

Empleo de bioproductos en la aclimatización *ex vitro* de la caña de azúcar (*Saccharum* spp.)

Aydiloide Bernal-Villegas*, Dunia Núñez-Jaramillo, Edel A. Toledo-Rodríguez, Irenaldo Delgado-Mora, Rafael Gómez-Kosky

Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA-Villa Clara)
Autopista Nacional, km 246, Ranchuelo. Villa Clara, Cuba

*aydiloide.bernal@inicavc.azcuba.cu

RESUMEN

Introducción. La propagación *in vitro*, vía organogénesis, técnica de formación de yemas axilares, es el sistema de regeneración más empleado para la producción de plantas con fines comerciales. En el caso de la caña de azúcar, esta forma de propagación cobra especial importancia, dados los problemas sanitarios relacionados con la producción de semillas por métodos tradicionales.

La aclimatización de las *plantas in vitro* es fundamental en la culminación del proceso de propagación, ya que son transferidas del ambiente aséptico y rico en nutrientes del frasco de cultivo a condiciones *ex vitro*, de ahí la importancia de los bioestimulantes: FITOMAS-E®, VIUSID Agro®, ICIBIOP-GLU® y el bioproducto LEBAME®.

Objetivo. Determinar el efecto de los bioestimulantes VIUSID Agro®, FITOMAS-E® e ICIBIOP-GLU® en la aclimatización *ex vitro* y del bioproducto LEBAME® en el crecimiento de plantas *in vitro*.

Materiales y Métodos. El trabajo se desarrolló en la Complejo Científico Productivo de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar y el material vegetal utilizado, en condiciones de umbráculo, fue el cultivar de caña de azúcar C97-445. Se evaluaron las disoluciones de los bioestimulantes y del LEBAME®. Las variables evaluadas fueron la supervivencia, el coeficiente de multiplicación y las morfofisiológicas.

Resultados y Discusión. El mejor resultado para la supervivencia se alcanzó con las disoluciones de VIUSID Agro®, FITOMAS-E® e ICIBIOP-GLU®. Las disoluciones de LEBAME® superaron al control.

Conclusiones. Se comprobó el efecto antiestrés de los bioestimulantes FITOMAS-E® y VIUSID Agro®, en la supervivencia de las plantas de caña de azúcar *in vitro*, con efecto positivo en su crecimiento y desarrollo, en la fase de aclimatización *ex vitro*. El ICIBIOP-GLU® resultó positivo en la supervivencia de las plantas de caña de azúcar *in vitro*, durante la aclimatización *ex vitro*; también el LEBAME® permitió el crecimiento de las plantas con calidad para su comercialización.

Palabras clave. Caña de azúcar, FITOMAS-E®, ICIBIOP-GLU®, LEBAME®, VIUSID Agro®.

ABSTRACT

Introduction. In vitro propagation using organogenesis (a technique for the formation of axillary buds), led the regeneration system in plants production used commercially. Concerning sugarcane, this propagation mechanism is especially significant, because of sanitary problems related to seed production using traditional methods. In vitro-plants Acclimatization is essential when culmination of propagation process is evaluated, because of plants are transferred from a flask (aseptic culture and nutrients' abundance being warrantied) to ex-vitro conditions, thus bio-stimulants such as FITOMAS-E®, VIUSID Agro®, ICIBIOP-GLU® and LEBAME® could be produced using this method.

Objective. Effect 'determination using bio-stimulants (VIUSID Agro®, FITOMAS-E® and ICIBIOP-GLU®) and LEBAME® as bio-product on in vitro plant-growth was stablished as aim in this experiment.

Materials and Methods. Experiments were carried out on Sugarcane Research Institute (Department of Biotechnology Scientific and Productive Complex). As source of plant, sugarcane cultivar C97-445 (under shade-house conditions) was employed. Different dilutions of Bio-stimulants and LEBAME® were used as treatment and survival, multiplication coefficient and morpho-physiological characteristics were analyzed as variable.

Results and Discussion. Higher level of survival was obtained using VIUSID Agro®, FITOMAS-E® and ICIBIOP-GLU® solutions. Concerning LEBAME® bio-product its dilutions were more effective than control assay.

Conclusions. Anti-stress effect of bio-stimulants FITOMAS-E® and VIUSID Agro® was shown (taking growth plant as response-variable) when survival (defined *in vitro*) of sugarcane plants was evaluated. Also ICIBIOP-GLU® had a positive effect on the survival of sugarcane plants *in vitro*, during *ex vitro* acclimatization. Moreover, LEBAME® enhanced plants growth with quality for commercialization.

Keywords. FITOMAS-E®, ICIBIOP-GLU®, LEBAME®, sugarcane, VIUSID Agro®.

INTRODUCCIÓN

La propagación *in vitro*, vía organogénesis, técnica de formación de yemas axilares es el sistema de regeneración más empleado para la producción de plantas *in vitro* con fines comerciales, debido a la estabilidad genética del material que se obtiene y a la facilidad con que puede ser establecido el método en diferentes especies.

En el caso de la caña de azúcar esta forma de propagación cobra especial importancia, dados los problemas sanitarios relacionados con la producción de semilla por métodos tradicionales; además de los bajos coeficientes de multiplicación de esta especie que impiden la rápida propagación de plantas libres de enfermedades y la introducción a la producción de cultivares promisorios.

La aclimatización de las plantas *in vitro* es un aspecto fundamental en la culminación de este proceso de propagación, *constituye* la fase más difícil del cultivo, pues las plantas *in vitro* son transferidas del ambiente aséptico y rico en nutrientes del frasco de cultivo a condiciones *ex vitro*, para iniciar su desarrollo. El cultivo *in vitro* hace que estas se desarrollen débiles, puesto que crecen bajo condiciones simuladas en frascos de cultivo, con una humedad relativa alta; por ello, la supervivencia se ve afectada al llevarlas al ambiente *ex vitro*, de ahí que los primeros días en la fase de aclimatización sean vitales para las plantas *in vitro*.

El FITOMAS-E® es un bioproducto, obtenido por el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA); derivado de la industria azucarera cubana, compuesto por sustancias bioquímicas de alta energía, propias de los vegetales superiores, principalmente aminoácidos, bases nitrogenadas, sacáridos y polisacáridos bioactivos (1).

El VIUSID Agro® (Catalysis, España) constituye una formulación que tiene la particularidad de que todos sus componentes (aminoácidos, vitaminas, minerales y extracto de algas) son sometidos a la técnica de activación molecular, procedimiento este que le imprime un aumento considerable en la acción biológica de las sustancias (2).

El ICIBIOP-GLU®, microorganismos eficientes (EM), son una mezcla de microorganismos benéficos naturales, sin manipulación genética, presentes en ecosistemas naturales, fisiológicamente compatibles unos con otros, fundamentalmente bacterias fotosintéticas, productoras de ácido láctico, levaduras, actinomicetes y hongos fermentadores. Estos pueden aplicarse como inoculante para incrementar la diversidad microbiana de los suelos y aumentar su calidad y sanidad, lo que redundará en crecimiento, calidad y rendimiento de los cultivos.

El LEBAME® es un bioproducto constituido por los microorganismos de la colección de cultivos del ICIDCA, compuesto por una mezcla de *Basillus subtilis* B/23-45-10 Nato, *Lactobacillus bulgaricus* B/103-4-1 y *Saccharomyces cerevisiae* L-25-7-12, con una concentración de 10^6 UFC mL⁻¹,

mezclado con miel final de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) y sulfato de amonio, a través de un proceso fermentativo (3).

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de los bioestimulantes VIUSID Agro®, FITOMAS-E® e ICIBIOP-GLU® durante la aclimatización *ex vitro*, además del bioproducto LEBAME®, en el crecimiento de plantas *in vitro*, en condiciones semicontroladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Efecto de los bioproductos FITOMAS-E® y VIUSID Agro® en la aclimatización *ex vitro*

Para evaluar el efecto antiestrés del VIUSID Agro® y del FITOMAS-E®, ambos fueron aplicados a las plantas *in vitro* en tres disoluciones (0, 0.5 y 0.8 mL/L⁻¹), estas se realizaron dos veces al día (9:00 am y 4:00 pm), durante los primeros tres días y, a partir de los siete días, una aplicación semanal hasta los 45 días. Se empleó una mochila de aspersión (Matabi, España) de 16 L de capacidad. Como control se utilizaron plantas *in vitro* a las cuales no se les realizaron aplicaciones de los bioestimulantes.

A los 15 días después del trasplante, en época de seca en el umbráculo se evaluó la supervivencia (porcentaje) y a los 21 días el coeficiente de multiplicación (número de nuevos brotes por planta). Para ambas variables, en todos los tratamientos se evaluó el 100 % de las plantas *in vitro*, a los 60 días se evaluaron diferentes características morfofisiológicas de las plantas *in vitro*.

A un total de 30 plantas seleccionadas al azar les fueron evaluadas las siguientes variables: Altura de la planta (cm), desde la base de la planta hasta la hoja+1; diámetro del tallo (mm); número de hojas; longitud de la hoja+1 (cm); contenido de clorofilas totales en hoja+1 (unidades SPAD) equivalentes a la cantidad de clorofila y nitrógeno total, con el empleo del detector portátil de clorofila SPAD-502 (Minolta, Japón); masa fresca (MF) de la planta completa (gMF); masa seca de la planta completa (gMS); MF parte área (gMF); MF de las raíces (gMF); número de raíces; longitud de la raíz más larga (cm) (4).

Efecto del bioproducto ICIBIOP-GLU® en la aclimatización *ex vitro*

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, con cinco tratamientos, 0, 6; 8; 10 y 12 mL/L⁻¹ del bioproducto, cuyo ingrediente activo lo constituye la bacteria endófito *Gluconacetobacter diazotrophicus*. El bioproducto se asperjó con una mochila con capacidad para 16 L, durante los primeros 3 días (dos veces por día), y después 7, 14 y 21 días después del trasplante. En cada bandeja se plantaron 60 plantas *in vitro*, las que permanecieron en condiciones de umbráculo. La atención cultural a las plantas *in vitro*, durante todo el experimento, se realizó según el manual establecido para este cultivo (5).

A los 55 días se evaluaron las características morfofisiológicas de las plantas *in vitro*, de los diferentes tratamientos. A 50 plantas seleccionadas al azar les fueron evaluadas las variables: altura de la planta (cm), desde la base de la planta hasta la hoja +1; diámetro del tallo (mm), con al auxilio de un pie de rey; número de hojas; longitud de la hoja +1(cm); contenido de clorofilas totales en hoja +1 (unidades SPAD), equivalentes a la cantidad de clorofila y nitrógeno total, determinados por métodos tradicionales (4), con el empleo el detector portátil de clorofila SPAD-502 (Minolta, Japón); número de raíces; longitud de la raíz más larga (cm).

Efecto del bioproducto LEBAME® (microorganismos eficientes) en la aclimatización *ex vitro*

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con cuatro tratamientos, cuatro disoluciones de LEBAME® (0, 8.0, 10.0, 12.0 mL/L⁻¹) y un control. El bioproducto se asperjó con

una mochila con capacidad para 16 L, a los 7, 14 y 21 días después del trasplante. En cada bandeja se plantaron 60 plantas *in vitro*, las que permanecieron en condiciones de umbráculo. La atención cultural a las plantas *in vitro*, durante todo el experimento, según el manual establecido para este cultivo (5).

A los 45 días de se tomaron 15 plantas por tratamiento y se realizaron las evaluaciones: la formación del cepellón de forma visual; altura (cm) de la planta, desde la base del tallo hasta la base de la hoja +1; diámetro del tallo (mm); número de raíces; masa fresca de la planta (gMF); masa fresca de la raíz (gMF); masa fresca de la hoja (gMF); número de hojas; longitud de la hoja+1(cm) y unidades SPAD, medidas con el clorofilómetro (SPAD-502) (4).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los bioproductos FITOMAS-E® y VIUSID Agro® en la aclimatización *ex vitro*

Supervivencia

Ambos bioestimulantes tuvieron un efecto positivo en la supervivencia de las plantas de caña de azúcar *in vitro*, cultivadas bajo condiciones de umbráculo. Tanto el VIUSID Agro® como el FITOMAS-E® superaron al control en todos los tratamientos, en las dos épocas de estudio (seca y lluvia) (tabla 1). Las disoluciones de VIUSID Agro® 0.5 mL/L⁻¹; VIUSID Agro® 0.8 mL/L⁻¹ y FITOMAS-E® 0.5 mL/L⁻¹ no tuvieron diferencias significativas entre ellas, pero sí con el resto de los tratamientos en la época seca de plantación. Sin embargo, en la época de lluvia se obtuvo la mejor respuesta con la disolución 0.5 mL/L⁻¹ de VIUSID Agro®, con diferencias significativas con el resto de los tratamientos (6).

Tabla 1. Efecto de los bioestimulantes VIUSID Agro® y FITOMAS-E® en la supervivencia de las plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) *in vitro*, a los 15 días después del trasplante, en condiciones de aclimatización *ex vitro*, en época de seca

Bioestimulantes (mL/L ⁻¹)	Supervivencia (%)
	Plantas mayores de 3.0 cm
FITOMAS-E® 0.5	93.3 b
FITOMAS-E® 0.8	97.2 a
VIUSID Agro® 0.5	99.4 a
VIUSID Agro® 0.8	100 a
Control	78.3 c

Porcentajes con letras distintas en una misma columna difieren significativamente, según la prueba de Proporciones para $p < 0.05$.

Estos resultados pueden atribuirse al efecto antiestrés informado para ambos bioestimulantes, según la composición de estos, en los que se destaca la presencia de varios aminoácidos (7 y 2) que penetran entre 5 y 20 % el primer día de la aplicación foliar. Estos tienen efecto antiestrés y actúan en el equilibrio hídrico de la célula de las plantas.

No se han encontrado, hasta el momento, referencias en la literatura científica internacional sobre la aplicación del bioestimulante VIUSID Agro® en el proceso de aclimatización *ex vitro* de plantas de caña de azúcar *in vitro*. Sin embargo, Reyes et al. (8) señalaron la aplicación de la disolución (0.1 %) de FITOMAS-E® en esta fase de la propagación *in vitro*, con frecuencias y tiempos diferentes para incrementar la supervivencia. Los resultados obtenidos en la presente investigación apoyan los informados por estos autores.

Multiplicación

Con la disolución de 0.8 mL/L⁻¹ de VIUSID Agro® se alcanzaron los mejores resultados para la variable coeficiente de multiplicación, con diferencias significativas con el resto de los tratamientos, para ambas épocas de plantación. Sin embargo, con la aplicación del FITOMAS-E® en ambas disoluciones no se obtuvieron resultados favorables (tabla 2). Este resultado pudiera deberse a la presencia de reguladores del crecimiento en la composición del VIUSIS Agro®, los cuales no están presentes en el FITOMAS-E®. En relación con lo anterior, (9) expresaron que el alga *Ascophyllum nodosum* también aporta a la formulación reguladores del crecimiento, esta contiene citoquininas, especialmente la zeatina, que es de gran actividad biológica, además, se ha constatado la presencia de auxinas y giberelinas.

Tabla 2. Efecto del uso del el VIUSID Agro® y FITOMAS-E® sobre la multiplicación de las plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) *in vitro*, a los 21 días de cultivo, en condiciones *ex vitro*, en plantas mayores de 3.0 cm

Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Total de plantas obtenidas	Coeficiente de multiplicación
FITOMAS-E® 0.5	196	1.15 b
FITOMAS-E® 0.8	133	0.84 c
VIUSID Agro® 0.5	209	1.35 b
VIUSID Agro® 0.8	370	2.10 a
Control	166	1.20 b
MG±EE	1.28±0.10	

Medias con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente, según la prueba de Tukey para $p \leq 0.05$ $n=180$.

En época de seca la aplicación de ambos bioproductos permitió que, a los 60 días de cultivo, después del trasplante se alcanzaran diferencias significativas en la mayoría de las variables que se evaluaron respecto al control, excepto el número de hojas. La disolución de 0.8 mL/L⁻¹ de VIUSID Agro® alcanzó, de manera general, resultados iguales o superiores con diferencias significativas al resto de los tratamientos, para las diferentes variables evaluadas (tabla 3).

Tabla 3. Efecto de los bioestimulantes sobre el crecimiento de las plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) *in vitro*, a los 60 días de cultivo, en condiciones de aclimatización *ex vitro*, en época de seca

Bioestimulantes (mL L ⁻¹)	Altura (cm)	Diámetro (mm)	Número de hojas	Longitud hoja ⁺¹ (cm)	Contenido de clorofila (SPAD) hoja ⁺¹	MF planta (gMF)	MS planta (gMS)	MF parte aérea (gMF)	MF raíces (gMF)	Número raíces	Longitud de la raíz más larga (cm)
FITOMAS-E® 0.5	15.33 b	4.24 a	5.33 a	49.36 a	31.09 a	7.39 a	1.23 d	4.92 a	2.51 a	10.93 ab	14.89 ab
FITOMAS-E® 0.8	16.97 a	4.05 a	5.53 a	50.96 a	30.91 a	7.33 a	1.31 c	5.27 a	2.28 a	10.06 b	13.89 bc
VIUSID® 0.5	17.70 a	3.98 a	5.80 a	49.89 a	33.84 a	7.11 a	1.39 b	5.12 a	2.51 a	12.06 a	15.66 a
VIUSID® 0.8	16.90 a	4.03 a	5.93 a	54.89 a	35.52 a	7.15 a	1.44 a	5.16 a	2.60 a	12.33 a	16.41 a
Control	15.03 b	2.59 b	5.47 a	46.51 b	30.32 b	3.69 b	1.16 e	2.94 b	0.94 b	8.53 c	12.99 c
MG±EE	16.38 ±0.20	3.78 ±0.93	5.61 ±0.08	50.32 ±0.94	32.34 ±0.46	6.53 ±0.22	1.30 ±0.01	4.77 ±0.15	2.17 ±0.10	10.38 ±0.23	14.77±0.26

Medias con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente, según la prueba de Tukey para $p \leq 0.05$ ($n=30$).

La disolución de 0.8 mL/L⁻¹ de VIUSID Agro® alcanzó, de manera general, resultados iguales o superiores al resto de los tratamientos, para las diferentes variables evaluadas, con diferencias significativas. Para las variables: longitud de la hoja +1; diámetro del tallo; contenido de clorofila; masa fresca de la planta; masa fresca de la parte aérea y raíces, todos los tratamientos alcanzaron iguales resultados, pero superó a la disolución de 0.5 mL/L⁻¹ de VIUSID Agro® en variables importantes, como: masa seca de la planta y número de raíces, que definen el crecimiento y desarrollo logrados por las plantas *in vitro* en este tratamiento. Es de destacar que, los tratamientos a los que se les aplicaron ambas disoluciones del VIUSID Agro® y 0.8 mL/L⁻¹ de FITOMAS-E®, a los 60 días de cultivo, obtuvieron plantas *in vitro* aclimatizadas, con una altura superior a los 15 cm, en esta época de plantación en la que las plantas tienen un crecimiento más lento, en estas condiciones de cultivo bajo umbráculo, en el que no existe control de la temperatura, la lluvia y el viento (6).

En la época de lluvia, de forma integral, la mejor respuesta se alcanzó con la disolución más baja de VIUSID Agro® 0.5 mL/L⁻¹, con diferencias significativas con el resto de los tratamientos para las variables: masa seca y fresca de la parte aérea. Con igual resultado a los tratamientos VIUSID Agro® y FITOMAS-E®, ambos a igual disoluciones (0.8 mL/L⁻¹), para el resto de las variables evaluadas. Solo en el contenido de clorofila, en esta época, las plantas *in vitro* de todos los tratamientos no manifestaron diferencias entre ellas.

Las hojas tienen un importante papel en el desarrollo de las plantas *in vitro* (tabla 4).

Tabla 4. Efecto de los bioestimulantes sobre el crecimiento de las plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) *in vitro*, menores de 3.0 cm, a los 60 días de cultivo en condiciones de aclimatación *ex vitro*, en época de lluvia

Bioestimulantes (mL L ⁻¹)	Altura (cm)	Diámetro (mm)	Número de hojas	Largo de hoja +1 (cm)	Contenido de clorofila (SPAD) hoja +1	MF planta (gMF)	MS planta (gMS)	MF parte aérea (gMF)	MF raíces (gMF)	Número de raíces	Longitud de raíz más larga (cm)
FITOMAS-E® 0.5	24.05 ab	0.50 ab	4.5 b	80.19 a	26.00 a	11.23 bc	1.65 c	8.75 b	2.41 b	21.6 a	17.65 a
FITOMAS-E® 0.8	22.43 ab	0.46 ab	4.8 b	71.32 ab	21.95 b	12.16 b	1.92 b	8.64 b	3.31 ab	18.7 ab	18.14 a
VIUSID® 0.5	23.97 ab	0.52 ab	5.0 b	72.27 ab	23.24 b	10.67 bc	1.95 b	8.45 b	2.19 b	17.9 ab	19.23 a
VIUSID® 0.8	25.46 a	0.59 a	5.7 a	74.53 ab	26.79 a	18.00 a	2.15 a	14.34 a	3.60 a	18.3 ab	21.37 a
Control	20.21 b	0.40 b	4.6 b	65.74 b	23.69 b	7.59 c	1.22 d	5.85 b	1.80 b	15.2 b	21.32 a
MG±EE	23.2 ±0.49	0.48 ±0.13	4.9 ±0.75	72.90 ±1.13	24.37 ±0.45	11.91 ±0.56	1.54 ±0.08	9.21 ±0.46	2.65 ±0.14	17.7 ±0.49	19.54 ±0.47

Medias con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente, según la prueba de Tukey para p≤0.05 (n=30).

Ambos bioestimulantes incrementaron el número de hojas en los distintos tratamientos, en ambas épocas de plantación. La altura alcanzada por las plantas *in vitro* a los 60 días después del trasplante, permitió evidenciar el efecto estimulador en su crecimiento, por ambos bioestimulantes, aspecto este de suma importancia pues permite acortar el tiempo de estas en la fase de aclimatación *ex vitro*, porque en todos los tratamientos los valores obtenidos fueron de 17.70 y 30.90 cm para las épocas de seca y lluvia, respectivamente.

Las variables masa fresca de raíces, número de raíces y longitud de la raíz más larga también tuvieron resultados superiores con la aplicación de ambos bioestimulantes, con diferencias significativas con respecto al control. También, las plantas *in vitro* de caña de azúcar, con la aplicación de

ambos bioproductos en las dos épocas, mostraron un mayor número de hojas y longitud de la hoja +1, lo que permitió un incremento del contenido de clorofila y, por tanto, una posible mayor actividad fotosintética (7).

Los resultados demuestran también el efecto positivo del FITOMAS-E® en el crecimiento de la planta con respecto al control, pero inferior al VIUSID Agro®. En el caso del FITOMAS-E®, se informó el efecto positivo de este bioestimulante en la altura, número de hojas y diámetro del tallo; sin embargo, no tuvo efecto en el crecimiento y número de raíces durante la fase de aclimatación *ex vitro* del cultivar de caña de azúcar C93-540 (8). Los resultados obtenidos en la presente investigación, con diferentes disoluciones y momentos de aplicación superan los señalados por estos autores en el cultivar C97-445.

Efecto del bioproducto ICIBIOP-GLU® en la aclimatación *ex vitro*

Tabla 5. Efecto del bioproducto ICIBIOP-GLU® sobre la supervivencia de las plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) *in vitro*, sin raíces, a los 15 días después del trasplante, en condiciones de aclimatación *ex vitro*, en época de seca

ICIBIOP-GLU® (mL/L ⁻¹)	Supervivencia (%)
	Plantas mayores de 3.0 cm
6.0	82.5 b
8.0	86.4 b
10.0	94.3 a
12.0	91.4 a
Control	51.0 c

Porcentajes con letras distintas en una misma columna difieren significativamente, según la prueba de Proporciones para $p < 0.05$ ($n=180$).

Tabla 6. Efecto del bioproducto ICIBIOP-GLU® sobre el crecimiento de las plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) *in vitro*, a los 55 días de cultivo, en condiciones de aclimatación *ex vitro*, en época de seca

ICIBIOP-GLU® (mL/L ⁻¹)	Altura (cm)	Diámetro (mm)	Número de hojas	Longitud de hoja ⁺¹ (cm)	Contenido de clorofila (SPAD) hoja ⁺¹	Número de raíces	Longitud de raíz más larga (cm)
6.0	9.64 b	1.00 b	5.4 a	40.70 a	30.05 b	10.0 a	8.00 b
8.0	11.20 ab	1.05 b	5.7 a	40.36 a	29.93 b	12.7 a	11.05 b
10.0	15.05 a	0.92 b	5.4 a	42.26 a	33.42 a	13.8 a	30.95 a
12.0	12.45 a	0.95 b	5.2 a	40.05 a	34.52 a	14.0 a	30.65 a
Control	8.45 b	2.77 a	5.4 a	39.86 a	29.68 b	7.90 b	27.85 a
MG±EE	8.85±0.13	1.42±0.45	5.42±0.1	40.85±0.61	30.72±0.47	11.68±0.28	21.7±0.35

Medias con letras distintas, en una misma columna, difieren estadísticamente, según la prueba de Tukey para $p \leq 0.05$ $n=50$.

Efecto del bioproducto LEBAME® (microorganismos eficientes) en la aclimatación *ex vitro*

Con la aplicación del LEBAME® en la fase de aclimatación *ex vitro* se obtuvieron, con las tres disoluciones utilizadas, valores significativamente superiores al control, en cuanto a las variables altura, masa fresca de las plantas y de las raíces. Respecto al contenido de clorofilas totales (unidades SPAD), el número de hojas y de masa fresca de la hoja fueron superiores al control, en las tres disoluciones empleadas de este bioproducto. Sin embargo, los resultados no mostraron diferencias estadísticas entre las disoluciones evaluadas (tabla 7).

Tabla 7. Efecto del LEBAME® sobre la altura y masa fresca de la planta y sobre la masa fresca de la raíz de las plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) *in vitro*, en fase de aclimatización *ex vitro*, a los 45 días de cultivo

Disoluciones	Altura de la planta (cm)	Masa fresca de la planta (g)	Masa fresca de la raíz (g)
Control	16.37 b	5.40 b	1.49 b
8 mL/L ⁻¹ de LEBAME®	18.23 a	6.77 a	2.18 a
10 mL/L ⁻¹ de LEBAME®	17.85 a	6.64 a	2.17 a
12 mL/L ⁻¹ de LEBAME®	17.58 a	6.47 a	2.11 a
EE	11.87 ± 0.28	6.32 ± 0.10	1.99±0.07
CV	11.87	12.1	26

Medias con letras no comunes dentro de la misma columna difieren estadísticamente, según la prueba de Tukey para $p < 0.05$ (n=60) EE. Error Estandar, CV. Coeficiente de Variación.

En cuanto al número de raíces también fue significativamente superior con las tres disoluciones utilizadas de este bioproducto. Tampoco la longitud de la hoja +1 y el diámetro del tallo presentaron diferencias estadísticas en ninguno de los tratamientos. La formación del cepellón no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ni entre estos y el control (6), como se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Efecto del LEBAME® sobre el número de raíces, la longitud de la hoja⁺¹ y el diámetro del tallo de las plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) *in vitro*, en la fase de aclimatización *ex vitro*, a los 45 días de cultivo

Disoluciones	Número de raíces (U)	Longitud de la hoja ⁺¹ (cm)	Diámetro del tallo(mm)
Control	9.6 b	61.05 a	3.64 a
8 mL/L ⁻¹ de LEBAME®	13.3 a	63.32 a	3.77 a
10 mL/L ⁻¹ de LEBAME®	12.8 a	60.13 a	3.66 a
12 mL/L ⁻¹ de LEBAME®	13.8 a	60.79 a	3.75 a
EE	12.62 ± 0.24	61.32± 0.7	3.71±0.057
CV	14.9	8.63	11.58

Medias con letras no comunes dentro de la misma columna difieren estadísticamente, según la prueba de Tukey para $p < 0.05$ (n=60) EE. Error Estandar, CV. Coeficiente de Variación.

Los resultados obtenidos con la aplicación del LEBAME®, al cultivar de caña de azúcar C97-445 en la fase de aclimatización *ex vitro* muestran la conveniencia de su aplicación para lograr plantas con los parámetros de calidad requeridos y acortar el tiempo en esta fase de la propagación *in vitro*, por lo que el incremento del número de raíces pudiera ser debido a la necesidad de estas de absorber agua. Los microorganismos eficientes (ME) tienen la capacidad de desarrollar efectos beneficiosos entre el suelo y la planta. Con las tres dosis de LEBAME®, se lograron parámetros de calidad superiores en las plantas *ex vitro*, en comparación con el control.

CONCLUSIONES

1. Se comprobó el efecto antiestrés de los bioestimulantes FITOMAS-E® y VIUSID Agro®, al incrementar en más de un 20 % la supervivencia de las plantas de caña de azúcar *in vitro*.

2. Se determinó que la aplicación del VIUSID Agro® a las disoluciones de 0.5 y 0.8 mL/L⁻¹ tuvieron efecto como bioestimulante, con incrementos en el ahijamiento de plantas de caña de azúcar *in vitro*, en condiciones de aclimatización *ex vitro* en ambas épocas de plantación.
3. El empleo de los bioproductos VIUSID Agro® y FITOMAS-E® tuvo un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de las plantas de caña de azúcar *in vitro*, en la fase de aclimatización *ex vitro* y se lograron los mejores resultados con la aplicación del producto VIUSID Agro® para ambas épocas de plantación.
4. Se determinó que la aplicación del LEBAME® tiene un efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas de caña de azúcar del cultivar C97-445 *in vitro*, lo que permite lograr plantas con la calidad requerida para su comercialización.
5. El ICIBIOP-GLU® tiene un efecto positivo sobre la supervivencia de las plantas de caña de azúcar del cultivar C97-445 *in vitro*, sin raíces durante la aclimatización *ex vitro*, lo que permite lograr plantas con la calidad requerida para su comercialización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. George EF (2008). Plant propagation by tissue culture, 3rd edition, vol. 1. The background. In: George EF, Hall MA, De Klerk G-J (eds) Plant tissue culture procedure-background. Springer, Dordrecht, pp 1-28.
2. Catalysis (2024). VIUSID agro, promotor del crecimiento. Consultado 20 de marzo 2024. Disponible en: <http://www.catalysisagrovete.com>.
3. Clapa D, Fira A, Joshee N, (2013). An efficient *ex vitro* rooting and acclimatization method for horticultural plants using float hydroculture. Hortscience 48(9):1159-1167.
4. Reeves WD, Mask PL, Wood CW, Delay DP, (1993). Determination of wheat nitrogen status with a handheld chlorophyll meter. Influence of management practices. Journal of Plant Nutrition 16(5): 781-796.
5. Jorge H, González R, Casas M, Jorge I, (2011). Normas y Procedimientos del Programa de Mejoramiento Genético de la Caña de Azúcar en Cuba. La Habana, Cuba, PUBLINICA. 308-346 pp.
6. Gómez-Kosky R, Núñez Jaramillo D, Reyes-Esquirol C, Bernal Villegas A, Bermúdez Calimano M, Machado Armas P, Álvarez Ferreiro J, Pineda Ruiz E, Kukurtcu B, Daniels DD, (2020). Effect of VIUSID Agro and FitoMas-E on the *ex vitro* acclimatization of sugarcane plants (*Saccharum spp.*) cultivar C90-469 Sugar Tech. 17 (4): 339-347 doi: 10.1007/s12355-019-00752-7.
7. Montano, R, Zuaznábar R, García A, Viñals M, Villar J (2007) Fitomas-E. Bionutriente derivado de la Industria Azucarera, Ciudad de la Habana: ICIDCA.25 pp.
8. Reyes CF, Rivera O, Jiménez M, Montes de Oca JL, Occeguera Z, Hernández A R, García JR, Martínez S, (2011). Aclimatización de cultivares de caña de azúcar procedentes de la fase de enraizamiento a los que se les aplicó Fitomas-E. Centro Agrícola 38(1):3538.
9. Lindani N, Olivier M, (2012). Effects of the integrated use of effective microorganisms compost and mineral fertilizer on greenhouse-grown tomato. African Journal of Plant Science. 6(3):120-4.