

COMPORTAMIENTO DE PLANTAS *IN VITRO* DE PIÑA (*ANANAS COMOSUS* (L.) MERR.) HÍBRIDO CBCE-116 EN LA FASE DE ACLIMATIZACIÓN.

Ing. Neysis Pérez Fernández¹, Dr C. Lydia Galindo Menéndez¹, Tec. Eblis Rodríguez Obrador², Ing. Aida Fernández Osorio², Ing. Pablo Guntin Marey², MSc. Karel Acosta Pérez², MSc. Franklyn Arana Labrada², Lic. Luritza Peña Molina², Ing. Edgar Acosta Acosta²

Universidad "Vladimir I. Lenin" Las Tunas Facultad De Ciencias Agrícola

INTRODUCCIÓN.

Según la FAO, (2009) la producción de piña en Cuba es de 70 920 t, el rendimiento agrícola de 12,29 t.ha⁻¹ y el área total cosechada de 5 766 ha.

En la provincia Las Tunas el cultivo de la piña es aún incipiente, pues solo ocupa 65.66 ha, se proyecta la siembra de 145.0 ha para este año según comunicación personal Del Cristo, (2008).

El laboratorio de Biotecnología Vegetal del Centro Universitario de Las Tunas desde el año 2006 está incorporado al Proyecto Nacional del MES "Multiplicación de híbridos cubanos de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.), en varias provincias del país, el cual está liderado por la Universidad Agraria de La Habana.

Este laboratorio ha trabajado en la micropropagación del híbrido CBCE-116 para su introducción en la provincia, a través de este Proyecto. Como es un nuevo híbrido, existe insuficiente material de propagación, por lo que es necesario su multiplicación, adaptación y distribución para su explotación en el territorio.

Este híbrido no cuenta con antecedentes relacionados con las exigencias en la fase de aclimatización, la cual es la última fase en el proceso de la técnica de micropropagación, y la que decide en gran medida el éxito de la misma. De los factores que influyen en esta fase, el sustrato empleado es uno de lo más importante, pues permite que las raíces tomen el agua, aire y los nutrientes necesarios de forma balanceada en dependencia a la época del año.

El objetivo del trabajo fue la evaluación de plantas *in vitro* de piña (*Ananas comosus* (L.) Merrill), híbrido CBCE-116, con diferentes sustratos orgánicos en la fase de aclimatización.

MATERIALES Y METODOS.

La investigación fue realizada en el área de aclimatización de la Universidad "Vladimir Ilich Lenin", de Las Tunas, en el período comprendido del 1^o febrero al 20 septiembre del 2007, donde se realizaron dos experimentos.

Para el estudio se utilizó como material vegetal, plantas *in vitro* de piña híbrido CBCE-116 provenientes del Laboratorio de Biotecnología Vegetal del centro, de las cuales se realizó una selección para lograr homogeneidad en las condiciones experimentales.

Se utilizaron cajuelas de 50 alvéolos para cada tratamiento y se evaluaron 35 plantas controles en cada uno de ellos. Se empleó un diseño completamente aleatorizado.

Experimento I

Tratamientos

Humus de lombriz 100%

Humus de lombriz 75 % + zeolita 25 %

Humus de lombriz 50 % + zeolita 50 %

Humus de lombriz 75 % + cachaza 25 %

Humus de lombriz 50 % + cachaza 50 %

Humus de lombriz 50 % + cachaza 25 % + zeolita 25 %

Humus de lombriz 25 % + cachaza 50 % + zeolita 25 %
Cachaza 100 %
Cachaza 75 % + zeolita 25 %
Cachaza 50 % + zeolita 50 %

Experimento II

Tratamientos

Humus de lombriz 100%
Cachaza 100 %
Cachaza 75 % + zeolita 25 %
Cachaza 50 % + zeolita 50 %
Humus de lombriz 25 % + cachaza 50 % + zeolita 25 %

Mediciones y observaciones realizadas en los dos experimentos:

Porcentaje de supervivencia.

La supervivencia de las plantas *in vitro* fueron evaluadas desde los 7 hasta los 84 días en el I Experimento y hasta los 92 en el II Experimento, todos por el método observacional y conteo de las plántulas.

Variables fisiológicas evaluadas:

- Número de hojas activas, a partir de los 7 hasta los 84 días I Experimento y a los 92 días en el II Experimento
- Longitud y ancho de la hoja "D", a los 60 y 84 días.
- Peso fresco y seco de las hojas a los 84 días en 10 plantas *in vitro* utilizando una balanza analítica y estufa durante 72 horas a 70 °C hasta peso constante. En el II Experimento se efectuó a los 92 días
- Longitud máxima, media y número de raíces a los 84 días en el Experimento I y 92 en el Experimento II (medido con una regla graduada a partir de la base del tallo) en 10 plantas *in vitro* en cada tratamiento.
- Peso fresco y seco de las raíces a los 84 días en 10 plantas en cada tratamiento (utilizando una balanza analítica) y estufa durante 72 horas a 70 °C hasta peso constante.

El riego se realizó según las exigencias de las plantas *in vitro*, regándolas diariamente con iguales cantidades de agua, teniendo en cuenta la humedad que mantenían y las condiciones climáticas.

Los datos climáticos prevaecientes durante la realización de la investigación, se obtuvieron en la Estación Provincial de Meteorología de Las Tunas, 2007.

Para la evaluación de los resultados se utilizó el Statgraphics versión 2.1 (1997).

Los porcentajes de supervivencia se transformaron por la fórmula $2 \arcsen \sqrt{p}$ donde p es el porcentaje en fracción. Se aplicó un análisis de varianza simple y como prueba de comparación de medias la de rangos múltiples de Tukey para un 5 % de significación (Lerch, 1977).

RESULTADOS Y DISCUSION.

El mayor porcentaje de supervivencia en el experimento I se obtuvo con el tratamiento humus de lombriz 100 % el cual presentó diferencias significativas con los restantes tratamientos.

Durante la investigación tanto las temperaturas como la humedad relativa no mostraron grandes variaciones como para influir determinantemente en los resultados, sin embargo las precipitaciones si influyeron y los tratamientos de humus de lombriz combinados con zeolita y cachaza fueron los más afectados desde sus trasplantes. La mayor cantidad de pluviosidad ocurrió en los primeros 13 días (acumulado de 80 mm de agua), posteriormente las precipitaciones fueron menos frecuentes y de poca intensidad hasta completar durante todo el desarrollo del experimento un total de 175 mm de agua

Tabla 1. Comportamiento del porcentaje de supervivencia en el experimento I con diferentes tipos de sustratos en plantas *in vitro* de piña híbrido CBCE-116.

Tratamientos	84 Días											
	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
Humus lombriz 100%	100 a	100 a	100 a	100 a	98 a	96 a	96 a	96 a	96 a	96 a	96 a	96 a
Humus de lombriz 75 % +Zeolita 25 %	100 a	82 bc	78 b	58 c	40 d	32 c	26 c	26 cd	26 c	22 cd	22 cd	20 cd
Humus de lombriz 50 % +Zeolita 50 %	96 ab	70 c	42 c	28 d	20 e	18 d	14 cd	14 de	14 cd	14 de	14 de	10 d
Humus de lombriz 75 % +Cachaza 25 %	74 c	42 d	30 cd	28 d	28 e	28 cd	26 c	26 cd	26 c	26 c	26 c	26 c
Humus lombriz 50 % + Cachaza 50 %	72 c	52 d	44 c	34 cd	32 de	32 c	30 c	30 c	30 c	30 c	30 c	30 c
Humus lombriz 50 % + Cachaza 25% + Zeolita 25 %	26 d	14 e	12 d	8 e	8 f	8 e	8 d	8 e	8 d	8 e	8 e	8 e
Humus de lombriz 25 % +Cachaza 50% + Zeolita 25 %	62 c	52 d	48 c	40 c	36 d	36 c	36 c	36 c	30 c	30 c	30 c	30 c
Cachaza 100 %	96 ab	92 ab	90 a	88 b	88 b	88 ab	84 b	84 b	76 b	76 b	76 b	74 b
Cachaza 75 % + Zeolita 25 %	100 a	94 a	88 b	80 b	74 c	72 b	72 b	72 b	72 b	72 b	72 b	72 b
Cachaza 50 % + Zeolita 50 %	100 a	98 a	92 a	92 a	90 a	90 a	90 a	90 a	90 a	90 a	90 a	84 b
CV:%	4.47	6.18	6.32	6.96	7.01	7.0	7.20	7.23	7.25	7.26	7.26	7.17
Error Estándar	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

En general la mayor mortalidad ocurrió durante los primeros 28 días, lo que concuerda con lo señalado por Martínez *et al.*, (1990), en que el mayor por ciento de plantas muertas se presenta entre los catorce y veintiún día posterior de la fecha de plantación, quizás debido a que estas plantas *in vitro* poseen una cutícula muy fina, un tejido acuífero formado por una sola capa de células y tricomas poco desarrollados, que le reducen la resistencia a las condiciones ambientales. Según Paques (1991), estas generalmente se deben a trastornos fisiológicos y anatómicos que se producen a consecuencia de la deshidratación, la cual es causada por el cambio de las condiciones de heterotrofismo a autotrofismo a que son sometidas las plantas *in vitro*.

En el experimento II el único tratamiento que mantuvo un alto porcentaje de supervivencia en todo el período de evaluación fue el de cachaza 100%, con diferencia significativa con los restantes tratamientos.

El tratamiento de menor porcentaje de supervivencia fue humus de lombriz 25 % + cachaza 50 % + zeolita 25 %, el cual comenzó a manifestar gran mortalidad alrededor de los 35 días del trasplante, las precipitaciones ocurridas en este período fueron más sistemática entre el segundo y tercer muestreo, con un acumulado de 259.1 mm, lo que demuestra que esta

combinación cuando hay ocurrencia de gran humedad en los primeros días del trasplante no hay grandes influencias, pero si estas se mantienen durante mucho tiempo no es factible su utilización y tener presente que si importante es la cantidad, también lo es la frecuencia o distribución con que ocurren las precipitaciones, pues los daños pueden ser mayores en dependencia a lo planteado.

Tabla 2. Comportamiento del porcentaje de supervivencia en el experimento II con diferentes tipos de sustratos en plantas *in vitro* de piña híbrido CBCE-116.

Tratamientos	Días						
	7	21	35	49	63	77	92
Humus de lombriz 100%	100 a	94 a	84 b	82 b	80 c	80 c	76 d
Humus de lombriz 25 % +Cachaza 50 % +Zeolita 25 %	100 a	82 c	30 d	30 d	28 e	28 e	28 e
Cachaza 100 %	100 a	94 a	92 a	90 a	90 a	90 a	88 a
Cachaza 75 % +Zeolita 25 %	98 a	86 b	84 b	84 b	84 b	84 b	84 b
Cachaza 50 % +Zeolita 50 %	88 b	82 c	78 c	78 c	78 d	78 d	78 c
CV:%	1,06	1,71	6,83	6,76	6,68	6,68	6,62
Error standar	0,01	0,01	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04

En cuanto a la combinación cachaza con zeolita es de significar que a medida que la proporción de cachaza fueron más alta y los de zeolita más baja, los porcentajes de supervivencia fueron más alto, pudiendo ser debido a que la cachaza es suficientemente porosa como para facilitar el drenaje, lo que permite la adecuada penetración de oxígeno a las raíces, características que debe reunir un buen sustrato para obtener buenos resultados, aspecto que lo señala Hartman *et al.*, 1997 citado por Nogales, (2001) y la zeolita retiene mas la humedad. Durante el desarrollo de este experimento existió un acumulado de precipitaciones de 650 mm de agua.

COMPORTAMIENTO DE LA PARTE AEREA.

Debido a la gran mortalidad ocurrida en las plantas *in vitro* en seis tratamientos del experimento I, se eliminaron para la evaluación de las variables fisiológicas las que presentaron menos del 30 % de supervivencia, por no poder contar con el número de plantas controles que se requería.

En cuanto al número de hojas en este experimento durante todo el desarrollo del mismo en la mayoría de los tratamientos en los diferentes muestreos no se manifestó diferencia significativa entre los mismos., presentando a los 84 días entre 14,9 y 15,6 el número de hojas.

En el experimento II a los 92 días el tratamiento cachaza 100 % alcanzó el mayor número de hojas, con diferencia significativa con los restantes tratamientos, lo que demuestra que en tiempos lluviosos este sustrato influye positivamente en mantener un equilibrio hídrico adecuado en la planta al permitir un buen drenaje, no ocurriendo igual con el tratamiento humus de lombriz 100 %, que al existir un incremento en las precipitaciones después del penúltimo muestreo, se vio afectada esta variable.

Tabla 3. Comportamiento del número de hojas activas en el experimento II con diferentes tipos de sustratos en plantas *in vitro* de piña híbrido CBCE-116.

Tratamientos	Días						
	7	21	35	49	63	77	92
Humus de lombriz 100%	5.63 c	8.03 ab	5.63 a	7.54 a	9.54 a	10.20 a	9.09 c
Cachaza 100 %	6.57 ab	7.54 ab	4.91 b	6.91 b	8.91 b	10.91 a	12.83 a
Cachaza 75 % +Zeolita 25 %	6.91 a	7.43 c	3.54 c	5.54 c	7.17 c	9.17 b	11.17 b
Cachaza 50 % +Zeolita 50 %	6.20 b	8.20 a	3.14 c	4.97 d	6.86 c	8.77 b	10.63 b
CV: %	7.04	6.50	13.16	9.92	8.82	6.89	9,16
Error standar	0.02	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0,03

El largo de la hoja D en el Experimento I a los 84 días del trasplante, el único tratamiento que difirió de forma significativa de los restantes, fue el humus de lombriz 100% que mostró el menor largo, Tabla.4. Los tratamientos con cachaza sola y con diferentes proporciones de zeolita manifestaron mejores respuestas.

Con respecto al ancho de la hoja D, los tratamientos cachaza 100% y cachaza 75 % + zeolita 25 % presentaron los mayores anchos de las hojas aunque sin diferir del tratamiento humus de lombriz 100%.

En cuanto a la hoja D Experimento II a los 92 días del trasplante el único tratamiento que difirió de forma significativa de los restantes, fue el de cachaza 100% Tabla.4 el cual mostró el mayor largo y ancho de la hoja D de forma significativa con los restantes tratamientos.

Los menores largo de las hojas lo presentaron los tratamientos humus de lombriz y cachaza 50 % + zeolita 50%

Tabla. 4 Largo y ancho de la hoja D con diferentes tipos de sustratos en plantas *in vitro* de piña híbrido CBCE-116 en los experimentos I y II.

Tratamientos	Experimento I (84 días)		Experimento II (92 días)	
	Largo cm	Ancho cm	Largo cm	Ancho cm
Humus de lombriz 100%	7.16 b	1.46 ab	13,98 d	2,2 b
Cachaza 100 %	9.37 a	1.75 a	27,62 a	2,5 a
Cachaza 75 % + Zeolita 25 %	9.86 a	1.70 a	20.1 b	2,2 b
Cachaza 50 % + Zeolita 50 %	9.38 a	1.39 b	16.79 c	2,3 b
CV: %	15.84	14.70	18,5	10,8
Error standar	0.22	0.03	0,88	0,039

En cuanto al diámetro del tallo en el experimento I a los 84 días no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. En el experimento II a los 92 días el mayor valor correspondió al tratamiento cachaza 100 % con diferencias significativa con el resto de los tratamientos los cuales no difirieron entre si.

Con relación al peso fresco y seco de las hojas a los 84 días en el experimento I no se observó diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo en el experimento II tanto en el peso fresco como en el peso seco de las hojas, el tratamiento cachaza 100 % presentó las mejores respuestas de forma significativa con respecto a los restantes

tratamientos. El tratamiento humus de lombriz 100 % manifestó los menores pesos fresco y seco.

Tabla 5. Comportamientos del peso fresco y seco de las hojas del experimento II con diferentes tipos de sustratos en plantas *in vitro* de piña híbrido CBCE-116.

Tratamientos	92 días	
	Peso fresco	Peso seco
Humus de lombriz 100%	11,27 c	0,88 c
Cachaza 100 %	25,83 a	2,61 a
Cachaza 75 % + Zeolita 25 %	16,29 b	1,33 b
Cachaza 50 % + Zeolita 50 %	15,14 bc	1,30 b
CV:%	17,4	14,4
Error Estandar	1,01	0,10

El mayor largo máximo del sistema radical lo presentó el tratamiento humus de lombriz 100% con diferencias significativas con los restantes tratamientos en el Experimento I. El largo medio sólo difirieron el humus de lombriz 100 % y cachaza 100%. No se observó diferencias significativas entre los tratamientos en el número de raíces.

En el Experimento II el tratamiento cachaza 100% y la combinación de cachaza con el menor porcentaje de zeolita resultaron los de mayores largo máximo con diferencias significativa con los restantes tratamientos. Los mayores largo medio también lo presentaron los tratamientos con cachaza y sus combinaciones con zeolita. La cachaza 100 % presentó el mayor número de raíces.

Tabla 6. Comportamiento del largo máximo, medio y número de raíces en los experimentos I y II con diferentes tipos de sustratos en plantas *in vitro* de piña híbrido CBCE-116.

Tratamientos	Experimento I 84 días			Experimento II 92 días		
	Largo Máximo cm	Largo medio cm	Número raíces	Largo máximo cm	Largo medio cm	Número raíces
Humus de lombriz 100 %	13.7 a	5.12 a	8.6	13,19 c	6,04 c	12,2 c
Cachaza100 %	8.53 c	3.94 b	8.5	16,57 a	8,76 a	18,7 a
Cachaza 75 %+Zeolita 25 %	8.87 bc	4.84 ab	9.2	15,99 a	7,91 ab	14,9 b
Cachaza 50 % +Zeolita 50%	10.1 b	4.89 ab	9.1	14,55 b	7,2 abc	14,3 b
CV:%	22.70	20.48	9.06	21,9	21,7	16,8
Error standar	0.37	0.15	0.13	0,52	0,25	0,12

Los mayores pesos frescos de las raíces en el experimento I se alcanzaron en los tratamientos con las combinaciones de cachaza con zeolita, con diferencias significativas con los tratamientos sustratos únicos, pudiendo ser debido a la influencia de la zeolita, sin embargo no se observó diferencias significativas entre tratamientos en el peso seco.

Tabla 7. Comportamiento del peso fresco y seco de las raíces en los experimentos I y II con diferentes tipos de sustratos en plantas *in vitro* de piña híbrido CBCE-116.

Tratamientos	Experimento I 84 días		Experimento II 92 días	
	Peso fresco	Peso seco	Peso fresco	Peso seco
Humus de lombriz 100%	0.21 b	0.04	0,62 c	0,07 b
Cachaza 100 %	0.20 b	0.04	2,30 a	0,32 a
Cachaza 75 % + 25 % de Zeolita	0.26 a	0.03	1,52 b	0,09 b
Cachaza 50 % + 50 % de Zeolita	0.25 a	0.04	1,51 b	0,11 b
CV: %	17.69	22.60	17,7	15,2
Error standar	0.01	0.001	0,11	0,018

En el experimento II el mejor tratamiento fue cachaza 100 % tanto para el peso fresco como el seco, con diferencias significativas con el resto de los tratamientos los cuales no difirieron entre si.

Conclusiones

- En el experimento I donde predominó baja pluviosidad durante el desarrollo del mismo, el mayor porcentaje de supervivencia lo obtuvo el tratamiento humus de lombriz 100 % y no se observó marcadas diferencias entre las variables fisiológicas evaluadas en los diferentes tratamientos. En el experimento II donde existieron altas precipitaciones, el mejor comportamiento en general lo manifestó el tratamiento cachaza 100%.
- Las combinaciones de cachaza con zeolita manifestaron un mejor comportamiento que las de humus de lombriz con zeolita en porcentaje de supervivencia en el experimento I.

Referencias bibliográficas

- Bernaza, G. y Páez, O. El humus de lombriz: un fertilizante ecológico polifacético. [En línea] 21 diciembre 2005. Disponible en: <http://www.soil-fertility.com/wormcasting/espagnol/index.shtml> [Consulta: 2 de octubre del 2008].
- FAO. Novedades recientes en los mercados de productos básicos agrícolas [en línea] 2010. Disponible en: <http://www.fao.org>. [Consulta: 27 agosto del 2010].
- Fuentes, J. L. Empleo del humus de lombriz en la agricultura. Disponible en: URL. <http://perso.wanado.es/humusfertil/beneficios.htm>. [Consulta: 18 de mayo de 2007]. 2002.
- Kozai, T. Acclimatization of micropropagated plants. En: P. S. Bajaj (Ed). Biotechnology in Agriculture and Forestry, High Tech. and Micropropagation I, Springer Verlag pp. 157-171. 1991.
- Nogales, R. 2001. Aspectos positivos del uso Agrícola del Humus de Lombriz. (Conferencia) y Proyecto FOCCIMA. Granada. España
- Martínez, D. Aportes del humus de lombriz [en línea 2001 Disponible en: <http://www.ingenieroambiental.com/newinformes/zeolitas.pdf> [Consulta: 14 octubre del 2008].
- Paques, H. Acclimatization techniques. Plant Biotechnology. Acta Hort., 288:291-300. 1991.