

Multiplicación *in vitro* de piña variedad Española Roja

Norkys Meza*
Israel Alvares
Elsy Bastidas
Héctor Carrera
Carmen Torin
Ericka Porras

INIA. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas de Lara,
*Correo electrónico: norkysmeza@gmail.com.

La piña (*Ananas comosus* L. Merr), es una de las frutas de mayor importancia económica en las regiones tropicales y subtropicales del mundo debido a su alta demanda, tanto en forma fresca, como procesada. La producción mundial para el año 2010 sumó 19.166.560 toneladas métricas, con un área total de 848.144 hectáreas, mientras que el consumo fresco es de 2,5 kg/persona/año (Medina *et al.*, 2014).

Al respecto, el Ministerio para el Poder Popular de Agricultura y Tierra (MPPPAT), en el año 2008, “catalogó a escala nacional cultivo líder de los últimos años a la piña, que a pesar de sus bajas aplicaciones tecnológicas, ha experimentado un ascenso notable en la producción desde 1993 (133.000 toneladas), hasta el 2006 (356.000 toneladas), especialmente influidas por las cosechas de las zonas secas de Trujillo, Táchira, Lara y Sucre, similarmente, la superficie cosechada se ha incrementado progresivamente de 9.000 a 17.000 hectáreas en el mismo lapso (1993-2006), sin embargo, los rendimientos han variado poco entre los 17.000 y 20.000 kilogramos/ha-1”.

Pertenece a la familia Bromeliaceae, la cual se propaga vegetativamente, y su crecimiento y desarrollo es lento. La propagación de la piña es asexual, para el establecimiento de plantaciones de piña y su cultivo, se utilizan los brotes vegetativos que la planta madre emite en forma natural. Esto ha llevado a la búsqueda de nuevos métodos de propagación, que permitan incrementar la producción de planta para la siembra en el campo entre los cuales cabe señalar el cultivo “*in vitro*” (Medina y Mena, 2011).

Desde hace 50 años se ha demostrado el avance en el desarrollo de la biotecnología vegetal, principalmente en la propagación de especies vegetales entre ellos la piña. Para este propósito existe toda

una tecnología biológica en grandes laboratorios de diferentes países, que reditúa ganancias en miles de millones de dólares. A este sistema de propagación se le conoce como micropropagación, que tiene como base principal el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, una de las más importantes aplicaciones para la producción masiva de plantas de interés económico o biológico como es el caso de la piña variedad Española Roja, la cual es muy apreciada por los agricultores por su adaptación a las condiciones edafoclimáticas de las zonas productoras en Lara (Rodríguez *et al.*, 2016).

La aplicación de la micropropagación *in vitro* de piña mejorará la capacidad de producción comercial, puesto que, el empleo de vitroplantas manejadas con un alto grado de asepsia garantizará el cultivo de plantas selectas, libres de patógenos, disponibles para los productores garantizándoles en su plantaciones material de propagación homogéneo, en desarrollo, crecimiento, producción y calidad (Blanco *et al.*, 2011). Por lo antes planteado, con esta investigación se pretende de la propagación *in vitro* para la obtención de vitroplantas de piña a través de herramientas biotecnológicas.

Selección y desinfección del material vegetal

La planta madre, es la planta donadora de yemas debe provenir de campos con un ambiente en condiciones sanitarias óptimas, con un control de nutrición y riego adecuado, esto garantiza las condiciones de asepsia al establecer el crecimiento de la yema bajo condiciones de laboratorio.

Una vez seleccionada la planta madre y extraídos los hijos basales, se limpian y lavan cuidadosamente, luego se elimina totalmente las hojas para exponer las yemas (Foto 1 a y b), posteriormente se

INIA Divulga 43 mayo - agosto 2019

procede a la desinfección de los tallos en solución jabonosa por 10 minutos, luego se colocan en una solución diluida al 20% (v/v) de cloro comercial por 10 minutos y se lavan tres veces con agua destilada estéril (Foto 2 a y b).



Foto 1. a) Planta madre y b) hijo basal.



Foto 2. Remoción de hojas, a) exposición y b) desinfección.

Extracción del meristemo (Iniciación)

En la cámara de flujo laminar previamente desinfectada (equipo utilizado para la extracción de los meristemas para garantizar la asepsia total del tejido extraído), se procede a la extracción de las yemas axilares y apicales, colocando un explante por tubo de ensayo contentivo de medio de cultivo Murashige y Skoog, 1962 (MS-62) adicionando 1mg/L de 6 Bencil Amino Purina (6 BAP) y Acido Naftalen Acetico (ANA) 0,1 mg. (Foto 3 a y b).

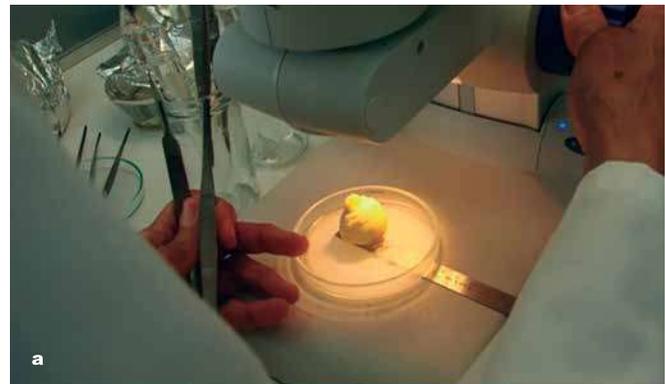


Foto 3. a) Preparación para extraer el meristemo y b) Vista de meristemas laterales en piña.

Establecimiento y multiplicación de brotes de piña

Una vez obtenidos los brotes (Foto 4a), en condiciones de asepsia absoluta, libres de cualquier contaminación endógena o exógena, fueron cuidadosamente separados y transferidos a medio de multiplicación Murashige y Skoog (MS-62), con adición de algunas hormonas (BAP) y 0,01mg (ANA), necesarias en el proceso de organogénesis, es decir la formación de nuevos órganos como raíz y hojas (Foto 4b). A medida que el brote comienza a crecer y multiplicarse se subdivide manualmente, y cada nuevo explante es cultivado individualmente en un nuevo medio de cultivo.

En las fases de establecimiento, multiplicación, alargamiento y enraizamiento de piña en condiciones *in vitro*, es necesario la aplicación de hormonas, sin embargo, las dosis, así como el tipo de hormona seleccionada, pueden incidir negativamente en el proceso de crecimiento y desarrollo del explante (Mogollón *et al.*, 2004).

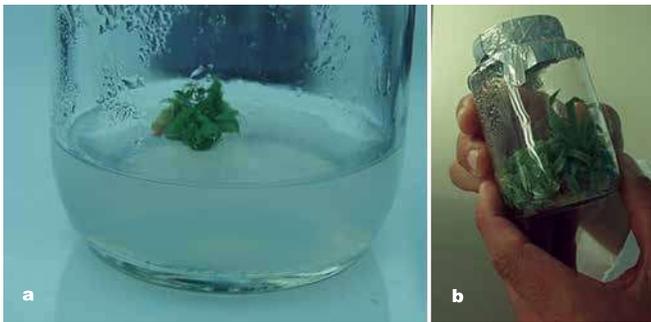


Foto 4. a) Explante inicial de piña, b) crecimiento y desarrollo del explante.

A las cuatro semanas ya las plantas están completamente formadas y agrupadas, y se procede a dividir cada planta para ser transferida a frascos contentivos de medios de cultivo. (Foto 5 a y b).

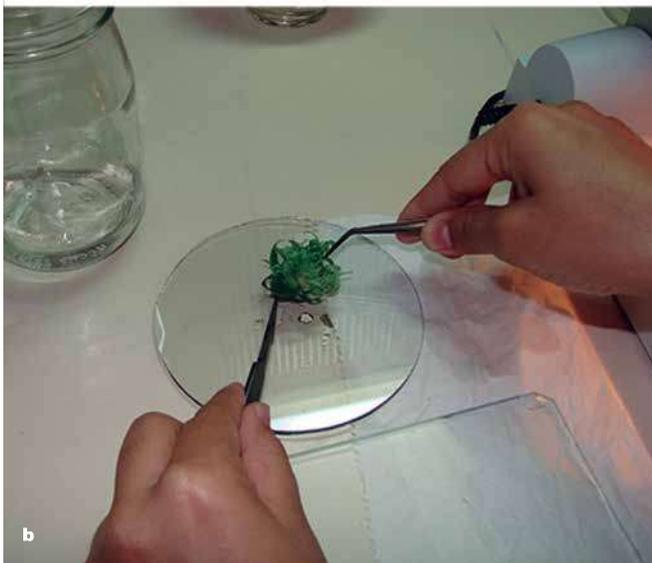


Foto 5. a) Grupos de plantas listo para la división y b) Plantas individuales dentro de la cámara de flujo laminar.

Luego de cuatro semanas de cultivo, esas plantas ya están listas para ser llevadas a invernaderos para la fase de aclimatización. (Foto 6 a y b).



Foto 6 a y b. Plantas de piñas listas para ser llevadas a la fase de aclimatización.

Las plantas alcanzaron mayor porcentaje de prendimiento, número de hojas, altura y longitud de raíces en medio de Murashige y Skoog, sin hormonas, seguidos de los tratamientos con ANA y AIA. Las concentraciones de sales y de azúcares contenidas en el medio de Murashige y Skoog permitieron un buen desarrollo de las vitroplantas de piña de la variedad Española Roja (Foto 7).



Foto 7. Plantas de piñas crecidas en los diferentes medios de Murashige y Skoog sin hormonas.

Consideraciones finales

En algunos casos, como en las piñas silvestres y algunas bromelias ornamentales, no es necesario la aplicación de hormonas al medio de cultivo, en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del INIA Lara se logró como resultado de esta investigación, una alta tasa de multiplicación *in vitro* y óptimo desarrollo de raíces de la variedad española roja solo usando Murashige y Skoog.

El interés de los productores por la variedad de piña Española Roja en las zonas productoras de este cultivo en el estado Lara se debe a su demanda de mercado como fruta fresca, materia prima para la agroindustria y producto de exportación, con la técnica de cultivo *in vitro* a través de la biotecnología se espera dar respuesta a las necesidades de semilla (hijos) para establecer nuevas plantaciones.

Bibliografía consultada

- Blanco F. H., T E Vargas, T. de García y E. de García. 2011. Micropropagación clonal de tres variedades de piñas nativas de la región amazónica mediante cultivo de yemas axilares y apicales. *Interciencia*. 36 (6): 437-43.
- Medina A., H. Medina, R. Mosquera y C. Aguilar. 2014. Micropropagación clonal y enraizamiento *ex vitro* de tres cultivares de piña *Ananas comosus* (L. Merr.) del Chocó, Colombia. *Rev. Biodivers. Neotrop.* 4 (2): 133-40.
- Medina M. y R. Mena 2011. Selección clonal de germoplasma élite de *Anana comosus* L. «piña de castilla del Chocó» para la obtención de material de siembra para el establecimiento de cultivos comerciales, vía cultivo *in vitro*. *Rev Biodivers Neotrop.* 1 (2): 122-5.
- Mogollón N., J.C. Díaz y N. Hernández. 2004. Multiplicación clonal y enraizamiento *in vitro* de *Ananas comosus* L. Q Australia. *Rev Fac Agron. (LUZ)* 21: 15-21.
- Rodríguez R., R. Becquer, Y. Pino, D. López, C. René. G. Rodríguez, Y. Lorente, R. González, J. Izquierdo y L. González. 2016. Producción de frutos de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) MD-2 a partir de vitroplantas. *Cultrop vol.37 supl. (1):*18-25