

Efecto de microorganismos eficientes (ME-50) en piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2'

Effect of efficient microorganisms (ME-50) on pineapple (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2'

Autores: Yilian Morejón Sánchez

<https://orcid.org/0000-0001-5950-7031>

Gustavo Y. Lorente González

<https://orcid.org/0000-0003-1008-4079>

Oscar Concepción Laffitte

<https://orcid.org/0000-0002-2572-9645>

Institución: Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez, Centro de Bioplantas, Cuba.

Correo electrónico: yilianms94@gmail.com

glorente@gmail.com

ovitalio@gmail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.8091575>

RESUMEN

La piña es un cultivo de gran importancia comercial en el mundo. Los protocolos de micropropagación han permitido el aumento de semillas de alta calidad y la introducción acelerada de nuevas variedades. La presente investigación se desarrolló en los laboratorios y en las áreas de aclimatización del Centro de Bioplantas, en la Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez (41°53'N, 78°41'W, 45 m s.n.m.) durante el periodo comprendido entre los meses de marzo a octubre de 2020. Se determinó el efecto de diferentes tratamientos de Microorganismos eficientes (ME-50) como fertilizante foliar sobre el comportamiento de las variables morfo-fisiológicas de plantas micropropagadas de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2' durante la fase de aclimatización. Los indicadores morfo-fisiológicos que se evaluaron fueron porcentaje de supervivencia, masa fresca y seca de la planta (g), longitud de la planta (cm), número de raíces, número de hojas, masa fresca y seca de la hoja "D" (g), longitud de la hoja "D" (cm), ancho de la hoja "D" (cm), masa fresca y seca de la raíz (g) y supervivencia. Los mejores resultados se obtuvieron para el tratamiento 75 ml.L⁻¹, el cual incrementó los indicadores morfo-fisiológicos de las plantas de piña 'MD-2' durante el periodo de

aclimatización. La etapa de aclimatización resulta vital para lograr una buena adaptación de las plantas a condiciones de campo, las plantas de piña 'MD-2' micropropagadas, tienen establecido un periodo de aclimatización y una calidad para su traslado al campo.

Palabras clave: Aclimatización, Desarrollo morfo-fisiológico, Microorganismos eficientes, Piña.

ABSTRACT

Pineapple is a crop of great commercial importance in the world. Micropropagation protocols have allowed the increase of high quality seeds and the accelerated introduction of new varieties. This research was developed in the laboratories and in the acclimatization areas of the Bioplants Center, at the University of Ciego de Ávila Maximo Gomez Baez (41 ° 53'N, 78 ° 41'W, 45 m asl) during the period between the months of March to October 2020. The effect of different ME-50 treatments as foliar fertilizers was determined on the morphophysiological variables behavior of micropropagated pineapple plants (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD- 2' during the acclimatization phase. The survival percentage, fresh and dry mass of the plant (g), length of the plant (cm), number of roots, number of leaves, fresh and dry mass of the leaf "D" (g), leaf length "D" (cm), leaf width "D" (cm), fresh and dry root mass (g) and survival were evaluated. The best results were obtained for the 75 ml.L⁻¹ treatment, which increased the morpho-physiological indicators of the pineapple plants 'MD-2' during the acclimatization period. The acclimatization stage is important to achieve a good adaptation of the plants to field conditions, the micropropagated pineapple plants (*Ananas comosus* var. *comosus*) hybrid 'MD-2', have established an acclimatization period and a quality for their transfer to field.

Keywords: Acclimatization, Efficient microorganisms, Morpho-physiological development, Pineapple .

INTRODUCCIÓN

La piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) es una fruta tropical, tiene propiedades diuréticas, desintoxicantes y digestivas, apetecible por su exquisito sabor y rica en vitaminas, lo que la convierte en un producto de una creciente demanda en el mundo y Cuba (Neri *et al.*, 2021). La necesidad de incrementar la producción de piña en Cuba ha llevado a la introducción en el año 2009 del híbrido 'MD-2' en Ciego de Ávila. Este híbrido se caracteriza por frutas de excelentes características

organolépticas y calidad bromatológica, que supera a las variedades cultivadas actualmente (Alfonso; Pérez y Álvarez, 2019). En el Centro de Bioplantas se estableció un protocolo de producción de plántulas de piña a partir de la micropropagación (Daquinta y Benegas, 1997, Escalona *et al.*, 1999) y multiplicación en biorreactores de inmersión temporal (Escalona *et al.*, 1999).

Sin embargo, con un período posterior de aclimatización que puede alcanzar los 6 meses de edad (Yanes Paz; González-Olmedo y Rodríguez Sánchez, 2001), lo cual hace que esta fase aumenten los costos de producción en el protocolo de la micropropagación establecido. En estudios mediante manipulación de las condiciones ambientales y del sustrato se ha logrado reducir este tiempo hasta cinco meses, pero se continúa trabajando en reducir el mismo y en lograr plántulas con mayor calidad morfológica para su transferencia a campo. En el caso de la fertilización, se realizaron trabajos que establecieron un nuevo esquema para mejorar el desarrollo de las variables morfo-fisiológicas de las plántulas el cual se ha utilizado hasta la actualidad. Todos estos resultados se han incluido en el Instructivo Técnico, propagación masiva de Piña (*Ananas comosus* var *comosus*) cv. MD-2 mediante la técnica de cultivo *in vitro*. (Villalobos *et al.*, 2012, Pino Legrat, 2014, Rodríguez-Escriba *et al.*, 2015, Lorente González *et al.*, 2018, Nápoles Borrero y Cid, 2019).

No obstante, existen aún posibilidades de la utilización de medios biológicos y fertilizantes para seguir aumentando la calidad de las plántulas a la salida del período de aclimatización y endurecimiento. Entre estos medios se encuentran los microorganismos eficientes (ME-50), producido por Labiofam, el cual es un conjunto de bacterias y levaduras benéficas relativamente novedosas con múltiples aplicaciones en las áreas ambientales, pecuarias y agrícolas (Martí *et al.*, 2014).

Se ha estudiado su efecto en diversos cultivos y se ha demostrado que es un eficaz estimulador del crecimiento de los tejidos vegetales y del aumento en los rendimientos de los frutos. Esto se debe al efecto mejorador del sustrato que tienen los microorganismos, la mineralización de la materia orgánica, así como la producción de reguladores del crecimiento vegetal (Martí *et al.*, 2014, Reinaldo; Carrazana y Almogosa, 2015, Quintero Rodríguez *et al.*, 2018, Calero-Hurtado *et al.*, 2019). No obstante, en la literatura no existe evidencia de su utilización en plántulas de piña en la etapa de aclimatización, por lo que es necesario evaluar el efecto de la

aplicación foliar de ME-50 sobre variables morfo-fisiológicas de plántulas de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2' durante la fase de aclimatización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Generalidades

La presente investigación se desarrolló en los laboratorios especializados y en el área de aclimatización del Centro de Bioplantas, en la Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez (41°53'N, 78°41'W, 45 m s.n.m.) durante el período comprendido entre los meses de marzo a octubre de 2020.

Material vegetal

Se utilizaron plántulas de piña 'MD-2' micropropagadas según el protocolo propuesto por Nápoles Borrero y Cid (2019). En el momento de salida de las condiciones *in vitro* las plántulas se seleccionaron según las siguientes características morfológicas: longitud entre 8,0 - 15,0 cm, masa fresca 4 - 5 g y el número de hojas por plántulas oscilo entre 5 - 6.

Las plantas fueron introducidas en una solución de Previcur Energy® (Bayer Crop Science) a concentración de 1mL.L⁻¹ durante 3 minutos, luego se plantaron en bolsas plásticas de 250 cm³ con una mezcla de sustrato de suelo ferralítico rojo y cachaza 1:1 (v:v). Las plántulas se aclimatizaron durante tres meses a una humedad relativa del 80 ± 3 %, 25.5 ± 2°C de temperatura y 400 ± 25 μmol m⁻²s⁻¹ de flujo de fotones fotosintéticamente activos. El riego se realizó utilizando microaspersores con frecuencia diaria de dos momentos (9:00 am y 2:00 pm) por un tiempo de 10 minutos durante los primeros 90 días en casa de cultivo.

Después de 90 días las plántulas se trasladaron a condiciones de vivero, donde permanecieron durante 60 días más. Los primeros 30 días las plántulas fueron tapadas con una malla sombra (reducción del 25 % de la luz solar), los últimos 30 días se retiró la malla sombra. En estas condiciones las plántulas se mantuvieron hasta los 150 días.

Tratamientos utilizados

Se utilizaron cinco tratamientos diferentes:

1. **Control +**: No se aplicó ME-50, pero si fertilización foliar según protocolo de (Nápoles Borrero y Cid, 2019).
2. **Control -**: No se aplicó ME-50, sin fertilización foliar.
3. **ME-50**: Una dosis de 25 mL.L⁻¹ y fertilización foliar.

4. **ME-50**: Una dosis de 50 mL.L⁻¹ y fertilización foliar.
5. **ME-50**: Una dosis de 75 mL.L⁻¹ y fertilización foliar.

Las aplicaciones de ME-50 se realizaron foliarmente desde los primeros 15 días hasta los 150 días en aclimatización en horario de la mañana (9:00 - 10:00 am).

Se utilizó ME-50 obtenido de la Empresa Labiofam Ciego de Ávila. La fecha de producción fue de febrero de 2020.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 50 plántulas por tratamiento las cuales se distribuyeron en tres bloques aleatorios. El experimento se realizó con un total de 250 plántulas.

Determinaciones

Para las determinaciones se tomaron aleatoriamente 10 plántulas de cada tratamiento de forma homogénea a los 150 días después de la salida de cultivo *in vitro* y se realizaron las siguientes determinaciones:

Porcentaje de supervivencia (%): Se determinó el número de plántulas muertas por tratamientos a los 150 días después que las plántulas salieran del cultivo *in vitro*. Se determinó la supervivencia para cada tratamiento y momento como la relación porcentual entre las plántulas que murieron por diversas causas y la total inicial al montaje del experimento por bloque de cada tratamiento.

Masa fresca de la plántula (g): Las plántulas se pesaron individualmente utilizando una balanza técnica Sartorius de 0,01 g de error y el resultado se expresó en g.

Masa seca de la plántula: La masa fresca de cada una de las plántulas una vez de pesada y cuantificada se procedió a separar individualmente la raíz del follaje y la hoja D", pesando exactamente las tres partes y llevando a estufa a 60°C hasta peso constante. Finalmente se pesaron exactamente las masas secas y se calculó la masa seca de la planta como la sumatoria de la masa seca del follaje y la Hoja D, más la masa seca de la raíz.

Longitud de la plántula (cm): Se midió la longitud de la plántula desde la unión de la base del tallo con las raíces hasta la punta de la hoja de mayor longitud.

Masa fresca de la hoja "D" (g): La hoja "D" una vez escindida cuidadosamente de cada plántula se colocó en la balanza y se cuantificó cada uno de los pesos y se expresó en gramos.

Longitud de la hoja "D" (cm): La hoja "D" una vez escindida cuidadosamente de cada plántula se le midió la longitud con una regla desde la base de la inserción con el tallo hasta la punta de la misma.

Ancho de la hoja "D" (cm): La hoja "D" una vez escindida cuidadosamente de cada vitroplantas se observó detalladamente y donde existió cambio de coloración de verde claro a verde más intenso, se realizó la medición del ancho de la hoja "D".

Masa fresca y seca de la raíz (g): Se pesó la raíz en una balanza Sartorius de 0.01 g de error y el resultado se expresó en gramos.

Tratamiento estadístico de los resultados

Para el tratamiento estadístico de los resultados se empleó del utilitario "STATISTIC 8,0" StatSoft (2007). Se realizaron análisis paramétricos (ANOVA de un factor, prueba Tukey, $P \leq 0,05$), después de chequeada la distribución normal (Kolmogorov-Smirnov, $P \geq 0,05$) y la homogeneidad de las varianzas (Levene, $P \geq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra el porcentaje de supervivencia de las plántulas de piña durante la fase de aclimatización.

Tabla 1. Porcentaje de supervivencia de plántulas de piña 'MD-2' en la fase de endurecimiento en vivero

Tiempo de cultivo (días)	Tratamientos	Supervivencia (%)
150	Control +	100 a
	Control -	98 a
	25 (mL.L ⁻¹)	96 a
	50 (mL.L ⁻¹)	98 a
	75 (mL.L ⁻¹)	98 a

Letras iguales significa que no hay diferencia significativa para (Kruskall-Wallis, $P < 0,05$), $n=50$

Se observa de manera general que en el momento en que se evaluó la supervivencia a los 150 días de aclimatización se cuantificó una pequeña muerte de plántulas. Lo cual se valida con el alto porcentaje de supervivencia por encima del 96 % en todos los casos y demostrando el 100 % de supervivencia en el tratamiento Control + el cual se utiliza en el proceso productivo de plántulas de Piña. No se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos.

No se evidenció que existieran muertes por ataque de hongos fitopatógenos como *Phytophthora sp.* lo que es significativo ya que el híbrido MD-2 es muy susceptible al ataque de este patógeno, sobre todo cuando existe alta humedad y radiación solar como es el caso de los últimos 120 días en endurecimiento (Hernández Mansilla *et al.*, 2011). El pequeño porcentaje de muerte pudo deberse en primer lugar a fallos en el riego por la calidad de los aspersores y en segundo lugar por el crecimiento de las hojas de las plántulas en el vivero lo cual pudo incidir a que el riego que se utiliza con mangueras no fuera suficiente y existió un estrés hídrico en las plántulas que pudo provocar la muerte de las mismas. No se evidencio que los tratamientos con ME-50 resultaron fitotóxicos al punto de causar muerte en las plántulas a las dosis aplicadas.

En la Figura 1 se aprecia el Efecto de los tratamientos sobre las variables longitud de la planta, número de hojas por planta, masa fresca de la plántula y masa seca de la plántula a los 150 días en aclimatización.

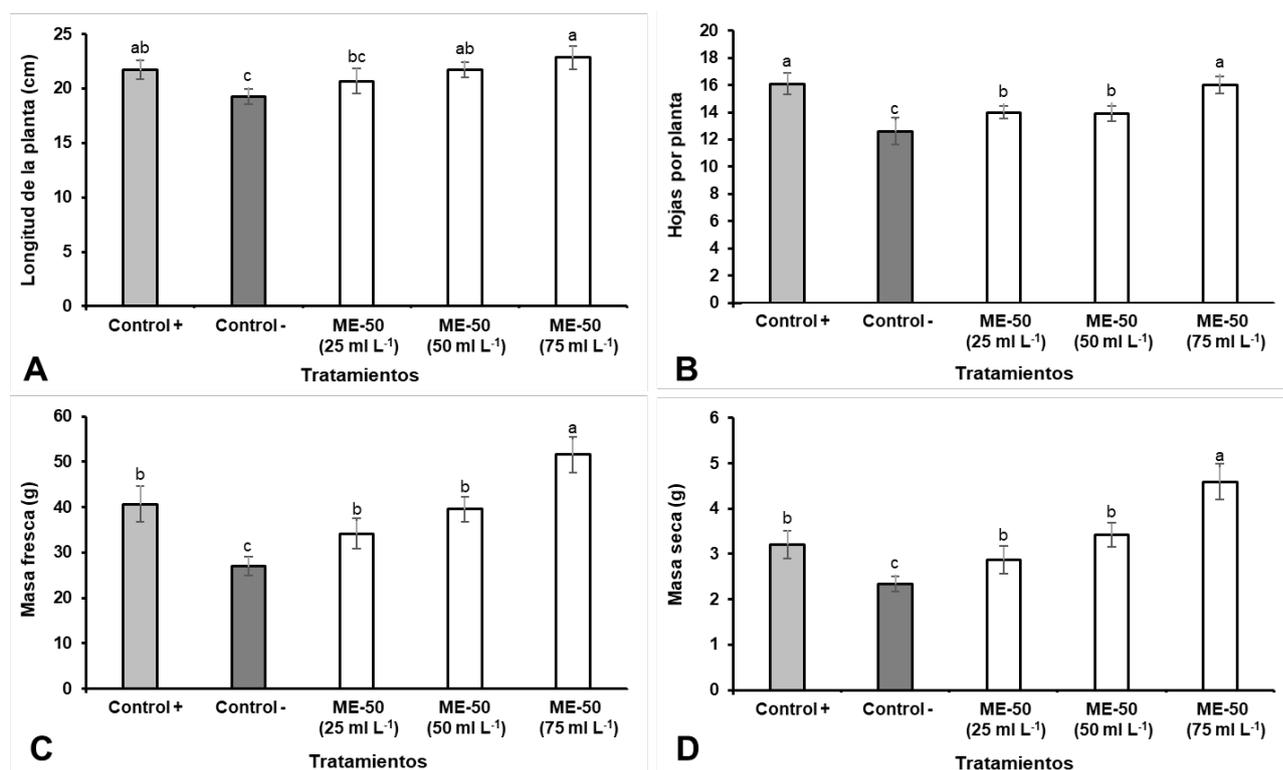


Figura 1. Efecto de la aplicación foliar de ME-50 sobre algunas variables morfosiológicas de plántulas de piña 'MD-2' en la fase de endurecimiento en vivero. (A) longitud de la planta, (B) número de hojas por planta, (C) masa fresca de la planta y (D) masa seca de la planta. Media con letras diferentes, en cada gráfico, representan diferencias significativas, Anova simple, Tukey, $p \leq 0,05$, $n = 10$.

En la figura 1 (A) se observa el efecto de los tratamientos sobre la longitud de las plántulas durante los primeros 150 días en aclimatización. Al final de la fase de aclimatización el mejor tratamiento fue 75 mL.L⁻¹ (22,8 cm planta⁻¹), sin diferencias significativas con el resto de los tratamientos, excepto con el tratamiento control negativo, el cual mostró nuevamente el peor resultado (19.3 cm planta⁻¹).

En el caso de la variable longitud se puede apreciar el comportamiento típico del crecimiento de las plántulas de piña en aclimatización. Este comportamiento sugiere una disminución del tamaño de las plántulas dado por el cambio de la morfología de las hojas cuando salen de cultivo *in vitro* hacia la fase de aclimatización. Dentro de cultivo *in vitro*, las hojas se caracterizan por ser largas y estrechas en respuesta a la alta humedad, baja iluminación y prácticamente ausencia de CO₂ que existe en los frascos de cultivo (Aragon *et al.*, 2012). Una vez fuera se enfrentan a condiciones estresantes que obligan a la producción de hojas más anchas y cortas, con mayor contenido de cera y que responden mejor a las condiciones medioambientales. De ahí que cuando las plántulas salen de cultivo *in vitro* tienen longitudes aproximadas de 18 cm y luego a los 90 días en la fase de aclimatización la longitud es menor 15 cm aproximadamente en el caso de los tratamientos, no así del Control positivo que mantiene su tamaño.

El número de hojas por plantas (figura 1 B) no mostró diferencia entre los tratamientos control + y 75 mL.L⁻¹ con aproximadamente 16 hojas por planta en ambos tratamientos mientras que en los restantes tratamientos si se apreciaron diferencias con respecto a estos tratamientos.

Respecto al efecto de los tratamientos sobre el desarrollo de la masa fresca (figura 1 C) se puede observar que el mejor resultado se obtuvo en el tratamiento 75 mL.L⁻¹ con (51,6 gMF planta⁻¹). Estos resultados tuvieron diferencias significativas con los demás tratamientos. El tratamiento Control + logró buenos resultados 40,7 gMF planta⁻¹ resultado que no difiere estadísticamente del resto de los tratamientos con el uso de ME-50. El peor resultado se alcanzó en el tratamiento control negativo (26,9 gMF planta⁻¹). Los valores alcanzados para el mejor tratamiento fueron superiores a los resultados obtenidos en otros estudios de crecimiento de piña en aclimatización realizados en el Centro con esta variedad (Pino Legrat, 2014, Lorente González *et al.*, 2018). Se observó un incremento mantenido en la masa fresca de la planta a lo largo de todo el experimento.

El efecto de los tratamientos sobre la masa seca de las plántulas (figura 1 D) muestra un resultado similar al obtenido con respecto a la masa fresca. El mejor resultado se obtiene a los 150 días en aclimatización para los tratamientos 75 mL.L^{-1} ($4.58 \text{ gMS planta}^{-1}$). Existieron grandes diferencias para este indicador entre el tratamiento 75 mL.L^{-1} con el resto de los tratamientos principalmente con el Control - el cual fue el que peor resultado mostró ($2,34 \text{ gMS planta}^{-1}$), mientras que el Control + mostró un valor de $3.42 \text{ gMS planta}^{-1}$.

Es reconocida la importancia, como indicador de crecimiento, de la relación entre el desarrollo de la masa fresca y la masa seca en el caso de piña (Bartholomew; Paul y Rohrbach, 2003, Paull; Bartholomew y Chen, 2017). La planta de piña, como suculenta que es, tiende en periodos de estrés y sequía a acumular agua en detrimento del desarrollo de tejidos y por tanto de masa seca. Por tanto, es un buen indicador que algo puede ir mal cuando hay mucho desarrollo de la masa fresca y poco de la masa seca. En el caso de este estudio no ocurrió así durante la aclimatización.

Otro indicador muy relacionado con el crecimiento de la planta y su desarrollo morfológico, es el desarrollo de la Hoja D. Este es indicador de lo que ocurre en la planta, debido a que representa en cada momento el estado morfo-fisiológico y bioquímico de la misma (Aragon *et al.*, 2012, Rodríguez-Escriba *et al.*, 2014, Rodríguez-Escriba *et al.*, 2015, Paull; Bartholomew y Chen, 2017).

En la figura 2 se observan los efectos de los tratamientos sobre la longitud de la hoja D, (B) ancho de la hoja D masa fresca y seca de las hojas "D" de las plántulas durante los primeros 150 días en aclimatización.

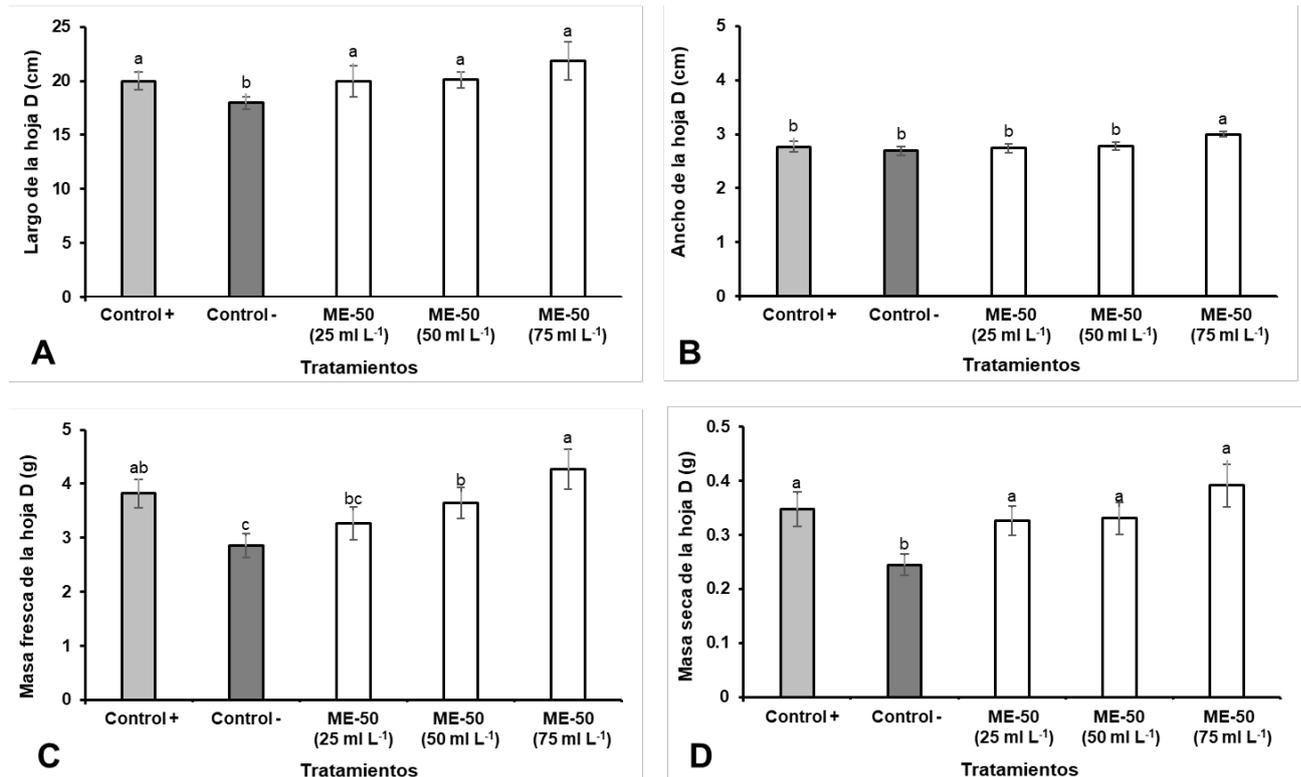


Figura 2. Efecto de la aplicación foliar de ME-50 sobre algunas variables morfosiológicas de plántulas de piña 'MD-2' en la fase de aclimatización y endurecimiento en vivero. **(A)** longitud de la hoja D, **(B)** ancho de la hoja D, **(C)** masa fresca de la hoja D y **(D)** masa seca de la hoja D. Media con letras diferentes, en cada gráfico, representan diferencias significativas, Anova simple, Tukey, $p \leq 0,05$, $n = 10$.

En cuanto a los resultados morfológicos de la hoja "D" (longitud y ancho), que se observan en la figura 2 A y B, se manifiesta también el mismo comportamiento anterior con más o menos diferencias entre los tratamientos en los momentos evaluados.

En cuanto a la longitud de la hoja "D" nuevamente el mejor tratamiento a los 150 días fue 75 mL.L⁻¹ (21,7 cm hoja D⁻¹) sin diferencias significativas con el tratamiento Control + (20.1 cm hoja D⁻¹) y las restantes dosis, pero sí con el tratamiento Control - (18 cm hoja D⁻¹). Con estos resultados se ha hecho evidente hasta este punto, que las plantas de piña necesitan fertilización foliar para alcanzar mejores indicadores morfológicos de desarrollo.

En el caso del ancho y la longitud de la hoja "D", no existieron diferencias a los 150 días en aclimatización entre el mejor tratamiento 75 mL.L⁻¹ (3,00 cm hoja D⁻¹) y el control positivo (2,78 cm hoja D⁻¹). Sin embargo, si existieron diferencias con el tratamiento Control negativo (2.69 cm hoja D⁻¹).

El ancho de la hoja "D" es un buen indicador de los cambios morfo-fisiológicos que ocurren en la hoja, la cual ante un aumento de la incidencia de luz en la etapa de aclimatización aumenta el ancho de la hoja, con el objetivo de captar mejor la luz y convertirla en carbohidratos. La aplicación de un bioproducto que aporta estimulantes del crecimiento en forma de péptidos y polisacáridos activos, estimula el desarrollo de la hoja (Villar; Montano y López, 2005; Montano, Villa y Morejón, 2006; Montano *et al.*, 2007). Además de los efectos que trae el producto sobre las hojas de la planta, también el mismo tiene efectos sobre la raíz de la planta.

En el caso de la masa fresca (figura 2C) y masa seca (figura 2D) se observan comportamientos muy similares a los obtenidos en los indicadores morfo-fisiológicos anteriormente analizados. Esto corrobora que hay una estrecha relación entre el desarrollo de la plántula y el desarrollo de la hoja "D". Es importante destacar que el mejor resultado se obtuvo en el tratamiento 75 mL.L^{-1} ($4.3 \text{ g MF planta}^{-1}$, $0.39 \text{ gMS planta}^{-1}$) sin diferencias con el tratamiento control positivo ($3.81 \text{ gMF planta}^{-1}$, $0.35 \text{ gMS planta}^{-1}$), pero sí con los restantes tratamientos aplicados de ME-50 y con el tratamiento control negativo mostró el resultado más bajo ($2.6 \text{ gMF planta}^{-1}$, $0.25 \text{ gMS planta}^{-1}$).

Hasta el análisis de estas variables (masa fresca y seca de la planta, masa fresca y seca de la hoja "D" y longitud de la planta) hay evidencia que el tratamiento 75 mL.L^{-1} mejoró los indicadores de crecimiento de las plantas hasta los 150 días a pesar de que se aplicó solo hasta los 150 días. Martí *et al.* (2014), mostraron que dosis cercanas a 25 mL.L^{-1} de ME-50 en arroz fueron efectivas en aumentar el rendimiento del cultivo, así como varios indicadores morfológicos de crecimiento de las plantas. Las visibles diferencias de dosis con este experimento se pueden deber a las características de los experimentos y los cultivos.

Por otra parte, Quintero Rodríguez *et al.* (2018), encontraron que dosis de aproximadamente 50 mL.L^{-1} lograron estimular el crecimiento de plantas de frijol en cuanto a indicadores de crecimiento, rendimiento en comparación con otros bioestimulantes como el Lebame, el FitoMas E y el Biobras - 16.

En la figura 3 se presenta el efecto de los tratamientos sobre las variables número de raíces (figura 3A), largo raíz mayor (figura 3 B), masa fresca de la raíz (figura 3 C) y masa seca de la raíz (figura 3D).

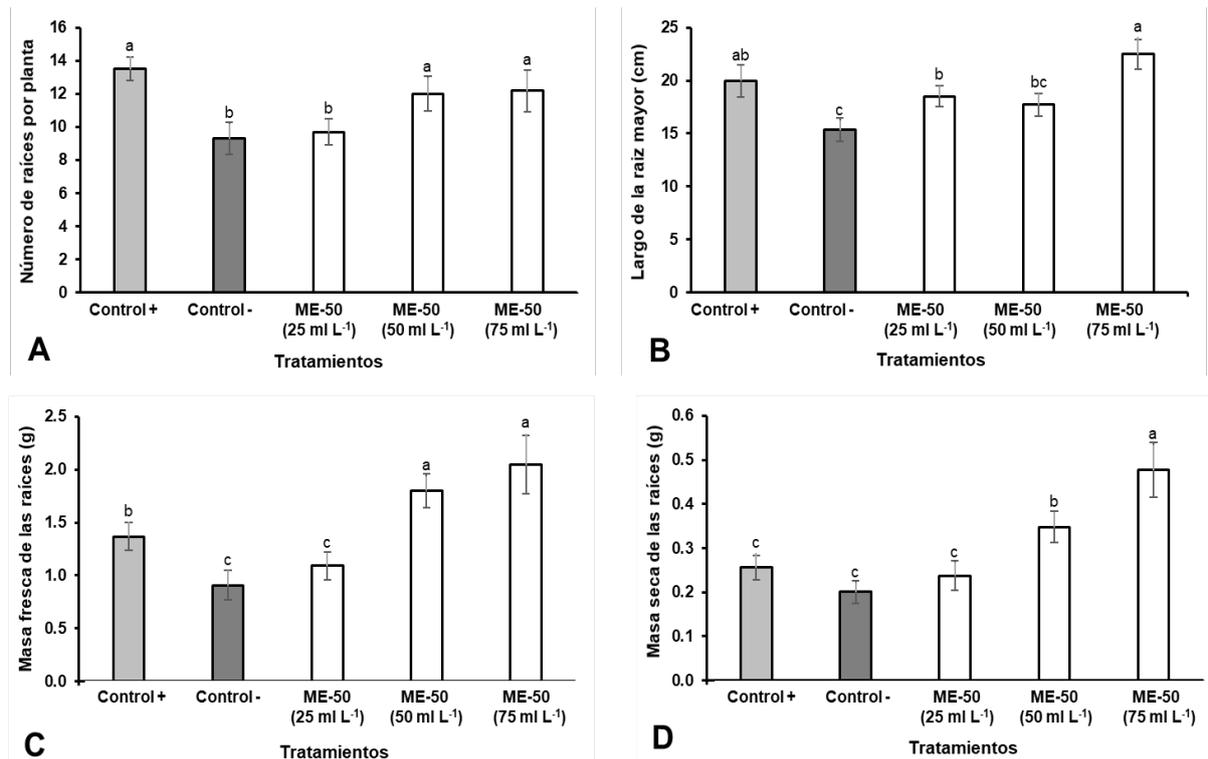


Figura 3. Efecto de la aplicación foliar de ME-50 sobre algunas variables morfosiológicas de plántulas de piña 'MD-2' en la fase de aclimatización y endurecimiento en vivero. (A) número de raíces por planta, (B) largo de la raíz mayor, (C) masa fresca de las raíces y (D) masa seca de las raíces. Media con letras diferentes, en cada gráfico, representan diferencias significativas, Anova simple, Tukey, $p \leq 0,05$, $n = 10$.

Las mayores diferencias entre los tratamientos en el experimento se dieron en cuanto a la masa fresca y la masa seca de las raíces. En el caso de la masa fresca figura 3C, el tratamiento 75 mL.L⁻¹ fue el que mejor resultado mostró (2.04 gMF raíz⁻¹) a los 150 días en aclimatización, como ocurrió con la mayoría de los indicadores antes mostrados. Aunque en este indicador no se presentaron diferencias significativas con el tratamiento 50 mL.L⁻¹ (1.80 gMF raíz⁻¹), si existieron diferencias con el control positivo (1,36 gMF raíz⁻¹) y con el control negativo (0.91 gMF raíz⁻¹), el cuál fue el peor de los tratamientos. Las diferencias se observaron solo a los 150 días periodo en el cual la plántula se encuentra completamente desarrollada y adaptada para su traslado al campo.

En el caso de la masa seca de la raíz figura 3D, si existieron diferencias significativas del tratamiento 75 mL.L⁻¹ (0.47 gMS raíz⁻¹) a los 150 día en aclimatización con respecto a los otros tratamientos, siendo de nuevo el Control negativo el peor tratamiento (0.20 gMS raíz⁻¹). El tratamiento Control positivo mostró (0.34 gMS raíz⁻¹) diferencias significativas también con el de 75 mL.L⁻¹. Estas

grandes diferencias en cuanto a la masa seca demuestran que el ME-50 actúa fundamentalmente a nivel de raíz. Un mayor desarrollo de la masa fresca y seca de la raíz indica que la plántula se debe encontrar más preparada para afrontar las inclemencias ambientales del sistema productivo hacia donde están destinadas.

Los microorganismos eficientes son conocidos por su acción primero de mineralización de la materia orgánica lo que mejora las características del suelo y hace más asequible la absorción de los nutrientes para la planta. Unido a esta mineralización también se ha reportado que producen reguladores del crecimiento vegetal entre los que se encuentran las auxinas y citoquininas, que incrementan el tamaño y número de raíces (Reinaldo; Carrazana y Almogoea, 2015, Gamboa, 2018, Calero-Hurtado *et al.*, 2019, Liriano González *et al.*, 2020).

La raíz y su desarrollo es uno de los principales indicadores del crecimiento de la plántula en aclimatización. Una raíz fuerte, bien desarrollada y activa permitirá que después de culminada la fase de aclimatización, cuando la plántula se encuentre en el campo, las muertes por estrés y mala adaptación disminuyan. Con buenas raíces, que después de los 45 días ya no son de anclaje, sino que comienzan a nutrir a la planta, las plantas se adaptan mejor a la transición de la casa de aclimatización al vivero y posteriormente al campo (Freschi *et al.*, 2009, Carr, 2012).

Con todos estos resultados mostrados se concluye parcialmente que el mejor tratamiento hasta los 150 días fue el de 75 mL.L⁻¹ de ME-50 aplicado foliarmente cada 15 días. Esto está respaldado por los mejores resultados obtenidos en las variables masa seca y fresca de la planta y masa seca y fresca de la raíz.

CONCLUSIONES

Existe alto porcentaje de supervivencia en todos los tratamientos evaluados (> 96%) y en el tratamiento Control +, el cual se utiliza en el protocolo del proceso productivo de vitroplantas de piña se alcanzó el 100 %. El mejor resultado desde el punto de vista morfo-fisiológico a los 150 días se logró en el tratamiento de 75 mL.L⁻¹ de ME-50 para todas las variables evaluadas en especial en la masa fresca y seca de las plántulas, el cual supera el tratamiento Control + con resultados satisfactorios en la fase de aclimatización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFONSO, D. R., PÉREZ, M. I. y ÁLVAREZ, E. M. (2019). Los recursos fitogenéticos de piña (*Ananas comosus* var. *comosus* (L.) Merr.) en Cuba.

Revista de Investigaciones de la Universidad Le Cordon Bleu. Vol. 6, No. 2, pp. 27-40.

ARAGON, C. ... [et al.] (2012). The physiology of ex vitro pineapple (*Ananas comosus* L. Merr. var MD-2) as CAM or C3 is regulated by the environmental conditions. *Plant Cell Rep.* Vol. 31, No. 4, pp. 757-769. 10.1007/s00299-011-1195-7.

BARTHOLOMEW, D. P., PAUL, R. y ROHRBACH, K. (2003). The Pineapple. Botany, production and uses. Crop Environment, Plant Growth and Physiology. D. P. Bartholomew, R. Paul and K. Rohrbach. Wallingford, UK, CABI. 1: 320.

CALERO-HURTADO, A. ... [et al.] (2019). Influencia de dos bioestimulantes en el comportamiento agrícola del cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). *Revista de la Facultad de Ciencias*. Vol. 8, No. 1, pp. 31-44.

CARR, M. K. V. (2012). The water relations and irrigation requirements of pineapple (*Ananas comosus* var. comosus): A review. *Expl Agric*: pp. 1-14. 10.1017/S0014479712000385.

DAQUINTA, M. y BENEGAS, R. (1997). Brief review of tissue culture of pineapple. *Newsletter Pineapple International Society Horticultural Sciences*. No.3, pp. 7-9.

ESCALONA, M. ... [et al.] (1999). Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Reports*. Vol. 18, No. 9, pp. 743-748.

FRESCHI, L. ... [et al.] (2009). Thermoperiod affects the diurnal cycle of nitrate reductase expression and activity in pineapple plants by modulating the endogenous levels of cytokinins. *Plant Physiol.* Vol. 137, No. 3, pp. 201-212. 10.1111/j.1399-3054.2009.01283.x.

GAMBOA, D. M. (2018). Calidad de posturas de *Micropholis polita* (griseb.) pierre (sapotillo) cultivada en vivero, con la aplicación de microorganismos eficientes y fitomas-e. una alternativa para el desarrollo local. *Ciencias Forestales y Ambientales*. Vol. 3, No. 2, pp. 150-158.

HERNÁNDEZ MANSILLA, A. A. ...[et al.]. (2011). Hongos y oomycetes fitopatógenos en viveros de piña *Ananas comosus* (L.) merril en Ciego de Ávila, Cuba. *Fitosanidad*. Vol. 15, No. 3, pp. 137-142.

- LIRIANO GONZÁLEZ, R. ...[et al.]. (2020). Efecto de dos bioproductos sobre algunos indicadores del crecimiento y productividad de *Raphanus sativus*. *Centro Agrícola*. Vol. 47, No. 1, pp. 28-37.
- LORENTE GONZÁLEZ, G. Y. ... [et al.]. (2018). Foliar fertilization of 'MD-2' pineapple plants (*Ananas comosus* var. *comosus*) during the acclimatization phase. *Newsletter of the Pineapple Working Group, International Society for Horticultural Science*. Vol. 25, No. 1, pp. 13-17.
- MARTÍ, P. R. M. ... [et al.] (2014). Efecto de microorganismos eficientes (ME-50) sobre la morfología y el rendimiento del cultivo del arroz (*Oryza sativa*) en Aguada de Pasajeros. *Revista Científica Agroecosistemas*. Vol. 2, No. 2, pp. 14-18.
- MONTANO, R., VILLA, P. y MOREJON, R. L. Y. E. (2006). FitoMas E. Estimulante de estimulantes. Ciudad de la Habana: ICIDCA, p. 4.
- MONTANO, R. ... [et al.] (2007). Fitomas E: Bionutriente derivado de la industria azucarera. ICIDCA. *Sobre los derivados de la caña de azúcar*. Vol. 41, No. 3, pp. 14-21.
- NÁPOLES BORRERO, L. y CID, M. (2019). Instructivo Técnico. Propagación masiva de Piña [(*Ananas comosus* (L.) Merr.) cv. MD-2 mediante la técnica de cultivo in vitro. Ciego de Ávila, Universidad de Ciego de Ávila.
- NERI, J. C. ... [et al.] (2021). Effect of planting density on the agronomic performance and fruit quality of three pineapple cultivars (*Ananas comosus* L. Merr.). *International Journal of Agronomy*. Vol. 2021, No. 1, pp.1-7 Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2021/5559564>. Visitado: 25 de enero de 2023.
- PAULL, R. E., BARTHOLOMEW, D. P. y CHEN, C. C. (2017). Pineapple breeding and production practices. *Handbook of Pineapple Technology: Production, Postharvest Science, Processing and Nutrition*. D. P. Bartholomew, Wiley Blackwell: pp.16-38.
- PINO LEGRAT, Y. (2014). Nuevas contribuciones al proceso de cultivo *ex vitro* de vitroplantas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) MD-2 previo al traslado al campo. Tesis Maestría en Agrobiotecnología. Centro de Bioplasmas p. 60.
- QUINTERO RODRÍGUEZ, E. ... [et al.] (2018). Efecto de diferentes bioestimulantes en el rendimiento del frijol común. *Centro Agrícola*. Vol. 45, No. 3, pp. 73-80.

- REINALDO, J. R. M., CARRAZANA, R. C. y ALMOGUEA, M. (2015). Efecto de los Microorganismos Eficientes (ME) en la producción de posturas de fruta bomba (carica papaya L.) en la Empresa Agropecuaria "Horquita". *Revista Científica Agroecosistemas*. Vol. 3, No. 1, pp.11-16.
- RODRÍGUEZ-ESCRIBA, R. C. ... [et al.] (2014). CAM metabolic changes of "MD-2" pineapple grown under high and low light. *Newsletter Pineapple International Society Horticultural Sciences*. No. 21, pp. 27-34.
- RODRÍGUEZ-ESCRIBA, R. C. ... [et al.] (2015). High light intensity increases the CAM expression in "MD-2" micro-propagated pineapple plants at the end of the acclimatization stage. *American Journal of Plant Sciences*. Vol. 6, No. 19, pp. 3109.
- VILLALOBOS, A. ... [et al.] (2012). Morpho-physiological changes in pineapple plantlets [*Ananas comosus* (L.) Merr.] during acclimatization. *Ciência agrotecnologia*. No. 36, pp. 624-630.
- VILLAR, J., MONTANO, R. y LÓPEZ, R. (2005). Efecto del bioestimulante fitomas E en cultivos seleccionados. ICIDCA. *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. Vol. 39, No. 2, pp. 41-45.
- YANES PAZ, E., GONZÁLEZ-OLMEDO, J. y RODRÍGUEZ SÁNCHEZ, R. (2001). Empleo de Giberelinas y fertilización foliar durante la aclimatización de vitroplantas de Piña Cayena Lisa c.v. "Serrana". *Biotecnología vegetal*. No.1, (enero-abril), pp. 23-28.