

Efecto de la fertilización foliar en la aclimatización de plantas de *Ananas comosus* L. Merr. cv. 'Cayena lisa'

Ortelio Hurtado*, Manuel de Feria, Novisel Veitía, Amado Pérez. *Autor para correspondencia

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. e-mail: ortelio@ibp.co.cu

RESUMEN

La baja supervivencia y el lento crecimiento de las plantas *in vitro* de piña (*Ananas comosus* L. Merr.) en la fase de aclimatización limitan el uso de técnicas biotecnológicas para su propagación. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la fertilización foliar en la aclimatización de plantas de piña cv. 'Cayena lisa'. Se compararon dos variantes de fertilización foliar. En la primera las plantas fueron fertilizadas diariamente después del último riego con una dosis mínima que aumentó cada 15 días hasta los tres meses de cultivo. La segunda incluyó los mismos fertilizantes a la dosis máxima con aplicaciones foliares diarias después del último riego desde los 10 días de plantación hasta los tres meses de cultivo. Como control se incluyeron plantas sin fertilizar. Cada 20 días hasta los tres meses de cultivo se midió la altura (cm) de las plantas, se cuantificó el número de hojas por planta y se midió el largo y ancho de las hojas. Se observó que la fertilización tuvo efecto bajo las condiciones experimentales ensayadas sobre las variables evaluadas a las plantas. A los 90 días de cultivo las plantas obtenidas en el tratamiento con fertilización diaria a la dosis máxima (variante 2), cumplían con los requerimientos de altura, largo y ancho de la hoja para su trasplante a condiciones de campo.

Palabras clave: piña, propagación, zeolita

Effect of foliar fertilization on *Ananas comosus* L. Merr. cv. 'Cayena lisa' acclimatization

ABSTRACT

The low survival and slow growth of *in vitro* pineapple plants (*Ananas comosus* L. Merr.) in acclimatization stage limit the use of biotechnological techniques for its propagation. The aim of this study was to determine the effect of foliar fertilization in the acclimatization of pineapple plants cv. 'Smooth Cayenne'. Two variants of foliar fertilization were compared. The first, plants were fertilized daily after the last irrigation with a minimum dose increased until three months of culture. The second included the same fertilizer at maximum dose with daily dose foliar applications after the last irrigation 10 days from planting to three months of cultivation. As a control, unfertilized plants were included. Every 20 days to three months of culture height (cm) of plants was measured, the number of leaves per plant was quantified and the length and width of the leaves was measured. It was observed that fertilization had effect under the experimental conditions tested on the plants variables. After 90 days of culture plants obtained in the treatment with daily fertilization at maximum dose (option 2), met the requirements of height, length and width of the leaf for transplantation to field conditions.

Key words: pineapple, propagation, zeolite

INTRODUCCIÓN

La piña (*Ananas comosus* L. Merr.) es la especie más importante de la familia *Bromeliaceae*. El género *Ananas* tiene su centro de origen en el escudo Guyanés y la amazonia, en un área comprendida entre los 10° de las latitudes norte y sur y desde 55° a 75° de longitud oeste (Leal y Antoni, 1981), se encuentra en forma natural al sur de Brasil, norte de Argentina y Paraguay y en los bordes meridionales de la amazonia.

La piña es el segundo cultivo tropical de importancia mundial después del banano, y aporta más del 20% del volumen mundial de frutos tropicales (Coveca, 2002). Setenta por ciento 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 2013 y ocupa el séptimo lugar de la producción mundial entre los frutales y el cuarto lugar de las frutas tropicales (FAO, 2014).

El interés por este cultivo se ha incrementado, debido a su demanda en el mercado, pero los productores tienen dificultades para cubrir la necesidad de plantas 'hijos' para establecer nuevas plantaciones. La carencia de plantas se debe a que la tasa de multiplicación en forma natural es muy baja (Griffith, 1998). Es ahí, donde las técnicas de cultivo de tejidos han venido a jugar un importante papel. En este cultivo, la propagación *in vitro* ofrece una dimensión superior al productor, al permitir la rápida multiplicación de una nueva variedad a partir de un escaso número de plantas. Esto ha sido descrito por varios autores, quienes han empleado diferentes explantes tales como: secciones de hojas (Daquinta, 1998; Dolgov *et al.*, 1998), yemas axilares (Almeida *et al.*, 2002), yemas de la corona (Fitchet-Purnell, 1993; Brenes, 2005) y en todos los casos lograron regenerar brotes y obtener plantas. Además, se han empleado sistemas de inmersión temporal para su propagación *in vitro* (Escalona *et al.*, 1999; González-Olmedo *et al.*, 2005).

Sin embargo, el uso potencial de estos procedimientos está limitado por la baja supervivencia y lento crecimiento de las plantas en la fase de aclimatación que requiere de seis a ocho meses para que las plantas alcancen de 20-30 cm y puedan ser trasplantadas a campo (Texeira *et al.*, 2001). Aunque se ha avanzado en el estudio de la fisiología de las plantas en condiciones ex

vitro (Aragón *et al.*, 2012) aún no se cuenta con resultados satisfactorios que permitan reducir el tiempo de aclimatación.

Una de las alternativas para la reducción del tiempo de cultivo podría relacionarse con el suministro de nutrientes a las plantas. En este sentido, se han realizado estudios sobre el efecto de la aplicación de reguladores del crecimiento como el Ácido giberélico (AG_3) con fertilizantes (Yanes *et al.*, 2001), la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (González *et al.*, 1997; Baldotto *et al.*, 2010), el tipo de sustrato y condiciones de cultivo (Mengesha *et al.*, 2013) que han mostrado resultados positivos en las condiciones experimentales ensayadas. Teniendo en cuenta lo anterior, este trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de la fertilización foliar en la aclimatación de plantas de piña cv. 'Cayena lisa'.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron plantas *in vitro* de piña cv. 'Cayena lisa' (Figura 1), propagadas *in vitro* según lo descrito por Daquinta (1998). Las plantas se encontraban en fase de enraizamiento y tenían una altura entre 3.0 y 5.0 cm (medida desde la base hasta la inserción de la última hoja), entre 6 y 8 hojas activas y presencia de raíces.



Figura 1. Plantas *in vitro* de piña cv. 'Cayena Lisa' en fase de enraizamiento.

Condiciones de cultivo

La fase de aclimatización de las plantas *in vitro* de piña se desarrolló en una casa de cultivo cubierta por una malla plástica, con la cual se logró una reducción de la iluminación solar del 70%. Como sustrato se empleó una mezcla que contenía 20% de materia orgánica, 60% de zeolita y 20% de fibra de coco. Se utilizaron bandejas de polieturano con 70 orificios de 56 cm³ de capacidad cada uno.

Las plantas *in vitro* fueron plantadas hasta una profundidad de 0.5 cm. El control fitosanitario se realizó de forma preventiva cada tres días mediante la aplicación de productos comerciales a las dosis recomendadas (Triana *et al.*, 1999).

El riego se realizó por microaspersión con una frecuencia de tres riegos diarios y una duración de cinco minutos cada uno, a las 8:00 a.m., 12:00 m y 4:00 p.m. (Triana *et al.*, 1999). Con esta frecuencia se garantizó una humedad relativa que osciló entre el 70 y el 90%.

Efecto de la fertilización

Para determinar el efecto de la fertilización foliar en la aclimatización de las plantas *in vitro* se compararon dos variantes (Tabla 1). La primera consistió en comenzar la fertilización foliar a partir de los 15 días de plantación con una dosis mínima que aumentó cada 15 días hasta llegar a la máxima dosificación a los tres meses de cultivo. Las plantas fueron fertilizadas diariamente

después del último riego (Triana *et al.*, 1999). La segunda incluyó los mismos fertilizantes a la dosis máxima con aplicaciones foliares diarias después del último riego desde los 10 días de plantación hasta los tres meses de cultivo. Como control se incluyeron plantas sin fertilizar.

Cada tratamiento estuvo conformado por 45 bandejas con 3150 plantas cada uno para un total de 9450 plantas. El experimento fue repetido tres veces en el tiempo que duró la investigación.

Cada 20 días hasta los tres meses de cultivo se midió la altura (cm) (desde la base hasta la inserción de la última hoja), se cuantificó el número de hojas por planta y se midió el largo y ancho de la última hoja emitida.

Análisis estadístico

Los datos se procesaron mediante el programa SPSS para Windows versión 18. Se realizaron análisis de varianza y las medias se compararon mediante la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$) previa comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó que la fertilización tuvo efecto, bajo las condiciones experimentales descritas más arriba, sobre las variables evaluadas a las plantas de piña producidas *in vitro*.

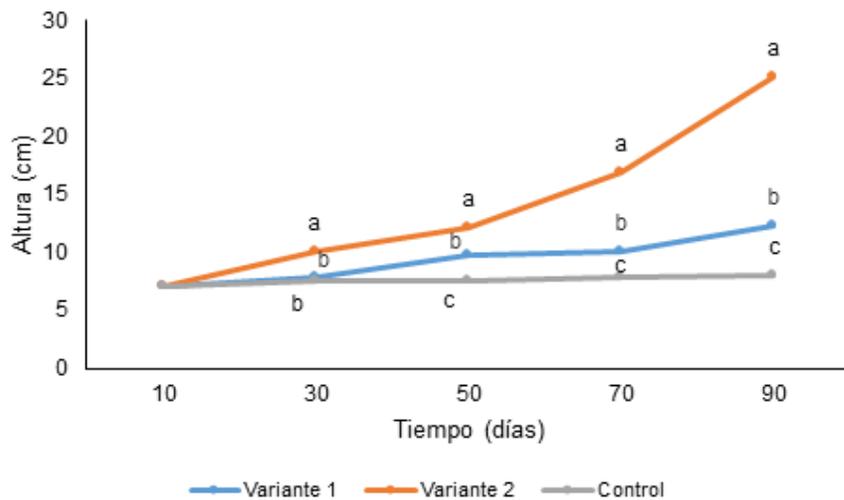
Tabla 1. Variantes de fertilización empleadas en la aclimatización de plantas *in vitro* de piña cv. 'Cayena Lisa'

Fertilizante	Gramos/ 16 l ⁻¹ agua				Variante 2 Diaria
	Variante 1				
	15-30 días	31-45 días	46-60 días	61-90 días	
Urea 0.1%	18.50	37.04	55.5	74.06	111.10
Sulfato Ferroso	1.84	3.60	5.50	7.40	11.00
Ácido Cítrico	0.34	0.67	1.02	1.35	2.00
Sulfato de Potasio	3.40	6.72	10.21	13.40	20.00
Sulfato de Magnesio	3.45	6.93	10.35	13.80	20.70
Boro	1.34	2.67	4.02	5.35	8.00
Sulfato de Manganeso	1.34	2.67	4.02	5.35	8.00
Sulfato de Zinc	1.05	2.10	3.15	4.20	6.30

En el caso de la altura, ya a los 30 días de cultivo (Figura 2) se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, las cuales se mantuvieron hasta los 90 días. Los mayores valores se obtuvieron en la variante de fertilización diaria con la dosis máxima de fertilizante. En este tratamiento a los 90 días de cultivo (Figura 3) como promedió se duplicó la altura de las plantas respecto al tratamiento con la fertilización progresiva.

Teniendo en cuenta que Triana *et al.* (1999) definieron que plantas de piña con altura ≥ 25 cm podían ser trasplantadas a campo, a los 90 días

de cultivo, las plantas fertilizadas diariamente con la dosis máxima (variante 2) (Figura 3) cumplían con este requisito a diferencia del resto de los tratamientos. La variante 1 de fertilización foliar cada 15 días y con dosis progresivas se aplicaba previo a este trabajo en el IBP y para alcanzar esos valores las plantas requerían seis meses de cultivo. Estos resultados indicaron que el manejo de las condiciones nutricionales de las plantas en la fase de aclimatización, en las condiciones experimentales ensayadas, permite acortar el tiempo de cultivo, el cual ha sido definido por varios investigadores entre seis y ocho meses (González *et al.*, 1997; Texeira *et al.*, 2001).



Letras diferentes en cada tiempo indican diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$). $n=3150$ plantas

Figura 2. Altura de plantas de *Ananas comosus* L. cv. 'Cayena lisa' en fase de aclimatización sometidas a diferentes variantes de fertilización.



Figura 3. Plantas de *Ananas comosus* L. cv. 'Cayena lisa' después de 90 días en fase de aclimatización con fertilización foliar diaria.

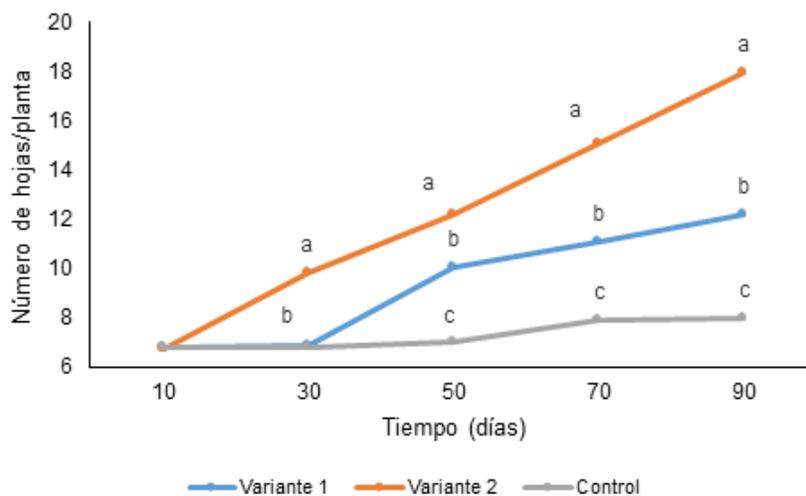
Respecto al número de hojas, así como sus características (largo y ancho), los valores más elevados, al igual que para la altura, se observaron en las plantas con fertilización diaria con la dosis máxima (variante 2) con diferencias significativas respecto a los restantes tratamientos (Figuras 3 y 4). Se destaca el hecho de que con esta variante las plantas mostraron incrementos en el número de hojas desde los 30 días, mientras que con la variante 1 de fertilización (aumento progresivo en la concentración aplicada cada 15 días) se requirieron 50 días para obtener esos resultados, lo cual demuestra que las necesidades nutricionales de estas plantas, en las condiciones experimentales ensayadas, eran superiores. En ello pudo incidir la composición del sustrato empleado que tenía una proporción de zeolita y fibra de coco superior a la materia orgánica y por ello las necesidades nutricionales deben ser cubiertas fundamentalmente por la vía foliar.

Yanes *et al.* (2001), obtuvieron en la fase de aclimatización incrementos significativos en la longitud de las hojas de plantas de piña de la cv. 'Cayena lisa' que fueron producidas *in vitro*, al aplicar además de un fertilizante foliar, ácido giberélico (AG_3). Estos autores con 200.0 mg l^{-1} de AG_3 alcanzaron hasta 16.2 cm. Sin embargo, en el presente estudio se

obtuvo una longitud de la hoja para este mismo cultivar superior a 17 cm solo con la aplicación de fertilizantes. De igual forma, Villalobos *et al.* (2012) refirieron que con fertilización foliar con una mezcla de 16.0 g N-P-K y 1.0 g de Multimicro Combi (Haifa Chemicals Ltd.) en 16 litros de agua, aplicada cada 10 días, a los 30 días de cultivo la hoja D de las plantas alcanzó como promedio 9.66 cm de largo y 9.24 cm de ancho.

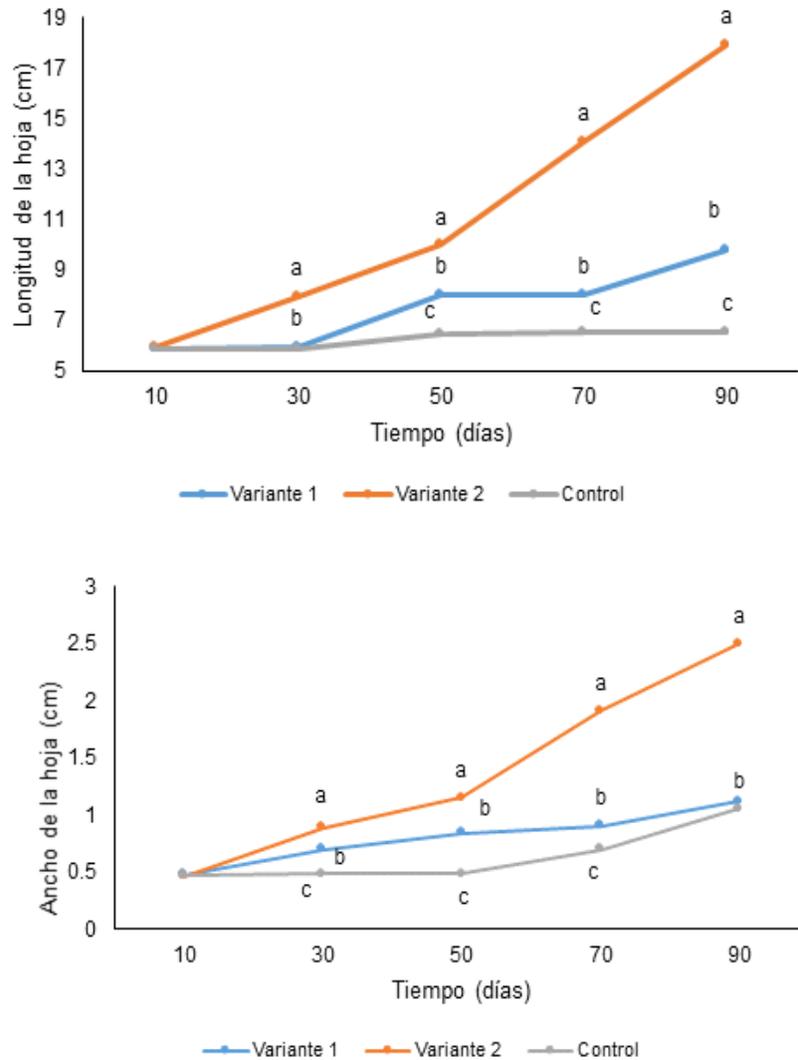
Del mismo modo que para el caso de la altura, ya a los 90 días de cultivo las plantas obtenidas en el tratamiento con fertilización diaria con la dosis máxima (variante 2), cumplían con los requerimientos de largo de la hoja para su trasplante a condiciones de campo y prácticamente duplicaron en valores numéricos, los resultados de la variante 1. A los 90 días de cultivo se alcanzó un valor medio de 2.5 cm de ancho de la hoja, superior a lo informado por Yanes *et al.* (2001) (1.5 cm de ancho de la hoja) al aplicar solo fertilizaciones foliares.

Las plantas que no fueron objeto de fertilización foliar (control) presentaron un lento crecimiento con los menores valores en las variables evaluadas con respecto al resto de los tratamientos a partir de los 30 días de cultivo.



Letras diferentes en cada tiempo indican diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$). $n=3150$ plantas

Figura 4. Número de hojas de plantas de *Ananas comosus* L. cv. 'Cayena lisa' en fase de aclimatización sometidas a diferentes variantes de fertilización.



Letras diferentes en cada tiempo indican diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$). $n=3150$ plantas

Figura 5. Características de las hojas de plantas de *Ananas comosus* L. cv. 'Cayena lisa' en fase de aclimatización sometidas a diferentes variantes de fertilización. A- largo de la hoja, B- ancho de la hoja.

En el crecimiento de las plantas de piña en fase de aclimatización inciden varios factores entre los que se destacan la iluminación, el sustrato, el régimen de riego y la fertilización (Brenes, 2005; González-Olmedo *et al.*, 2005; Mengesha *et al.*, 2013). Sobre lo anterior, Aragón *et al.* (2012) demostraron que es característico de las plantas de piña el metabolismo facultativo C3/CAM en los primeros dos meses de cultivo en dependencia de las condiciones medioambientales. Por ello, se requiere profundizar en estudios que permitan modificar

los procedimientos en la fase de aclimatización para disminuir el tiempo de cultivo con mayor crecimiento de las plantas. Aunque se han tenido avances al respecto, los resultados científicos no son siempre comparables ya que las condiciones experimentales son diferentes. Los resultados de este estudio confirman la necesidad de proporcionar a las plantas nutrientes durante la fase de aclimatización que garanticen estos propósitos y abren nuevas interrogantes para el diseño de estrategias de cultivo con eficiencia biológica y económica.

CONCLUSIONES

La frecuencia y dosis de fertilizantes aplicadas a plantas de piña cv. 'Cayena lisa' en fase de aclimatización influye en su crecimiento y en la duración del periodo de cultivo.

REFERENCIAS

- Almeida WAB, Santana GS, Rodriguez APM, Costa MA (2002) Optimization of a protocol for the micropropagation of pineapples. *Rev. Bras. Fruit* 2: 296-300
- Aragón C, Carvalho L, González J, Escalona M, Amâncio S (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* 31:757-769
- Baldotto L E B, M A Baldotto, L P Canellas, R Bressan-Smith, FL Olivares (2010) Growth promotion of pineapple 'Vitória' by humic acids and *Burkholderia* spp. during acclimatization. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 34 (5): 1593-1600
- Brenes S (2005) Caracterización vegetativa y productiva del cultivar MD-2 (*Ananas comosus*) bajo las condiciones climáticas de Turrialba. *Revista Electrónica de las Sedes Regionales de la Universidad de Costa Rica* 6(11): 27-34.
- Coveca C (2002) Commission from Veracruz for agricultural commercialization. Government of Veracruz department, Veracruz, Mexico
- Daquinta M (1998) Propagación *in vitro* de la piña (*Ananas comosus* (L) Merr) Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad de Ciego de Ávila. Ciego de Ávila.
- Dolgov SV, Shushkova TV, Firsov AP (1998) Pineapple (*Ananas comosus* Mess.) regeneration from leaf explants. *Acta Hort.* 461: 439-444
- Escalona M, Lorenzo JC, González B, Daquinta M, González J, Desjardins Y, Borroto CG (1999) Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) micropropagation in temporary immersion system. *Plant Cell Report* 18(9): 743-748
- FAO (2014) Statistical database. Tropical foods commodity notes. [En línea] En: www.fao.org. Consultado el 23 de enero de 2015
- Fitchet-Purnell M (1993) Maximum utilization of pineapple crowns for micro propagation. *Acta Hort.* 334: 325-330
- González R, Domínguez Q, Expósito LA, González JL, Hidalgo M (1997) Efectividad de ocho cepas de *Azotobacter* en la adaptación de vitroplantas de piña (*Ananas comosus* L. Merr.), cv. Cayena Lisa. *Acta Horticulturae* 425: 277-281
- González-Olmedo JL, Fundora Z, Molina L, Abdunour J, Desjardins Y, Escalona M (2005) New contributions to propagation of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) in temporary immersion bioreactors. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 41 (1): 87-90
- Griffith LP (1998) *Tropical Foliage Plants. A Grower's Guide*. Ball Publishing Batavia. Illinois.
- Leal F, Antoni M (1981) Descripción y clave de las variedades cultivadas en Venezuela. *Revista Facultad Agronomía (Maracay)* 29:51-79
- Mengesha Ayelign, Biruk Ayenew, Tewodros Tadesse (2013) Acclimatization of *in vitro* propagated pineapple (*Ananas comosus* L., var. Smooth cayenne) plantlets to *ex vitro* condition in Ethiopia. *American Journal of Plant Sciences* 4: 317-323
- Teixeira J B, Cruz A R R, Ferreira F R, Cabral J R (2001) Biotechnology applied to seedling production: production of pineapple plantlets. *Science and Biotechnology Development* 3: 42-47
- Triana R, Pérez Z, García L (1999) Instructivo para el cultivo de la piña fase IV. IBP. Santa Clara.
- Villalobo Ariel, González Justo, Santos Ramón, Rodríguez Romelio (2002) Morpho-physiological changes in pineapple plantlets (*Ananas comosus* L. Merr.) during acclimatization. *Cienc. agrotec. Lavras* 36(6): 624-630
- Yanes E, González O, Rodríguez R (2001) Empleo de giberelinas y fertilización foliar durante la aclimatización de vitroplantas de piña Cayena Lisa cv. 'Serrana'. *Biotecnología vegetal* 1: 23-28

Recibido: 14-07-2014

Aceptado: 11-11-2014