

Evaluación de sustratos para la producción de semillas, en cultivos de interés, con plantas *in vitro* y estacas, en fase de aclimatización

Emma Pineda-Ruiz*, Rafael Gómez-Kosky, Aydiloide Bernal-Villegas, Osmany Aday-Díaz, Rafael Más-Martínez, Irenaldo Delgado-Mora, Ilia Lugo-Ruiz, Dunia Núñez-Jaramillo, Edel Toledo-Rodríguez

Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA VC)
Autopista Nacional, km 246. Villa Clara, Cuba

*emma.pineda@inicavc.azcuba.cu

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo radica en brindar un grupo de resultados obtenidos en cuanto a la utilización de sustratos, en la producción de semillas, en caña de azúcar y otros cultivos de interés, en correspondencia con la diversificación en el sector agroazucarero, de gran utilidad para la base productiva. Fueron estudiados los sustratos empleados en la fase de aclimatización de plantas *in vitro* de los cultivos caña de azúcar (cultivar C95-416), banano (cultivar FHIA-01) y por estacas en plantas proteicas (tithonia, cultivar Occidental 16 y morera cultivar Criolla). Se realizó un experimento en condiciones semicontroladas y se utilizaron sustratos compuestos, en lo fundamental, por compost, lodo de biogás a partir de vinaza, zeolita y sus combinaciones. Se realizó la caracterización de su composición química y se evaluó el crecimiento de las plantas *in vitro* en condiciones *ex vitro*, y las propagadas por estacas hasta los 60 días. Se realizaron las siguientes evaluaciones: supervivencia, altura, diámetro, hojas totales, activas e inactivas, largo y ancho de la hoja +1 y de la hoja mayor en banano y en las plantas proteicas, longitud de la raíz, plantas existentes, dañadas, estado fitosanitario, peso fresco foliar y de la raíz y formación del cepellón. El residuo sólido del biogás formado a partir de vinaza, presentó un contenido superior de materia orgánica y macroelementos totales, lo que permitió el crecimiento de plantas *in vitro* en condiciones *ex vitro* y de las estacas, por lo que se destacó su uso en la fase de aclimatización para los cultivos estudiados.

Palabras clave: cultivos, sustratos, compost, vinaza.

ABSTRACT

The objective of this work is to provide a group of results obtained regarding the use of substrates in sugarcane and other crops of interest in the production of seeds, in correspondence with the diversification in the agrosugar sector, very useful for the productive base. The substrates used in the *in vitro* plant acclimatization phase of sugar cane (cultivar C95-416), banana (cultivar FHIA-01) and cuttings in protein plants (tithonia cultivar Occidental 16 and morera cultivar Criolla) were studied. An experiment was carried out under semi-controlled conditions and substrates composed mainly of compost, biogas sludge from vinasse, zeolite and their combinations were used. The characterization of their chemical composition was carried out and the growth of *in vitro* plants was evaluated under *ex vitro* conditions, and those propagated by cuttings up to 60 days. The following evaluations were made: survival, height, diameter, total, active and inactive leaves, length and width of the leaf +1 and of the largest leaf in banana and in protein plants, root length, existing plants, damaged, phytosanitary status, leaf and root fresh weight and root ball formation. The solid residue of the biogas formed from stillage, presented a higher content of organic matter and total macroelements, which allowed the growth of *in vitro* plants under *ex vitro* conditions and cuttings, highlighting its use in the acclimatization phase for the crops studied.

Key words: crops, substrates, compost, vinasse.

INTRODUCCIÓN

El manejo de las plantas *in vitro*, en condiciones *ex vitro*, de cultivos como la caña de azúcar (*Saccharum spp.*) y el banano (*Musa sp.*) resulta determinante para lograr la obtención de más de un 90 % de supervivencia. Para ello, la elección del material a considerar en esta etapa es importante, para evitar la pérdida de material vegetal, según Cetré *et al.* (1).

El éxito del proceso de propagación *in vitro* radica en lograr la aclimatización de las plantas *in vitro*, en condiciones ambientales *ex vitro*, han asegurado Jo-García *et al.* (2). Según García *et al.* (3), la eficiencia del proceso de aclimatización de las plantas de caña de azúcar *in vitro*, en condiciones *ex vitro* depende, también, de varios factores, entre los que destacan: la elección del sustrato y la obtención de una relación adecuada entre los componentes de la mezcla, que asegure buena supervivencia.

El sustrato a emplear deberá permitir la formación de un cepellón con una buena estructura, ha indicado Cortegaza (4). Para su elaboración se utilizan materiales de disponibilidad local, tales como compost, obtenido de los restos de la industria de la caña de azúcar (cachaza), aseguran Díaz *et al.* (5), la zeolita y el residuo sólido de biogás, según Pineda *et al.* (6), entre otros.

La propagación asexual, a través de estacas, tiene como característica la reproducción de individuos iguales genotípicamente al progenitor y se define como cualquier porción vegetativa que, separada de la planta madre, es capaz de formar una nueva planta. Esta técnica, según Padilla *et al.* (7), se emplea para el caso de las plantas proteicas, como la tithonia (*Tithonia diversifolia*) y la morera (*Morus alba L*), en la que el sustrato juega un papel decisivo en la obtención de plantas de calidad, evaluado por Borge *et al.* (8).

Teniendo en cuenta lo señalado anteriormente, el presente trabajo tuvo como objetivo brindar un grupo de resultados obtenidos en cuanto a la utilización de sustratos en caña de azúcar, banano, tithonia y morera en la producción de semillas, en correspondencia con la diversificación en el sector agroazucarero, de gran utilidad para la base productiva.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la fase de aclimatización *ex vitro* de la Biofábrica ubicada en el INICA de Villa Clara, municipio Ranchuelo. El experimento se realizó en condiciones semicontroladas en la época de seca, con un diseño de bloque al azar. Se evaluaron un total de cuatro cultivos: caña de azúcar, banano y plantas proteicas (tithonia y morera). En todos los casos los sustratos utilizados fueron analizados para conocer su composición química. Se les determinó: pH; contenido de materia orgánica y macronutrientes totales (nitrógeno, fósforo y potasio).

Los métodos empleados fueron los siguientes: Método potenciométrico (pH); Método de Walkey-Black (combustión húmeda) para la determinación de materia orgánica y Método de Kjeldahl para nitrógeno, fósforo y potasio total. Nitrógeno con recogida en ácido bórico y mezcla de indicadores; fósforo por colorimetría con formación del complejo amarillo metavanadato - molibdeno y potasio total por fotometría de llama, según INICA (9). En el caso de la caña de azúcar y el banano, el material vegetal fue a partir de plantas *in vitro*, con 15 días de cultivo, en medio de cultivo de enraizamiento, propuesto por Jiménez *et al.* (10), mientras que las plantas proteicas fueron a partir de estacas.

Las plantas *in vitro*, durante el tiempo que duró el experimento, se atendieron según el manual de procedimientos establecido por Montes de Oca *et al.* (11), estas fueron trasplantadas a bandejas plásticas de 60 alveolos, con capacidad cada uno para 143 cm³ de sustrato.

De forma similar, se trataron las obtenidas por estacas, las que permanecieron en condiciones de umbráculo, cubierto con una malla-sombra de color negro (Sarán) que permitió la reducción de la intensidad luminosa al 50 %. El riego se realizó con microaspersores dos veces al día, durante 5 minutos.

El experimento se desarrolló de enero a marzo del 2022, con una duración de 60 días, acorde con la época en que se estableció. Los cultivos empleados fueron: caña de azúcar (cultivar C95-416); banano (cultivar FHIA-01) y plantas proteicas (tithonia cultivar Occidental 16 y morera cultivar Criolla). Se evaluaron dos tratamientos: el compost del biogás, a partir de vinaza, como parte del sustrato y un control (sustrato utilizado en la biofábrica) que tuvo como base el compost de cachaza:

- Sustrato I: 80 % de compost + 20 % de zeolita (control). Procedencia (Compost: EAA Ifraín Alfonso, en Ranchuelo y zeolita de la fábrica ubicada en Tasajera, Ranchuelo. Villa Clara).
- Sustrato II: 80 % del residuo sólido obtenido del biogás, a partir de vinaza + 20 % de zeolita. Procedencia (Residuo sólido: Biogás, ubicado en la UEB Heriberto Duquesne, en Remedios, Villa Clara y zeolita de la fábrica ubicada en Tasajera, Ranchuelo. Villa Clara).

Para cada cultivo y sustrato empleados se establecieron dos bandejas, con 60 plantas *in vitro* para caña de azúcar y banano y con estacas para las plantas proteicas.

Las evaluaciones realizadas fueron:

A los 25 días del trasplante se evaluó la supervivencia (según sistema de control de la calidad) a 120 plantas *in vitro* (caña de azúcar y banano) y en las plantadas por estacas y a los 60 días de cultivo. En todos los casos, fueron seleccionadas al azar ocho plantas por cada sustrato, lo que hace un total de 16 plantas por cultivo, para evaluar la altura y el diámetro del tallo, número de hojas totales y activas, largo y ancho de la hoja +1 y mayor en el resto de los cultivos, longitud de la raíz, peso fresco foliar y en la raíz, así como el estado fitosanitario y la formación del cepellón.

Análisis estadístico

Los datos de las variables analizadas fueron procesados, con el empleo del paquete estadístico Statistica versión 8. Para el análisis de la normalidad de las variables se utilizó la prueba de Shapiro Wilk, la comparación entre las medias fue a través de la alternativa paramétrica del Análisis de varianza y las diferencias se determinaron con la prueba Tukey para $p \leq 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de los materiales empleados como sustratos

Como se puede apreciar en la tabla 1, ambos sustratos presentan un pH neutro, alto contenido de materia orgánica y adecuados contenidos de macroelementos totales. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Arzola *et al.* (12) en la caracterización media que muestra el compost producido por el INICA y de la vinaza, material que da origen al segundo sustrato empleado en la investigación y en el que supera, en todos los indicadores determinados, al empleado tradicionalmente; o sea, al compost utilizado en la biofábrica.

Tabla 1. Caracterización de los materiales en los sustratos empleados (base masa seca)

Sustrato	pH	MO	N	P	K
		(%)			
Compost de cachaza	6.6	14.43	1.04	0.24	0.30
Residuo sólido del biogás, a partir de vinaza	6.7	20.41	2.01	0.62	0.45

Altura y diámetro de las plantas

Relacionado con estos dos indicadores del crecimiento, en la tabla 2 se puede apreciar para la caña de azúcar, banano y tithonia, que se encontraron diferencias significativas entre ambos sustratos, a favor de la mezcla del lodo del biogás a partir de vinaza, mientras que para el caso de la

morera es factible el empleo de ambos sustratos, al no encontrarse diferencia entre ellos. Resultados similares fueron obtenidos por Pineda *et al.* (13) para la caña de azúcar; además, Martínez *et al.* (14), señalaron que en banano, al adicionar al sustrato vermicompost, es decir incrementar el contenido de materia orgánica en el sustrato, estos indicadores fisiológicos, también fueron favorecidos.

Asimismo, Padilla *et al.* (7) han afirmado que, en la tithonia, el estado de desarrollo de las plántulas a los 60 días después de la siembra se favoreció, al cubrir las semillas con materia orgánica, pues la altura y el diámetro del tallo tuvieron mejor comportamiento para esta etapa temprana del establecimiento.

Por su parte, Espinosa *et al.* (15), en investigaciones realizadas, afirmaron que los resultados obtenidos indican el efecto beneficioso de la inclusión de estiércol vacuno en estas mezclas. Esto pudiera estar asociado a la mejoría de las propiedades físicas del sustrato y al contenido de nutrientes y materia orgánica que se logra con la adición del estiércol, para el caso de la morera. Se evidencia que el contenido de materia orgánica es fundamental en la selección del sustrato.

Tabla 2. Efecto en la altura y el diámetro de cuatro cultivos, del compost del biogás a partir de vinaza, como parte del sustrato

Trat.	Cultivos							
	Caña de azúcar		Banano		Tithonia		Morera	
	Altura	Diámetro	Altura	Diámetro	Altura	Diámetro	Altura	Diámetro
	(cm)							
I	10.67 b	0.86 b	9.63 b	4.76 b	10.87 b	1.49 b	13.77 a	1.07 a
II	15.15 a	1.72 a	13.66 a	5.85 a	21.58 a	2.03 a	14.60 a	1.10 a
<i>n</i>	16	16	16	16	16	16	16	16
<i>p</i>	0.0001	0.0322	0.0001	0.0097	0.0003	0.0823	0.1838	0.6283
<i>EE</i>	0.61	0.18	0.56	0.19	1.59	0.15	0.31	0.03

Sustratos: I- 80 % de compost + 20 % de zeolita (control); II- 80 % del residuo sólido obtenido del biogás a partir de vinaza + 20 % de zeolita.

Hojas totales y activas

Referente a la cantidad de hojas totales y activas, en el momento de la evaluación final (60 días), sólo se apreciaron diferencias significativas entre ambos sustratos (tabla 3). En el cultivo de la caña de azúcar; los resultados fueron similares a los obtenidos por Pineda *et al.* (13), al utilizar ambos sustratos en el cultivar C1051-73. Para los otros tres cultivos, no se encontraron diferencias significativas en estos indicadores, con el empleo de ambos sustratos.

Tabla 3. Efecto del compost de biogás a partir de vinaza, como parte del sustrato en hojas totales y activas de los cuatro cultivos evaluados

Trat.	Cultivos							
	Caña de azúcar		Banano		Tithonia		Morera	
	Totales	Activas	Totales	Activas	Totales	Activas	Totales	Activas
	Número de hojas							
I	6.38 b	4.88 b	6.38 a	5.13 a	5.88 a	5.50 a	2.38 a	2.38 a
II	7.35 a	5.88 a	7.00 a	5.13 a	7.25 a	6.88 a	2.75 a	2.75 a
<i>n</i>	16	16	16	16	16	16	16	16
<i>p</i>	0.0209	0.0072	0.0950	0.9999	0.1018	0.1382	0.4015	0.4015
<i>EE</i>	0.21	0.18	0.15	0.09	0.41	0.42	0.18	0.18

Sustratos: I- 80 % de compost + 20 % de zeolita (control); II- 80 % del residuo sólido obtenido del biogás a partir de vinaza + 20 % de zeolita.

Largo y ancho de la hoja +1 para caña de azúcar y mayor en el resto de los cultivos

Como se puede apreciar en la tabla 4, tanto para el largo como para el ancho de este tejido, evaluado en los cuatro cultivos, se encontraron diferencias significativas entre ambos indicadores. Para la caña de azúcar, banano y la tithonia, a favor del lodo del biogás a partir de vinaza. Estos resultados obtenidos coinciden con los alcanzados por Pineda *et al.* (6, 13), al evaluar los cultivares C90-469 y C1051-73.

En investigaciones realizadas con diferentes sustratos (material turba, en diferentes proporciones), Luna *et al.* (16) no encontraron diferencias significativas en ambos indicadores para el banano. En el caso de la morera no se detectaron diferencias significativas para ambos indicadores y el sustrato I alcanzó los valores más bajos; o sea, el que utiliza como sustrato el compost elaborado a partir de cachaza y mezclado con zeolita, lo que pudiera relacionarse con su composición nutritiva (12).

Tabla 4. Efecto del compost del biogás a partir de vinaza como parte del sustrato, en el largo y ancho de la hoja +1 de los cultivos evaluados

Trat.	Cultivos							
	Caña de azúcar		Banano		Tithonia		Morera	
	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho
	(cm)							
I	30.72 b	0.55 b	13.71 b	6.13 a	4.52 b	2.57 b	2.10 a	1.46 a
II	34.96 a	0.79 a	16.44 a	6.64 a	7.36 a	4.21 a	2.76 a	1.92 a
<i>n</i>	16	16	16	16	16	16	16	16
<i>p</i>	0.0068	0.0004	0.0019	0.1824	0.0005	0.0023	0.1152	0.0934
<i>EE</i>	0.83	0.04	0.43	0.15	0.45	0.27	0.19	0.12

Sustratos: I- 80 % de compost + 20 % de zeolita (control); II- 80 % del residuo sólido obtenido del biogás a partir de vinaza + 20 % de zeolita.

Longitud de la raíz

Respecto a este indicador del crecimiento, se obtuvieron diferencias significativas en los cuatro cultivos evaluados, a favor del sustrato que contempla la aplicación del residuo sólido del biogás a partir de vinaza con zeolita, como se muestra en la tabla 5. Los resultados obtenidos fueron similares a los informados por Pineda *et al.* (13) en caña de azúcar. Florio (17) también, señaló, en banano, diferencias significativas con el empleo de diferentes sustratos como el Promix® (turba) y aserrín de coco. Villalta *et al.* (18), para el caso de la morera, obtuvo diferencias significativas relacionadas con este indicador, a favor del sustrato elaborado a partir de excretas bovinas y desechos vegetales.

Tabla 5. Efecto del compost del biogás a partir de vinaza, como parte del sustrato, en la longitud de la raíz de los cultivos evaluados

Trat.	Cultivos			
	Caña de azúcar	Banano	Tithonia	Morera
	Longitud de la raíz (cm)			
I	8.00 b	6.89 b	2.04 b	0.50 b
II	9.77 a	7.38 a	7.64 a	1.01 a
<i>n</i>	16	16	16	16
<i>p</i>	0.0069	0.0379	0.0008	0.0028
<i>EE</i>	0.41	0.15	0.83	0.09

Sustratos: I- 80 % de compost + 20 % de zeolita (control); II- 80 % del residuo sólido obtenido del biogás a partir de vinaza + 20 % de zeolita.

Peso fresco foliar y de raíz

En lo que se refiere al peso de la parte foliar se detectaron diferencias significativas a favor del sustrato II, en los cultivos caña de azúcar, banano y tithonia, no así en la morera, pues para ambos sustratos los resultados no difieren entre sí. Según Pentón *et al.* (19), en investigaciones con morera no informaron diferencias estadísticas significativas para el peso foliar, con el empleo de diferentes sustratos, en los que incluyeron humus y compost.

En cuanto al peso fresco de la raíz, la caña de azúcar no mostró diferencias significativas, mientras que el resto de los cultivos sí (tabla 6). Resultados obtenidos en el peso fresco foliar y de raíz, por Martínez *et al.* (14) indicaron que el uso de sustratos y soluciones orgánicas, aumentó el peso de las raíces de plántulas de banano y plantas proteicas entre otros indicadores.

Tabla 6. Efecto del compost del biogás, a partir de vinaza como parte del sustrato, en el peso fresco foliar y de raíz de los cultivos evaluados

Trat.	Cultivos							
	Caña de azúcar		Banano		Tithonia		Morera	
	Foliar	Raíz	Foliar	Raíz	Foliar	Raíz	Foliar	Raíz
	Peso fresco (g)							
I	2.44 b	1.32 a	8.85 b	1.87 b	6.37 b	0.47 b	3.26 a	0.15 b
II	4.64 a	2.21 a	12.42 a	2.97 a	11.42 a	1.81 a	3.34 a	0.22 a
<i>n</i>	16	16	16	16	16	16	16	16
<i>p</i>	0.0039	0.083	0.0019	0.0001	0.0565	0.0183	0.8818	0.0020
<i>EE</i>	0.42	0.26	0.56	0.17	1.11	0.26	0.21	0.01

Sustratos: I- 80 % de compost + 20 % de zeolita (control); II- 80 % del residuo sólido obtenido del biogás a partir de vinaza + 20 % de zeolita.

Evaluación fitosanitaria

Durante el desarrollo del experimento, en los chequeos fitosanitarios sistemáticos realizados, no se detectaron afectaciones por plagas ni enfermedades de importancia, durante los 60 días de duración y en el muestreo final realizado. Estos resultados apoyan los informados por Hernández *et al.* (20) en plátano, en los que todas las plantas *in vitro* mostraron un adecuado estado fitosanitario en los tratamientos, con 100 % de supervivencia durante la fase de aclimatización, con el sustrato empleado de compost de estiércol vacuno.

También, Medina *et al.* (21) en plantas de morera, encontraron una baja presencia de plagas y enfermedades en todas las combinaciones de sustratos empleadas, lo que pudiera estar relacionado con el estatus de las plantas que proporcionaron las estacas y las propias características del cultivar. Por su parte, Medina *et al.* (22) no encontraron en sus investigaciones con tithonia afectaciones por plagas y enfermedades, con el empleo de diferentes sustratos (mezcla de suelo con estiércol bovino tratado).

Formación del cepellón

En los cuatro cultivos evaluados, a los 60 días, se puede apreciar en las figuras 1, 2 y 3 un buen estado del cepellón en caña de azúcar, banano y tithonia, lo que pudiera deberse a las buenas condiciones físicas que se aprecian en los sustratos (mezcla de fuente orgánica y zeolita). En el caso de la morera, apenas hubo formación de cepellón, que pudiera deberse a que este cultivo requiera de un mayor tiempo en esta fase para su formación y no sólo de 60 días, como lo contempló el experimento realizado.

Se conoce que, en la multiplicación por esquejes, se selecciona un trozo de rama joven (de 6 meses a 1 año) con buen volumen de yemas. Cada esqueje o estaca tendrá entre 15 y 20 centímetros de longitud, que induce al crecimiento de raíces y se cultiva en una maceta con buen contenido en humedad, sustrato parecido al empleado con las semillas y buena temperatura, según la guía de cultivo de la morera (23).



Figura 1. Formación del cepellón en ambos sustratos, cultivo de caña de azúcar (C97-445), 60 días después del trasplante.

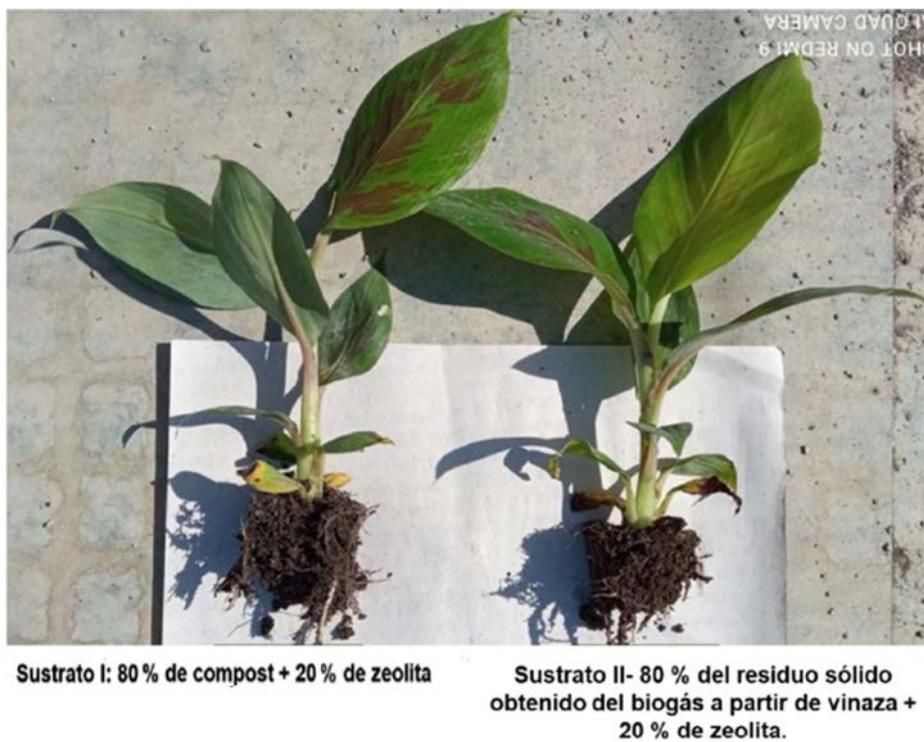


Figura 2. Formación del cepellón en ambos sustratos. Cultivo de banano (FHIA-01), 60 días después del trasplante.

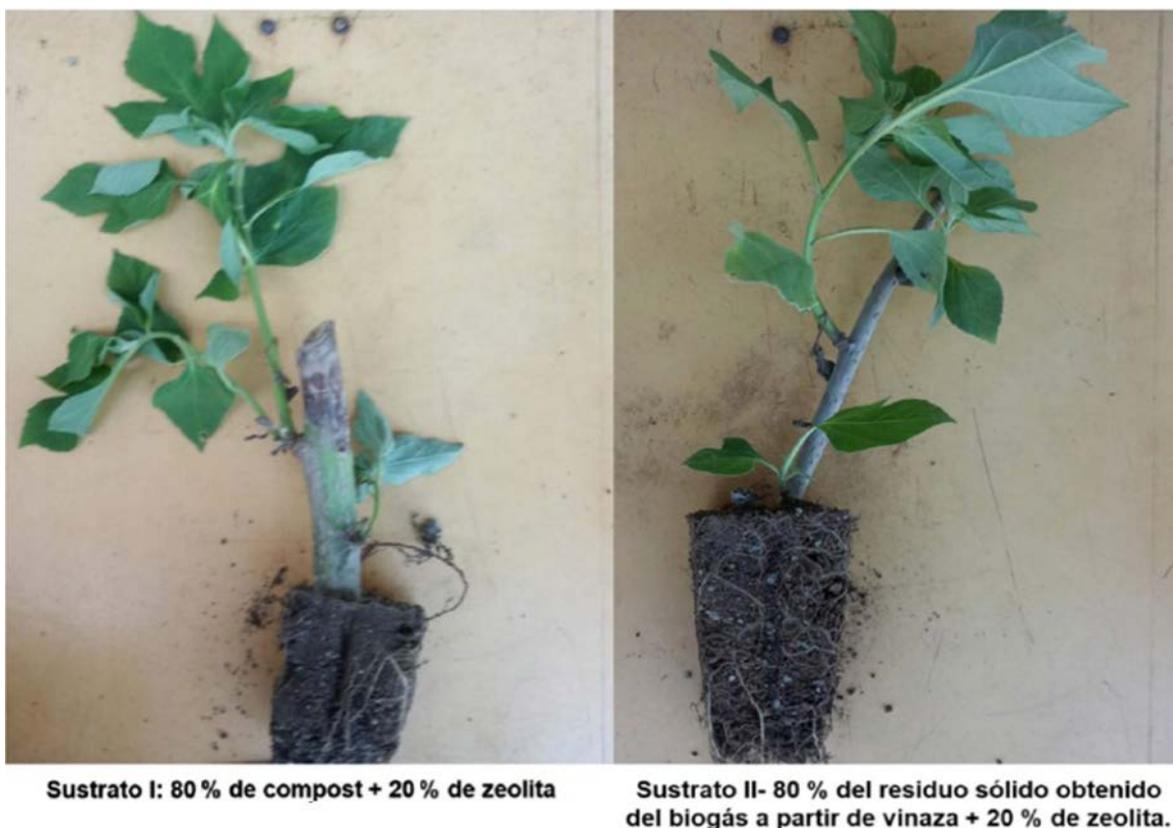


Figura 3. Formación del cepellón en ambos sustratos, cultivo Tithonia (Occidental 16), 60 días después del trasplante.

CONCLUSIONES

1. El empleo de las variantes de sustrato evaluadas en la fase de aclimatización, para los cuatro cultivos en estudio: caña de azúcar, banano, tithonia y morera resultó factible en correspondencia con su composición química.
2. Indicadores evaluados, como: peso fresco de la raíz en caña de azúcar; hojas totales, activas y ancho de la hoja mayor en banano y tithonia y altura, diámetro del tallo, hojas totales y activas, largo y ancho de la hoja mayor, así como el peso fresco de la raíz en el cultivo de la morera, no mostraron diferencias significativas entre tratamientos, lo que brinda la posibilidad del uso de los dos sustratos, indistintamente.
3. En la formación del cepellón, la variante de aplicación del lodo del biogás a partir de vinaza más zeolita, mostró los mejores resultados en los cultivos de caña de azúcar, banano y tithonia, no así en la morera, a los 60 días.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cetré, M.; Fernández, J.; Corozo, L. Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento vegetativo de vitroplantas de piña (*Anana comosus* L. Merr) var. Perolera. La Técnica. Revista de las Agrociencias. Agricultura y Silvicultura. Edición Especial. Ecuador. pp. 21-32. Octubre, 2020.
2. Jo-García, M.; Hernández, R.; Estévez, M. Extracto de Aloe vera L. en la adaptación de vitroplantas de plátano. Avances, 22. (1): pp. 110-122. 2020.
3. García, I.; Sánchez, I.; Núñez, D.; *et al.* Control químico de arvenses durante la aclimatización de plantas in vitro de caña de azúcar cv. 'CP52-43'. Biotecnología Vegetal Vol. 16, No. 3: pp. 171 - 177. 2016.

4. Cortegaza, L. Guía para la micropropagación in vitro de caña de azúcar. Memoria del Congreso Internacional. Diversificación, 40 p. 2013.
5. Díaz, L.; Medina, L.; Latife, J.; *et al.* Aclimatización de plantas micropropagadas de caña de azúcar utilizando el humus de lombriz. INTA. Argentina, RIA, 33 (2): pp. 115-128, 2004.
6. Pineda, E.; Acosta, F.; Fernández, I.; *et al.* Nuevo sustrato para la aclimatización de vitroplantas de caña de azúcar. Revista Centro Agrícola. Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. Vol. 45, No. 3, pp. 32-36, julio-septiembre, 2018.
7. Padilla, C.; Rodríguez I. Producción de semilla gámica de *Tithonia diversifolia*, siembra y establecimiento. Versión impresa ISSN 0864-0408 versión On-line ISSN 2079-3480. Cuban J. Agric. Sci. vol. 55 no. 3 Mayabeque jul.-set. 2021 Epub 01-Sep-2021.
8. Borges, A., León, M., Marturet, E., *et al.* Fitoestimulación en estacas de morera (*Morus alba* L.) mediante extractos vegetales. Bioagro 28(3): pp. 215-219. 2016.
9. INICA. Manual de prácticas de laboratorio y campo. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar, 242 p. 2015.
10. Jiménez, E. Propagación *in vitro* de la caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbrido). Tesis para optar por el grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. UCLV, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Villa Clara. Pp. 93. 1995.
11. Montes de Oca J.; Jiménez, M.; Machado, P.; *et al.* Manual para el manejo agronómico de vitroplantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp) en bancos de semilla básica o registrada. 30 p., 2013.
12. Arzola N.; Fundora, O. ; de Mello, R. Manejo de suelos para una agricultura sostenible. ISBN 978-85-61848-11-8. 509 p, 2013.
13. Pineda, E.; Bernal, A.; Gómez, R.; *et al.* Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento vegetativo de plantas *in vitro* de caña de azúcar, en fase de aclimatización (*Saccharum* spp.). Revista ICIDCA. Vol. 55. No. 3 pp. 22-31, septiembre - diciembre – 2021.
14. Martínez, G.; Rey, J.; Pargas, R.; *et al.* Efecto de sustratos y fuentes orgánicas en la propagación de banano y plátano. Agronomía Mesoamericana, vol. 32, núm. 3, pp. 808-822, 2021.
15. Espinosa, A.; Silva, J.; Bahi, M.; *et al.* Influencia del tamaño de las plantas in vitro y tipo de sustrato en la aclimatización de *Morus alba* L. Pastos y Forrajes, Vol. 42, No. 1, enero-marzo, pp. 23-29, 2019.
16. Luna, M.; Enríquez, J.; Velasco, V.; *et al.* Efecto del sustrato y fertirriego en el crecimiento inicial de vitroplantas de *Musa* sp. cv. Roatán. Naturaleza y Desarrollo. 8 (2), pp. 39-48. 2010.
17. Florio, S.; Mogollón, N. Efecto del tipo de sustrato en la aclimatización de vitroplantas de plátano ‘Hartón Gigante’ (*Musa* AAB). Rev. Fac. Agron. (LUZ) 28. Supl. 1 p 99-109. 2011.
18. Villalta, O.; Elizondo, A.; Russo, R. Propagación de estacas de morera (*Morus alba* L.) en condiciones de invernadero. 2021. <https://www.ergomix.com/>
19. Pentón, G.; Martín, G.; Velázquez, M.; *et al.* Efecto del compost IHATUEY en la emergencia y el crecimiento de especies forrajeras. <https://www.researchgate.net/publication/356878462>. 2021.
20. Hernández, M.; Arévalo, J.; Marrero, D.; *et al.* Efecto de KLAMIC® en la estimulación del crecimiento de vitroplantas de plátanos y bananos. Cultivos Tropicales, vol. 37, no. 4, pp. 168-172. 2016.
21. Medina, M.; García, D.; Clavero, T.; *et al.* Evaluación inicial de la morera (*Morus alba* L.) en condiciones de vivero. Zootecnia Trop., 25(1): pp. 43-49. 2007.
22. Medina, M.; García, D.; González, M.; *et al.* Variables morfo-estructurales y de calidad de la biomasa de *Tithonia diversifolia* en la etapa inicial de crecimiento. Zootecnia Trop. v. 27 n. 2, 18 p. Maracay mar. 2009.
23. Mula, J. Guía del cultivo de la morera. <https://www.agromaticas.es/> 2012.