



Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento vegetativo de vitroplantas de piña (*Anana comosus* L. Merr) var. Perolera

Effect of different substrates on the vegetative growth of pineapple (*Anana comosus* L. Merr) var. Perolera

Autores: Miguel Ángel Cetre Cortes¹
Jorge Arturo Fernández Vélez²
Liliana Corozo Quiñónez³

Dirección para correspondencia: lilita77corozo@gmail.com

Recibido: 01-03-2020

Aceptado: 10-10-2020

Resumen

Ananas comosus L, es una de las especies tropicales de mayor importancia comercial de la familia Bromeliácea, debido a la fragancia, dulzor de su fruto y a la aceptación por parte de los consumidores en el mundo. La propagación convencional por sí sola no proporciona el material de plantación limpio y adecuado que exigen los países productores de piña para expandir los cultivares a nuevas zonas. La multiplicación *in vitro* se ha convertido en una técnica prometedora para la producción a gran escala. Sin embargo, las pérdidas en la etapa de aclimatación son críticas en el proceso de micropropagación. Por ello, el objetivo del experimento fue evaluar el efecto de diferentes sustratos en el crecimiento vegetativo de vitroplantas de piña (*Anana comosus* L.). Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 4 tratamientos que incluyeron sustratos de composición química diferente más un testigo con arena de río. El porcentaje de sobrevivencia se evaluó a los 10 días después del trasplante (DDT), mientras que la altura de planta y número de hojas se evaluaron a los 30 y 90 DDT. En las variables altura y número de hojas, se realizó un análisis de varianza entre los tratamientos (sustratos) y

¹ Maestría en Agronomía, mención Producción Agrícola Sostenible. Instituto de Posgrado. Universidad Técnica de Manabí. Ecuador. E-mail: mcetre5876@hotmail.com

² Carrera de Ingeniería Agronómica. Facultad de Ingeniería Agronómica. Universidad Técnica de Manabí. Ecuador. E-mail: jafv94@hotmail.com

³ Departamento de Agronomía. Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí. Ecuador.

adicionalmente se realizó un contraste ortogonal entre los sustratos vs el testigo (arena de río). La comparación de medias para las variables con significancia estadística se realizó con la prueba de Duncan al 5% de probabilidad. Se presentaron altas tasas de supervivencia en todos los tratamientos, y un efecto significativo de los sustratos en la altura y número de hojas en comparación con el tratamiento testigo.

Palabras clave: Aclimatación; *ex vitro*; sustratos.

Abstract

Ananas comosus L, is one of the most commercially important tropical species of the Bromeliad family, due to the fragrance, sweetness of its fruit and its acceptance by consumers around the world. Conventional propagation alone does not provide the clean and adequate planting material required by pineapple producing countries to expand cultivars to new areas. In vitro multiplication has become a promising technique for large-scale production. However, losses at the acclimatisation stage are critical in the micropropagation process. Therefore, the aim of the experiment was to evaluate the effect of different substrates on the vegetative growth of pineapple (*Anana comosus* L.) glass plants. A completely randomized block design was used with 4 treatments that included substrates of different chemical composition plus a control with river sand. The percentage of survival was evaluated at 10 days after transplanting (DDT), while plant height and number of leaves were evaluated at 30 and 90 DDT. For the variables height and number of leaves, an analysis of variance between the treatments (substrates) and additionally an orthogonal contrast between the substrates vs. the control (river sand) was carried out. The comparison of means for the variables with statistical significance was carried out with the Duncan test at 5% probability. There were high survival rates in all treatments, and a significant effect of the substrates on the height and number of leaves in comparison with the control treatment.

Keywords: Acclimatisation; *ex vitro*; substrates.

Introducción

Ananas comosus L. Merr es una de las frutas tropicales más populares y deliciosas. Es apreciada por su pronunciado sabor y sus elementos nutritivos, se propaga vegetativamente a través de hijuelos, retoños o coronas (Pineda et al., 2012). Sin embargo, estos materiales de propagación tienen limitaciones, entre ellas la transmisión de enfermedades, menos uniformidad e inadecuación para la producción comercial (d'Eeckenbrugge *et al.*, 2003).

La progresiva demanda de *Ananas*, ha provocado un incremento en la producción mundial, registrando 27 millones de toneladas en el año 2019, siendo los principales productores Costa Rica, Brasil, Filipinas, Tailandia e Indonesia; que representan cerca del 79 % de la producción mundial; correspondiendo 41,80% a Asia, 38,05% a América, 19,69% a África, y menos del 1% a Europa y Oceanía (FAO, 2018).

En Ecuador, la piña se produce durante todo el año, teniendo una temporada de mayor oferta en los meses de junio y julio (ASOPIÑA del Ecuador, 2017). Los Ríos, Guayas y Santo Domingo son las tres provincias donde se encuentra la mayor extensión de este cultivo y por ende representan la mayor parte de la producción nacional de Cayena Lisa y Golden Sweet que son las principales variedades de piña cultivadas en el país (FEDEXPOR, 2016). En el 2018 se exportan 80,579 toneladas métricas a los diferentes mercados de destino de la fruta (FAO, 2018), sin embargo, dada la demanda, la superficie se incrementó en el año 2019 a 4,805 hectáreas, con un total aproximado de 206,054 t ha⁻¹ (INEC, 2019).

La multiplicación de piña se realiza vegetativamente, siendo su crecimiento lento, lo que representa una baja rentabilidad al momento de realizar esta labor; por consiguiente, repercute en el abastecimiento de material vegetativo selecto para el establecimiento de cultivares, especialmente para los pequeños y medianos productores, los mismo que deben conformarse con los excedentes producidos por empresas privadas, que se encuentran en la capacidad de propagar el material que deseen (Rodríguez et al., 2016). Estas circunstancias han impulsado el uso de la micropropagación como instrumento biotecnológico, por sus grandes ventajas; como: la obtención de material sano, con una alta producción y homogeneidad en el campo, en menor tiempo, de forma masiva, con el empleo de material genético de calidad y de forma optimizada (Rodríguez-Escriba *et al.*, 2016).

La obtención masiva de plantas a partir de la micropropagación incluye varias fases: establecimiento, multiplicación, enraizamiento y aclimatación. Siendo la última fase, la que comprende el paso de las vitroplantas de condiciones *in vitro* a condiciones *ex vitro*, y es considerada la etapa más crítica de la micropropagación porque, se pierden entre el 50 a 90 % de vitroplantas (Cedeño y Macías, 2018). Por lo que, el manejo de las vitroplantas en condiciones *ex vitro*, es determinante y fundamental para lograr la obtención de más de un 90% de supervivencia. Para ello, la elección del material a considerar en esta etapa es importante para evitar pérdida de material vegetal. Con base en lo mencionado anteriormente el objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes sustratos para lograr el crecimiento vegetativo de las vitroplantas en la fase de aclimatación.

Metodología

La investigación se realizó en la Facultad de Ingeniería Agronómica (FIAG) de la Universidad Técnica de Manabí localizada geográficamente a 01° 09' de latitud sur y 80° 21' de longitud oeste a una altitud de 47msnm. Se utilizaron vitroplantas de piña (*Ananas comosus* L. Merr) variedad Perolera con un promedio de 5,77 cm de altura y 4,34 hojas/plántulas, con un sistema radicular desarrollado, obtenidas previamente del laboratorio de cultivo de tejidos de la FIAG.

Las vitroplantas fueron lavadas con abundante agua, hasta eliminar los residuos del medio de cultivo. para posteriormente en la casa de vegetación de la FIAG, ser colocadas en bolsas plásticas de 1 Kg de volumen, conteniendo los diferentes tratamientos (Tabla 1). El suelo agrícola que se empleó presenta características

equilibradas de arena, limo y arcilla con contenido de materia orgánica (MO), pH, nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K) (Tabla 2). En relación, a los materiales orgánicos, la tierra de cacao empleada se obtuvo mediante la descomposición de hojas, ramas y frutos de plantas cacao con tierra agrícola, mientras que el abono orgánico es un fertilizante proveniente del compostaje de la gallinaza procedente de los galpones de producción de huevos que bajo un estricto y controlado proceso de secado y sanitización, es transformado en un producto de uso agrícola de alta calidad. Se utilizó un tratamiento testigo con arena de río con la finalidad de contrastar el efecto químico y físico de cada uno de los sustratos evaluados (Tabla 3).

Tabla 1. Sustratos empleados en la aclimatación *ex vitro* de piña (*Ananas comosus* L. Merr) variedad perolera". Campus Experimental "La Teodomira" 2019.

Sustratos	Proporción en volumen (%)				Proporción	Código
	Suelo agrícola	Tierra de cacao	Arena de río	Abono orgánico		
T0 Testigo			100			A
T1	50		25	25	2:1:1	SAAAO
T2	50	25	25		2:1:1	SATCAAO
T3	25		25	50	1:1:2	SAAAO
T4	25	50	25		1:2:1	SATCA

Tabla 2. Características químicas del suelo agrícola y arena de río

Sustrato	pH	M.O.	NH ₄ [±]	P	K	Ca	Mg
		(%)	mg kg ⁻¹		meq 100g ⁻¹		
Suelo agrícola	6,4	1,8	24	38	1,1	11.6	1,32
Arena de río	7,1	1,4	16	13	0,8	10	2,1

Fuente: Laboratorio de análisis químicos y físicos de muestras de suelo del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (2019).

Tabla 3. Características químicas de los materiales orgánicos

Sustrato	pH	M.O.	N	P	K	Ca	Mg
		%					
Tierra de cacao	6,8	53.5	1,8	0,8	1,7	1,3	0,4
Abono orgánico (Fertilito)	7,3	36,5	1,48	2,23	2,95	12	0,99

Fuente: Laboratorio de análisis químicos y físicos de muestras de suelo del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (2019).

En la preparación de los sustratos se utilizó: arena de río, tierra agrícola, abono orgánico y tierra de cacao, los mismos que fueron mezclados en proporciones volumétricas:

- La arena de río se tamizó para eliminar restos vegetales y gravas (piedras mayores a 5 mm).
- En el caso del suelo agrícola se usaron dos tipos de cernidores: el primero permitía el paso de partículas con diámetros menores de 5 mm y el segundo partículas más finas menores a 5 mm. Posterior a ello se realizó la mezcla correspondiente con la ayuda de una pala.

Las vitroplantas se ubicaron en los recipientes con los sustratos de acuerdo, a las proporciones de cada tratamiento. Siete días después del trasplante (DDT), las vitroplantas se mantuvieron en condiciones de alta humedad en las hojas, para evitar problemas de deshidratación (se mantuvo la humedad en el follaje mediante riegos con atomizador cada hora con una duración de 30 segundos cada vez) y baja intensidad luminosa. A los 30 DDT se disminuyó la frecuencia de los riegos al follaje, regándolas a partir de ese momento una vez al día durante otros 20 días. Posteriormente las plantas ya no recibieron riego con atomizador, pero sí los riegos a nivel del sustrato espaciados cada dos días.

En relación, a la fertilización, las primeras cuatro semanas DDT, se aplicó semanalmente una solución nutritiva MS/2 según la formulación de Murashige y Skoog (1962). Posteriormente, cada ocho días se fertilizó con macronutrientes y micronutrientes. Se aplicó un fertilizante rico en fósforo y se alternó con fertilizante completo (macro y micronutrientes). Se utilizaron fertilizantes foliares porque estos se asimilan mejor por las hojas debido a que el sistema radicular en las vitroplantas no se había desarrollado completamente. La fertilización se suspendió cuando las plántulas adquirieron las características deseadas, es decir, cuando desarrollaron hojas funcionales a los 60 días después del establecimiento.

Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 4 tratamientos, cuatro repeticiones y un testigo. La variable porcentaje de sobrevivencia se evaluó a los 10 días DDT, contabilizando las plantas muertas en cada unidad experimental. Mientras que la altura de planta y número de hojas se evaluaron a los 30 y 90 DDT. La altura de planta se midió con la ayuda de un calibrador (micrómetro) desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja madura más larga (Hoja D). El número de hojas se evaluó por observación directa. Se realizó un análisis de varianza entre los tratamientos (sustratos) y adicionalmente se realizó un contraste ortogonal entre los sustratos vs el testigo (arena de río). La comparación de medias para las variables con significancia estadística se realizó con la prueba de Duncan al 5% de probabilidad, en el software estadístico InfoStat profesional (2018).

Resultados

Las plántulas de piña multiplicadas *in vitro* necesitan ser aclimatadas en el invernadero antes de ser transferidas al campo. La evaluación de diferentes sustratos se realizó, dado que la aclimatación de las plántulas *in vitro* en

condiciones *ex vitro* es un paso crítico para la supervivencia y el crecimiento de vitroplantas.

Porcentaje de supervivencia

La supervivencia de las vitroplantas depende de la transferencia exitosa y el establecimiento en condiciones *ex vitro*, porque influyen de manera directa muchos factores como: la humedad relativa, el nivel de irradiación, déficit de agua debido a la pobre conductividad hidráulica de las raíces y la baja conexión raíz-tallo (Fila et al., 1998). En esta investigación, la transferencia de las vitroplantas de piña de condiciones estériles a las condiciones *ex vitro* mostró altas tasas de supervivencia para todos los tratamientos (Gráfico 1), y se observó que los sustratos tuvieron un efecto significativo a los 10 DDT ($P < 0,001$).

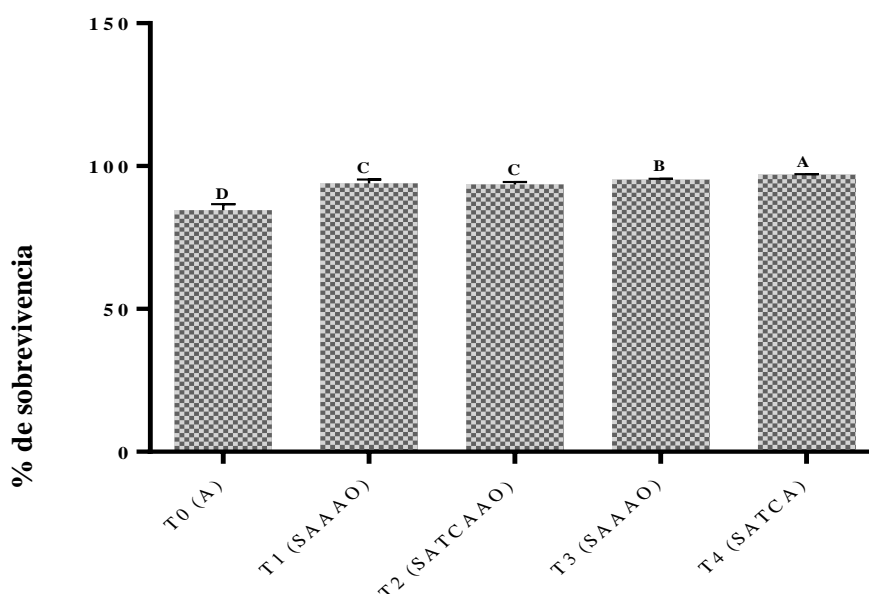


Gráfico 1. Valores promedio de los sustratos empleados en la aclimatación de vitroplantas de piña (*Ananas comosus* L. Merr) var Perolera. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0,05$)

El tratamiento que contenía suelo agrícola, tierra de cacao y arena de río (SATCA) sobresalió respecto al resto con una supervivencia del 96,89 %, seguido por el tratamiento que contenía suelo agrícola, abono orgánico y arena de río (SAAAO) con 95,2%, mientras que el testigo que incluía únicamente arena de río registró el porcentaje más bajo (84,55).

Altura de planta

Los resultados del análisis de varianza realizado a la variable altura de planta a los 30 DDT muestra que existe diferencias significativas entre los tratamientos evaluados ($P < 0,05$). Significancia que no se mantiene a los 90 DDT ($P > 0,05$). En el gráfico 2, se observan las medias de los tratamientos estudiados, así como el orden de mérito de estas según análisis de Duncan, los tratamientos que incluyen Suelo agrícola + Arena de río + Abono orgánico (SAAAO) y Suelo agrícola + Arena de río + Tierra de cacao (SATCA) presentaron la mayor altura (8,75 y 8,54 cm

respectivamente) ubicándolos como los mejores tratamientos en altura de plantas a los 30 días los cuales no difieren entre sí, pero si del resto de tratamientos. A los 90 DDT se aprecia que todos los tratamientos (SAAAO, SATCAAO, SAAAO y SATCA) mostraron alturas superiores a los 14 cm. Mientras que los testigos en ambos casos reportan los menores valores.

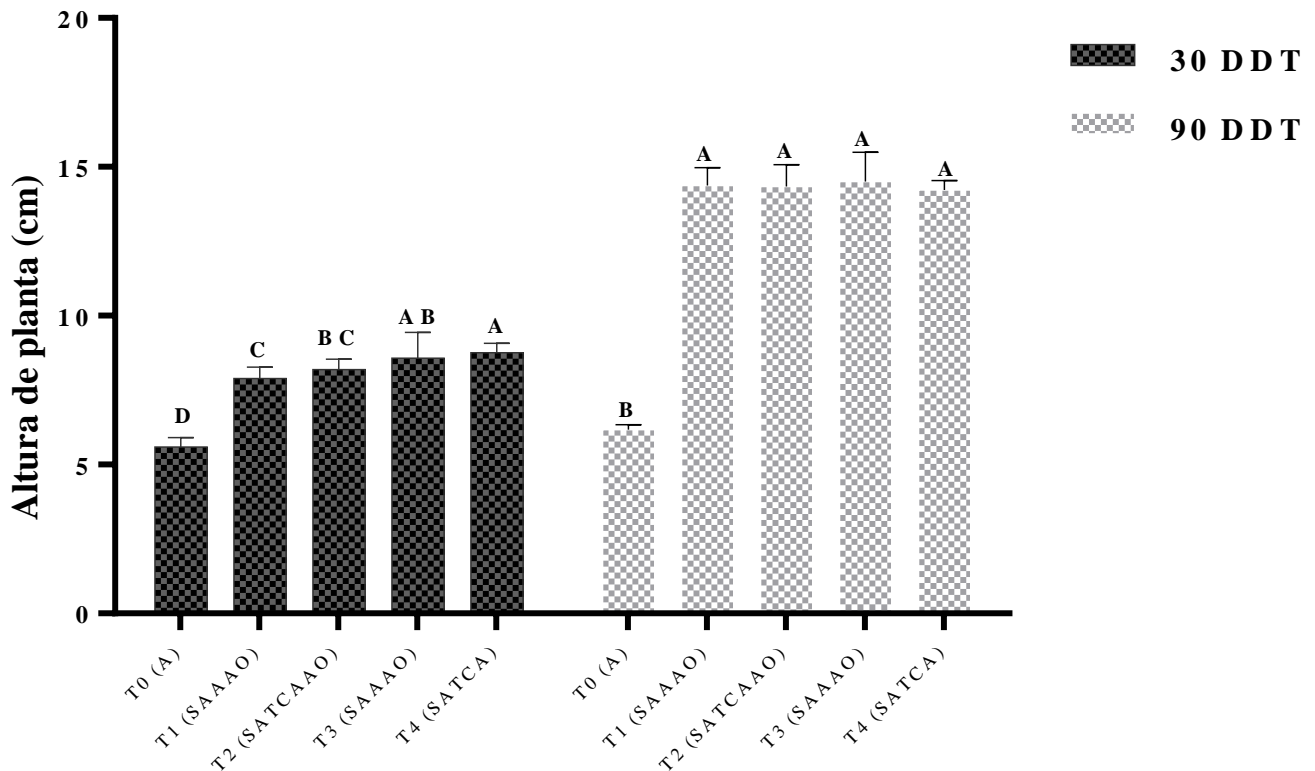


Gráfico 2. Valores promedios de altura de planta de vitroplantas piña (*Anana comosus* L. Merr) variedad Perolera), sembradas en diferentes sustratos.

Número de hojas

A diferencia de la altura de planta, la emisión foliar no registró diferencias estadísticas significativas por efecto de los sustratos ($P > 0,05$). El comportamiento estadístico de los tratamientos fue similar a los 30 y 90 DDT según la prueba de Duncan. Los tratamientos SAAAO, SATCAAO, SAAAO y SATCA indujeron a la aparición de mayor número de hojas los cuales no difieren estadísticamente entre sí, pero sí con el testigo que en ambos casos reportó la menor cantidad de hojas por planta (Gráfico 3).

Discusión

La piña (*Ananas comosus* L. Merr) es una de las frutas tropicales de mayor importancia a nivel mundial, por la fragancia y dulzor de su fruto. La multiplicación vegetativa de la piña tiene como efecto un crecimiento lento en las plantas, lo que representa una baja rentabilidad repercutiendo en el abastecimiento de material

vegetativo selecto para el establecimiento de cultivares, especialmente para los pequeños y medianos productores, los mismo que deben conformarse con los excedentes producidos por empresas privadas, que se encuentran en la capacidad de propagar el material que deseen. Estas circunstancias han impulsado el uso de la micropropagación como instrumento biotecnológico, por sus grandes ventajas; como: la obtención de material sano, con una alta producción y homogeneidad en el campo, en menor tiempo, de forma masiva. La aclimatación es un paso crucial antes del trasplante de las plántulas en el campo.

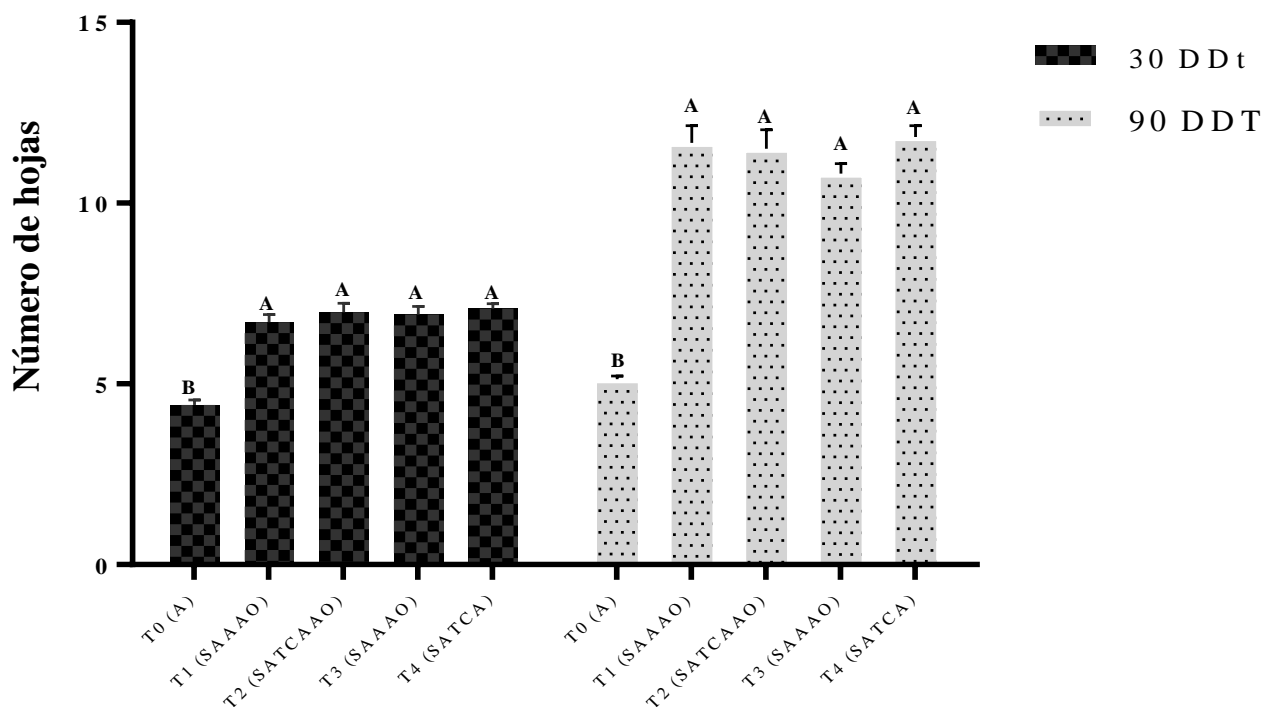


Gráfico 3. Valores promedios de número de hojas de vitroplantas piña (*Anana comosus* L. Merr) variedad Perolera), sembradas en diferentes sustratos.

La piña requiere un largo período de aclimatación hasta alcanzar un tamaño apropiado (Teixeira et al., 2001) debido a su naturaleza de crecimiento lento. Sumado a los costos de mano de obra, sustratos, fertilización, transporte e instalaciones varias. Aunque el período de crecimiento puede reducirse mediante la aplicación de algunos bioestimulantes (Baldotto et al., 2010), el tipo de sustrato sigue siendo un desafío para una aclimatación exitosa. Se sabe que los sustratos y los tipos de maceta influyen en la tasa de supervivencia de las plantas y en el rendimiento en cuanto al crecimiento en fase de vivero (Vasane & Kothari, 2006; Salifu et al., 2006). Por lo tanto, en este experimento, se consideraron tres variables para estudiar el efecto de diferentes sustratos en la aclimatación *ex vitro* de vitroplantas de piña var. Perolera.

Las vitroplantas de piña se aclimataron en los diferentes sustratos evaluados. Los altos índices de sobrevivencia son muy favorables, puesto que, las pérdidas en la

etapa de aclimatación son críticas en el proceso de micropropagación (Segovia *et al.*, 2002). Considerando que la principal causa de muerte de plantas micropropagadas al ser trasplantadas a condiciones *ex vitro*, es por desecación que sufren debido a la pérdida de agua foliar y la absorción reducida de la misma por parte del sistema radical durante la primera semana (Preece y Sutter, 1991). Los resultados muestran que la tasa de supervivencia en las mezclas de los sustratos que en promedio fue de 94,92% fue superior en un 10,37% al testigo que incluía únicamente arena de río. Se sugiere que la mezcla que tiene más materia orgánica (abono orgánico y tierra de cacao) e igual proporción de suelo agrícola y arena de río mejora la aireación y reduce la retención de agua permitiendo el crecimiento de la raíz, lo que conduce a una mejor tasa de supervivencia, disponibilidad de nutrientes y agua y por ende mejor rendimiento de la planta (Mengesha *et al.*, 2013). Sumado a que la materia orgánica juega un papel importante en los aspectos químicos, microbiológicos y físicos de la fertilidad del suelo, como fuente de nutrientes, principalmente nitrógeno (Rees *et al.*, 2000). Resultados similares obtuvieron Moreira *et al.* (2006) utilizando 11 sustrato (suelo, estiércol de ganado, Plantmax y compost orgánico) mezclados e individualmente, con vitroplantas de piña variedad Perla de 6 cm de altura aproximada; las mismas que alcanzaron aproximadamente el 95% de supervivencia para todos los tratamientos.

En relación, a las variables altura de planta y número de hojas, los mayores valores se obtuvieron con la mezcla de Suelo agrícola + Arena de río + Tierra de cacao (proporción 1:2:1) en todas las variables a los 30DDT, valores que en promedio se duplicaron a los 90 DDT. Estos resultados estarían relacionados con las condiciones físicas y de fertilidad que se obtuvo en las diferentes mezclas (sustratos) gracias al aporte de nutrientes del suelo agrícola (N, K, P) y a la incorporación del abono orgánico y la tierra de cacao que, en conjunto con las condiciones climáticas favorables, permitieron el desarrollo fenológico de la piña. Mientras que la arena de río según el análisis químico realizado presenta menos nutrientes que el resto de los sustratos. Los valores en cuanto a altura y número de hojas obtenidos en esta investigación están en concordancia con los reportados por Atawia *et al.* (2016), quienes obtuvieron en promedio 6,55 hojas en 30 días de evaluación en una mezcla de turba más arena (2:1) en vitroplantas de piña (*Ananas comosus* L. var. Smooth Cayenne), mientras que Mendonça *et al.* (2017), obtuvieron resultados superiores a los 270 días de aclimatación, con 19,6 y 20 cm de altura de planta y 19,2 y 20,6 hojas promedio para los cultivares 'Vitória' e 'Imperial', respectivamente, en un sustrato compuesto por tierra y estiércol de cabra (1:1 v/v). Los autores verificaron un mejor desempeño morfológico del cultivar. 'Imperial' en comparación con el cultivar. 'Vitória' para las variables antes mencionadas resultados contrastan con los obtenidos en esta investigación. Mientras que Villalobo *et al.* (2012) indicaron que durante los 30 primeros días de evaluación de vitroplantas de piña variedad MD-2 no hubo diferencias significativas en algunas variables entre ellas, número de hojas y longitud de planta (cm). Sin embargo, después de 45 días la planta registró diferencias significativas y los cambios morfológicos fueron mejores con relación a los 30 DDT. resultados que estarían en concordancia con los obtenidos en esta

investigación, observando un aumento significativo a los 90 días de aclimatación tanto en altura de planta como el número de hojas.

El costo de los fertilizantes minerales obliga a la búsqueda y evaluación de alternativas para el manejo de la nutrición vegetal; dentro de los más destacados y de mayor acceso para los agricultores, está el reciclado de nutrimentos a partir de fuentes como el compostaje, el uso de estiércol de origen animal y otras fuentes propias de los sistemas productivos como la pulpa de café y los residuos de cosecha, que se constituyen en las materias primas del proceso (Vergara *et al.*, 2020; Ramírez y Duque 2010). Generalmente las plantas obtenidas de propagación *in vitro* son aclimatadas en sustratos a base de turba inorgánica y estéril (Castillo, 2018; Hermoso *et al.*, 2018; Moreira *et al.*, 2006;) lo que eleva los costos de producción, sin embargo, con los resultados obtenidos en esta investigación, es factible el uso de sustratos de bajo costo (Suelo agrícola + Arena de río + Tierra de cacao (proporción 1:2:1)) y fácil accesibilidad sin causar un efecto adverso ni problemas fitosanitarios en las vitroplantas durante la fase de aclimatación.

Conclusiones

El uso de sustratos con contenido nutricional mejorado en relación, a sustratos tradicionales estériles (arena) mejora los niveles de supervivencia en la aclimatación de vitroplantas de piña.

Los sustratos cuyo contenido nutricional está basado en materia orgánica, mejora la estimulación en el desarrollo de las plantas durante los primeros 30 días de crecimiento de las vitroplantas de piña.

Referencias bibliográficas

ASOPIÑA del Ecuador (2017), recuperado el 20 de septiembre de 2020 en <http://www.asopina-ecuador.com/produccion.html> en septiembre de 2020.

Atawia, A., Abd El-Latif, F., El-Gioushy, S., Sherif, S., & Kotb, O. (2016). Studies on Micropropagation of Pineapple (*Ananas comosus* L.). Middle East Journal of Agriculture Research, 5(2), 224-232.

Baldotto, L., Baldotto, M., Canellas, L., Bressan-Smith, R., & Olivares, F. (2010). Growth promotion of pineapple 'Vitória' by humic acids and Burkholderia spp. during acclimatization. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 34(5), 1593-1600.

Castillo, L. (2018). Aclimatación simbiótica de vitroplantas de *Encyclia parviflora* (Regel) withner y *Stanhopea tigrina bateman* (Orchidaceae) para su conservación *ex situ*.

Cedeño, G. & Macias, J. (2018). Multiplicación *in vitro* de piña (*Ananas comosus* L. Merr) variedad perolera, a partir de meristemos apicales (Tesis de pregrado, Ingeniería Agronómica).

d'Eeckenbrugge, G. C., Leal, F., & Bartholomew, D. (2003). Morphology, anatomy and taxonomy. The pineapple: botany, production and uses, 13-32.

- FEDEXPOR. (2016). Futas tropicales de mayor demanda exportable. Revista de la Federación de Exportadores del Ecuador, 13-67.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2018). FAOSTAT Database. Agriculture holdings cultivated for the production of crops. Statistics Division (ESS).
- Fila, G., Ghashghaie, J., Hoarau, J. & Cornic, G. (1998). Photosynthesis, leaf conductance and water relations of *in vitro* cultured grapevine rootstock in relation to acclimatisation. *Physiologia Plantarum*, 102(3), 411-418.
- Hermoso, L., Suárez-Villasmil, L., Etienne, H., Bertrand, B., Barry-Etienne, D., Menendez-Yuffa, A. (2018). Semejanza entre el crecimiento en vivero de cafetos (*Coffea arabica* L.) obtenidos por embriogénesis somática y por semillas.
- INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censo del Ecuador). (2019). Estadísticas Agropecuarias. Recuperado el 5 de marzo de 2020, de INEC website: <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>.
- Mendonça, V., de Medeiros Mendonça, L., Pereira, E., Leite, G., da Costa, J., & de Medeiros, F. (2017). The growth and nutrition of pineapple (*Ananas comosus* L.) plantlets under different water retention regimes and manure. *African Journal of Agricultural Research*, 12(21), 1852-1860.
- Mengesha, A., Ayenew, B., & Tadesse, T. (2013). Acclimatization of *in vitro* propagated pineapple (*Ananas comosus* (L.), var. smooth cayenne) plantlets to *ex vitro* condition in Ethiopia.
- Moreira, M., Carvalho, J., Pasqual, M., Fráguas, C., & Silva, A. (2006). Acclimatization of micropropagated pineapple plants cv." Pérola": substrata effect. *Ciência e Agrotecnologia*, 30(5), 875-879.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-97.
- Pineda, A., Vargas, T., Escala, M. & de García, E. (2012). *Organogénesis in vitro* en piña "española roja" y morfoanatomía foliar de las plantas obtenidas en el proceso. *Bioagro*, 24(3), 175-186.
- Preece, J. & Sutter, E. (1991). Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In *Micropropagation* (pp. 71-93). Springer, Dordrecht.
- Ramírez-Builes, V. y Duque, N. (2010). Respuesta del lulo La Selva (*Solanum quitoense* x *Solanum hirtum*) a la aplicación de fermentados aeróbicos tipo bocashi y fertilizante químico. *Acta Agronómica*, 59(2).
- Rees, R., Ball, B., Watson, C., Campbell, C. (2000). Sustainable management of soil organic matter. CABI.
- Rodríguez, R., Becquer, R., Pino, Y., López, D., Rodríguez, R., Lorente, G., ... & González, J. (2016). Producción de frutos de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) MD-2 a partir de vitroplantas. *Cultivos Tropicales*, 37, 40-48.

Rodríguez-Escriba, R., Rodríguez-Cartaya, I., Lorente, G., López, D., Izquierdo, R., Borroto, L., ... & González-Olmedo, J. (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*, 37, 64-73.

Salifu, K., Nicodemus, M., Jacobs, D. & Davis, A. (2006). Evaluating chemical indices of growing media for nursery production of *Quercus rubra* seedlings. *HortScience*, 41(5), 1342-1346.

Segovia, R., Bedoya, A., Triviño, W., Ceballos, H., Gálvez, G. & Ospina, B. (2002). Metodología para el endurecimiento masivo de 'vitroplantas' de yuca. B. Ospina y H. Ceballos, 572-583.

Teixeira, J., Cruz, A., Ferreira, F. & Cabral, J. (2001). Biotechnology applied to seedling production: production of pineapple plantlets. *Science and Biotechnology Development*, 3, 42-47.

Vasane, S. & Kothari, R. (2006). Optimization of secondary hardening process of banana plantlets (*Musa paradisiaca* L. var. grand nain).

Vergara, J., García, A., Vera, E., Pazmiño, D. (2020). Respuestas morfofisiológicas de la raíz del arroz (*Oryza sativa* L.) variedad SFL 11 en fase de semillero a la aplicación de cepa nativa de *Trichoderma* sp. y lixiviados de vermicompost bovino. *La Técnica: Revista de las Agrociencias*, ISSN 2477-8982, (23), 13-24.

Villalobo, A., González, J., Santos, R. & Rodríguez, R. (2012). Morpho-physiological changes in pineapple plantlets [*Ananas comosus* (L.) merr.] during acclimatization. *Ciência e Agrotecnologia*, 36(6), 624-630.