

## **Introducción al sector campesino del nuevo híbrido de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) MD-2 propagado por técnica de micro-propagación.**

**Romelio Rodríguez Sánchez\*, Roberto E. Izquierdo, Rosa Bécquer Rabelo, René C. Rodríguez Escriba, Dariel López Hernández, Oscar Concepción Laffitte, Justo L. González-Olmedo.**

**\*[romelio@bioplantas.cu](mailto:romelio@bioplantas.cu)**

Laboratorio de Agro-biología, Centro de Bioplantas. UNICA. Carretera a Morón Km 9. Cp. 64900.

### **Resumen:**

La piña (*Anana comosus* (L.) Merr.) es una especie de gran demanda comercial, entre las variedades más promisorias se encuentra la MD-2 la cual ha acaparado la atracción del consumidor en los últimos años. Por esta razón se emplean las técnicas de micropropagación para lograr plantas con mejores caracteres agronómicos y producir semillas de excelente calidad. En Cuba, aunque se han realizado algunos intentos de introducir las vitroplantas bajo las condiciones de producción de Entidades Estatales y Empresas Agrícolas, por diversas causas no se ha logrado satisfactoriamente este objetivo. Por esta razón, se comenzó a trabajar la introducción de vitroplantas de piña MD-2 con la colaboración de campesinos seleccionados y sus familiares con vista a establecer procedimientos agro-técnicos que permitan contar con un material de siembra alternativo, necesario para la reanimación productiva del cultivo de la piña y así desarrollar las bases tecnológicas para garantizar la generación continua del material de siembra necesario para mantener las estrategias varietales acorde a la biodiversidad y exigencia del mercado. Los resultados alcanzados hasta la fecha demuestran que con el procedimiento empleado se alcanzaron altos porcentajes de supervivencia en las vitroplantas (90%) durante los primeros meses de evaluación. El manejo agro-técnico que se estableció, permitió el incremento de todas las variables evaluadas en las vitroplantas (No. de hojas, No. raíces, Long. raíz mayor, Long. y ancho hoja "D", Masa fresca y Long. planta) en las condiciones de campo ensayadas. Los resultados de los análisis bromatológicos realizados a los frutos de las vitroplantas demuestran que mantienen las características organolépticas de la MD-2.

Palabras Claves. Campesinos, micropropagación, piña, vitroplantas.

### **INTRODUCCIÓN**

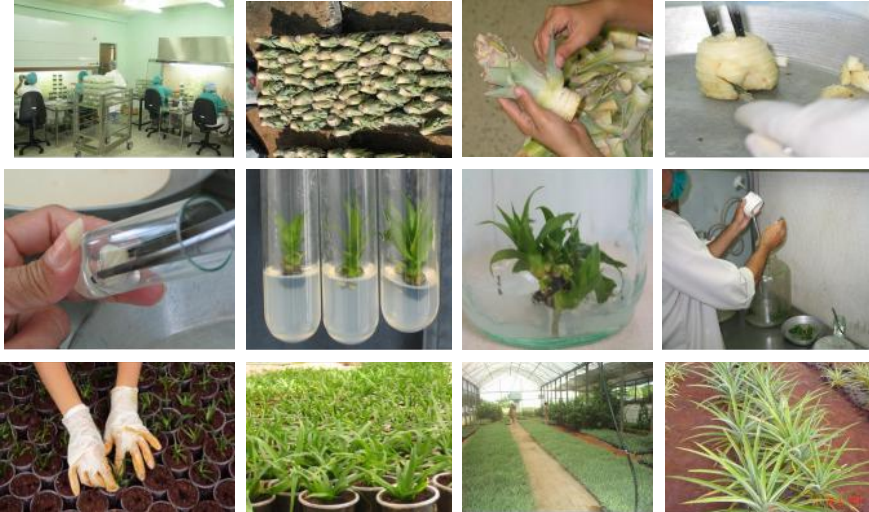
La piña ha sido apetecida por años como uno de los recursos económicos de exportación en muchos países, en especial el cultivar Gold "Extra Sweet" MD-2, que por sus grados Brix, aroma y color ha sido preferida y se ha mantenido como la número uno en los mercados mundiales. La variedad MD-2, también llamada Amarilla o Dorada, es un cultivar producto del cruce de dos híbridos (PRI 581184 x PRI 59443) y se conoce que uno de sus progenitores proviene de Cayena lisa. La empresa Del Monte Fresh Produce en Hawai Inc. la comercializa como Dorada extra dulce (Gold extra sweet) desde 1996. La planta es de rápido crecimiento que resulta de un ciclo de producción más corto; además los rendimientos de producción y de tamaño de la fruta son mayores y es una fruta muy dulce y jugosa, aunque se reconoce que es más susceptible de daño mecánico y a la *Phytophthora* que la Champaka (Bartholomew, 2009; Loelliet *et al.*, 2011).

Esta nueva variedad fue introducida a Cuba desde Costa Rica por el Centro de Bioplantas desde el año 2005 y se han comercializado aproximadamente 1 millón de vitroplantas a Ghana (África) desde ese propio año hasta el 2008. Bajo las condiciones climáticas de Cuba este híbrido ha presentado una buena adaptación, por lo que la extensión nacional de siembra se ha incrementado a partir del 2009 por la Empresa Frutícola de Ciego de Ávila. No obstante, no se ha logrado implementar una metodología que permita el establecimiento de estas vitroplantas en campo y bajo las condiciones ambientales de Ciego de Ávila, objetivo que será evaluado en este trabajo con la colaboración de campesinos líderes en la introducción de resultados científicos-técnicos y que formará parte de la formación de post-grado de los mismos.

Se han visitado para la inclusión en el desarrollo del proyecto con más de 20 campesinos, pero por dificultades con los suelos, áreas completamente ocupada con cultivos durante un largo periodo de tiempo, escases de sistema de riego, no contar con las maquinaria e implementos necesarios etc, se han reducido a cinco los que tienen la disposición, los recursos mínimos necesarios y que además cuentan con adecuadas condiciones edafo-climáticas para el cultivo de la piña. En el presente trabajo se mostrarán los resultados de un estudio de caso en la finca Los Rabelos dentro de cinco campesinos que trabajan en esta investigación.

## MATERIALES Y METODOS EMPLEADOS

Protocolo de micropropagación basado en el empleo del medio líquido y la tecnología de la inmersión temporal unido a la implementación de un sistema semiautomatizado (Escalona *et al.*, 1999).



**Figura 1. Proceso general de la micropropagación de piña MD-2.**

Plántulas de piña MD-2 de seis meses de edad, las que ya habían cumplido el ciclo de las fases de aclimatización, vivero y endurecimiento al sol, fueron seleccionadas homogéneamente para ser plantadas bajo condiciones de campo en la finca "Los Rabelos". Las características morfológicas de las plántulas se exponen en la tabla 1.

**Tabla 1. Variables morfológicas evaluadas a las plántulas en el momento de traslado desde vivero a condiciones de campo.**

Edad	No. hoja	No. raíces	Long. raíz (cm)	Long. hoja "D" (cm)	Ancho hoja "D" (cm)	Long. planta (cm)	Masa fresca (g)
6 meses	15,05	18,85	17,89	21,65	2,11	23,91	27,78

Cada dato representa la media de n=40

En el mes de mayo de 2012 las plántulas fueron trasladadas a la finca "Los Rabelos" donde continuaron el proceso de endurecimiento (condiciones de ambiente natural) por otros 15 días, y a finales de este mes y principios de Junio se plantaron 5 000 vitroplantas de piña MD-2.

Las condiciones para realizar el trasplante de las vitroplantas se ajustaron a la aplicación de 25,0 kg de estiércol de ganado vacuno descompuesto+12,5 kg de fertilizante complejo de N-P-K cristalino (Haifa Chemicals Ltd., Haifa Bay 26120, Israel) en el fondo del cantero de 100 m de largos. Posteriormente se realizó un riego ligero antes de iniciar la plantación. La distancia de plantación empleada fue de 0,40 cm entre hileras y 0,30 cm entre plantas a razón de 55 000 plantas/ha según lo establecido para este cultivar.

Antes de la plantación se realizó un análisis de las propiedades químicas del suelo y el resultado demostró que el mismo cumple con las características de los suelos ferralítico rojo típico de la zona y que son aptos para producir el cultivo de la piña.

### **Determinación de los indicadores morfológicos de calidad de las plantas.**

Las evaluaciones de los indicadores morfológicos se realizaron cada 30 días y estos fueron: porcentaje de supervivencia (%), número de hojas, longitud de la planta (cm), longitud de la hoja "D" (cm), ancho de la hoja "D" (cm), número de raíces y masa fresca de la planta (g).

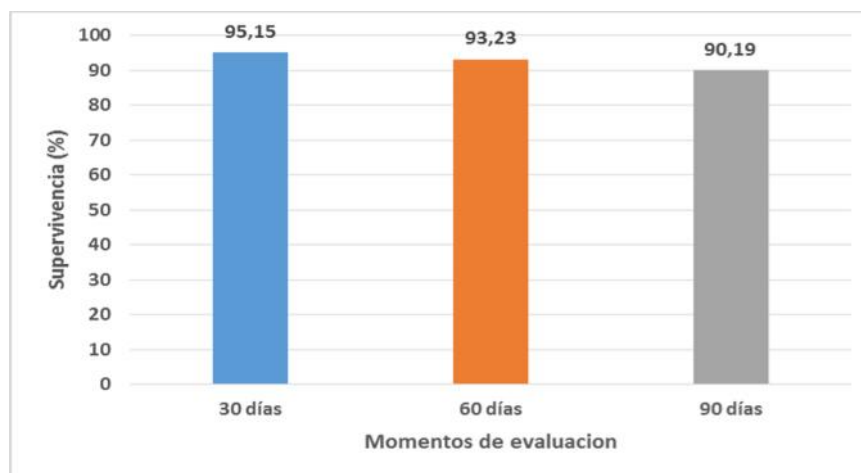
### **Inducción de la floración.**

A los 17 meses se indujo la floración en horas de noche (9:00 a 10:00 pm). Cada planta recibió 50 mL de la solución final la que fue aplicada al centro de la roseta de la planta. La solución inductora se preparó a razón 1 ha: Ethrel® 480 (4,0 L<sup>-1</sup>) + urea (30 kg) y carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) 2 kg.

La eficiencia del inductor de la floración se evaluó mediante el conteo visual de las inflorescencias aparecidas en el centro de la roseta foliar de las plantas cuando se apreciaba la coloración roja-violácea a los 40, 45 y 50 días después del tratamiento de inducción floral.

El tratamiento estadístico de los resultados se desarrolló con el empleo del utilitario "STATGRAPHICS Plus". Se realizaron análisis paramétricos (ANOVA de clasificación simple, prueba Tukey, P < 0.05), después de chequeada la distribución normal (Kolmogorov-Smirnov, P < 0,05) y la homogeneidad de las varianzas (Levene, P < 0.05).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Figura 2. Comportamiento de la supervivencia de las plántulas durante los primeros 90 días en condiciones de campo.** Los datos se transformaron según  $y' = 2 \arccos(y/100)^{0.5}$ . Cada dato representa la media para  $n=20$ .

En la evaluación de la mortalidad realizada a los 30 días posteriores a la fecha de la siembra sólo se habían cuantificado apenas 242 plántulas muertas (4,85%) por diversas causas (*Phytophthora*, suelo en el corazón de la planta y por daños en el momento de la siembra) lo que permite conjeturar que los tratamientos de protección fitosanitarias empleado en estos primeros momentos fueron eficientes demostrado por el 95,15 % de supervivencia alcanzado por las plántulas en esos estresantes momentos. Cuando se evaluó esta variable a los 60 y 90 días de permanecer las plantas en condiciones de producción y ambiente natural, se pudo apreciar que los porcentajes de supervivencia (93,23 y 90,19 % respectivamente) aún se mantenían elevados y sin diferencias significativas entre los momentos de evaluación. Estos resultados indican la rápida y favorable adaptación que tienen las plántulas de piña cuando son sometidas a nuevas y estresantes condiciones ambientales.

La tabla 2 muestra los incrementos de las variables morfológicas evaluadas en las plántulas en condiciones de campo luego de establecido el manejo agrotécnico del cultivo en colaboración con los campesinos.

**Tabla 2. Desarrollo de las variables morfológicas evaluadas durante la permanencia de las plántulas de piña en condiciones de campo.**

Edad	No. Hoja	No. raíces	Long. raíz (cm)	Long. hoja "D" (cm)	Ancho hoja "D" (cm)	Masa fresca planta (g)	Long. planta (cm)
60 días	16,15 f	23,41 f	18,03 g	24,72 g	2,82 ef	35,16 f	26,11 f
90 días	20,40 ef	28,70 ef	22,84 g	29,38 g	3,54 e	62,31 f	31,22 ef
120 días	26,52 e	33,21 def	31,53 f	37,29 f	3,89 de	163,61 f	43,21 de
150 días	32,81 d	38,16 cde	43,11 e	49,82 e	4,12 d	225,31 e	49,12 d
180 días	40,20 c	43,67 cd	59,35 d	62,16 cd	4,53 cd	376,81 de	59,60 cd
210 días	45,12 bc	48,35 c	63,54 cd	68,81 cd	4,78 c	563,81 d	63,58 c
240 días	49,37 b	54,31 bc	68,32 bc	74,63 bc	5,12 b	1325,75 c	79,92 b
270 días	52,82 ab	62,87 ab	72,92 ab	83,49 b	5,63 ab	2359,28 b	89,71 b
300 días	55,41 a	71,41 a	75,41 a	97,22 a	5,86 a	3259,32 a	102,3 a
ES X	3,25	5,12	3,16	4,74	0,73	155,16	5,81
CV	7,21	6,54	7,75	9,32	0,75	52,21	8,42

Medias con letras diferentes en columnas indican significación (Anova simple y prueba Tukey ( $pM 0,05$ )), Cada dato representa la media para  $n=20$

En la evaluación realizada a los 90 días de permanecer las plántulas en condiciones de campo, no se observan diferencias estadísticas en la mayoría de las variables con respecto a los 60 días, sólo en el número de raíces se cuantificaron incrementos que marcan diferencias estadísticas. Es de destacar como ya a partir de la evaluación realizada a los 120 se observa un incremento constante y significativo de la masa fresca luego que las plántulas logran adaptarse a las nuevas condiciones ambientales, para ellos todas las variables relacionadas con la longitud (raíces, hoja "D" y de la planta) aportaron significativamente al incremento de esta variable.

Nuevamente los resultados muestran como las plántulas de piña se recuperaron rápidamente del estrés que le impone el cambio de ambiente y de condiciones edafo-climáticas al ser trasplantadas a campo. Es bien

conocido que estos cambios provocan estrés en las plantas, expresados en términos de acumulación de ABA, prolina y especies reactivas del oxígeno (Talbot *et al.*, 2003; González-Olmedo *et al.*, 2005), por lo que es preciso atenuar los efectos negativos de las condiciones estresantes para que las plantas mantengan un constante crecimiento y esto se logra con un adecuado manejo agrotécnico.

En la tabla 3 se aprecia el efecto de la aplicación del inductor de floración sobre las clasificaciones antes establecidas en las plantas de piña.

**Tabla 3. Efecto de la aplicación de Ethrel® 480 sobre la inducción floral de la piña a los 40, 45 y 50 días después de inducidas.**

Categorías	40 Días	45 Días	50 Días
Grandes	21,5 c	68,2 a	92,6 a
Medianas	32,2 b	73,1 a	90,4 a
Pequeñas	42,7 a	79,4 a	81,9 b
ES	3,2	6,5	3,3
CV	3,8	4,7	4,2

Medias con letras diferentes en columnas indican significación (Anova simple y prueba Tukey ( $pM$  0,05)), Cada dato representa la media para  $n=40$

Los resultados alcanzados reafirman el papel del Ethrel® 480 como inductor de la floración en plantas de piña. No obstante, el comportamiento diferente entre las clasificaciones estudiadas, pudiera estar relacionado a que en las plantas pequeñas los niveles de etileno que se necesitan para lograr el umbral de la inducción son menores que en las plantas de mayor porte. Esto está relacionado con una regulación espacial y temporal del etileno en el tejido de las plantas, las plantas pequeñas quizás tenían mayor contenido de etileno en los tejidos y por ello florecieron con mayor facilidad en la evaluación realizada a los 45 días.

En las condiciones experimentales ensayadas se lograron buenos porcentajes de floración en todos los momentos evaluados posteriores al tratamiento de inducción floral con Ethrel® 480, con un 92,6 % como valor máximo en las plantas clasificadas como grandes a los 50 días. De esta forma se garantiza una alta homogeneidad en el desarrollo de la inflorescencia y del fruto y una cosecha concentrada. Al respecto Cunha, (1989) consideró que una inducción floral eficiente debe superar el 90 % de plantas florecidas.

La figura 3 muestra el proceso de maduración natural de los frutos de piña producidos por vitroplantas según las categorías establecidas.



**Figura 3. Maduración natural de los frutos de vitroplantas de piña MD-2**

La calidad de los frutos de incluyen los aspectos externos e internos de los mismos. Por ello es importante realizar un análisis detallado de las variables químicas y físicas de estos.

Resultados de los análisis químicos realizados a los frutos piñas MD-2 en el momento de cosecha según las clasificaciones establecidas anteriormente se pueden observar en la tabla 4.

**Tabla 4. Variables químicas evaluadas en los frutos obtenidos a partir de vitroplantas de piña MD-2,**

	GRANDES	MEDIANAS	PEQUEÑAS
°Brix	13,57	13,27	13,20
A. Ascórbico (mg/100 mL jugo)	74	68,6	67,7
Acidez (%)	1,57	1,83	2,09
Solidos Solubles/acidez	8,53	7,25	6,6
(unidades de pH)	3,7	3,48	3,54
Temperatura (°C)	22,6	22,0	22,1

Los resultados de los análisis químicos realizados a los frutos de las vitroplantas demuestran que están acorde con lo planteado por la literatura para el híbrido MD-2 (Wardy *et al.*, 2009). Aun cuando en los valores se destacan las diferencias en las concentraciones de solidos solubles según las categorías establecidas. Estos están bajos comparados con los resultados alcanzados en MD-2 producidas en Ghana (Wardy *et al.*, 2009). Sin embargo, los frutos de las vitroplantas superaron los valores en pH, ácido ascórbico

(vitamina C) y el °Brix. Estas diferencias pudieron estar influenciadas por la agrotécnica que se empleó en este experimento (Anexo 1), el cual difiere de las utilizadas en las plantaciones de producción establecidas para este cultivo por otros países (Ghana, Costa Rica y Panamá) y la Empresa Agroindustrial de Ceballos en Cuba.

En las frutas obtenidas en este experimento la maduración ocurrió de forma natural, nunca se empleó la técnica de desverdización de los frutos, aunque se reconoce que la translucidez del fruto predomina sobre el grado Brix para tomar la decisión de desverdecer los mismos para alcanzar homogenizar el color de las frutas para la cosecha.

Se reconoce que el fruto es un sincarpio formado por la fusión de frutos individuales producidos por cada flor, El número de cada frutillo determina el peso del fruto, que puede variar en dependencia de las variedades desde 0,7 hasta 10 kg, aunque el valor promedio está entre 1,5 a 2,0 kg (Py *et al.*, 1987). Los resultados alcanzados en el experimento con vitroplantas muestran que los frutos alcanzan valores promedios entre 1,68, 1,52 y 1,03 kg en correspondencia con las categorías establecida de grandes, medianas y pequeñas

Los resultados indican que los frutos obtenidos de las vitroplantas tienen las mismas características químicas y físicas que las frutas de piña MD-2 logradas por propagación convencional.

### CONCLUSIONES

- 1- El manejo agrotécnico realizado ha permitido alcanzar altos porcentajes de supervivencia (95%) en las vitroplantas de piña MD-2.
- 2- Las características morfológicas de las vitroplantas entregadas, junto al manejo agrotécnico establecido con los campesinos, permitieron una buena adaptación a las condiciones de campo lo que motivó el incremento en el tiempo de todas las variables evaluadas y una adecuada floración.
- 3- Los frutos mantienen las características organolépticas establecidas para este cultivar, demostrado por los resultados bromatológicos realizados a los mismos y los rendimientos de 77,5 t/ha.

### BIBLIOGRAFIA

- BARTHOLOMEW, D.P. (2009). MD-2 Pineapple transforms the world's pineapple fresh fruit export industry, Pineapple News, International Society Horticultural Science, Hawaii, v. 8, p. 2-5,
- CUNHA, G. (2009). Fisiologia da floração do abacaxizeiro. En: Carvalho, C., Dantas, A., Pereira, F., Soares, A., Melo Filho, J., Oliveira, G. Tópicos em Ciências Agrárias. (Edit). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, pp.54-75.
- ESCALONA, M.; LORENZO, J.C.; GONZÁLEZ, B.; DAQUINTA, M.; GONZÁLEZ-OLMEDO, J.L, DESJARDINS, J.L.; BORROTO, C.G. (1999). Pineapple (*Ananas comosus* (L.), Merr.) micropropagation in temporary immersion systems, Plant Cell Reports 18: 743-748.
- GONZÁLEZ-OLMEDO, J.L.; FUNDORA, Z.; MOLINA, L.A.; ABDULNOUR, J.; DESJARDINS, Y.; ESCALONA, M. (2005). New contributions to propagation of pineapple (*Ananas comosus* L, Merr) in temporary immersion bioreactors, In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 41 (1): 87-90.
- LOEILLET, D.; DAWSON, C.; PAQUI, T. (2011). Fresh pineapple market: from the banal to the vulgar, Acta Horticulturae, Wageningen, v. 902, p. 587-594,
- PY, C.; LACOEUILH E.; TEISSON C. (1984). L'*Ananas*, su culture, ses produits, Maisonnevreet Larose, Paris, Pp160.
- WARDY W.; KWESI F.S.; STEINER-ASIEDU M.; BUDU A.S.; SEFA-DEDEH S. (2009). A comparison of some physical, chemical and sensory attributes of three pineapple (*Ananas comosus*) varieties grown in Ghana. African Journal of Food Science Vol. 3(1). pp. 22-25.