temperatura de 13°C.

Material vegetal

Las plantas madre de mora fueron recolectadas en la Finca El Arenal, sector Monterrico de la Vereda Aguabonita (Sylvania, Cundinamarca). Con base en resultados de encuestas a agricultores y características agronómicas y nutricionales, se seleccionaron seis genotipos promisorios del cultivo de mora establecido en Monterrico. Los genotipos seleccionados fueron: Monteloro, Rio-sucio, Cerezos, Sin Espinas, Castilla Monterrico Yema e ILS 1863 (ver artículo Espinosa *et al.*, de esta compilación).

Establecimiento in vitro

Del material establecido en Monterrico se seleccionaron estacas sanas, no florecidas, de aproximadamente 50 cm de longitud y se llevaron envueltas en papel periódico, al Laboratorio de Micropropagación de Plantas. Las estacas fueron cortadas cerca del ápice hasta obtener miniestacas de 5 cm de longitud aproximadamente; las miniestacas fueron lavadas con cepillo y una solución jabonosa; posteriormente, fueron lavadas con una solución bactericida con agitación constante, durante 10 minutos y luego fueron transferidas a una solución fungicida durante 20 minutos. Para terminar la desinfección, las miniestacas fueron trasladadas a una solución de hipoclorito durante 10 minutos y alcohol al 70% por un minuto. Después de cada solución desinfectante, se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Las miniestacas desinfectadas se cortaron nuevamente hasta obtener un explante de 2 centímetros de longitud aproximadamente y se sembraron en el medio de introducción que contiene sales MS (Murashine & Skoog, 1962), suplementadas con una mezcla de auxina/citoquinina que permite el desarrollo de los explantes. Después de 15 días de incubación a una temperatura promedio de 20°C, fotoperíodo de 16 horas luz/8 horas oscuridad y una intensidad lumínica de 2.000 lux, se retiraron los explantes contaminados y se dejaron los que estaban sanos en crecimiento, durante 15 días más.

Multiplicación in vitro

Los explantes sanos y libres de contaminación se dividieron y se pasaron al medio de multiplicación, que contiene sales MS (Murashine & Skoog, 1962), suplementadas con una mezcla de auxina/citoquinina que permite la formación de brotes axilares. Después de cuatro semanas de crecimiento a una temperatura promedio de 20°C, fotoperíodo de 16 horas luz/8 horas oscuridad y una intensidad lumínica de 2000 lux, se dividieron los explantes nuevos y se transfirieron a un medio fresco de multiplicación hasta obtener el número de explantes requeridos por genotipo.

Enraizamiento in vitro

Los explantes multiplicados se dividieron, se sembraron en el medio de enraizamiento, que contiene sales MS (Murashine & Skoog, 1962), suplementadas con una auxina que induce la formación de raíz. Los explantes se incubaron durante cuatro semanas a las mismas condiciones de temperatura, fotoperíodo e intensidad lumínica usadas para la multiplicación *in vitro*.

Medio de cultivo de una sola fase

Con el objetivo de implementar un medio de cultivo doble propósito para las etapas de multiplicación y enraizamiento de mora, se diseñó un experimento con cuatro medios de cultivo, con diferencia en las soluciones de macronutrientes y en la concentración hormonal. Se seleccionó el mejor medio, teniendo en cuenta la formación de raíz y brotes formados.

Endurecimiento de las vitroplantas

A las plantas con formación de raíz, se les retiró el gelificante con agua, se sumergió la raíz en una solución enraizadora y se sembraron en bandejas de germinación de 50 alvéolos que contenía una mezcla de turba y micorriza comercial (un kg/bulto de turba), que contiene esporas de *Glomus* sp., *Acaulospora* sp., *Scutesllospora* sp. y *Entrophospora* sp. en una concentración de 230 esporas viables/gramo de suelo. Se llevaron a una condición de cámara húmeda durante 15 días con una temperatura promedio de 22°C. Después de este tiempo se abrió paulatinamente el plástico para ir preparando las plantas a su condición *ex vitro* y se fertilizó foliarmente cada semana con una solución de N/P/K/ (10/52/10) más elementos traza, hasta completar cinco semanas de adaptación *ex vitro*. Cada 15 días se aplicó foliarmente una solución que contenía *Trichoderma konigiopsis* Th003 (1×10^6 conidios/ml), producida por el Laboratorio de Control Biológico del CBB (ver artículo Beltrán y Cotes, de esta compilación).

Embolsado de las plantas endurecidas

Las plantas con un tamaño de aproximadamente siete centímetros, de color verde intenso y con buena formación de raíz fueron sembradas en bolsas negras de una libra de capacidad que contenían una mezcla de suelo y cascarilla de arroz. Las plantas fueron fertilizadas foliarmente cada semana con una solución de N/P/K (15/15/15). Después de 15 días de su siembra, las plantas fueron llevadas a Monterrico para su adaptación a la zona.

Entrega de plántulas endurecidas a agricultores

La entrega de plántulas endurecidas de los seis genotipos seleccionados se llevó a cabo en cuatro etapas. La primera en septiembre de 2008 (9.723 plántulas), la segunda en noviembre de 2008 (3.300 plántulas) y las dos últimas en febrero de 2009 (10.000 plántulas). Cada vez se realizó un acta de entrega, un acuerdo de transferencia y un documento de recomendaciones para manejo del material *ex vitro* en vivero y campo (ver también artículo de Álvarez *et al.*, de esta compilación).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Establecimiento in vitro

La Figura 1 muestra el proceso de establecimiento *in vitro* desarrollado en el Laboratorio de Micropropagación de Plantas del CBB. Con el tratamiento de desinfección ajustado para el material de campo, se obtuvieron porcentajes de supervivencia entre el 27.9% y el 57.3%, dependiendo del genotipo (Tabla 1). El porcentaje de supervivencia para el genotipo Cerezos fue bajo, respecto a los otros evaluados; se observó una alta pérdida para los genotipos Cerezos y Riosucio por la presencia de una bacteria que se reflejaba, semanas después del establecimiento, con la licuefacción del medio de cultivo. Para los otros genotipos evaluados, los porcentajes de supervivencia fueron superiores al 40%.

Las diferencias en el porcentaje de supervivencia, de acuerdo al genotipo pueden ser producidas por factores que influyen en la respuesta al establecimiento *in vitro*, como por ejemplo: la época del año, el estado fisiológico de la planta y las condiciones ambientales. Estos factores, posiblemente, influyeron en la respuesta al establecimiento *in vitro*, ya que los genotipos fueron recolectados en diferentes épocas del año. Los primeros materiales seleccionados fueron los genotipos Sin Espinas, Monterrico y Monteloro y se inició su establecimiento en el año 2007, mientras que los genotipos Cerezos, Riosucio e ILS 1863 fueron introducidos en el año 2008.

Lo más aconsejable para el establecimiento de plantas *in vitro* es realizar una desinfección semanal de las plantas en condiciones de invernadero, con fungicidas y bactericidas que permitan obtener explantes con menor carga microbiana en el momento de su establecimiento. En este sentido, en el estudio desarrollado por Jones y Flores (2007) para el establecimiento *in vitro* de plantas de *R. idaeus*, provenientes de invernadero, se lograron porcentajes de supervivencia entre el 25% y el 45%.

Sin embargo, para este trabajo no fue posible realizar una desinfección previa, ya que no se contaba con el material genético en condiciones de invernadero sino en campo abierto. Esta situación fue tomada en cuenta para el desarrollo del protocolo de desinfección, que permitió obtener plantas sanas y vigorosas de los seis genotipos seleccionados para el estudio.

Multiplificación in vitro

Los explantes establecidos fueron transferidos al medio de multiplicación con el objetivo de inducir brotes múltiples, los cuales se separaron cada 30 días (Figura 2). En la Tabla 2 se observa el promedio del coeficiente de multiplicación para cada uno de los genotipos evaluados. Se obtuvieron coeficientes de multiplicación entre el 2.2 y 4.7, lo que permite conseguir entre 100 y 9.000 brotes por cada yema introducida, después de cinco subcultivos.

Castro y Díaz (2001) reportan que para la etapa de proliferación se pueden obtener hasta 500 brotes por yema establecida *in vitro* de *R. glaucus*. La diferencia en el número de brotes obtenidos puede ser atribuida a la combinación de hormonas en el medio de proliferación o a diferencias en los genotipos evaluados. El medio de cultivo en el CBB de CORPOICA contenía una mezcla de las hormonas ácido indol acético (AIA) y 6-Bencilaminopurina (BAP), mientras que el medio de proliferación de Castro y Díaz utiliza la hormona 6-benciladenina. Después de obtener el número de plantas requerido, los brotes fueron individualizados y sembrados en el medio de enraizamiento.

Enraizamiento in vitro

Los brotes individualizados y sembrados en el medio de enraizamiento permanecieron cuatro semanas hasta la formación del sistema radicular (Figura 3). Sin embargo, para los genotipos Rio-sucio y Cerezos se necesitaron cinco semanas para la formación de la raíz. El medio de cultivo contenía la hormona Acido Indol Butírico (AIB), pero se requiere evaluar por cada genotipo concentraciones diferenciales de la hormona AIB, que permitan el desarrollo de la raíz en un menor tiempo.

Medio de cultivo de una sola fase

Con el fin de mejorar el proceso de enraizamiento y acortar el tiempo de obtención de plantas completas, se diseñaron experimentos para obtener formación de brotes con un buen sistema radicular en el mismo medio. De cuatro medios evaluados, se seleccionó el medio Basal de Lepoivre, modificado con compuestos inorgánicos y orgánicos (Tabla 3). Este medio permitió el mejor desarrollo de brotes con la presencia de un buen sistema radicular para garantizar una buena adaptación de las plantas (Figura 4).

Endurecimiento de las vitroplantas

Las plantas enraizadas fueron endurecidas en bandejas de germinación con una mezcla de turba+micorriza (Figura 5). Después de cinco semanas de endurecimiento se obtuvieron plantas de un tamaño aproximado de 7 centímetros de longitud, con buena formación de raíz y de color verde intenso. Con el método empleado de endurecimiento, se obtuvieron porcentajes de supervivencia entre el 90 y el 95% para los seis genotipos evaluados.

Marulanda (2000), reporta porcentajes de supervivencia del 50%, 40% y 35% con la utilización de Jiffy pellets, mezcla de arena con tierra en bandejas de polipropileno y en bolsas plásticas, respectivamente. Castro y Díaz (2001), emplean como sustrato, arena desinfectada con agua caliente e inóculo micorrízico y Pérez (2007), evalúa diferentes sustratos que permiten la obtención de porcentajes de supervivencia más altos cuando se utiliza arena estéril+*Trichoderma*+micorriza.

La fase de endurecimiento y adaptación *ex vitro* resulta ser la más problemática en el proceso de producción de vitroplantas de mora, debido al alto grado de mortalidad de plántulas (50-90%), como consecuencia de una cutícula poco desarrollada, estomas no funcionales y un sistema radical débil que facilita la deshidratación por estrés hídrico. Los factores más determinantes para la supervivencia de las plantas son humedad, frecuencia de riego y calidad del sustrato (Marulanda, 2000). Mediante el trabajo desarrollado en el CBB de CORPOICA

en el proceso de endurecimiento de vitroplantas de mora, se obtuvieron plantas con un alto porcentaje de supervivencia y calidad física.

Embolsado de las plantas endurecidas

En el proceso de trasplante a bolsa plástica se utilizó una mezcla de suelo y cascarilla de arroz para el desarrollo de la parte radicular y aérea de la planta, antes de su siembra en campo (Figura 6). Después de un mes del trasplante se obtuvieron plantas de un tamaño aproximado de 10 cm de longitud, de color verde intenso y un sistema radicular bien formado.

Entrega de plántulas endurecidas a agricultores

Las vitroplantas embolsadas fueron transportadas a Monterrico y 23.000 de los seis genotipos seleccionados fueron entregados en muy buen estado a los agricultores de Monterrico, después de un tiempo de endurecimiento en vivero de CORPOICA (Figura 7 A). Sin embargo, para la primera y segunda entrega, una vez establecidas las plántulas en vivero de Monterrico, éstas empezaron a deteriorarse (Figura 7 B).

El clima ha sido el principal enemigo de las plántulas *ex vitro*. El sector de Monterrico se ubica a 2485 msnm con precipitaciones mayores a 2000 mm y luminosidad menor de cuatro horas diarias, lo cual facilita la aparición de enfermedades (Ver artículo de Álvarez *et al.*, de esta compilación). Lo anterior, aunado al inadecuado manejo del material por parte de los productores, a pesar de las recomendaciones impartidas, contribuyó a la pérdida de gran parte del mismo.

Para recuperar parte de este material, se acordó que un solo productor lo manejaría, siguiendo las recomendaciones indicadas y lo entregaría a los agricultores de cada asociación para siembra en sus fincas (Figura 7C-D). Los productores más juiciosos han logrado mantener plántulas en buen estado, después del trasplante a campo (Figura 7E). Ellos han observado que un buen manejo es fundamental para el éxito del proceso. De esta forma, ha sido posible salvar cerca del 25% de las dos primeras entregas.

Para las últimas entregas de materiales a los agricultores, las mesas receptoras ubicadas en el vivero de Monterrico, se desinfectaron con hipoclorito y creolina y se reubicó el plástico del invernadero y la polisombra (Figura 7F). Adicionalmente, CORPOICA entregó nuevas recomendaciones para el estricto cuidado del material. En visitas posteriores a estas últimas entregas, se encontró que las plántulas en el vivero reformado y con buen manejo fitosanitario estaban en excelentes condiciones (Figura 7 G). Los agricultores aprendieron que un manejo adecuado es fundamental para el mantenimiento y adaptación bajo condiciones de vivero de las plántulas *ex vitro*. Es necesario un seguimiento continuo del material de campo y de vivero, para dar el acompañamiento a los productores de mora y lograr una mayor competitividad productiva del material de siembra obtenido a través de técnicas *in vitro*.

CONCLUSIONES

Se llevaron a cabo procedimientos de ajuste, validación y escalamiento *in vitro* para los genotipos Monteloro, Riosucio, Cerezos, Sin Espinas, Castilla Monterrico Yema e ILS 1863, seleccionados con agricultores del sector Monterrico en Svania (Cundinamarca).

En la fase de establecimiento *in vitro* con tratamiento de desinfección ajustado para material de campo, se obtuvieron porcentajes de supervivencia entre 27.9% y 57.3% dependiendo del genotipo, siendo el genotipo Cerezos el más bajo por la presencia de una bacteria endógena.

En la fase de multiplicación, se lograron coeficientes entre el 2.2 y 4.7, lo que permitió obtener entre 100 y 9.000 brotes respectivamente, por cada yema introducida, después de cinco subcultivos.

Para la fase de enraizamiento, se lograron obtener condiciones apropiadas para cada genotipo. Los genotipos Cerezos y Riosucio son los de más tardío desarrollo. Adicionalmente, de cuatro medios evaluados, se seleccionó el Basal de Lepoivre modificado por permitir el mejor desarrollo de brotes con la presencia de un buen sistema radicular.

Durante la fase de endurecimiento, se obtuvieron porcentajes de supervivencia entre el 90 y el 95% para los seis genotipos. Los materiales fueron trasplantados en vivero y se entregaron 23.000 vitroplantas a los productores de Monterrico, una vez su sistema radicular se encontraba bien formado.

AGRADECIMIENTOS

A Patricia Martínez, Vicky Lorena Arango, Rodrigo González, Yolanda Torres, Camilo Martínez y Luz Stella Rincón, auxiliares del Laboratorio de Micropropagación de Plantas por su compromiso y trabajo para la entrega del material *in vitro*. A las asociaciones de productores de Monterrico. A Yaneth Camargo por su excelente apoyo logístico y administrativo.

BIBLIOGRAFÍA

- Agronet. 2006. Red de Información y Comunicación Estratégica del Sector Agropecuario, Colombia. Análisis-Estadísticas. En: <http://www.agronet.gov.co> (16/02/2008).
- Antía, G.A., Torres, J.F. 1998. El manejo post-cosecha de la mora (*Rubus glaucus* Benth). Serie de paquetes de capacitación sobre manejo en post-cosecha de frutas y hortalizas; No. 12. Programa Nacional de Capacitación en Manejo Post-Cosecha y Comercialización de Frutas y Hortalizas, Convenio SENA - Reino Unido. Centro Agroindustrial del SENA, A.A. 695 Armenia, Quindío, COLOMBIA. Edición Magnitud Ltda. Pereira. Impresión OP Gráficas, Santafé de Bogotá, D. C. Colombia. 272p.
- Castro, D., Díaz, J.J. 2001. Alternativas para el manejo integrado del cultivo de la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth.). Universidad Católica de Oriente, Unidad de Biotecnología Vegetal. 74p.
- Cetz, J. 2005. Micropropagación de chile dulce (*Capsicum annum* L. var. Najera.) y chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) con miras al mejoramiento genético del cultivo. Tesis de Maestría. CATIE, Costa Rica. 86 p.
- Chang Y., Reed B.M. 1999. Extended cold acclimation and recovery medium alteration improve regrowth of *Rubus* shoot tips following cryopreservation. *Cryo-Letters*. **20**: 371-376.
- Clark J.R., Stafne E.T., Hall H.K., Finn C.E. 2007. Blackberry Breeding and Genetics. En: *Plant Breeding Reviews*. J. Janick (Ed.), John Wiley & Sons, Inc. **29**: 19-144.
- Franco, G., Gallego, J., Tamayo, A., Heredia, L., Medina, G. 2000. Fertilización de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) en zonas frías del departamento de Caldas. En: *Memorias del tercer seminario frutales de clima frío moderado*. Centro de Desarrollo Tecnológico de Frutales C.D.T.F. Manizales. p. 81-87.
- Franco, G., Giraldo, M. 2002. El Cultivo de la mora. Quinta edición corregida. Manual de asistencia técnica. CORPOICA, Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, SENA, Comité Técnico Agropecuario de Risaralda, UMATA. Risaralda. 81p.
- Hannweg K. 1997. Towards the Development of a Method for the Clonal Propagation of Avocado Rootstocks. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*. p. 20:35
- Jones F., Flores D. 2007. Establecimiento *in vitro* y pruebas preliminares de micropropagación en medio semisólido y líquido de frambuesa (*Rubus idaeus* L). *Tecnología en Marcha*. **20**: 3.

- Kokko, H.I., Kivineva, M., Kärenlampi, S.O. 1996. Single-step immunocapture RT-PCR in detection of raspberry bushy dwarf virus. *BioTechniques*. **20**: 842-846.
- Martinussen, I., Nilsen, G., Svenson, L., Junttila, O., Rapp, K. 2004. In vitro propagation of cloudberry (*Rubus chamaemorus*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. **78**: 43-49.
- Marulanda, A.M. 2000. Selección, propagación y caracterización genética de mora (*Rubus glaucus* Benth). Tesis Doctor en Ciencias Agrícolas. Colombia. Universidad Agraria de la Habana. p. 3-65.
- Marulanda, M.L., Marquez, M.P. 2002. Evaluación de la estabilidad genética de vitroplantas de *Rubus glaucus* Benth mediante marcadores moleculares RAPD. *Actualidades Biológicas*. **24**: 31-36.
- McNicol R.J., Graham J., 1990. In vitro regeneration of *Rubus* from leaf and stem segments. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **21**: 45-50.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*. **15**: 473-479.
- Palonen, P., Buszard, D. 1998. In vitro screening for cold hardiness of raspberry cultivars. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. **53**: 213-216.
- Pelto M.C., Clark, J.R. 2000. In vitro shoot tip culture of *Rubus* Part I. Review. *Small fruits Rev.* **1**: 69-82.
- Pérez, J., Alvarado, Y., Gómez, R., Jiménez, E., Orellana, P. 1998. Propagación y mejoramiento genético de las plantas por biotecnología. Instituto de biotecnología de las plantas. Santa clara, Cuba. CU. p 57-79.
- Pérez, M.J. 2007. Efecto de cuatro sustratos en el endurecimiento de vitroplantas de mora (*Rubus glaucus* Benth) variedad Risaralda, en el municipio de Sabanas, Departamento de Matriz. Tesis de Grado. Managua.
- Swartz H.J., Bors, R.H., Mohamed, F.A., Naess, S.K. 1990. The effect of in vitro pre-treatment on subsequent shoot organogenesis from excised *Rubus* and *Malus* leaves. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **21**: 179-184.
- Taylor J., Harrier, L. 2000. A comparison of nine species of arbuscular mycorrhizal fungi on the development and nutrition of micropropagated *Rubus idaeus* L. cv. Glen Prosen (Red Raspberry). *Plant Soil*. **225**: 53-61.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Porcentaje de supervivencia en la etapa de establecimiento *in vitro* de mora

Genotipo	% supervivencia
Cerezos	27.9
Riosucio	37.5
ILS 1863	42.5
Monteloro	57.3
Monterrico	49.3
Sin Espinas	47.4

Tabla 2. Promedio de coeficiente de multiplicación *in vitro* de mora

Genotipo	Promedio coeficiente de multiplicación
Cerezos	3
Riosucio	2.2
ILS 1863	2.2
Monteloro	4.1
Monterrico	4.1
Sin Espinas	4.7

Tabla 3. Medio de cultivo seleccionado para el cultivo de una sola fase

Componentes	Solución madre	Cantidad por litro
Macro Lepoivre	20X	50 ml
Micro Lepoivre	100X	1 ml
Hierro MS	50X	10 mL
Tiamina	1000ppm	0.4 mL
GA3	1000ppm	1.0 mL
AIB	600ppm	0.17 mL
Inositol	-	0.1 gr
Azúcar	-	20 gr
GelRite	-	3 gr
pH	-	5.8



A



B



C



D

Figura 1. Proceso de establecimiento *in vitro* de mora. **A.** Estacas de mora. **B.** Corte de miniestacas. **C.** Miniestacas en desinfección. **D.** Vitroplantas de mora establecidas



Figura 2. Vitroplantas de mora multiplicadas *in vitro* listas para ser individualizadas.



Figura 3. Vitroplantas de mora en medio de enraizamiento.

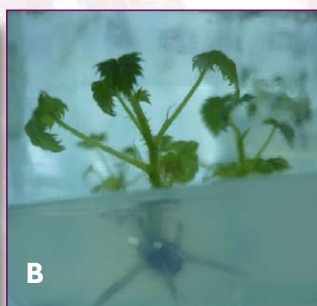


Figura 4. Vitroplantas de mora completas formadas en el medio Basal de Lepoivre. **A.** Planta *in vitro* con buen estado de desarrollo foliar y formación de sistema radicular. **B.** Planta completa bien desarrollada lista para adaptación *ex vitro*.



Figura 5. Vitroplantas de mora endurecidas en bandejas de germinación y cámara húmeda en invernadero de Corpoica.

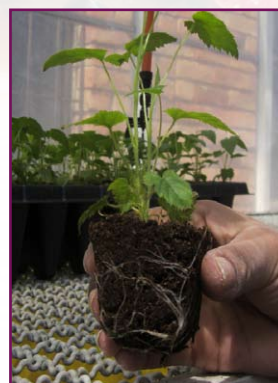


Figura 6. Vitroplanta de mora endurecida lista para embolsar.



Figura 7. Entrega de plántulas a agricultores en Monterrico (Silvania). **A.** Primera entrega. **B.** Mal estado de plántulas de la primera entrega en vivero. **C.** Manejo por un solo productor y entrega a cada asociación. **D.** Material manejado por un solo productor completamente recuperado, según las recomendaciones de CORPOICA. **E.** Material recuperado sembrado en campo. **F.** Preparación de vivero previo a últimas entregas. **G.** Buen estado de material de las últimas entregas en vivero, según las recomendaciones de CORPOICA.

NOTA TÉCNICA

Evaluación social y económica *ex ante y ex post*

Paredes Zambrano Guillermo Alfredo¹, Barrero Meneses Luz Stella²

RESUMEN

Con el fin de caracterizar la línea base de aspectos sociales y económicos del cultivo de la mora por parte de agricultores del sector Monterrico en Sylvania, adscritos al proyecto “Certificación y escalamiento de material de mora con potencial nutritivo y nutracéutico para entrega a pequeños agricultores” y de hacer seguimiento y evaluación a los cambios técnicos ligados al proyecto, relacionados con la capacitación impartida para el manejo del cultivo en un lote sembrado con materiales para evaluación, selección y producción limpia, se llevaron a cabo dos talleres participativos, uno al inicio y otro al final del proyecto. El taller inicial se realizó para identificar la tecnología de producción utilizada por los productores en el cultivo de la mora. Una vez finalizado el ciclo de capacitación, se hizo un taller final con el objeto de medir el nivel de conocimiento adquirido en las diferentes capacitaciones y el uso o implementación de las tecnologías propuestas por el proyecto.

Como resultado de la comparación entre el sistema tradicional de producción, con la tecnología propuesta, los agricultores adquirieron nuevos conocimientos acerca del manejo del cultivo en el lote experimental para la ejecución del proyecto y la importancia de seleccionar materiales de buena calidad y producirlos de manera limpia. Sin embargo, los conocimientos no han sido aplicados totalmente en sus parcelas, debido principalmente a que aún no cuentan con cultivos nuevos, por lo que se hace necesario realizar seguimiento al montaje de nuevas parcelas. En una segunda fase del proyecto se esperaría evaluar el impacto socio-económico sobre los ingresos y la producción de los cambios en productividad ligados a la adopción de nuevos genotipos y las tecnologías vinculadas con este proceso.

PALABRAS CLAVE: evaluación, impacto, *ex ante*, *ex post*, tecnología

INTRODUCCIÓN

Un estudio de mapeación de las zonas óptimas actuales y potenciales de mora, lulo, pitaya, uchuva y mango común presenta a la Región del Sumapaz como una de las zonas del Departamento de Cundinamarca que ofrece mejores condiciones comparativas (suelos, clima, agua, infraestructura, etc.) para la producción de mora. No obstante, las condiciones en que este proceso productivo se ha desarrollado, lo coloca en una difícil situación en términos de competitividad. En efecto,

1 Centro de Investigación (C.I.) Tibaitatá, CORPOICA, Km. 14 vía Mosquera, Cundinamarca.

2 Laboratorio de Genética Molecular Vegetal, Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB), CORPOICA, Km. 14 vía Mosquera, Cundinamarca.

Autor de correspondencia: Guillermo Alfredo Paredes Zambrano, M.Sc. Economía, e-mail: aparedes@corpoica.org.do

aspectos tales como la dispersión de las áreas sembradas, las limitaciones para el acceso a material genético certificado, la utilización excesiva y/o sin criterio técnico de productos químicos, las inadecuadas prácticas de manejo del cultivo y de los procesos de cosecha y poscosecha, la intermediación excesiva en el proceso de comercialización, entre otros, ponen de presente la necesidad de adelantar acciones coherentes y consistentes en materia de desarrollo tecnológico y transferencia de tecnología que redunden en el mejoramiento de la competitividad del producto (Pinzón *et al.*, 2002 y 2004).

Según Estébanez (2002), “El impacto social de la ciencia y de la tecnología ha sido definido como los efectos positivos o negativos en la población, de la incorporación de conocimiento científico y tecnológico en prácticas sociales, hábitos e instituciones. Para ello, necesariamente, el análisis se dirige a la sociedad y los cambios que en ella operan y los diversos aspectos relacionados a la ciencia y a la tecnología pasan a constituirse en factores explicativos de estos cambios.” Estébanez, añade que la dificultad básica que se plantea en un análisis de esta naturaleza es la factibilidad de identificar y ponderar la intervención de la ciencia y la tecnología en la sociedad, la cultura y la economía y, en particular, en la calidad de vida de la población, ante la existencia de muchos factores que operan en la producción de los cambios sociales.

Una de las vías más firmes para realizar un estudio de impacto efectivo son los estudios retrospectivos que limitan el análisis a la reconstrucción histórica de la secuencia o cadena de procesos de conocimiento y sus efectos sociales en un tema particular. Otra modalidad existente que también incorpora la dimensión temporal son los estudios de tipo prospectivo basados en la posibilidad de establecer a futuro los efectos del conocimiento producidos en determinado campo o las consecuencias de la difusión y uso de ciertas tecnologías (Estébanez, 2002).

La metodología utilizada en el presente trabajo busca combinar las dos modalidades, mediante el establecimiento de la línea base del cultivo de la mora, es decir, la tecnología tradicional utilizada por el productor y sus implicaciones económicas, para luego compararla, al final del proceso, con la nueva tecnología utilizada por el productor y los efectos sobre su producción e ingresos. El método a seguir consiste en realizar, al inicio del proceso, una encuesta a los productores para ver su nivel de desarrollo tecnológico y luego realizar esta misma encuesta al final del proceso para identificar los cambios tecnológicos introducidos por los productores en su sistema de producción.

En el contexto anterior, el proyecto código I 144: “Certificación y escalamiento de material de mora con potencial nutritivo y nutracéutico para entrega a pequeños agricultores” financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR), referido en la introducción de esta compilación, contempló el establecimiento de la línea base del cultivo de la mora, al inicio del proceso, en una zona del Sumapaz, ubicada en el sector Monterrico, vereda Agua Bonita del municipio de Silvania (Cundinamarca).

Durante el proyecto se estableció un lote experimental para la siembra, evaluación y selección de materiales promisorios por sus características morfológicas, agronómicas, nutracéuticas y nutricionales (ver artículos de Álvarez, *et al.* y Espinosa *et al.*, de esta compilación). El material seleccionado fue producido de manera limpia mediante multiplicación *in vitro* y adaptación *ex vitro* y fue entregado a los agricultores para la siembra en sus terrenos (ver artículo de Valderrama *et al.*, de esta compilación). El material de propagación fue también evaluado con fertilizantes y controladores biológicos con el fin de mejorar su vigor y sanidad (Roveda *et al.*, 2007, Roveda *et al.* y Beltrán y Cotes, de esta compilación). Durante el proceso se llevó a cabo un programa de capacitación integral a los agricultores (ver Álvarez *et al.*, de esta compilación).

Al final del proyecto se realizó la misma encuesta de la línea base para identificar cambios tecnológicos que los agricultores hubiesen introducido en su sistema de producción como resul-