

**EFFECTOS DEL ÁCIDO GIBERÉLICO Y EL PECTIMORF® EN LAS  
VITROPLANTAS DE PIÑA (*ANANAS COMOSUS* VAR. *COMOSUS*) 'MD-2'  
DURANTE LA FASE FINAL DE ACLIMATIZACIÓN**  
***EFFECTS OF GIBBERELIC ACID AND PECTIMORF® ON PINEAPPLE  
VITROPLANTS (*ANANAS COMOSUS* VAR. *COMOSUS*) 'MD-2' DURING  
THE FINAL PHASE OF ACCLIMATIZATION***

**Autores:** Romelio Rodríguez Sánchez<sup>1</sup>

Andrew Mbogholi<sup>2</sup>

Gustavo L. González<sup>1</sup>

René C. Rodríguez<sup>1</sup>

Justo González Olmedo<sup>1</sup>

**Institución:** <sup>1</sup>Centro de Bioplantas. Universidad de  
Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez, Cuba

<sup>2</sup>Sustainable Agriculture Consultant,  
Kenia

**Correo electrónico:** [romelio@bioplantas.cu](mailto:romelio@bioplantas.cu)

## RESUMEN

En la agricultura moderna se requiere de producciones intensivas y limpias. Para ello es determinante garantizar semillas de alta calidad en cantidades masivas que sólo el cultivo *in vitro* logra en poco tiempo. En la transición *in vitro-ex vitro* y su posterior permanencia en condiciones de aclimatización se producen notables pérdidas. El empleo de productos como el ácido giberélico y el Pectimorf® para inducir respuestas favorables en las plantas como aumentar su desarrollo foliar y radical respectivamente, que permite superar la calidad y utilizar alternativas que no afecten el medio ambiente. Estos atributos permiten que la investigación se desarrolle con el objetivo de determinar los efectos morfológicos y fisiológicos de estos reguladores de crecimiento vegetal en vitroplantas de piña «MD-2» en condiciones de aclimatización. Se determinaron los efectos de ácido giberélico (100 mg. L<sup>-1</sup>) y el Pectimorf® (3 mg. L<sup>-1</sup>) y sus

combinaciones sobre los dos grupos de indicadores en la fase final de aclimatización. El ácido giberélico ( $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ) favoreció el área foliar relativa y la masa fresca de las mismas. Mientras que se combinación con Pectimorf®  $3 \text{ mg.L}^{-1}$  favoreció el desarrollo foliar y radical y al mejorar la calidad de las plantas permiten adelantar la salida a campo.

**Palabras clave:** Aclimatización, Fotosíntesis, Hormonas, Vitroplantas.

## ABSTRACT

In modern agriculture intensive and clean production is required. For this it is crucial to guarantee high quality seeds in massive quantities that only the *in vitro* culture achieves in a short time. However, in the *in vitro-ex vitro* transition and its subsequent permanence under acclimatization conditions, remarkable losses occur. The use of products such as gibberellic acid and Pectimorf® to induce favorable responses in plants such as increasing their leaf and root development, respectively, which allows to overcome the quality and to use alternatives that do not affect the environment. These attributes allow the research to be developed with the objective of determining the morphological and physiological effects of these plant growth regulators in pineapple plants 'MD-2' under acclimatization conditions. The effects of gibberellic acid ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) and Pectimorf® ( $3 \text{ mg L}^{-1}$ ) and their combinations the two groups of indicators in the final phase of acclimatization were determined. The gibberellic acid ( $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ) favored the relative leaf area and the fresh mass of the same. While it was combined with Pectimorf®  $3 \text{ mg.L}^{-1}$  it favored the foliar and radical development and when improving the quality of the plants they allow to advance the exit to the field.

**Keywords:** Acclimatization, Photosynthesis, Hormones, Vitroplants.

## INTRODUCCIÓN

La piña (*Ananas comosus* var. *comosus*), es uno de los principales frutales tropicales del mundo. Dentro de la familia de la Bromeliaceae es la especie más importante económicamente. Se considera la tercera fruta de mayor producción en el mundo después del banano y el mango por su agradable sabor y aroma,

así como por su contenido en vitaminas C, B1, B6, ácido fólico y minerales como el K<sup>+</sup> (Bartholomew, 2009). Su producción mundial en el año 2016 fue de 25 809 038 t y en Cuba de 84 501 t (FAOSTAT, 2017).

El híbrido MD-2, desarrollado por la corporación Del Monte Fresh Produce International Inc., ha ganado mercado mundial en los años recientes por transformar el mercado de fruta fresca y la producción industrial de la piña (Bartholomew, 2009). Este híbrido posee caracteres de elevada importancia agronómica como son los altos rendimientos y calidad de la fruta comparada con el cultivar Cayena Lisa (Firoozabady *et al.*, 2006). La necesidad de introducirlo en plantaciones cubanas requiere altas producciones de semillas (material de propagación). La micropropagación es una herramienta eficaz, con muchas ventajas sobre la técnica tradicional de propagación vegetativa, permite obtener gran número de plantas en corto tiempo y reducido espacio con la calidad requerida (Kozai *et al.*, 2000; González-Olmedo *et al.*, 2005), pudiendo alcanzar el volumen de un millón de plántulas al año por medio de una yema axilar (Pannetier y Lanaud, 1976).

Los laboratorios de micropropagación se enfrentan todavía a varias limitaciones dentro de las cuales se destacan las condiciones del estrés abiótico, generadas en la aclimatización, con la consecuente baja supervivencia y pobre desarrollo de las plántulas durante las primeras semanas en condiciones *ex vitro* (Preece y Sutter 1990; Aragón *et al.*, 2005, Rodríguez *et al.*, 2005, Villalobos *et al.*, 2012).

Varias investigaciones encaminadas a determinar el mejor medio químico o físico de cultivo *in vitro* (Le *et al.*, 2001; Hamad y Rosna, 2008) pretendieron lograr plántulas vigorosas, fisiológicamente capaces de adaptarse en condiciones *ex vitro* o definir el mejor sustrato para el establecimiento *ex vitro* (Yanes *et al.*, 2000). Los protocolos actualmente aplicados en aclimatización presentan todavía oportunidades para elevar el grado de supervivencia y el desarrollo de las vitroplantas en la aclimatización para incrementar la calidad morfo-fisiológicas de las plantas y poder así reducir el tiempo en esta fase.

Estos aspectos podrían mejorarse mediante el uso de los reguladores del crecimiento vegetal como son las giberelinas y los oligosacáridos. Las

giberelinas, entre ellas el ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) son fitohormonas que juegan un papel importante en el desarrollo vegetal porque estimula entre otros procesos, el desarrollo foliar (Yanes et al., 2001, Naghashzadeh *et al.*, 2009, El-Abagy *et al.*, 2010).

Los oligosacáridos pécticos forman una parte de pared celular y un grupo de moléculas señaladores conocidos como oligosacarinas. Los oligogalacturónidos (por ejemplo el Pectimorf®) son reguladores de crecimiento que pueden participar en los procesos relacionados con el crecimiento, desarrollo y organogénesis (Ramírez *et al.*, 2003).

Al considerar lo antes expuesto se percibe que es posible mejorar la calidad de vitroplantas de piña en el protocolo de aclimatización con la aplicación de los reguladores de crecimiento (ácido jasmónico, ácido giberélico y Pectimorf®) y para ellos se deben determinar los aspectos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos del ácido giberélico y Pectimorf® que mejoran la calidad de las plantas de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2' micropropagadas durante la aclimatización.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las plantas de piña MD-2 provenientes de la última fase *in vitro* (enraizamiento) fueron aclimatizadas bajo las condiciones establecidas en el Instructivo Técnico que está establecido para este cultivo en el Centro de Bioplasmas que se describen a continuación. En el momento de la salida de las magentas todas las vitroplantas se consideraron competentes para la aclimatización al tener la altura de  $\geq 4$  cm (Pino *et al.*, 2014).

Las vitroplantas fueron plantadas en recipientes de vasos plásticos con un volumen de sustrato de 190 cm<sup>3</sup> compuesto por una mezcla de zeolita+cachaza 1:1 (v:v). Las condiciones de aclimatización se promediaron según mediciones realizadas durante 42 días de temperatura de 25±2 °C, humedad relativa de 70-80% y condiciones atmosféricas de concentración de CO<sub>2</sub> (375-400 μmol.mol<sup>-1</sup>) e intensidad de luz de 450 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> y régimen de foto período luz/oscuridad correspondientes a los ciclos naturales. Todas las mediciones ambientales se realizaron con un equipo CIRAS-2 (Sistema Portátil de

Fotosíntesis, Europa, PP Systems, UK) acoplado a una cubeta universal (PLC6). Durante la primera semana se aplicó el riego automatizado (micro aspersión) por 15 segundos por cada 45 minutos a las 9.00 am diario. A las plantas en estas condiciones se les aplicaron un fertilizante foliar (Urea 52 g en 16 L de agua) cada diez días a partir de los 15 días de sembradas. La primera fase de aclimatización de las vitroplantas de piña se desarrolló durante 42 días en casas de cultivo.

Las condiciones de la fase final de aclimatización se realizó en la Estación Experimental Juan Tomás Roig del Centro de Bioplasmas y promediaron temperatura de  $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ , con una humedad relativa de 70% y condiciones atmosféricas de concentración de  $\text{CO}_2$  ( $375\text{-}400\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) e intensidad de luz  $920\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  FFF y régimen de fotoperiodo luz/oscuridad correspondientes a los ciclos naturales. El riego en la segunda fase de aclimatización fue automatizado (micro aspersión) y se realizó durante de diez minutos diario. El mismo sustrato del primer experimento fue utilizado y a las plantas se les aplicaron fertilizante foliar (Urea 77 g en 16 L) por cada 15 días.

El experimento se realizó en la segunda fase de la aclimatización, se utilizaron las vitroplantas de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) MD-2 con 45 días provenientes de la primera fase de aclimatización. Al inicio de esta fase, a las mismas se aplicaron foliarmente los reguladores del crecimiento ácido giberélico ( $\text{GA}_3$ ) y Pectimorf® (PM).

Los tratamientos quedaron conformado de la siguiente forma:

1. Control (agua destilada)
2.  $\text{GA}_3$  ( $100\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )
3. PM ( $3\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )
4.  $\text{GA}_3$  ( $100\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) + PM ( $3\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )
5.  $\text{GA}_3$  ( $50\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) + PM ( $1.5\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )

Las dosis empleadas fueron seleccionadas de trabajos previos realizados en otros cultivos. Se aplicaron 5 mL de la solución final (o de agua destilada al control) a cada planta por aspersión foliar. Se emplearon 50 plantas por tratamiento con tres repeticiones en un diseño de bloque completamente aleatorizado.

#### Determinación de los indicadores morfológicos de calidad de las plantas.

En el inicio de la segunda fase de aclimatización, las vitroplantas provenientes de la primera fase de esta etapa sin ninguna aplicación de hormonas (control similares al de primer experimento) se evaluaron según las siguientes variables morfológicas de calidad de las mismas: la altura de la planta (cm) -H, número de hojas -NH, longitud de la hoja D (cm) -L, ancho de la hoja D (cm) -A, área foliar relativa -Afr [ $3.14 \times (H \times b) / 4$ ], donde b es el ancho del área foliar (Nakamura *et al.*, 2005), número de raíces -NR, diámetro de la base (cm) -DB y masa fresca (g) -MF. Los indicadores fueron evaluados a los 90 días después de la aplicación de las hormonas (GA<sub>3</sub> y PM) para determinar sus efectos. Para la evaluación de variables morfológicas se tomaron diez plantas por tratamiento.

#### Determinación de los aspectos fisiológicos.

Las evaluaciones fisiológicas se realizaron al final de la segunda fase de aclimatización (90 días). Como variables fisiológicas se cuantificaron la fotosíntesis neta ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) y la transpiración total ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ). Las mediciones de estas variables se realizaron con el equipo CIRAS-2 (Sistema Portátil de Fotosíntesis, Europa, PP Systems, UK) acoplado a una cubeta universal (PLC6 de 2.5 cm<sup>2</sup>). El área de la cubeta se cubrió con dos hojas como mínimo (2.5 cm<sup>2</sup>) y estas fueron evaluadas a la luz óptima donde la fotosíntesis fuera máxima y estable (FFF de 600  $\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ). La concentración de dióxido de carbono y la humedad relativa fueron valores ambientales 375-400  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  y 70-80% respectivamente. Las mediciones de estas variables se realizaron siempre en el horario de 9-10 am. Se consideraron cuatro plantas por tratamiento con 10 repeticiones cada una para un total de 40 valores.

Todas las evaluaciones fisiológicas se hicieron a la hoja D (la hoja más joven y plenamente desarrollada) tomada de cinco plantas por tratamiento con 10 repeticiones para un total de 50 valores. Las evaluaciones se realizaron a los 30, 90 y 360 días.

### Procedimiento estadístico.

El procesamiento estadístico de los resultados se realizó con el utilitario Statistical Package for Social Sciences (SPSS) (versión 17.0 para Windows, SPSS Inc.). Se realizaron pruebas paramétricas (ANOVA y Tukey) para una significación del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Determinación de los indicadores morfológicos

L	Tratamiento							DB	
		H (cm)	NH	L (cm)	A (cm)	Afr (cm <sup>2</sup> )	NR	(cm)	MF (g)
0	Control	11.55e	11.30c	11.64d	2.18d	173.95c	8.00d	1.19c	12.50e
	Control	13.03de	12.40bc	13.07cd	2.29c	174.26c	12.90c	1.54ab	18.90d
	100 mg.L <sup>-1</sup>								
	GA <sub>3</sub>	18.17a	14.70a	17.29a	2.63a	289.05a	15.30b	1.66a	28.80a
90	3 mg.L <sup>-1</sup>								
	PM	14.12cd	13.00b	13.19bcd	2.41bc	224.21bc	17.20a	1.58ab	24.20c
	100 mg.L <sup>-1</sup>								
	GA <sub>3</sub> + 3 mg.L <sup>-1</sup> PM	14.86bc	13.10ab	13.79bc	2.41bc	235.86ab	14.00bc	1.45b	24.00c
	50 mg.L <sup>-1</sup>								
	GA <sub>3</sub> + 1.5 mg.L <sup>-1</sup> PM	16.25b	13.30ab	15.02b	2.56ab	248.32ab	15.10b	1.46b	26.20b
	ES±	0.32	0.20	0.29	0.02	7.62	0.40	0.02	0.72
	Sig.	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabla 1: Las variables morfológicas de vitroplantas de piña 'MD-2' asperjadas con diferentes hormonas en en la etapa final de aclimatización (90 días).

Los resultados de las aplicaciones de GA<sub>3</sub> y PM sobre las variables morfológicas de las plantas de piña cultivadas bajo las nuevas condiciones de aclimatización se muestran en la tabla 1.

Letras diferentes indican significación (ANOVA, prueba Tukey,  $p \leq 0.05$ ). Cada dato representa la media para  $n=10$ . Leyenda: Altura de la planta (H). Número de hojas (NH). Largo de la hoja D (L). Ancho de la hoja D (A). Área foliar relativa (Afr). Número de raíces (NR). Diámetro de la base (DB) y Masa fresca (MF).

El tratamiento con GA<sub>3</sub> (100 mg.L<sup>-1</sup>) registró mayores valores en todas las variables morfológicas evaluadas menos en el número de raíces. La aspersion con PM (3 mg.L<sup>-1</sup>) aumentó el número de raíces con diferencia significativa con los demás tratamientos.

Las plantas con GA<sub>3</sub> registraron mayor área foliar relativa debido a que esta hormona favoreció el desarrollo foliar de las mismas. Los efectos del GA<sub>3</sub> sobre el crecimiento favorable de variables relacionadas con las hojas y plantas en general de varias especies son bien conocidos porque fueron demostrados en previas investigaciones (Leite *et al.*, 2003; Naghashzadeh *et al.*, 2009, El-Abagy *et al.*, 2010). El mayor área foliar relativa de estas plantas puede resultar en la mayor actividad fotosintética neta de ellas y aumentaría la producción de biomasa. Incrementar el crecimiento y desarrollo de plantas de piña durante esta etapa garantiza el éxito de la micropropagación, porque es imprescindible porque asegurar la mejor calidad de material que se utilizará como semilla en las plantaciones piñeras.

Un buen desarrollo radical (alcanzado por PM a 3 mg.L<sup>-1</sup>) es esencial para los cultivos especialmente durante la aclimatización porque asegura mayor porcentaje de la absorción de nutrientes asimilables por la planta presentes en el sustrato empleado. Estos manejos repercuten en la dinámica del crecimiento y desarrollo de las vitroplantas por eso ambos reguladores por separado superan la masa fresca registrada en el control. Cuando el Pectimorf® se combinó con ácido giberélico que estimula el desarrollo foliar, los mejores resultados correspondieron a la combinación GA<sub>3</sub> (50 mg.L<sup>-1</sup>) + PM (1,5 mg.L<sup>-1</sup>)

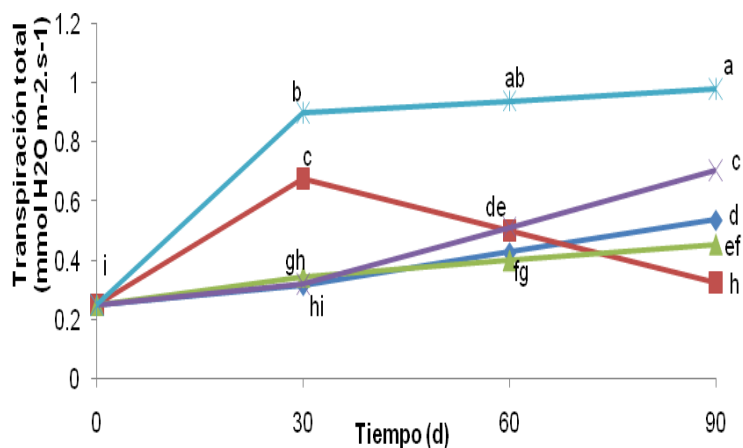


en este experimento. Ninguna de las combinaciones demostró efectos potenciadores ni sustitutivos de los productos que las integran.

La aplicación de GA<sub>3</sub> (100 mg.L<sup>-1</sup>) logró el propósito de acelerar las tasas de crecimiento de las plantas de piña micropropagadas, a los 90 días en la fase de viveros, los incrementos en las variables morfológicas estudiadas fueron de 5 cm en altura, 2 en el número de hojas, 4 cm en el largo de la hoja D, 0.32 cm en el ancho de esta hoja, 114 cm<sup>2</sup> en el área foliar relativa, 2 en el número de raíces, 0.12 cm en el diámetro de la base y 10 g en la masa fresca. Estos indicadores deben garantizar el éxito del trasplante a campo si además la actividad fotosintética fuera favorable.

#### Determinación de los aspectos fisiológicos

La fotosíntesis y la transpiración son dos importantes procesos fisiológicos muy relacionados con la calidad de las plantas y especialmente relacionados con los resultados morfológicos antes analizados. El comportamiento dinámico de estas variables en esta segunda etapa de aclimatización se muestra en la figura 1.



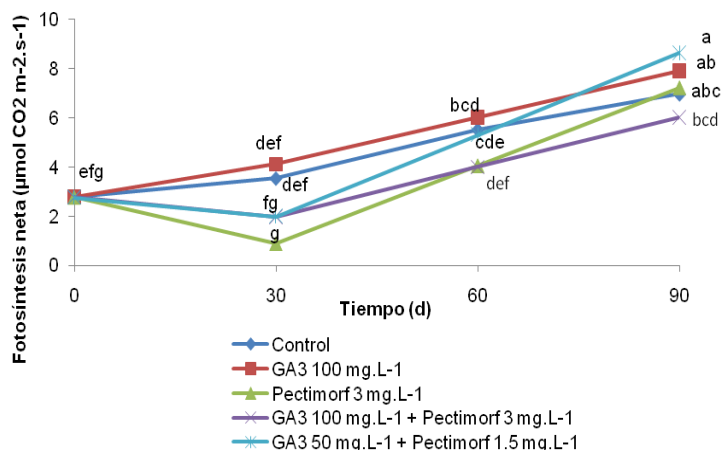


Figura 1 (A y B). Comportamiento de la transpiración total (A) ( $ES=\pm 0.01 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) y la fotosíntesis neta (B) ( $ES=\pm 0.15 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) en vitroplantas de piña 'MD-2' asperjadas con diferentes hormonas en la etapa final de aclimatización (90 días). Letras diferentes indican significación (ANOVA, prueba Tukey,  $p \leq 0.05$ ). Cada dato representa la media para  $n=50$ .

En la figura se aprecia (figura 1A) que en la transpiración a excepción de  $\text{GA}_3$  ( $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ) todos los tratamientos mostraron tendencias al incremento permanente y todos finalmente lograron valores superiores de transpiración con respecto al inicio. No fueron registros altos indicativos de la atenuación de los factores estresantes. Solo el  $\text{GA}_3$  ( $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ) disminuyó esta variable con relación a las mediciones intermedias de los 30 y 60 días.

La combinación  $\text{GA}_3$  ( $50 \text{ mg.L}^{-1}$ ) + PM ( $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ) registró mayores valores de transpiración total con diferencias significativas respecto a los demás tratamientos (figura 1A). Las vitroplantas de piña con  $\text{GA}_3$  ( $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ) tuvieron menores valores de transpiración a los 90 días que el PM ( $3 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Este efecto de  $\text{GA}_3$  se puede atribuir a su efecto sobre los estomas de la planta o a través de movimiento del potasio. Los mecanismos de control que ejerce este regulador de crecimiento sobre las plantas merecen más estudios.

La actividad fotosintética de vitroplantas no muestra diferencia significativa entre los tratamientos en cada caso de los momentos evaluados (figura 1B). El tratamiento  $\text{GA}_3$  ( $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ) siempre tuvo altos valores de actividad

fotosintética. Las vitroplantas tratadas con la giberelina al tener mayor área foliar, podrían realizar mayor fotosíntesis neta por planta.

## CONCLUSIONES

El ácido giberélico (100 mg.L<sup>-1</sup>) favoreció el desarrollo foliar de las plantas de piña durante la fase final de aclimatización al aumentar el área foliar relativa y la masa fresca de las mismas. Mientras que el Pectimorf® (3 mg.L<sup>-1</sup>) y el ácido giberélico (100 mg.L<sup>-1</sup>) favorecieron el desarrollo radical de las plantas de piña al incrementar el número de raíces de las mismas durante la fase final de aclimatización.

## BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- ARAGÓN, C.E.; ESCALONA, M.; CAPOTE, I.; PINA, D.; CEJAS, I.; RODRÍGUEZ, R.; CAÑAL, M.J.; SANDOVAL, J.; ROELS, S.; DEBERGH, P. Y GONZÁLEZ OLMEDO, J.L.: «Photosynthesis and carbon metabolism in plantain (*Musa AAB*) plantlets growing in temporary immersion bioreactors and during *ex vitro* acclimatization», *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.*, Vol. 41, pp. 550–554, 2005.
- BARTHOLOMEW, D.: *MD-2 Pineapple transforms the world's pineapple fresh fruit export industry. Pineapple News*, pp.2-5, 2009.
- EL ABAGY, H.M.; RASHAD, M.; ABDEL MAWGOUD, A.M.R. Y EL GREADLY, N.H.M. : «Physiological and Biochemical Effects of Some Bioregulators on Growth, Productivity and Quality of Artichoke (*Cynara Scolymus* L.) Plant», *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, Vol.6, Núm.6, pp.683-690, 2010.
- FAOSTAT: *FAO Statistics Division*. Disponible en <http://faostat.fao.org/site/567/>. Visitado el 10 de enero de 2017.
- FIROOZABADY, E.; HECKERT, M. Y GUTTERSON, N.: «Transformation and regeneration of pineapple», *Plant Cell Rep*, Vol.84, pp.1-16, 2006.
- GONZÁLEZ OLMEDO, J.L.; FUNDORA, Z.L.; MOLINA, A.; ABDULNOUR, J.; DESJARDINS, Y. Y ESCALONA, M.: «New contributions to propagation of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) in temporary immersion bioreactors», *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant.*, Vol.41, Núm.1, pp.87-90, 2005.

- HAMAD, M. Y ROSNA, T.: «Effect of sequential subcultures on *in vitro* proliferation capacity and shoot formations pattern of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) Over different incubation periods», *Scientia Horticulturae*, Vol.117, pp.329–334, 2008.
- KOZAI, T.; KUBOTA, C.; ZOBAYED, S.M.A.; NGUYEN, Q.T.; AFREEN ZOBAYED, F.; HEO, J.: *Photoautotrophic (Sugar-free medium) micropropagation*, Proc. Of Workshop on Contamination and Acclimatization Management in Plant Cell and Tissue Culture, pp. 5-19, 2000.
- LE, V.Q.; LAMAZE, T. Y CHAMPIGNY, M.L.: «Effect of light and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> on wheat leaf phosphoenolpyruvate carboxylase activity. Evidence for covalent modulation of the C3 enzyme», *Plant Physiology*, Vol.97, pp.1476-1482, 1991.
- LEITE, V.M.; ROSOLEM, C.A. Y RODRIGUES, J.D.: «Gibberellin and cytokinin effects on soybean growth», *Sci. Agric.*, Vol.60, Núm.3, pp.537-541, 2003.
- NAGHASHZADEHA, M.; RAFIEE, M. Y KHORGAMY, A.; «Evaluation of effects of gibberellic acid on maize (*Zea mays* L.) in different planting dates», *Plant Ecophysiology*, Vol.3, pp.159-162, 2009.
- PANNETIER, C. Y LANAUD, C.: «Divers aspects de l'utilisation possible de cultures *in vitro* pour la multiplication vegetative de l'*Ananas*», *Fruits*, Vol.31, pp.739-750, 1976.
- PINO, Y.; CONCEPCIÓN, O.; SANTOS, R.; GONZÁLEZ, J.L. Y RODRÍGUEZ, R.: «Effect of Previcur® Energy Fungicide on MD-2 Pineapple (*Ananas comosus* var. *comosus*) Plantlets During the Acclimatization Phase», *Pineapple News*, Vol. 24, pp.5-8, 2014.
- PRECCE, J.E. Y SUTTER, E.G.: *Acclimatization in micropropagated plants to the greenhouse and field*, En: P.C. Debergh; R.H. Zimmerman (eds), *Micropropagation*, Kluwer, Academic publishers, 1991.
- RAMÍREZ, A.; CRUZ, N. Y FRANCHIALFARO, O.: «Uso de bioestimuladores en la reproducción de guayaba (*Psidium guajava* L.) mediante el enraizamiento de esquejes», *Cultivos Tropicales*, Vol.24, pp.59-63, 2003.
- Rodríguez, R.; Cid, M.; Pina, D.; González Omeldo, J.L. y Desjardins, Y.: «Growth and photosynthetic activity during aclimatización of sugarcane

plantlets cultivated in Temporary Imersion Bioreactors», *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*, Vol.39, pp.657-662, 2003.

- VILLALOBO, A.; GONZÁLEZ, J.L.; SANTOS, R. Y RODRÍGUEZ, R.: «Morpho-physiological changes in pineapple plantlets [*Ananas comosus* (L.) Merr. during acclimatization», *Ciencia e Agrotecnología*, Vol.36, pp.624-630, 2012.
- YANES, E.; GONZÁLEZ OLMEDO, J.L. Y RODRÍGUEZ, R.: «A technology of acclimatization of pineapple vitroplants », *Newsletter. Pineapple. Int. Soc. Hort. Sc.*, Vol.7, pp.24, 2000.
- YANES, E.; GONZÁLEZ, J.L. Y RODRÍGUEZ, R.: «Empleo de giberelinas y fertilización foliar durante la aclimatización de vitroplantas de piña *Cayena Lisa* c.v. Serrana », *Revista Biotecnología Vegetal*, pp. 23-28, Cuba, 2001.