

EXTRACTO ACUOSO DE MORINGA COMO BIOESTIMULANTE DE PLANTAS DE PIÑA 'MD-2' EN FASE DE ACLIMATIZACIÓN

MORINGA AQUEOUS EXTRACT AS A BIOSTIMULANT ON 'MD-2' PINEAPPLE PLANTS IN ACCLIMATIZATION PHASE

Autores: Lianny Pérez Gómez¹

<https://orcid.org/0000-0002-0405-444X>

Claudia de la Caridad Campo Reyes¹

<https://orcid.org/0009-0002-8905-5261>

Lelurlys Nápoles Borrero¹

<https://orcid.org/0000-0001-6687-6644>

Meylín Baldús Cid²

<https://orcid.org/0009-0005-4557-933X>

René Carlos Rodríguez Escriba³

<https://orcid.org/0000-0001-8092-1763>

Aurora Terylene Pérez Martínez¹

<https://orcid.org/0000-0001-5813-3111>

Institución: ¹Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez. Centro de Bioplantas, Cuba

²Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Cuba

³Grupo empresarial de producción azucarera, AZCUBA, Cuba

Correo electrónico: liannyperezg@gmail.com

ccamporeyes@gmail.com

lys69borrero@gmail.com

meylinbalduscid@gmail.com

rene.rodriquez@azcuba.cu

terylene@gmail.com

RESUMEN

La piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) posee alta demanda en el mercado internacional, sin embargo, el desarrollo del cultivo orgánico de esta fruta es aún limitado. El uso de bioestimulantes puede ser una alternativa viable porque incrementa la calidad y el rendimiento de los cultivos. A los extractos de hojas de *Moringa oleifera* Lam., debido a su composición se les adjudica actividad bioestimulante. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto del extracto acuoso de hojas de moringa como

bioestimulante en plantas de piña 'MD-2' en fase de aclimatización. Se evaluó el efecto de la forma de aplicación (foliar, sustrato y foliar+sustrato), la dilución del extracto acuoso (diluciones de 1:2, 1:4 y 1:8) y la frecuencia de aplicación del extracto de hojas de moringa (7, 14 y 28 días) en plantas de piña luego de 180 días en fase de aclimatización. Con la forma de aplicación foliar y la dilución 1:8 del extracto acuoso de moringa se logró el mayor efecto bioestimulante en las plántulas de piña tratadas respecto al resto de los tratamientos. No se observaron diferencias significativas en los indicadores morfológicos para las frecuencias de aplicación del extracto acuoso que se evaluaron.

Palabras clave: Bioestimulantes, Cultivo orgánico, Moringa oleífera.

ABSTRACT

Pineapple (*Ananas comosus* var. *comosus*) has a high demand in the international market. However, the organic cultivation development for this fruit is still limited. The use of biostimulants can be a viable alternative because it increases crops quality and yield. *Moringa oleifera* Lam., leaf extracts are assigned biostimulant activity due to their chemical composition. The aim of this work was to evaluate the effect of the moringa aqueous extract as biostimulant on the 'MD-2' pineapple in vitro plants in acclimatization phase. The kind of application (foliar, substrate and foliar + substrate), the effect of the dilution of the aqueous extract (dilutions 1:2, 1:4 and 1:8) and the effect of the frequency of extract application (7, 14 and 28 days) on pineapple plants were evaluated after 180 days in acclimatization phase. The greatest biostimulant effect was achieved with the foliar application and 1: 8 dilution of the moringa aqueous extract in the pineapple seedlings treated with respect to the rest of the treatments. Significant differences weren't observed in morphological indicators for the application frequencies of aqueous extract which were evaluated.

Keywords: Bioestimulant, Organic culture, Moringa oleifera.

INTRODUCCIÓN

La aplicación intensiva de fertilizantes y plaguicidas químicos a los cultivos constituye una gran preocupación para los consumidores. Está práctica provoca una disminución en la calidad del suelo, afecta el medio ambiente y la seguridad alimentaria (Singh *et al.*, 2018). Esto hace que la comunidad científica internacional centre su atención en el uso de prácticas de producción sostenibles que no afecten los recursos naturales y la salud animal y humana. En este sentido, la agricultura orgánica constituye una alternativa para proporcionar alimentos saludables y de calidad, que están asociados a la aplicación de

productos de origen natural (Seufert *et al.*, 2012; Reganold y Wachter, 2016). El consumo de alimentos orgánicos ha aumentado en la población mundial por los beneficios que genera. Se considera que estos productos alimenticios poseen un valor agregado que hace que, generalmente, sus precios sean superiores a los productos obtenidos de manera convencional. Esto constituye un incentivo para los productores (SHAFIE y Rennie, 2012).

La piña (*Ananas comosus* var. *comosus* L. Merr.) ocupa el tercer lugar en el mercado mundial de frutas debido a sus excelentes propiedades organolépticas y su riqueza en vitaminas y minerales (Hossain *et al.*, 2015). En el año 2020, la producción mundial de este frutal fue de 27 817 403 toneladas en 1 077 920 ha, y en Cuba la producción fue de 28 057 toneladas cosechadas en 4 618 ha (FAOSTAT, 2022). Dentro de sus cultivares, el híbrido 'MD-2' posee los mayores volúmenes de importación como fruta fresca en los Estados Unidos y la Unión Europea (Amar *et al.*, 2015). En Cuba, el Centro de Bioplantas y la Empresa Agroindustrial Ceballos desarrollan investigaciones encaminadas a reducir las cargas contaminantes al medio ambiente durante el cultivo de este frutal (Ávila y Rodríguez, 2019). La utilización de compuestos orgánicos para la fertilización de las plantas de piña en fase de aclimatización pudiera ser una estrategia novedosa para disminuir o eliminar la utilización de fertilizantes químicos durante esa etapa de cultivo, sin afectar la calidad del material vegetal.

Dentro de los productos que pueden aplicarse en la agricultura orgánica se encuentran los bioestimulantes que son derivados de materiales orgánicos que contienen sustancias bioactivas y/o microorganismos (Toscano *et al.*, 2018). Los bioestimulantes pueden aplicarse directamente a las plantas o al suelo y son capaces de estimular varios procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares que favorecen el rendimiento y la calidad de las plantas (Yakhin *et al.*, 2017). Estos se han aplicado a diferentes cultivos, pero su eficacia ha sido variable. Los resultados dependen, fundamentalmente, de la especie vegetal en estudio, así como de la concentración y la frecuencia de aplicación de los productos. Es por ello que resulta interesante identificar los cambios morfo-fisiológicos que provocan estos productos para utilizarlos en los diferentes sistemas de cultivos (Rouphael y Colla, 2018).

Moringa oleifera Lam., es una planta de la familia Moringaceae ampliamente distribuida en las regiones Tropical y Subtropical (García, 2018). Se le atribuyen varias propiedades, entre ellas la de bioestimulante debido a que sus extractos son ricos en

aminoácidos, iones minerales, ascorbato, y fitohormonas (Emongor, 2015; Iqbal *et al.*, 2015; Shm *et al.*, 2017). También, se reconoce en sus extractos la presencia de compuestos fitoquímicos como cumarinas, flavonoides, terpenoides, carotenoides, taninos y compuestos fenólicos (Hala y Nabila, 2017). La presencia de estos compuestos la convierten en una planta con potencial uso en la agricultura.

Tomando en consideración lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto del extracto acuoso de hojas de moringa como bioestimulante en plantas *in vitro* de piña 'MD-2' en fase de aclimatización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2' lo suministró el Laboratorio de Escalado y Transferencia Tecnológica del Centro de Bioplantas. Se utilizaron plantas que provenían de la fase de enraizamiento *in vitro* (30 días) y se encontraban en un medio de cultivo que contenía: sales MS (Murashige y Skoog, 1962, p. 473-497), 100 mg·l⁻¹ de mio-inositol, 30 g·l⁻¹ de sacarosa, 0.1 mg·l⁻¹ de tiamina-HCl y 2.69 μmol·l⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA).

Se seleccionaron plantas homogéneas enraizadas *in vitro* que en el momento de transferencia a la fase de aclimatización, poseían entre 0.8-1.62 g de masa fresca, 8-10 cm de longitud, 4-6 hojas y 3-4 raíces, como establece el Instructivo Técnico para la propagación de la piña del Centro Bioplantas (Bioplantat, 2018).

Inicialmente las plántulas provenientes de la etapa de enraizamiento fueron tratadas según Pérez-Gómez *et al.* (2019). Las raíces de las plántulas se sumergieron durante 72 h en extracto acuoso de hojas de moringa diluido ocho veces (1:8). Se utilizaron 7.5 ml de extracto acuoso/planta. Durante el tiempo que duró la inmersión (72 h) las plantas se colocaron en cámaras de cultivo (KOXKA; mod. EC -1200F) con condiciones ambientales controlada: 25±1 °C de temperatura, 80 μmol·m⁻²·s⁻¹ de flujo de fotones fotosintéticos, 70 % de humedad relativa y fotoperiodo fue de 16 h luz y 8 h de oscuridad. Posteriormente, las plantas se plantaron en envases plásticos con un volumen de 222.59 cm³ con mezcla del sustrato previamente tamizado de suelo Ferralítico rojo y Cachaza (derivado de la caña de azúcar) a una proporción de 1:1 (v/v). Las plantas fueron aclimatizadas en una casa de cultivo bajo condiciones de 80±3 % de humedad relativa, 30± 2 °C, luz solar con flujo de fotones fotosintéticos de hasta 400±25 μmol·m⁻²· s⁻¹ y condiciones atmosféricas de concentración de CO₂ y fotoperiodo natural. A los 60 días en fase de aclimatización, se seleccionaron plantas

que tenían como promedio 5 g de masa fresca, 10 hojas y 10 cm de longitud como material vegetal para realizar cada experimento.

Obtención y caracterización del extracto acuoso de hojas de moringa

Para obtener el extracto acuoso se utilizaron las hojas de *Moringa oleifera* Lam. cv. Supergenius provenientes de plantas adultas de tres años crecidas en la Estación Experimental Juan Tomás Roig del Centro de Bioplasmas. Este extracto contenía componentes como cumarinas volátiles, triterpenos y/o esteroides y compuestos fenólicos comprobado según pruebas cualitativas. Las hojas de moringa a partir de las cuales se obtuvo el extracto acuoso poseían una composición de minerales variada (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de los minerales presentes en las hojas de *Moringa oleifera* Lam., cv. Supergenius cultivadas en la Estación Experimental Juan Tomás Roig.

Elementos	mg g ⁻¹ masa seca
Al ¹	0.0332 ± 0.00190
B ¹	0.0476 ± 0.00323
Ba ¹	0.0100 ± 0.00045
Ca ¹	13.2960 ± 0.14515
Cu ¹	0.0105 ± 0.00075
Fe ¹	0.0620 ± 0.00150
K ¹	9.4798 ± 1.19059
Li ¹	0.0021 ± 0.00025
Mg ¹	0.6597 ± 0.01007
Mn ¹	0.0258 ± 0.00009
Na ¹	4.4406 ± 0.46668
N ¹	0.0004 ± 0.00002
P ¹	4.9474 ± 0.00793
S ¹	7.6775 ± 0.00793
Sr ¹	0.0163 ± 0.00026
Zn ¹	0.0269 ± 0.00297
N ²	50.200 ± 0.22792

¹Determinado utilizando un plasma de acoplamiento inductivo con espectrómetro de emisión óptica (ICP-OES, ICAP 6000 ICP Spectrometer, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA), en el Instituto de Botánica, Universidad de Leibniz, Hannover, Alemania.

²Determinado mediante el método de Kjeldahl (AOAC, 1995).

Para la obtención del extracto acuoso se molieron 400 g de masa fresca de hojas de moringa con nitrógeno líquido en una batidora comercial. La proporción de material vegetal y agua fue de 1:2.5 (m:v). La extracción se realizó durante una hora con agitación y posteriormente se filtró con gasa para eliminar los restos de material vegetal. A continuación, se centrifugó la muestra durante 20 min a 15 000 g y se colectó el sobrenadante. El extracto obtenido poseía un contenido de proteínas totales de 8.27 mg g⁻¹ de masa fresca (MF), carbohidratos totales 53.8 mg·g⁻¹ MF, y compuestos fenólicos totales de 6.5 mg g⁻¹ MF.

Efecto de la forma de aplicación del extracto acuoso

Se utilizaron para la experimentación tres formas de aplicación del extracto acuoso de hojas de moringa diluido 1:8: foliar, al sustrato y una combinación de aplicación foliar y al sustrato. A cada planta se le aplicó 1 ml de extracto acuoso de hojas de moringa cada 30 días por cuatro meses. La aplicación del extracto crudo acuoso diluido 1:8 (1 ml) en el sustrato se realizó alrededor de la base de la planta, mientras que la aplicación foliar (1 ml) se realizó en el interior de la roseta. En el caso de la aplicación foliar+sustrato se añadieron 0.5 ml de extracto acuoso de hojas de moringa en la roseta y 0.5 ml en el sustrato alrededor de la base de la planta. Se utilizaron 30 plantas por tratamiento.

Entre los 60 y 90 días de aclimatización, se mantuvieron las mismas condiciones de cultivo que fueron descritas anteriormente. El riego se realizó manual con manguera una vez al día cada 48 h. Luego entre los 91-180 días, las plantas crecieron en condiciones de vivero donde inicialmente se colocó un cobertor de malla sombra al 70 % por 21 días. Las condiciones de cultivo fueron de humedad relativa media 44.7 ± 3 % y 35.6 ± 2 °C de temperatura media, fotoperiodo natural con un flujo de fotones fotosintéticos de hasta $675 \pm 25 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ y condiciones atmosféricas de concentración de CO₂.

El riego se realizó manual con manguera una vez por día cada 48 h. Pasados los 21 días se retiró el cobertor y las condiciones de cultivo fueron de humedad relativa media de 40 ± 3 %, temperatura media de 39.6 ± 2 °C, fotoperiodo natural con un flujo de fotones fotosintéticos de hasta $999.25 \pm 25 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ y condiciones atmosféricas de concentración de CO₂.

A los 180 días de cultivo se evaluaron los indicadores masa fresca y seca de la planta (g), longitud de la planta desde la base del tallo hasta la punta de todas las hojas de agrupadas (cm), número de hojas, longitud de la raíz más larga (cm) y número de raíces por planta. La masa seca se determinó a las mismas plantas a las que se le determinó la masa fresca. Para obtener la masa seca, las plantas de piña se colocaron en estufa convencional (HS62A) a 70 °C por 72 h y se pesaron cada 24 h con la balanza analítica (Sartorius TE 64) hasta obtener la masa constante.

Efecto de la dilución del extracto acuoso

Para el desarrollo del experimento se preparó el extracto acuoso de hojas de moringa como se describió anteriormente. Se utilizaron para la experimentación cinco tratamientos: agua destilada (control), extracto acuoso de hojas de moringa sin diluir

y tres diluciones seriadas del extracto acuoso: 1:2, 1:4 y 1:8 (v:v). Se utilizó la forma de aplicación seleccionada en el ensayo anterior.

A cada planta se le aplicó 1 ml de extracto acuoso por mes y durante cuatro meses. Entre los 60-90 y 91-180 días de aclimatización, se mantuvieron las mismas condiciones de cultivo que fueron descritas anteriormente. A los 180 días de cultivo se evaluaron los indicadores morfológicos descritos en el experimento anterior.

Efecto de la frecuencia de aplicación del extracto acuoso

Para el desarrollo del experimento se preparó el extracto acuoso de hojas de moringa como se describió anteriormente. Se utilizó la forma de aplicación y dilución del extracto acuoso seleccionadas en los ensayos anteriores. A cada planta se le aplicó 1 ml de extracto acuoso por mes y durante cuatro meses (distribuidos para cada tratamiento de forma diferente). Se usaron siete tratamientos: sin aplicación de extracto (Control), 250 µl del extracto diluido 1:8 cada 7 días, aplicación de 500 µl del extracto diluido 1:8 cada 14 días y aplicación de 1 000 µl del extracto diluido 1:8 cada 28 días. Se utilizaron 30 plantas por tratamiento.

Las aplicaciones a todas las plantas se mantuvieron hasta los 180 días en fase de aclimatización, teniendo en cuenta que la experimentación se comenzó con plantas de 60 días en fase de aclimatización. Entre los 60-90 y 91-180 días de aclimatización, se mantuvieron las mismas condiciones de cultivo que fueron descritas anteriormente. Se evaluaron los indicadores morfológicos como se describió anteriormente.

Análisis estadístico

En el procesamiento estadístico de los datos se utilizó el programa SPSS Versión 21.0 para Windows, SPSS Inc. Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) simple. Las medias de los tratamientos se compararon utilizando la prueba de rangos múltiple de Tukey ($p \leq 0.05$) previa comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. En los indicadores número de hojas y número de raíces fue necesaria la transformación de los datos de acuerdo con $x' = x^{0.5}$ para lograr los supuestos de las pruebas paramétricas realizadas. En ambos experimentos se utilizaron 30 plantas por tratamiento con un diseño completamente aleatorizado. Los experimentos se replicaron tres veces. Cada planta fue considerada como una unidad experimental y los datos representan el promedio de todas las mediciones individuales ($n=90$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la forma de aplicación del extracto acuoso

La forma de aplicación del extracto acuoso de hojas de moringa (1:8) tuvo efecto sobre los indicadores morfológicos de las plantas de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2' en la fase aclimatización (Tabla 2). De todos los tratamientos evaluados la aplicación foliar del extracto acuoso diluido 1:8 fue con la que se logró mejorar el mayor número de indicadores morfológicos (longitud de la planta, masa fresca y masa seca) con diferencias significativas con el resto de los tratamientos. Para los indicadores masa fresca y longitud de la raíz más larga no existieron diferencias estadísticas entre la aplicación foliar y en el sustrato del extracto acuoso de moringa. El número de hojas no mostró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.

Tabla 2. Efecto de la forma de aplicación de la dilución 1:8 de extracto crudo acuoso de *Moringa oleifera* Lam., sobre indicadores morfológicos de plantas de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2' luego de 180 días en fase de aclimatización.

Forma de aplicación	No. de hojas	Longitud de planta (cm)	No. de raíces	Longitud raíz más larga (cm)	Masa fresca (g)	Masa seca (g)
Control	13	20.32 c ¹	7 c	12.78 c	26.90 b	2.03 c
Foliar	14	26.40 a	9 b	20.62 a	32.25 a	3.34 a
Control	13	20.22 c	7 c	12.85 c	26.82 b	2.05 c
Sustrato	14	24.37 b	11 a	18.60 ab	30.84 ab	2.87 b
Control	13	20.20 c	7 c	12.87 c	26.92 b	2.06 c
Foliar + Sustrato	12	20.05 c	7 c	14.50 bc	18.83 c	2.09 c
ESx	N.S	1.70	0.23	2.27	2.12	0.33

¹Medias con letras desiguales en cada columna difieren significativamente (n=90, ANOVA de un factor; Tukey; p≤0.05). Para el tratamiento estadístico, los datos de número de hojas y número de raíces se transformaron de acuerdo con $x' = x^{0.5}$. En la tabla se presentan los datos no transformados.

El efecto favorable de la aplicación foliar del extracto acuoso de moringa que se observó en esta investigación, puede estar asociado con que la nutrición foliar es algo que caracteriza a las plantas de la familia Bromeliaceae. En la filotelma ocurre la acumulación de agua, nutrientes y la fijación de nitrógeno. Dentro de esta estructura crecen pelos foliares absorbentes que les permite a los individuos de esta familia la absorción de agua y nutrientes para su incorporación al metabolismo de la planta (Grau, 2009). Además, se conoce que este método resulta más efectivo cuando las plantas poseen parénquima acuífero en las hojas, como es el caso de piña (Fernández *et al.*, 2013).

La piña responde bien a las aplicaciones de fertilizante dirigido especialmente al follaje y también al suelo (Fonseca-Vargas, 2010). Además, la aplicación foliar es la más utilizada para la aplicación de micronutrientes (Haytova, 2013). En esta investigación, se demostró que las hojas de moringa contienen microelementos que son esenciales para la nutrición de las plantas como es el hierro, el boro, el manganeso, el zinc y el cobre, los cuales pueden ser mejor absorbidos cuando se aplican de manera foliar (Verawudh, 1993).

Con la combinación de la aplicación foliar + sustrato del extracto acuoso de hojas de moringa se vieron afectados los indicadores evaluados, excepto la masa fresca (Tabla 2). Estos resultados pudieran estar asociados a que se estableció una relación desfavorable entre la nutrición foliar y la nutrición a través de la raíz y la cantidad de productos aplicados (0.5 ml) al emplear apenas la mitad que se usó para cada forma de aplicación individual (1.0 ml). Quizás esas bajas cantidades de productos aplicados, no logró que la planta pudiera absorberlas por ser insuficientes, ya que se reconoce que en piña se necesita entre 1 y 5 ml de agua por día por plantas, para un normal crecimiento de las plantas (Bonet *et al.*, 2015). La asimilación de los nutrientes en la planta depende de la capacidad de absorción y de las demandas de nutrientes. La penetración de estos por la superficie de las hojas está regulada por las células de la epidermis. La cutícula actúa como un intercambiador catiónico que controla la entrada de los iones y otros compuestos, garantizando la efectividad de aplicación foliar (Yamada *et al.*, 1964).

En el caso particular de las plantas de piña 'MD-2' en fase final de aclimatización los tejidos foliares ya poseen un grado de diferenciación CAM (Rodríguez-Escriba *et al.*, 2016), típico de las plantas en campo. Esto pudo no favorecer la velocidad de entrada de los nutrientes contenidos en el extracto acuoso por esta vía y dejar que fueran a la zona baja de la roseta. Esto pudiera haber provocado una disminución en la absorción de los nutrientes, y afectar el transporte de iones a través de las hojas y de la raíz y por ende el crecimiento.

Sanewski *et al.* (2018) sugieren, que a las plantas de piña se les realice fertilización de fondo durante los primeros meses (tres) luego de su plantación, posteriormente y hasta el final de su ciclo reproductivo esta fertilización se realiza foliarmente a intervalos quincenal, aprovechando que esta aplicación foliar también llegue hasta el sustrato, teniendo en cuenta que las hojas de las plantas de piña se forman en roseta.

De acuerdo con los resultados se seleccionó la forma de aplicación foliar del extracto acuoso de moringa (1:8) para continuar la experimentación.

Efecto de la dilución del extracto acuoso

La dilución del extracto acuoso de moringa aplicado foliarmente tuvo efecto sobre los indicadores morfológicos de las plantas de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2' en la fase aclimatización (Tabla 3). Todos los tratamientos en los cuales se utilizó el extracto acuoso de moringa lograron mejorar los indicadores morfológicos evaluados, con diferencias significativas respecto al control excepto para la longitud de la raíz más larga y la masa seca cuando se usó el extracto acuoso sin diluir. Con la aplicación foliar del extracto diluido 1:8 se logró incrementar un mayor número de indicadores morfológicos (longitud de la planta, número de raíces, longitud de la raíz más larga, masa fresca y masa seca) respecto al control.

Tabla 3. Efecto de la aplicación foliar de diferentes diluciones de extracto crudo acuoso de *Moringa oleifera* Lam., sobre indicadores morfológicos de plantas de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2' luego de 180 días en fase aclimatización.

Dilución del extracto crudo acuoso	No. de hojas	Longitud de planta (cm)	No. de raíces	Longitud raíz más larga (cm)	Masa fresca (g)	Masa seca (g)
Control	13	20.32 c ¹	7 b	12.78 c	26.90 b	2.03 c
1:8	14	26.40 a	9 a	20.62 a	32.25 a	3.34 a
1:4	13	23.22 b	10 a	17.22 b	29.35 a	3.07 a
1:2	12	23.10 b	10 a	15.92 b	26.88 b	2.90 b
Sin diluir	13	22.60 b	10 a	13.70 c	26.67 b	2.06 c
ESx	N.S	1.58	N.S	2.08	2.13	0.29

¹Medias con letras desiguales en cada columna difieren significativamente (n=90, ANOVA de un factor; Tukey; p≤ 0.05). Para el tratamiento estadístico, los datos de número de hojas y número de raíces se transformaron de acuerdo con $x' = x^{0.5}$. En la tabla se presentan los datos no transformados.

Sin embargo, este tratamiento no mostró diferencias significativas en el indicador número de raíces respecto al resto de los tratamientos en los cuales se utilizó extracto acuoso de moringa. Además, la dilución 1:8 tampoco mostró diferencias respecto a los indicadores masa fresca y masa seca respecto a la dilución 1:4. Los mejores resultados observados cuando se utilizó la dilución 1:8 respecto al resto de los tratamientos pudiera estar relacionado con que la viscosidad de esta disolución es menor, debido a que posee mayor proporción del disolvente (agua), lo que favorece una mejor penetración en la planta de iones minerales y otros nutrientes presentes en estos extractos. En el caso de la dilución 1:2 y sin diluir no se favorecieron los

indicadores morfológico. Esto pudiera estar asociado a que los metabolitos presentes en el extracto de moringa se encuentren en una concentración que pudiera ser tóxica para las plantas de piña. En las hojas de moringa y en el extracto acuoso utilizado en esta investigación se comprobó la presencia de compuestos (proteínas, fenoles, carbohidratos, cumarinas volátiles, triterpenos y/o esteroides y minerales) que benefician el crecimiento de las plantas de piña 'MD-2'. Elementos como N, P, K y Ca, son los de mayor abundancia en las hojas de moringa utilizadas y por consiguiente el extracto acuoso de moringa debe presentar en mayor proporción de estos minerales respecto a los demás minerales presentes. Estos elementos son a su vez los más demandados nutricionalmente por las plantas de piña. Su carencia puede afectar la apariencia, vitalidad y calidad de la planta y en consecuencia de la fruta (Fonseca-Vargas, 2010). Esto podría justificar en parte, el efecto beneficioso de la aplicación del extracto acuoso de moringa en las variables morfológicas antes descritas respecto al tratamiento control.

El reconocido efecto estimulador del crecimiento de plantas que posee el extracto crudo acuoso de hojas de *Moringa oleifera* Lam. (Emongor, 2015), se ha asociado también con la alta presencia de aminoácidos, iones minerales como K^+ y Ca^{2+} , ácido ascórbico, compuestos fenólicos y reguladores del crecimiento (Ashfaq *et al.* 2012) de los cuales algunos se encontraron en los extractos de hojas de moringa analizados (Tabla 1). Dentro de las fitohormonas presentes en los extractos de hojas de moringa se encuentra la zeatina en concentraciones de $0.94\text{--}0.96\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS y AIA de $0.82\text{--}0.87\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS (Elzaawely *et al.*, 2017), la cual juega un papel importante en la división y elongación celular (Rehman *et al.*, 2017), esto justificaría la mayor longitud de las plantas de piña obtenida cuando se aplicó el extracto acuoso de moringa en cualquiera de las diluciones evaluadas respecto al tratamiento control (Tabla 3). Por otro lado, el AIA estimula la formación y el crecimiento de las raíces (Taiz y Zeiger, 2006), esto podría explicar el mayor número y longitud de las raíces en plantas donde se aplicó el extracto acuoso diluido foliar respecto al tratamientos control.

Efecto de la frecuencia de aplicación del extracto acuoso

La frecuencia de aplicación del extracto acuoso de moringa 1:8 aplicado foliarmente tuvo efecto sobre los indicadores morfológicos de las plantas de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2' en la fase aclimatización (Tabla 4). Todos los tratamientos donde se aplicó extracto acuoso de moringa 1:8 lograron incrementar los indicadores morfológicos evaluados respecto al tratamiento control, aunque sin

diferencias significativas entre las diferentes frecuencias de aplicación. El número de hojas no mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos evaluados.

Tabla 4. Efecto de la frecuencia de aplicación del extracto crudo acuoso de *Moringa oleifera* Lam., sobre indicadores morfológicos de plantas de piña (*Ananas comosus* var. *comosus*) 'MD-2' luego de 180 días en fase aclimatización

Frecuencia de aplicación (días)	No hojas	Longitud planta (cm)	No raíces	Longitud raíz más larga (cm)	Masa fresca (g)	Masa seca (g)
0	13	20.51 b ¹	7 b	12.28 b	26.44 b	1.98 b
7	14	27.25 a	11 a	17.28 a	32.38 a	3.12 a
14	14	27.37 a	10 a	17.78 a	29.92 a	3.05 a
28	13	27.11 a	11 a	17.85 a	27.44 ab	2.87 a
ES X	NS	2.35	0.25	2.01	2.97	0.26

¹Medias con letras desiguales en cada columna difieren significativamente para cada indicador ($n=90$, ANOVA de un factor; Tukey; $p \leq 0.05$). Para el tratamiento estadístico, los datos de número de hojas y número raíces se transformaron de acuerdo con $x' = x^{0.5}$. Los datos que se presentan en la tabla son no transformados.

Algunos de los indicadores morfológicos obtenidos (número de raíces, número de hojas) cuando se utilizó la aplicación foliar del extracto acuoso (1:8) cada 7 días mostraron valores cercanos a los obtenidos por Rodríguez-Escriba *et al.* (2016) cuando empleó fertilizantes inorgánicos en el paquete tecnológico en la fase de aclimatización, lo que demuestra la efectividad del extracto acuoso de hojas de moringa para el crecimiento de la piña 'MD-2' en esta fase.

A pesar de que no se observaron diferencias significativas entre las diferentes frecuencias de aplicación del extracto acuoso de moringa, se seleccionó la aplicación cada 28 días debido a la reducción de la mano de obra, lo que le agrega mayor valor a estos resultados, respecto las aplicaciones de productos inorgánicos que se realizan quincenal según la tecnología de aclimatización vigente (Bioplantas, 2018).

CONCLUSIONES

La aplicación foliar cada 28 días del extracto de moringa diluido (1:8) tiene efecto bioestimulante sobre plantas de piña 'MD-2' en fase de aclimatización. Esto lo convierte en un promisorio candidato como bioestimulante orgánico en el cultivo de esta planta, lo que permitiría la reducción del uso de fertilizantes químicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAR T, Ahmadi, T, PEI, S y CASEY, N (2015). The MD2 'Super Sweet' pineapple (*Ananas comosus*). *UTAR Agriculture Science Journal*, Vol. 1, No. 4, pp. 14-17.

AOAC. (1995). Official Methods of Analysis. Ass. Off. Chem. 16 th Ed. Washington, D.C. USA.

- ÁVILA, R. y RODRÍGUEZ, R (2019). Introduction and diversification of new pineapple cultivars in Ceballos Agroindustrial Enterprise. Cuba. *Newsletter of the Workgroup Pineapple, International Society for Horticultural Science*, No. 26, pp. 26-27.
- ASHFAQ, M., BASORA, S. M. y ASHFAQ, U. (2012). Moringa: A Miracle Plant of Agroforestry. *Agric. Soc. Sci*, Vol. 8, No 3, pp. 112-115.
- BIOPLANTA (2018). Instructivo Técnico para la micropropagación de la piña. Subdirección de Escalado y Transferencia Tecnológica 3ra edición. Ciego de Ávila, Centro de Bioplantas, UNICA.
- BONET PÉREZ, C...[et al.] (2015). Régimen de riego del cultivo de la piña en la provincia Ciego de Ávila, *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, Vol. 24, No. 4, pp. 16-24.
- ELZAAWELY, A.A. ... [et al.] (2017). Enhancing growth, yield, biochemical, and hormonal contents of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) sprayed with moringa leaf extract. *Archives of Agronomy and Soil Science*, Vol. 63, No. 5, pp. 687-699.
- EMONGOR, V. E (2015). Effects of moringa (*Moringa oleifera*) leaf extract on growth, yield and yield components of snap beans (*Phaseolus vulgaris*). *British Journal of Applied Science & Technology*. Vol. 6, No. 2, pp. 114-122.
- FAOSTAT (2022). Food and agriculture organizations of the United States Nations (FAOSTAT) Rome.
- FERNÁNDEZ, V, SOTIROPOULOS, T y BROWN, P.H. (2013). Foliar fertilization: scientific principles and field practices. Paris, France, International fertilizer industry association (IFA) ISBN: 979-10-92366-00-6.
- FONSECA-VARGAS, R (2010). Fertilización mediante el método de Stroller en el cultivo de Piña (*Ananas comosus*) (L.) Merr. Híbrido MD-2, en la finca El Tremedal SA. San Carlos, Costa Rica. 81 h. Tesis en opción al grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía. Instituto tecnológico de Costa Rica.
- GARCÍA, I.I (2018). Árboles y arbustos para silvopasturas. Uso, calidad y alometría. En su: Origen, bondades y usos de Moringa oleífera, Lam: una revisión sistemática. Ed. Universidad e Tolima.
- GRAU, A. (2009). El género Puya en la Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, Vol. 44, No.1-2, pp. 175-208.
- HALA, H. A y NABILA, A. E. (2017). Effect of Moringa oleifera Leaf Extract (MLE) on Pepper Seed Germination, Seedlings Improvement, Growth, Fruit Yield and its Quality. *Middle East Journal of Agriculture*. Vol. 6, No. 2, pp. 448-463.

- HAYTOVA, D (2013). A review of foliar fertilization of some vegetables crops. *Annual Research & Review in Biology*. Vol. 3, No. 4, pp. 455-465.
- HOSSAIN, M, AKHTAR, S y ANWAR, M (2015). Nutritional value and medicinal benefits of pineapple. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, Vol. 4, No 1, pp. 84-88.
- IQBAL, M.A; SALEEM, A.M y AHMAD, B. (2015). Effect of seed invigoration techniques on germination and seedling growth of chinese sweet sorghum. *Zenodo*, Vol. 2, No 2, p. 1-4.
- MURASHIGE, T y SKOOG, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, Vol. 15, No. 3, pp. 473-497.
- PÉREZ-GÓMEZ, L. ... [et al.] (2019). Efecto del extracto acuoso foliar de moringa en la fase inicial de aclimatización de piña. *Cultivos Tropicales*, Vol. 40, No 1, p. 10a - 10e.
- REHMAN, H. ... [et al.] (2017). Moringa leaf extract improves wheat growth and productivity by affecting senescence and source-sink relationship. *International Journal of Agriculture & Biology*, Vol. 19, No 3, pp. 479-484.
- REGANOLD, J.P. y WACHTER, J.M. (2016) Organic agriculture in the twenty-first century. *Nature plants*, Vol. 2, No. 2, pp. 15221-15229.
- RODRÍGUEZ-ESCRIBA, R.C. ... [et al.] (2016). Efecto del déficit hídrico sobre cambios morfo-fisiológicos y bioquímicos en plantas micropropagadas de piña 'MD-2' en la etapa final de aclimatización. *Cultivos Tropicales*, Vol. 37, No 1, pp. 64-73.
- ROUPHAEL, Y y COLLA, G. (2018). Synergistic biostimulatory action: Designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, Vol. 9, p. 1-7. doi: 10.3389/fpls.2018.01655.
- SANEWSKI, G.M, BARTHOLOMEW, D.P y PAULL, R. E. (2018). The pineapple: botany, production and uses. Queensland: CAB International. ISBN:9781786393319.
- SEUFERT, V, RAMANKUTTY, N y FOLEY, J.A. (2012) Comparing the yields of organic and conventional agriculture. *Nature*, Vol. 485, No. 7397, pp. 229-234.
- SHAFIE, F.A y RENNIE, D (2012). Consumer perceptions towards organic food. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, Vol. 49, pp. 360-367.

- SHM, T. ... [et al.] (2017). Influence of foliar application with moringa (*Moringa oleifera* L.) leaf extract on yield and fruit quality of Hollywood plum cultivar. *J Hortic*, Vol. 4, No 193, p. 1-7.
- SINGH, K. ... [et al.] (2018). Organic Farming for Sustainable and Nutritional Fruit Production in India: A Review. *Int J Curr Microbiol App Sci*, Vol. 7, No. 5, pp. 3033-3039; doi: 10.20546/ijcmas.2018.705.354.
- TAIZ, L y ZEIGER, E. (2006). *Fisiología vegetal*. Barcelona: Universitat Jaume I. ISBN 10: 8480216018.
- TOSCANO, S. ... [et al.] (2018). Biostimulant applications in low input horticultural cultivation systems. *Italus Hortus*, Vol. 25, No.2, pp. 27-36.
- VERAWUDH, J. (1993). Effects of micronutrients on growth, nutrients content in D-leaf, and yield of pineapple. *Acta Horticulturae*, Vol. 21, No. 334, pp. 241-246.
- YAKHIN, O.I. ... [et al.] (2017). Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in plant science*, Vol. 7, pp. 1-32. doi: 10.3389/fpls.2016.02049.
- YAMADA, Y, BUKOVAC, M. J. y WITTEWER, S. H. (1964). Ion binding by surfaces of isolated cuticular membranes. *Plant Physiology*, Vol. 39, No 6, p. 978.

Agradecimientos

Las investigaciones se realizaron en el marco del Proyecto Territorial PT 223CA001-001 Producción de vitroplantas para la diversificación en la producción de piña en la Empresa Agroindustrial Ceballos. Los autores agradecen la contribución al trabajo de la MSc. Maribel Rivas Paneca, el Lic. Arturo Matos Ruíz, el Dr. C. Romelio Rodríguez y el Técnico Danilo Pina Morgado. Se agradece también a la profesora Jutta Papenbrock del Instituto de Botánica, Universidad de Leibniz, Hannover, Alemania por su colaboración en la determinación del contenido de minerales en hojas de *Moringa oleifera* Lam.

Conflicto de interés

Los autores no declaran conflictos de intereses.