

Obtención y aclimatización de vitroplantas de piña (*Ananas comosus* L. Merr.cv MD-2) a la aplicación de bioproductos
Obtaining and acclimatization of vitroplants of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.cv MD-2) to the application of bioproducts

Autores:

Ing. Dayneri Calzadilla-Campos¹, <https://orcid.org/0000-0002-4897-3552>

Dr.C. Adrián Montoya-Ramos², <https://orcid.org/0000-0003-3691-2143>

Dibiasis Hui- Lopez¹, <https://orcid.org/0000-0002-6871-3539>

Benito Monroy-Reyes³, <https://orcid.org/0000-0002-4162-0770>

Omar del Toro Pileta⁴, <https://orcid.org/0000-0001-7777-8003>

Organismo: ¹Delegación territorial del CITMA Guantánamo, Cuba. ²Universidad de Guantánamo (UG), Cuba. ³Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara, Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez, 2100, Predio Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México. ⁴Centro Universitario Municipal El Salvador, Guantánamo, Cuba.

E-mail: dayneri@citma.gtmo.inf.cu, dibiasis@gtmo.inf.cu, montoya@cug.co.cu

Fecha de recibido: 15 mar. 2022

Fecha de aprobado: 20 jun. 2022

Resumen

La investigación se realizó en el laboratorio y aisladores biológicos dedicados a la biotecnología vegetal del Complejo Docente Científico Productivo de la Empresa Agroforestal Coronel "Arturo Lince", en el periodo de septiembre de 2019 a diciembre de 2021. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del estimulante de crecimiento vegetal VIGORTEM® en vitroplantas de piña (*Ananas comosus* L. Merr.cv MD-2) en fase de aclimatización. En el ensayo se emplearon cuatro tratamientos que se replicaron cinco veces con la aplicación de fertilización mineral y VIGORTEM® y un tratamiento control. Se evaluó la supervivencia, altura, número de hojas, la masa fresca y seca total a los 45, 60, 75, 90, 105 y 120 días. Se observó que los tratamientos con VIGORTEM® superaron al tratamiento testigo en las variables evaluadas. En el análisis económico la fertilización de VIGORTEM® tiene los menores costos y genera las mayores utilidades.

Palabras clave: Aclimatización; Fertilización piña; VIGORTEM®; Vitroplanta

Abstract

The research was conducted in the laboratory and biological isolators dedicated to plant biotechnology of the Scientific Productive Teaching Complex of the Coronel Agroforestry Enterprise "Arturo Lince", in the period from September 2019 to December 2021. The objective of this work was to evaluate the effect of the plant growth stimulant VIGORTEM® on pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.cv MD-2) vitroplants in acclimatization phase. The trial used four treatments that were replicated five times with the application of mineral fertilization and VIGORTEM® and a control treatment. Survival, height, number of leaves, total fresh and dry mass were evaluated at 45, 60, 75, 90, 105 and 120 days. It was observed that the VIGORTEM® treatments outperformed the control treatment in the variables evaluated. In the economic analysis, VIGORTEM® fertilization had the lowest costs and generated the highest profits.

Keywords: Acclimatization; fertilization pineapple; VIGORTEM®; Vitroplantation

Introducción

Con cerca de 200 especies conocidas, distribuidas en 50 géneros, la piña (*Ananas comosus* L.) pertenece a la familia Bromeliaceae (Jiménez, 1996) es la segunda fruta tropical más consumida en el mundo. De acuerdo con cifras de la FAO, para el año 2019 la producción de este fruto representaría en el mundo el 23% de la fruta tropical cosechada (Superintendencia Industria y Comercio, 2020).

El 70% de la piña producida en el mundo es consumida como fruta fresca en el país que la produce. La producción mundial de la piña sobrepasó 24.79 millones de toneladas en el año 2018 y ocupa el séptimo lugar de la producción mundial entre los frutales y el cuarto lugar de las frutas tropicales (FAO, 2014; Ángel-Molina *et al.*, En Cuba, a pesar de que se ha incrementado su producción, no se logra satisfacer la demanda. Entre las causas se mencionan la carencia de material vegetal de plantación y las afectaciones fitosanitarias en las áreas de producción de semilla (Hernández, 2003; Hernández *et al.*, 2010; Rodríguez y Rodríguez, 2018).

Para elevar estas producciones se han establecido varios métodos como la multiplicación de plantas a través del cultivo de tejidos con el desarrollo de diferentes protocolos de propagación (Daquinta y Benega, 1997; Escalona *et al.*, 1999; Botella y Fairbairn, 2005; Wang 2009; Chaviano, 2017).

Sin embargo, aún estos presentan dificultades en la fase de aclimatización por la baja supervivencia de las plantas y su crecimiento lento en esta fase (Van de Broek *et al.*, 1997; Yanes *et al.*, 2001). Las plantas deben adaptarse después de su transferencia del cultivo *in vitro* a las condiciones *ex vitro*, es decir que cambian su metabolismo heterotrófico o mixotrófico al autótrofo (Aragón *et al.*, 2010; Grández- Sangama, 2020).

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en el laboratorio y aisladores biológicos dedicados a la biotecnología vegetal del Complejo Docente Científico Productivo de la Empresa Agroforestal Coronel “Arturo Lince”, en el periodo de septiembre de 2019 a diciembre de 2021.

La superficie experimental se estableció sobre un suelo pardo sialítico mullido con carbonatos (MINAG, 1999) que se correlacionan con los Cambisoles eútricos según (Hernández *et al.*, 2005)

Obtención de las vitroplantas de piña

Para la obtención de las vitroplantas de piña cv “MD2”, el medio de cultivo a utilizar sera Murashige y Skoog (1962) (MS), suplementado con mioinositol 100 mg L⁻¹, sacarosa 30 g L⁻¹ y solidificado con Agar 8 g L⁻¹. En la fase de multiplicación se suplementó el medio de cultivo con bencilaminopurina (BAP) 4 mg L⁻¹ y ácido indolacético (AIA) 0.65 mg L⁻¹. En la fase de enraizamiento se suplementó con AIA 1 mg L⁻¹ y AIB 1 mg L⁻¹. El pH del medio de cultivo fue ajustado a 5.7.

Los cultivos *in vitro* se mantuvieron en cámaras de crecimiento a temperatura de 25±1°C, humedad relativa 60%, iluminación de 23μmol m⁻²s⁻¹ (flujo de fotones fotosintéticos) con lámparas de luz fría fluorescente, fotoperíodo 16h luz y 8h oscuridad.

Esquemas de fertilización y tipos de suelo para la aclimatización de vitroplantas de piña de alta calidad

Luego de obtenidas las vitroplantas” se trasladaron a la aclimatización en aisladores biológicos (Umbráculo con paredes de malla), hasta la edad de 120 días donde fueron trasladadas a viveros para la fase final de aclimatización (endurecimiento) en bolsas de polietileno contentivas de suelo y materia orgánica de estiércol ovino con una proporción de 3:1. Se aplicaron variantes

de fertilización, orgánicas e inorgánicas según el instructivo de propagación masiva de piña "MD2" establecido por el centro de bioplasmas de la Universidad de Ciego de Ávila. El proceso de aclimatización según lo indicado por (Pérez-Ponce, 1998).

Se utilizaron cuatro tratamientos que se replicaron cinco veces sobre un diseño completamente aleatorizado, bajo condiciones controladas.

T1. Esquema sin Fertilización + Suelo Pardo sialítico carbonatado (Control).

T2 Esquema de Fertilización mineral + Suelo Pardo sialítico carbonatado.

T3 Esquema de Fertilización VIGORTEM + Suelo Pardo sialítico carbonatado.

T4 Esquema de Fertilización mineral + Fertilización Meristem + Suelo Pardo sialítico carbonatado (Combinado).

Variables a evaluar

Variables de crecimiento: Estas fueron medidas a los 45, 60, 75, 90, 105, 120 días después del trasplante tomando para la selección de los datos un total de 40 plantas por réplica.

- Supervivencia (%): esta variable se midió bajo observación visual y por conteo.
- Altura de la vitroplanta (cm): se midió con una cinta métrica desde la base del tallo a ras de tierra, hasta el extremo de la ramificación principal.
- Número de hojas (U): se contaron las hojas emitidas por las plantas en los diferentes momentos de medición.
- Masa fresca total (g): se pesaron 20 submuestras de vitroplantas por tratamientos.
- Masa seca total (g): se pesaron 20 submuestras de vitroplantas por tratamientos secadas a 70° C por espacio de una semana.

Análisis económico para la aclimatización de vitroplantas de piña

Los datos para la valoración económica fueron calculados tomando como base la metodología de la carta tecnológica y la ficha de costo para la producción de vitroplantas de piña vigentes en la actualidad. Ello incluye la obtención de las mismas y su aclimatización para su posterior venta.

La misma se realizó sobre la base de los gastos que se incurren, utilizándose los siguientes índices económicos:

- Costo de producción total:

Fueron tomados los costos de todas las actividades realizadas para la producción de vitroplantas.

- Valor de la producción:

Para determinar la misma se tuvo en cuenta la producción y el valor de las mismas según los valores establecidos.

- Utilidades: Se determina utilizando la siguiente expresión (Carrasco, 1992)

$$\text{Utilidades} = \text{Valor de la producción} - \text{Costo de producción}$$

Análisis estadístico

A partir de los datos obtenidos se realizará un análisis de varianza, para el modelo matemático correspondiente a un diseño de bloques al azar, se utilizó el Test de comparación de rangos múltiples de Duncan para un 95% para separar las medias. Con vista a llevar a cabo este procesamiento y análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico STATGRAPHICS PLUS versión 5.

Resultados y discusión

Análisis de la variable supervivencia de las vitroplantas

El 100 % de las vitroplantas sobrevivió en la fase de aclimatización por lo que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en la supervivencia. Esto demuestra que la calidad de las vitroplantas obtenidas *in vitro* determinó que fueran viables en la fase *ex vitro* y que las condiciones establecidas en la fase de aclimatización fueron adecuadas para su supervivencia. Aragón *et al.* (2010) plantean que el éxito de la aclimatización depende de que las plantas puedan pasar de las condiciones heterotróficas o mixotróficas (mezcla de autotróficas con heterotróficas) al autotrofismo, proceso que está relacionado con las reservas que obtienen las plántulas durante la fase *in vitro*.

Análisis de la variable altura de la vitroplantas

Efecto de los distintos tratamientos en la altura de las vitroplantas de piña a los 45, 60 y 75 días

Tratamientos	Altura (cm)		
	45 días	60 días	75 días
T1. Esquema sin Fertilización + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado (Control).	9,29b	11,96c	15,71c
T2 Esquema de Fertilización mineral + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado.	9,25b	14,29b	17,96b
T3 Esquema de Fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado.	9,75b	14,63b	17,81b
T4 Esquema de Fertilización mineral + Fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado (Combinado).	13,17a	18,46a	21,04a
EEx	0,213	0,226	0,301

Medias seguidas de letras desiguales difieren significativamente ($p < 0,05$)

En este sentido se debe destacar que el VIGORTEM® está especialmente indicado durante las primeras fases de desarrollo de los cultivos, como es el periodo justo después del trasplante en cultivos herbáceos. En el caso de plantaciones jóvenes de frutales, la aplicación de VIGORTEM® durante los primeros años favorece el desarrollo vegetativo de las plantas. También es ideal, en el caso de los cultivos hortícolas intensivos para la recuperación y reactivación de las plantas después de periodos de elevada producción y de manera general, para la recuperación de todos aquellos cultivos sometidos a condiciones de estrés.

Con relación a la variable altura de la vitroplanta, se muestra que hubo diferencias significativas entre los tratamientos con la aplicación del producto orgánico VIGORTEM® y el testigo. Al evaluar esta variable se pudo observar que las plantas que estuvieron expuestas al efecto del VIGORTEM® tuvieron mayores valores de altura. El tratamiento 4 que se corresponde con el

esquema combinado de fertilización difirió significativamente del resto de los tratamientos a partir de los 60 días.

El incremento de la altura de vitroplantas mediante la utilización de nuevas sustancias que estimulan el crecimiento ha sido discutido por González *et al.* (2005) e Izquierdo *et al.* (2009). Estos autores emplearon oligogalacturónidos y brasinoesteroides y coinciden en conferirle gran importancia a este parámetro de crecimiento. Esto indica, además, que el empleo de estimulantes influye en diferentes procesos fisiológicos que ocurren en el vegetal, por tanto, hay una mayor ganancia de esqueletos carbonados que pueden ser utilizados para la síntesis de proteínas.

Análisis de la variable Número de hojas

Efecto de los distintos tratamientos en el número de hojas de las vitroplantas de piña a los 45, 60 y 75 días

Tratamientos	Número de hojas (U)		
	45 días	60 días	75 días
T1. Esquema sin Fertilización + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado (Control).	4,29b	6,96c	9,01c
T2 Esquema de Fertilización mineral + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado.	4,25b	7,29b	10,06b
T3 Esquema de Fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado.	6,75a	7,63b	10,01b
T4 Esquema de Fertilización mineral + Fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado (Combinado).	7,17a	8,46a	11,74a
EEx	0,213	0,226	0,301

Medias seguidas de letras desiguales difieren significativamente ($p < 0,05$)

La respuesta en cuanto al número de hojas de las vitroplantas de piña en fase de aclimatización a los 30 días no hubo diferencias entre los tratamientos. A los 45 y 60 días se obtuvieron diferencias significativas con el tratamiento (4) que se corresponde con el esquema de fertilización mineral + fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado respecto a los demás tratamientos. Esto demuestra que en la variable número de hojas las plantas tratadas con tratamiento 4, fue la de mayor emisión de hojas, aunque las otras dosis mostraron un efecto positivo para esta variable.

Es conocido que las hojas producidas en condiciones *in vitro* son empleadas como almacén de sustancias carbonadas, las que son utilizadas en el crecimiento y desarrollo de las plántulas, luego de ser transferidas a las condiciones *in vitro* a *ex vitro* y mantienen esta función hasta tanto no exista una nueva emisión foliar (Desjardins *et al.*, 1987; Debergh, 1991; Van Huylenbroeck y Debergh, 1992).

Análisis de la variable Masa fresca total

Efecto de los distintos tratamientos en la masa fresca total de las vitroplantas de piña a los 45, 60 y 75 días

Tratamientos	Masa fresca total (g)		
	45 días	60 días	75 días
T1. Esquema sin Fertilización + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado (Control).	16, 19b	21,36c	24,11c
T2 Esquema de Fertilización mineral + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado.	17,25b	22,51b	27,36b
T3 Esquema de Fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado.	17,75b	22,13b	27,23b
T4 Esquema de Fertilización mineral + Fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado (Combinado).	19,17a	26,46a	30,04a
EEx	0,200	0, 622	0,760

Medias seguidas de letras desiguales difieren significativamente ($p < 0,05$)

En el estudio de la respuesta agronómica del cultivo se observó que en la variable masa fresca total, los tratamientos a los cuales se les aplicó el estimulante mostraron diferencias estadísticamente significativas. En el ensayo se evidencia que las plantas que fueron beneficiadas con el esquema de fertilización mineral + fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado (Combinado). mostraron mayor masa.

Se infiere que la aplicación del estimulante, reflejó los mejores valores, mostrando veracidad en el aumento de estas variables, dando una clara expresión de la diferencia que existe en el desarrollo vegetal de este cultivo bajo la incidencia de este producto. La aplicación de VIGORTEM® en momentos de elevada exigencia de producción o en momentos de estrés permite el refuerzo de la zona radicular necesario para la recuperación y reactivación de los cultivos.

Por lo que los resultados que se muestran en este estudio donde la mayor dosis evidencia la mayor masa fresca con una media de 358, 32 (g), es un indicador de la retención de agua y de lo protegida que se encuentra la planta para defenderse ante situaciones de estrés.

Análisis de la variable: Masa seca total

Al analizar la masa seca se evidencia que las plantas que fueron beneficiadas con VIGORTEM® mostraron un mayor peso. La aplicación del bioestimulante reflejó los mayores valores, lo que muestra la diferencia que existe en el desarrollo de este cultivo bajo la incidencia de este producto, lo que mejora la posibilidad de éxito en la fase aclimatización.

Efecto de los distintos tratamientos en la masa seca total de las vitroplantas de piña a los 45, 60 y 75 días

Tratamientos	Masa seca total (g)		
	45 días	60 días	75 días
T1. Esquema sin Fertilización + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado (Control).	4,83b	6,83c	8,96c
T2 Esquema de Fertilización mineral + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado.	4,62b	6,62c	9,29b
T3 Esquema de Fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado.	4,69b	7,69b	10,63b
T4 Esquema de Fertilización mineral + Fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado (Combinado).	5,71a	10,71a	12,46a
EEx	0,001	0,003	0,101

Medias seguidas de letras desiguales difieren significativamente ($p < 0,05$)

Los resultados están influenciados por los nutrientes que aporta el estimulante VIGORTEM® al ser absorbido por las hojas y por su efecto en el incremento de la actividad microbiana cuando es segregado por las raíces, esto hace más eficiente la asimilación de los nutrientes, y con esto se logra un equilibrio nutricional, que mejora la resistencia de las plantas a las condiciones adversas estresantes para el cultivo.

Análisis de la Valoración Económica

Los resultados y beneficios esperados cobran mayor valor en el territorio y de manera general para la región oriental y el país; pues el empleo de este estimulante es aún nulo en biotecnología. Además los resultados contribuirán a posibilitar un mayor crecimiento, prevención de enfermedades y un incremento de los rendimientos, así como un incremento en nuestra cultura (López *et al.*, 2012).

En este análisis los mejores resultados son difíciles de discernir, visto de ese modo el tratamiento sin aplicación de VIGORTEM® es superior en utilidades ya que supera por diferencia de \$12,8; \$16,0 y \$19,2 los tratamientos de VIGORTEM® de 4, 5 y 6 L.ha⁻¹, respectivamente. La contabilidad de la producción de vitroplantas establecido para las biofábricas en Cuba por el INIVIT (Fuentes, 2007), indica que un lote de 10000 vitroplantas tiene un costo de \$13400 y un precio de \$60000, donde no se incluyen en los análisis los gastos en MLC que ascienden a 108,6 MLC por lote de partida de 10000 vitroplantas.

Independientemente de este hecho, sí es conocido lo costosa de la tecnología, insumos, reactivos, salas climatizadas que demandan energía y técnicas que exigen personal calificado entre otros (Fuentes, 2007). Por lo que alternativas como el empleo de estimulantes pueden reducir el tiempo de la aclimatación y simplificar manipulaciones en el proceso agroindustrial. Por su parte el costo de aplicación del VIGORTEM® es ínfimo, es un producto de bajo costo que el país importa y que subsidia a productores. El verdadero análisis debiera centrarse en la

calidad de la vitroplanta para lo cual no hay índices económicos descritos y el porcentaje de adaptación en campo como principales elementos contables. Así como el tiempo en que se disminuyen las operaciones por las características de la vitroplanta.

En las circunstancias actuales por las que atraviesa el país, la economía está orientada hacia una total recuperación. El análisis de los costos se convierte en una vía para asegurar el desarrollo económico, siendo la herramienta necesaria para el correcto funcionamiento de cualquier entidad, dado que posibilita la toma de decisiones más adecuadas, con el fin de garantizar el empleo más racional de los recursos materiales que posee.

Conclusiones

Los tratamientos a los cuales se les aplicó VIGORTEM® influyeron significativamente en la fase de aclimatización de las vitroplantas de piña para todas las variables de crecimiento, aunque sin diferencias para la supervivencia.

El esquema de fertilización combinado indujo el mayor crecimiento en la fase de aclimatización de las vitroplantas de piña lo cual determinó una mayor calidad de las plantas en este tratamiento.

El esquema de mayor factibilidad económica en la fase de aclimatización de vitroplantas de piña resultó la de Fertilización VIGORTEM® + Suelo Pardo Sialítico Carbonatado al generar utilidades de \$95600.

Referencias bibliográficas

- Aragón, C.; Carvalho, L.; González, J.; Escalona, M. Y Amancio, S. (2010). Ex vitro acclimatization of plantain plantlets micropropagated in temporary immersion bioreactor. *Biol. Plantarum* 54 (2): 237-244.
- Carrasco, E. M. (1992). Cálculo de los índices económicos en las producciones agropecuarias. *Boletín de reseñas*. pp. 23-26.
- Debergh, P. C. (1991) Acclimatization techniques of plants from in vitro *Acta Horticulturae*, vol. 280, p. 291-300.
- Desjardins, Y.; Gosselin, A. Y Yelle, S. (1987). Acclimatization of ex vitro strawberry plantlets in CO2 enriched environments and supplementary lighting. *J. Amer. Soc.Hort. Sci.* vol. 112, no. 5, p. 846-851.
- González-Olmedo, J. L.; Córdova, A.; Aragón, C. E.; Pina, D.; Rivas, M. Y Rodríguez, R. (2005) Efecto de un análogo de brasinoesteroides sobre plántulas de 'FHIA-18' expuestas a un estrés térmico. *INFOMUSA*, vol. 14, no. 1, p. 18-20.
- Hernández, A.; Ascanio, M. O.; Morales, M. Y Cabrera, A. (2005) Correlación de la nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba con las clasificaciones internacionales y nacionales: Una nueva herramienta para la investigación, docencia y producción agropecuaria. *La Habana: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)*. 60 p.
- Hernández-Herrera, R. M., et al (2018). Las algas como potenciales estimulantes del crecimiento vegetal para la agricultura en México. *Hidrobiológica*, 28(1), 129-140.
- Izquierdo, H.; et al. (2009). Influencia de un oligogalacturónido en la aclimatización de vitroplantas de banano (*Musa spp.*) del clon FHIA-18 (AAAB). *Cultivos Tropicales*. 30(1), 00.
- Izquierdo, H. et al. (2009) Influencia de un oligogalacturónido en la aclimatización de vitroplantas de banano (*Musa spp.*) del clon FHIA-18 (AAAB). *Cultivos Tropicales*. 30(1), 00.

- Jiménez, E. y de Feria, M. (1998) Empleo de Biorreactores para la Propagación Masiva. En: Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Instituto de Biotecnología de las plantas, Universidad Central de Las Villas, J.N. Pérez Ponce (Ed.), Santa Clara, Cuba, pp. 207-222.
- Jeong, Br, Fujiwara K, Kozai T (1995) Environmental control and photoautotrophic micropropagation. Horticultural Reviews 17: 123-170
- López-Padrón, I. et al (2020). Las algas y sus usos en la agricultura. Una visión actualizada. Cultivos Tropicales, 41(2).
- Mahmud, M., Abdullah, R., & Yaacob, J. S. (2020). Effect of vermicompost on growth, plant nutrient uptake and bioactivity of ex vitro pineapple (*Ananas comosus* var. MD2). Agronomy, 10(9), 1333.
- Martínez. L. (2005) Influencia del FitoMas-E y el Bioplasma en el crecimiento y productividad del cultivo de la lechuga variedad Anaida en condiciones de cultivo semiprotegido.
- Masahiro, M.H.; Osakabe, R. U.; Koichi, G. (2009). Evolutionary Aspects of Acaricide-Resistance Development in Spider Mites. Barry Pittendrigh (Editor).
- MINAG. (1999). Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. Ministerio de la Agricultura. AGRINFOR.
- Pérez, J. (1997). La propagación masiva de plantas en Cuba. Conferencia magistral en la primera Conferencia Internacional de Biotecnología Vegetal BIOVEG´97. Ciego de Ávila, Cuba.
- Pérez, J. (1998) Mutagénesis in vitro. En: Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Pérez, PJ (Edt.). Editora GEO,
- Rodríguez, P. A y Álvarez, M. V. (2008). Efecto del estiércol bovino y humus de lombriz sobre el crecimiento del pimiento. UO-MINAGRI. Santiago de Cuba. Cuba.
- Rodríguez, R. C., y Rodríguez, R. (2018). Efecto del estrés hídrico sobre plántulas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) 'MD-2' in vitro. Revista Ingeniería Agrícola, 8(2), 21-27
- Rodríguez, W. O. y Orellana, R. G. (2008). Utilización de algas marinas como componente de sustratos para la producción de plántulas de acelga y lechuga. Agricultura Orgánica. ACTAF.
- Torres P. M. (2010). Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) Avances en Ciencias e ingenierías. volumen_2/Avances_2010_vol2_B9-B15.
- Torres, M. (2002) Efecto del PBZ sobre la brotación y desarrollo in vitro de la epidermis foliar de *catleya mossiae* Parker ex hooker previo a la aclimatización. BIOAGRO. (29) Naturaleza y Desarrollo 8 (2).
- Van Duren, M.; Morpurgo, R.; Dolezel, J. y Afza, R. (1996). Induction and verification of autotetraploids in diploid banana (*Musa acuminata*) by in vitro techniques. Euphytica 88, pp. 25-34.
- Van Huylenbroeck, J. M. Y Debergh, P. C. (1992). Acclimatization micropropagated *Gerbera jamosii*. Use of chlorophyll in florescence. Med. Fac. Landbouww.Univ. Gent, 57/4^a,
- Van Huylenbroeck, J. M.; Piqueras, A. y Debergh, P.C. (1998) Photosynthesis and carbon metabolism in leaves formed prior and during ex vitro acclimatization of micropropagated plants. Plant Science, vol. 134.