

EVALUACIÓN DE VITROPLANTAS DE HENEQUÉN (*Agave fourcroydes* Lem) DURANTE LA FASE DE ACLIMATIZACIÓN

E. Abreu[✉], G. González, R. Ortiz, P. Rodríguez, R. Domech y M. Garriga

ABSTRACT. The present work was aimed at concluding the optimal acclimatization period of henequen (*Agave fourcroydes* Lem) vitroplants. Thus, 7-9-cm-tall vitroplants were selected, using zeolite-fermented henequen pulp mixture as a substrate with 10 % organic matter. The performance of different morpho-physiological indicators was evaluated at vitroplant release and during the acclimatization phase in four stay periods (15, 30, 45 and 60 days) under greenhouse conditions. Its further evolution was also evaluated at nursery stage. The stable and favourable growth indicators recorded as well as vitroplant water status indicated that the acclimatization stage can be concluded in 30 days, when henequen vitroplants are ready for the nursery stage.

Key words: *in vitro* culture, water potential, growth, growing media

RESUMEN. El presente trabajo se desarrolló con el objetivo de establecer el momento óptimo para concluir el proceso de aclimatización de vitroplantas de henequén (*Agave fourcroydes* Lem). Para su realización, se seleccionaron plántulas con tallas comprendidas en la categoría de 7 a 9 cm, empleando como sustrato la mezcla de pulpa de henequén fermentada con zeolita, con un 10 % de materia orgánica. Se evaluó el comportamiento de diferentes variables morfo-fisiológicas al momento de la salida *in vitro* de las vitroplantas y durante la fase de aclimatización en cuatro períodos diferentes (15, 30, 45 y 60 días) de su estancia en casa de cultivo, así como posteriormente su evolución durante la etapa de microvivero. El comportamiento estable y favorable de los indicadores de crecimiento y del estado hídrico de las vitroplantas, indicó que se puede concluir la etapa de aclimatización a los 30 días, momento a partir del cual las vitroplantas de henequén ya están listas para pasar a la etapa de microvivero.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, tensión de absorción, crecimiento, sustratos de cultivo

INTRODUCCIÓN

El henequén (*Agave fourcroydes* Lem) es una especie yucateca que se cultiva en esa región mexicana y en Cuba. Es una planta productora de biomasa fibrosa y metabolitos esféricos, que constituyen principios activos para la industria farmacéutica y agropecuaria. La amplia gama de productos que se obtiene del henequén ha ganado en importancia y en el futuro cercano serán producciones codiciadas y sostenibles, a fin de reducir la alta contaminación de los plásticos y otros productos sintéticos dañinos al ecosistema (1, 2).

En la actualidad, la falta de posturas para cumplir los planes de siembra, que permitan solventar la demanda de fibra en el presente y futuro, condujo a la plantación de todo tipo de material, con el fin de generar

plantaciones no uniformes y de bajos rendimientos, que han contribuido al mismo tiempo a su deterioro gradual.

Todo ello se ha convertido, sin lugar a dudas, en un grave problema a resolver con la mayor celeridad posible. Con los métodos convencionales de propagación, será imposible lograr plantaciones de alta calidad en corto plazo; por lo tanto, el empleo y la generalización de la técnica de cultivo *in vitro* serían de gran importancia en este cultivo, pues su utilización racional pudiera contribuir a que en menor tiempo se logren plantaciones de henequén homogéneas y de alta calidad en el país (3, 4).

Sin embargo, a pesar de la producción millonaria de plántulas a través de las técnicas de cultivo de tejidos, las cifras que llegan a los campos son muy bajas, por deficiencias en las metodologías de aclimatización (5). Esto hace que esta fase sea una de las etapas críticas en la propagación *in vitro*, pues es donde el material producido se transfiere a condiciones *ex vitro* y, si esa transferencia no se realiza cuidadosamente, puede resultar en una significativa pérdida del material propagado (6), y afectarse en gran medida la calidad final de las plantas y la eficiencia total del proceso (5).

Por otra parte, definir el momento óptimo para la conclusión de esta fase, en el menor tiempo posible y con la

E. Abreu, Dr. C. G. González y Ms. C. R. Domech, Profesores Asistentes y M. Garriga, Profesor Instructor de la Universidad de Matanzas, autopista a Varadero km 3 ½, CP 44 740, Matanzas; Dr. C. R. Ortiz, Investigador Titular del Departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal y Dr. C. P. Rodríguez, Investigador Agregado del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, CP 32 700.

✉ enildo.abreu@umcc.cu, enildoabreu2004@yahoo.es

calidad necesaria, hace que el proceso final de micropropagación responda económicamente a los intereses de los productores. Por estas razones, el presente trabajo pretende evaluar la fase de aclimatización de vitroplantas de henequén, para determinar el momento óptimo de culminación de este proceso, basado en el comportamiento de variables morfo-fisiológicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló teniendo como base criterios establecidos en una metodología para la aclimatización de vitroplantas de henequén, con una supervivencia hasta de un 90 %, de acuerdo con estudios previos realizados en el Centro de Estudios Biotecnológicos de la Universidad de Matanzas.

Selección del material vegetal. Se seleccionaron vitroplantas comprendidas en la categoría de 7 a 9 cm, de acuerdo con su talla, con un adecuado estado fisiológico y fitosanitario, procedentes del octavo subcultivo, según protocolo de micropropagación establecido (4). Las vitroplantas fueron enraizadas *in vitro* en medio MS, con las sales de nitrógeno ligeramente modificadas (7), durante un período de 30 días.

Preparación del material vegetal. Las plántulas seleccionadas fueron extraídas de los frascos de cultivo y lavadas cuidadosamente con agua corriente, para eliminar los restos de agar de los brotes y raíces, podando estas últimas para facilitar su establecimiento en el sustrato. Para el experimento, estas fueron sometidas a un período de 10 horas de imbibición en agua destilada antes del trasplante y, en el momento de la plantación en la bandeja, la parte basal y la zona de las raíces se sumergieron en una solución de oxiclورو de cobre con una concentración de 14.5g/L (8).

Condiciones del proceso de aclimatización. El proceso de aclimatización se desarrolló en casa de cultivo con manejo de la intensidad luminosa (9, 10), a través de diferentes condiciones creadas con el empleo de capas de malla zaran de color negro, estableciéndose una zona que permitía el paso del 30 % de la luz (\approx entre 558.74 y 686.55 $\mu\text{mol/s.m}^2$), donde las plántulas fueron ubicadas durante las dos primeras semanas y otra zona con el paso de la luz del 70 % (\approx entre 1303.37 y 1602.04 $\mu\text{mol/s.m}^2$), hacia donde se trasladaron posteriormente hasta su ubicación en microvivero. Para la medida del paso de la luz se utilizó un luxómetro del tipo PU 150, empleándose el factor 0.0185 para la conversión a $\mu\text{mol/s.m}^2$ (11).

Durante todo el proceso, las plantas se establecieron en bandejas de poliespuma de 247 alvéolos (47 x 69 cm, volumen de alveolo 30 cm^3), con un sustrato conformado por la mezcla de residuo orgánico de pulpa de henequén fermentada con zeolita (Tabla I).

La humedad relativa se mantuvo por encima del 90 % para las dos primeras semanas y a partir de la tercera se mantuvo al 80 %. El control se realizó con un hidrotérgrafo del tipo VEB.

Tabla I. Características del sustrato utilizado en la aclimatización

Porcentaje de materia orgánica (MO)	Densidad (g/cm^3)	Cantidad de materiales mezclados (kg)	
		Zeolita	*Pulpa de henequén
10	0.66	5.54	4.46

Mezcla equivalente a 10 kg

**Zeolita sin cargar, con una densidad de 0,98 g/cm^3 , granulometría de 1-2 mm

***Pulpa de henequén con fermentación de 180 días, de la empresa henequenera Eladio Hernández León. Tamizada a 60 mm.

(Las características químicas se presentan en la Tabla II)

Condiciones del crecimiento en microvivero. Para esta fase se utilizaron canteros de hormigón con un área de 2.5 m^2 , rellenos con residuos orgánicos de pulpa de henequén fermentada (Tabla II), ubicados en condiciones naturales. Durante toda la etapa se contó con la posibilidad de riego, haciéndose una aplicación diaria durante las 10 primeras semanas, manteniendo la humedad del sustrato por debajo de los niveles de saturación; posteriormente el intervalo se amplió a un riego cada dos días, también con la característica de humedecer por debajo de los niveles de saturación.

Tabla II. Características químicas del residuo de pulpa de henequén fermentada, utilizada para la conformación de los sustratos

Na (%)	K (%)	C/N	Dsp (g/cm^3)	Ca (%)	Mg (%)	P (%)	MO (%)	PH	N (%)
0.07	0.07	11.49	0.61	2.45	0.56	0.15	21.6	7.4	1.09

Para la ejecución del experimento, se utilizó un diseño totalmente aleatorizado, estableciéndose cinco tratamientos de estudio que comprendió: el momento de la salida *in vitro* de las vitroplantas y con 15, 30, 45 y 60 días de estancia en el proceso de aclimatización, con un total de 40 individuos por tratamiento (12, 13). En cada momento de muestreo se midieron las variables: tamaño de la plántula, número de hojas, y largo y ancho de ellas, área foliar (largo x ancho x 0.68) (4), masa seca total (MsT), masa seca del sistema radical (MsR), masa seca del tallo (MsTa) y masa seca foliar (MsH) (14). A partir de los datos obtenidos, se calcularon los siguientes indicadores de crecimiento:

- ⇒ Tasa absoluta de crecimiento (TAC)
- ⇒ Tasa relativa de crecimiento (TRC)
- ⇒ Tasa de asimilación neta (TAN)
- ⇒ Relación del área foliar (RAF)
- ⇒ Relación de peso foliar (RPF)
- ⇒ Área foliar específica (AFE).

Además, se determinaron el contenido relativo de agua foliar (CAR) y el potencial hídrico foliar antes del alba (Ψ_p) (15), este último con el empleo de una cámara de presión tipo Scholander-Hammer.

Los tratamientos con 15, 30, 45 y 60 días en aclimatización tuvieron una segunda fase de evaluación en condiciones de microvivero, para la cual las plántulas

fueron trasplantadas a estas condiciones (16). Durante esta etapa se evaluó el porcentaje de supervivencia de las vitroplantas e igualmente se midieron las variables morfológicas descritas anteriormente y los indicadores de crecimiento (TRC, TAN y RAF). Las mediciones se hicieron al inicio (coincide con la evaluación hecha al final de la aclimatización para cada uno de los tratamientos) y al final del microvivero (180 días para cada uno de los tratamientos).

Para la medida de las variables y la determinación de los indicadores, se utilizó un tamaño de muestra de cinco individuos por tratamiento para los muestreos destructivos y 10 individuos para los restantes.

Los datos obtenidos se procesaron mediante un análisis de clasificación simple y para detectar la diferencia entre las medias, se realizó la prueba de rangos múltiples de Duncan. Las variables discretas que no cumplieran con la distribución normal se les aplicó la prueba de Kruskal–Wallis, y para el porcentaje de supervivencia se utilizó el análisis de comparación de proporciones a través de la prueba de hipótesis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El comportamiento de las variables morfo-fisiológicas de las vitroplantas de henequén, medido al momento de su salida *in vitro* y durante los distintos momentos establecidos de la etapa de aclimatización, se presenta en la Tabla III. Se observa que tanto el número de hojas como de raíces tienen un comportamiento estable durante todos los momentos evaluados; sin embargo, al final de este período (intervalo de 45 a 60 días), se manifiesta la pérdida de la hoja más vieja de la vitroplanta, lo que evidencia un efecto en el comportamiento de las variables área foliar y masa seca total, como se puede apreciar en la propia tabla.

Estos resultados sugieren que la ocurrencia de la pérdida de hojas en las vitroplantas durante el proceso de aclimatización es favorecida, debido al lógico estrés producido cuando las plántulas son transferidas de las condiciones *in vitro* a las condiciones de invernadero o de campo. Las alteraciones morfológicas, anatómicas y fisiológicas, ocurridas en las vitroplantas como resultado del ambiente *in vitro*, hacen que las plántulas durante las

primeras semanas de la aclimatización presenten incapacidad para controlar la pérdida de agua, lo que les provoca un incremento brusco de la transpiración y que puedan alcanzar solamente tasas reducidas en la actividad fotosintética (13). Este hecho puede estar asociado a que las plantas presentan un estado fisiológico característico y óptimo para las condiciones medioambientales particulares a las que están expuestas; en cuanto se presenta el estrés, las plantas reaccionan ralentizando o deteniendo sus funciones fisiológicas básicas y reduciendo su vigor (17).

Es conocido que las plantas, al no poder moverse, tienen que responder al deterioro del entorno de una forma diferente a como lo hacen los animales. Una respuesta específica de las plantas es deshacerse de las partes no esenciales y recuperar los nutrientes presentes en esas partes, de las que se deshace, para dirigirlos hacia órganos esenciales para ellas (17).

Por otra parte, está demostrado que en muchas especies de plantas, las hojas formadas *in vitro* son incapaces de seguirse desarrollando en condiciones *ex vitro* y son reemplazadas por hojas recién formadas (18).

Resultados similares han sido mostrados en caña de azúcar. Durante la fase de aclimatización en este cultivo, se pueden establecer dos etapas marcadas (12): un período de lento crecimiento con baja formación de raíces y números de hojas, que caracteriza los primeros 21 días, en el cual las plántulas realizan sus funciones a expensas de las reservas adquiridas en la fase *in vitro* y luego de esta fecha se realizan cambios en las condiciones de aclimatización, que provocan una disminución en la mayoría de las variables del crecimiento y desarrollo. Posterior a la adaptación de las plántulas a las nuevas condiciones ambientales, se aprecia un marcado incremento fundamentalmente en las masas fresca y seca.

En particular, el fenómeno de la pérdida de hojas durante la aclimatización en el cultivo del henequén tiene un efecto aún mayor sobre las variables del crecimiento, por la tendencia de esta especie a mantener un crecimiento sumamente lento durante las primeras fases de su desarrollo (6), asociado además con las características propias de la especie como planta xerófita, que realiza el metabolismo de las plantas CAM (10, 19, 20, 21), lo que indica que durante los primeros 60 días en las

Tabla III. Comportamiento de algunas variables morfo-fisiológicas de las vitroplantas de henequén durante la etapa de aclimatización

	30 % de luz ($\approx 558.74\text{--}686.55 \mu\text{mol/s.m}^2$) 90 % HR		70 % de luz ($\approx 1303.37\text{--}1602.04 \mu\text{mol/s.m}^2$) 80 % HR			ES x
	0	15	30	45	60 días	
No hojas	6.2	5.6	5.8	5.6	5	0.19NS
No raíces	6.4	4.4	4.8	5	4.6	0.42NS
Área foliar (cm ²)	12.2 b	10.5 b	18.5 a	17.5 a	12.4 b	0.75
Masa seca total (g)	0.069 c	0.067 c	0.103 ab	0.126 a	0.084 bc	0.006
Contenido relativo de agua (%)	0.92 ab	0.905 b	0.936 a	0.925 ab	0.936 a	0.003
Potencial hídrico (Ψ_h) (MPa)	-0.32 a	-0.46 b	-0.32 a	-0.32 a	-0.30 a	0.017

condiciones *ex vitro*, el comportamiento de las vitroplantas esté más marcado por la pérdida de una hoja que por la emisión de nuevas, siendo más reflejado el proceso de crecimiento de las plántulas en la expansión foliar y el engrosamiento de los tejidos del mesófilo de las hojas.

El área foliar y la masa seca total se incrementan significativamente a los 30 días, manteniendo un comportamiento casi estable hasta los 45, para posteriormente volver a experimentar una disminución significativa a los 60 días, como consecuencia de la pérdida de una hoja, como ya se explicó anteriormente.

El contenido relativo de agua (CRA) fluctuó a lo largo de la fase en estudio entre valores muy cercanos. La disminución observada a los 15 días, que expresa diferencia significativa con el momento de 30 y 60 días, podría explicarse por el mencionado estrés producido como consecuencia del cambio de una condición (*in vitro*) a la otra (*ex vitro*). Desde los 30 hasta los 60 días no hay, como se planteó anteriormente, diferencias significativas, a pesar de la tendencia que se manifestó a los 45 días a tener una disminución.

En cuanto al potencial hídrico (Ψ_h), se produce también una sensible disminución de su valor a los 15 días de la salida *in vitro*, que se puede entender como lógico, debido a que en ese intervalo es donde más se manifiesta el estrés, como consecuencia de la insuficiente preparación de las plántulas a las nuevas condiciones, tanto desde el punto de vista morfológico como anatómico-fisiológico, que está relacionado como se dijo antes con la incapacidad de las plántulas para controlar la pérdida de agua (18, 22).

En la Figura 1, se aprecia el comportamiento de los indicadores de crecimiento evaluados a las vitroplantas, en los momentos establecidos para el estudio de la fase de aclimatización, reflejándose valores ligeramente negativos para las tasas absoluta, relativa y de asimilación neta en el intervalo de 0 a 15 días, lo que indica que durante este tiempo no hubo incremento en la biomasa de las plántulas, como se puede apreciar en los valores de área foliar y masa seca total mostrados en la Tabla III, por lo que se sugiere que la fotosíntesis neta es cero. Este hecho se debe a que todo el CO_2 fijado en la fotosíntesis es consumido en la respiración o que las plántulas en estas condiciones sobreviven a expensas de las sustancias de reservas adquiridas por las hojas durante la fase *in vitro*, lo que puede ser el resultado de un comportamiento heterotrófico de las vitroplantas (18, 23, 24).

Las reducidas tasas de crecimiento o con valores negativos, presentes en las vitroplantas durante las primeras semanas de la aclimatización (24), pueden estar asociadas con el hecho de que las variaciones en el contenido hídrico de las plántulas, como sucede en las hojas en estado de marchitez (característica usualmente visible en las plántulas después del trasplante), producen cierto incremento de la actividad respiratoria, puesto que

ocurre la transformación de almidones en azúcares y, por consiguiente, una disminución del peso seco; además, está demostrado que en las plantas cuya tasa de crecimiento es cero, toda la respiración estará destinada a procesos de mantenimiento (25). Por otra parte, se conoce que el efecto más importante, incluso de un estrés hídrico suave, es la reducción del crecimiento, siendo especialmente sensible la expansión celular (17).

Finalmente, en relación con el análisis anterior, está confirmado que la carencia de agua en las plantas puede influir de manera decisiva en la acumulación de biomasa o en su rendimiento (26), siendo precisamente en este intervalo, como se explicó anteriormente, donde más bajo se presentaron los valores de CRA y Ψ_h , difiriendo este último significativamente del resto de los valores mostrados en los distintos momentos estudiados de la etapa de aclimatización.

En los intervalos de 15 a 30 y de 30 a 45 días, todas las tasas de crecimiento se incrementan, especialmente en la primera de estas fechas, para luego caer significativamente y alcanzar nuevamente valores negativos aún menores que los encontrados en el intervalo de 0 a 15 días, lo cual tiene su explicación en la pérdida de una hoja, como se dijo antes, que representa disminuciones proporcionales del área foliar y la biomasa, lo que explica el comportamiento casi estable a lo largo de toda la fase en estudio de la relación del área foliar, y que la relación del peso foliar, a pesar de haber tenido un incremento significativo en el intervalo de 15 a 30 días, vuelva a mostrar una tendencia a disminuir a los 60 días.

Por su parte, el área foliar específica refleja a los 60 días un índice menor por miligramo de peso seco, incluso difiriendo significativamente del valor mostrado a los 15 días, lo que sugiere que durante este período se mantuvo una tendencia a incrementar el grosor de las hojas corroborando, conjuntamente con la condición favorable del estado hídrico de las plantas en el intervalo de 45 a 60 días, lo expresado anteriormente en relación con las particularidades de este cultivo en cuanto a su crecimiento en el período evaluado.

El comportamiento ulterior de las vitroplantas en cuanto a la supervivencia, cuando fueron transferidas a microvivero, se refleja en la Figura 2, destacándose una disminución significativa para las plantas provenientes de la estancia de 15 días, no siendo así para los restantes momentos, donde el número de plantas que sobrevivió fue favorable y similar para cada caso. Este resultado corrobora igualmente los análisis hechos anteriormente para el comportamiento de las vitroplantas de henequén en la etapa de aclimatización, lo que sugiere que a los 15 días las plántulas se presenten todavía con incapacidad para realizar procesos fotosintéticos eficientes, asociados a altas tasas de transpiración, que le impiden adaptarse eficientemente a las nuevas condiciones ambientales de los exteriores.

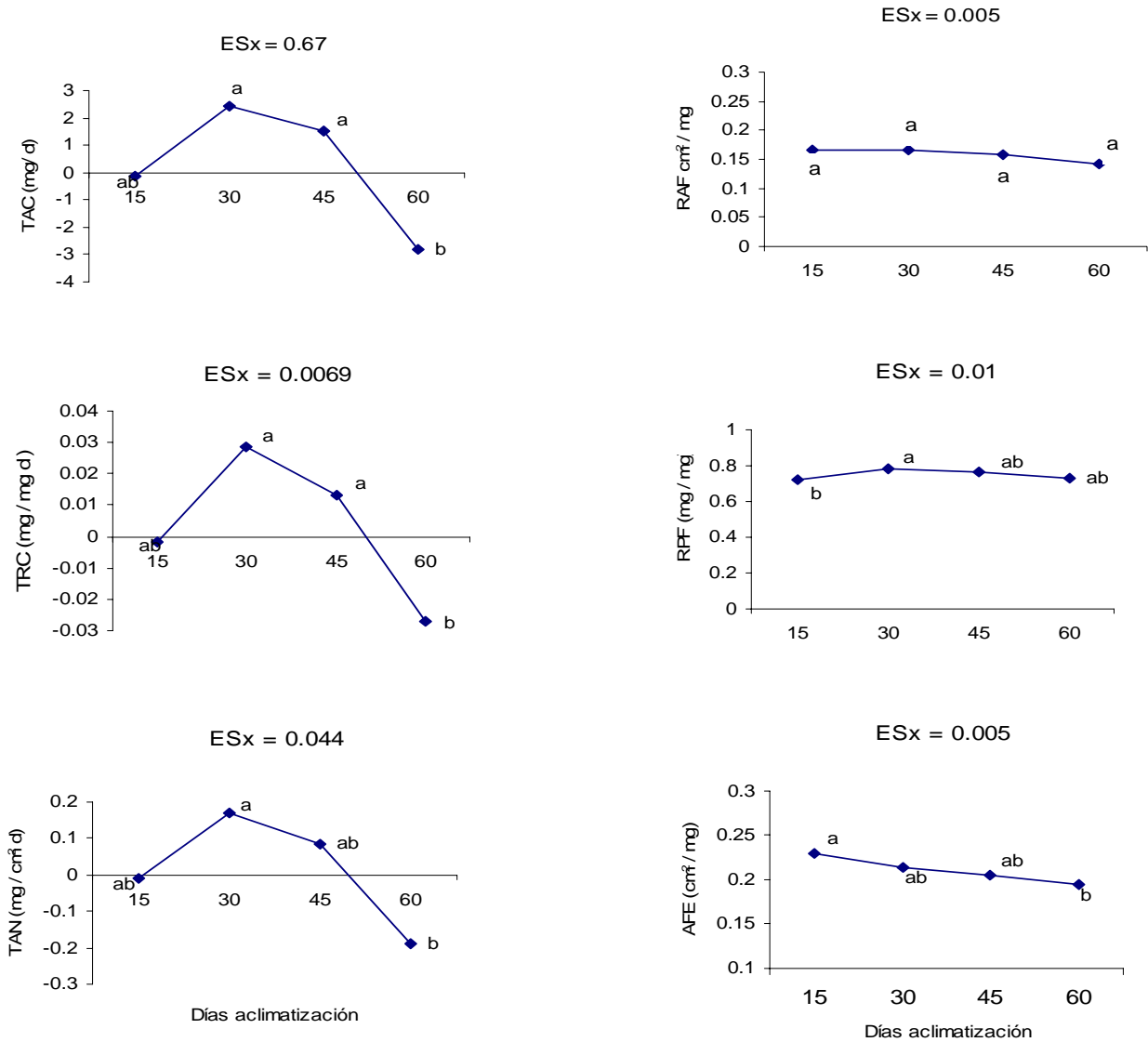


Figura 1. Comportamiento de la tasa absoluta de crecimiento, tasa relativa de crecimiento, tasa de asimilación neta, relación del área foliar, relación de peso foliar y área foliar específica durante la fase de aclimatización

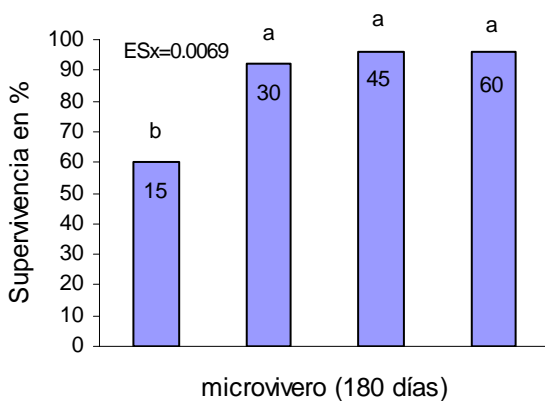


Figura 2. Supervivencia de las vitroplantas durante la etapa de microvivero con 15, 30, 45 y 60 días de estancia en la fase de aclimatización

Es importante mencionar que en la estructura de las hojas de las plantas de henequén, es característico un engrosamiento de la cutícula y abundantes ceras epicuticulares, que le permiten una menor tasa de transpiración por esta vía en condiciones naturales, aspectos estos que no son totalmente corregidos durante las primeras semanas de la aclimatización, como resultado de su adaptación a las nuevas condiciones medioambientales y que parecen tener un efecto más marcado durante los primeros 15 días.

Sin embargo, la respuesta en las variables del crecimiento de las plantas mostradas en la Tabla IV para todas las variantes, a los 180 días del microvivero, no reflejan diferencias entre ellas, de la misma manera que los indicadores del crecimiento calculados al final del período (Figura 3) tienen un comportamiento similar, favoreciéndose desde el punto de vista de la calidad y economía del proceso en nuestras condiciones, las vitroplantas con una estancia de 30 días en la fase de aclimatización.

Tabla IV. Comportamiento de algunas variables del crecimiento en vitroplantas con 15, 30, 45 y 60 días de aclimatización durante la fase de microvivero a los 180 días de estancia en esta etapa

Variantes	Período aclimatización (días)	Talla (cm)	No. hojas	Area foliar (cm ²)	Materia seca total (g)
I	15	20.3 9 NS	7 NS	205 NS	8.31NS
II	30	21.4 7	7	184	8.22
III	45	22.4 5	7	194	8.28
IV	60	23.0 3	7	194	8.42
ESx		0.58	0.17	7.7	0.47

Esto indica que las plántulas de esta especie responden positivamente a partir de los 30 días de estancia en la etapa de aclimatización, no solo desde el punto de vista de la supervivencia sino también en cuanto al crecimiento y desarrollo, pudiendo ser este un comportamiento que está marcado por el hecho de que el cultivo del henequén se favorece en condiciones de climas más cálidos, por ser una especie de condiciones áridas e incluso desérticas (27).

Es importante resaltar, además, que una vez lograda la adaptación y capacidad para desarrollar procesos fotosintéticos, la exposición a la luz completa en exteriores es un factor favorable, para incrementar las tasas de crecimiento y desarrollo de estas plántulas (28). Este es un aspecto que se debe considerar para acelerar el tránsito de las plantas por el área de aclimatización, ya que una vez logradas las altas tasas de supervivencia, las plántulas crezcan y se desarrollen rápidamente, para hacer eficiente el proceso de propagación y utilizar con mayor frecuencia las instalaciones especializadas dedicadas a estos fines.

En el método tradicional de propagación de henequén, el vivero constituye una fase importante, ya que en él se logran posturas sanas con buen desarrollo y se asegura una mejor selección del material y, como consecuencia, una mayor uniformidad de las plantaciones. Las plántulas que son recogidas en el campo para ser establecidas en esta fase no deben ser inferiores a los 15 cm y deben agruparse según su talla. Es difícil lograr que posturas provenientes de la micropropagación alcancen este porte durante un tiempo mínimo de aclimatización, pues tratar de alargar esta etapa en función de cumplir el objetivo anterior, teniendo en cuenta todos los recursos que se ponen en función de este proceso, es un gasto innecesario.

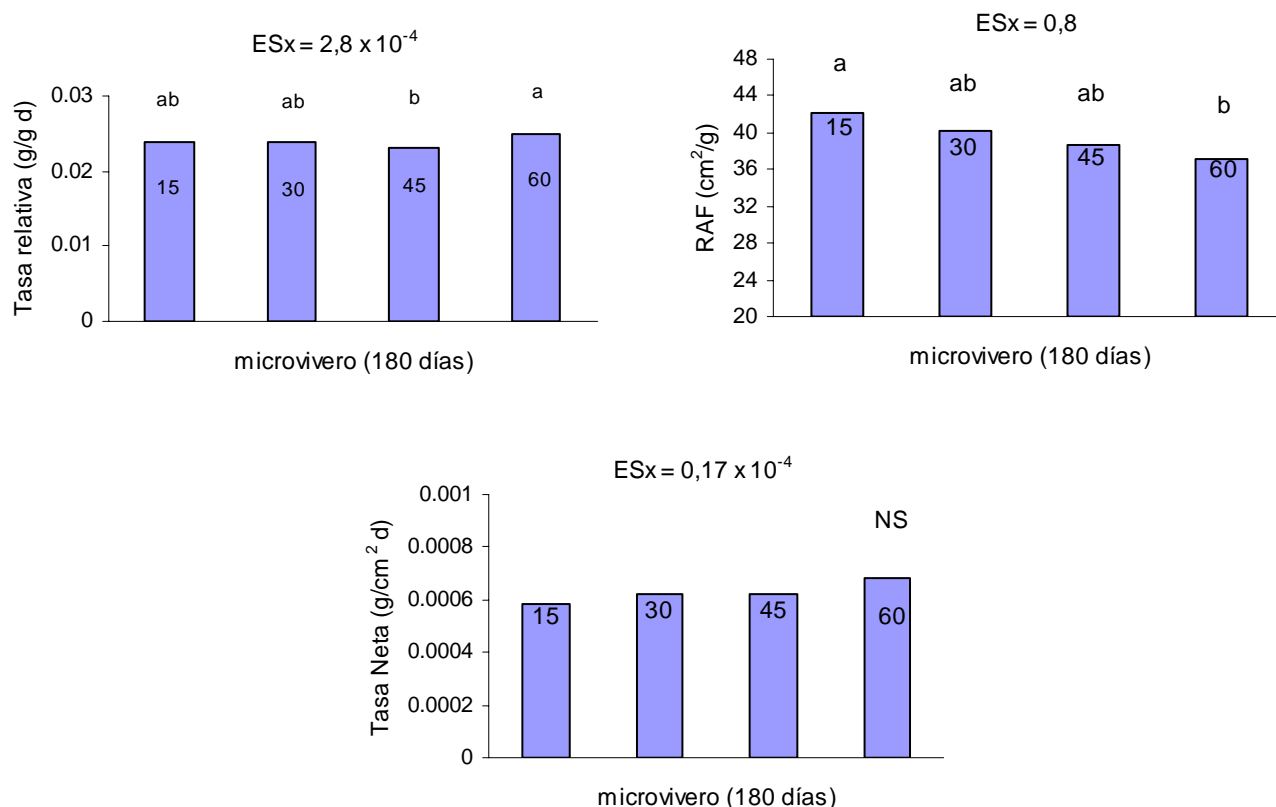


Figura 3. Comportamiento de tasa relativa de crecimiento, tasa de asimilación neta y relación del área foliar de las plantas durante la etapa de microvivero para los períodos de 15, 30, 45 y 60 días de aclimatización

La propuesta de una etapa intermedia entre la aclimatización y el vivero permite preparar a la vitroplanta, para soportar los rigores de las condiciones de campo en un ambiente menos agresivo y lograr el desarrollo adecuado, que le permita en un tiempo mínimo alcanzar el patrón de calidad (15 cm) establecido por los productores para entrar en esta última fase.

CONCLUSIONES

Con el comportamiento estable y favorable de los indicadores de crecimiento y del estado hídrico de las vitroplantas, se indica que la etapa de aclimatización se puede concluir a los 30 días, momento a partir del cual las vitroplantas de henequén están listas para pasar a la etapa de microvivero.

Se concluye que los indicadores seleccionados para evaluar el comportamiento de las vitroplantas en la fase de aclimatización fueron útiles, para definir la conclusión de este proceso en el menor tiempo posible y con la calidad necesaria.

REFERENCIAS

- González, G. /et al./ Una alternativa de la recuperación henequenera de Cuba, mediante el uso de técnicas biotecnológicas y moleculares. *Biotechnología Aplicada*, 2004, vol. 21, no. 1, p. 44-49.
- Infante, D. /et al./ Asexual genetic variability in Agave. *Plant Science*, 2003, vol. 164, no. 2, p. 223-230.
- González, G. /et al./ Influencia del 6 Benziladenina sobre el comportamiento *in vitro* de plantas de henequén obtenidas a partir de embriones. *Biotechnología Vegetal*, 2002, vol. 2, no 4, p. 235-238.
- González, G. Embriogénesis somática en henequén (*Agave fourcroydes* Lem). [Tesis de doctorado]; Universidad de Matanzas. 2001, 114 h.
- Fonturbel, F. Micropropagación de un cultivo perenne. *Portal de Biología y Ciencias de la Salud*, 2002, no. 7. p. 1- 7.
- Robert, M. L.; Ortiz, R. y Herrera, J. L. *In vitro* and *ex vitro* weaning: A key factor for field performance of micropropagated henequen (*Agave fourcroyde* Lem). A. Cassals (Ed) *Methods and markers for quality assurance in micropropagation*, University College, Cork Ireland, 1999.
- Robert, M. L. /et al./ Micropropagation of *Agave* spp. J:P:Y: Bajaj (ed) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer-Verlag, 1992, no. 19, p. 306-329.
- Martínez, R. /et al./ Aclimatación de plantas obtenidas *in vitro* de *Eucalyptus urophylla* S. T. BLAKE Y *Eucalyptus grandis* HILL EX MAIDEN. Ra Ximhai, *Universidad Autónoma Indígena de México*, 2005, vol. 1, no. 3, p. 591-597.
- Escandón, A. /et al./ Combinación de técnicas *in vitro* y *ex vitro* para la micropropagación de Santa Rita (Hibr.). Una arbustiva de relevancia ornamental, *RIA*, 2003, vol. 32, no. 1, p. 111-122.
- Viegas, P. /et al./ Acclimatization of micropropagated *Heliconia bihai* (Heliconiaceae) plants. *Sci. Agric.*, 2005, vol. 62, no. 3.
- Thimijan, R. W. y Royal, D. H. Photometric, radiometric, and quantum light units of measure: A review of procedures for interconversion. *HortScience*, 1982, no. 18, p. 818-822.
- Rodríguez, R. Aclimatización de plántulas de caña de azúcar (*Saccharum* sp, híbrido) propagadas en biorreactores de inmersión temporal. [Tesis de doctorado]; Centro de Biotecnología. Universidad de Ciego de Ávila, 2005, 95 h.
- Rogalski, M. /et al./ Acclimatization of micropropagated *Prunus* sp. rootstocks. *Rev. Bras. Frutic.*, 2003, vol. 25, no. 2.
- Da Silva, A. /et al./ Bap and substrates on gloxinia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) plantlets from tissue culture acclimatization, *Cienc. Agrotec, Lavras*, 2003, vol. 27, no. 2, p. 255-260.
- Sánchez-Díaz, M. y Aguirreolea, J. El agua en la planta. En: J. Azcón-Bieto; M. Talón. *Fundamento de Fisiología Vegetal*. Ed. McGraw-Hill. *Interamericana*, 2000, p. 17-30.
- Rodríguez, H. /et al./ Propagación *in vitro* de *Artemisia absinthium* L. en Cuba. *Rev. Cubana Plant Med.*, 2003, no. 1.
- Tadeo, F. Fisiología de las plantas y el estrés. En J. Azcón-Bieto; M. Talón *Fundamento de Fisiología Vegetal*. Ed. McGraw- Hill. *Interamericana*, 2000, p. 481- 497.
- Pospisilova, J. /et al./ Acclimatization of micropropagated plants. *Biologia Plantarum*, 1999, vol. 42, no. 4, p. 481-497.
- Dodd, A. /et al./ Crassulacean acid metabolism: Plastic, fantastic. *Journal of Experimental Botany*, 2002, vol. 53, no. 369, p 569-580.
- Luttge, U. Ecophysiology of *Crassulacean* acid metabolism (CAM). *Annals of Botany*, 2004, vol. 93, no. 6, p. 629-652.
- Sánchez-Díaz, M. y Aguirreolea, J. Transporte de agua y balance hídrico en la planta. En: J. Azcón-Bieto; M. Talón. *Fundamento de Fisiología Vegetal*. Ed. McGraw-Hill. *Interamericana*, 2000, p. 45-64.
- Hazarika, B. N. Acclimatization of tissue-cultured plants, *Current Science*, 2003, vol. 85, no. 12, 25, p.1704-1712.
- Arigita, L. /et al./ Influence of CO₂ and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured *in vitro*. *Physiologia Plantarum*, 2002, vol. 115, p. 166.
- Kozai, T.; Fujiwara, K. y Giacomelly, G. Environmental control in micropropagation. *Ann. Amer. Soc. Agr. Eng. Meeting*, 1991, no. 9, p. 11-13.
- Ribas-Carbó, M. y González-Mele, M A. Fisiología de la respiración de las plantas. En: J. Azcón-Bieto; M. Talón *Fundamento de Fisiología Vegetal*. Ed. McGraw-Hill. *Interamericana*, 2000, p. 217- 234.
- Barroso, L. y Jerez, E. Comportamiento de las relaciones hídricas en la albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L.) al ser irrigada con diferentes volúmenes de agua. *Cultivos Tropicales*, 2000, vol. 21, no. 3, p. 57-59.
- Otero, B. R. El cultivo del henequén (*Agave fourcroydes*, Lem) como planta textil y su aprovechamiento integral. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 1999, vol. 3, no. 9, p. 23-46.
- Traore, A.; Maximova, S. N. y Guilitinan, M. J. Micropropagation of *Theobroma cacao* L. using somatic embryo-derived plants. *Society for In Vitro Biology*, 2003, p. 1-7.

Recibido: 5 de enero de 2006

Aceptado: 5 de marzo de 2007