

# 09

---

Fecha de presentación: enero, 2020

Fecha de aceptación: febrero, 2020

Fecha de publicación: abril, 2020

## **CARACTERÍSTICAS Y USO DEL SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL EN LA PROPAGACION IN VITRO EN LA FAMILIA BROMELIACEAE**

### CHARACTERISTICS AND USE OF THE TEMPORARY IMMERSION SYSTEM IN VITRO PROPAGATION IN THE BROMELIACEAE FAMILY

Rigoberto Miguel García Batista<sup>1</sup>

E-mail: [rmgarcia@utmachala.edu.ec](mailto:rmgarcia@utmachala.edu.ec)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2403-0135>

Ana Luisa Castillo Ontaneda<sup>1</sup>

E-mail: [acastillo@utmachala.edu.ec](mailto:acastillo@utmachala.edu.ec)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8458-5346>

Alexander Moreno Herrera<sup>1</sup>

E-mail: [amoreno@utmachala.edu.ec](mailto:amoreno@utmachala.edu.ec)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8898-4195>

<sup>1</sup> Universidad Técnica de Machala. Ecuador.

#### Cita sugerida (APA, séptima edición)

García Batista, R. M., Castillo Ontaneda, A. L., & Moreno Herrera, A. (2020). Características y uso del sistema de inmersión temporal en la propagación in vitro en la familia bromeliaceae. *Revista Científica Agroecosistemas*, 8(1), 64-67.

#### RESUMEN

Las Bromelias es un cultivo con un futuro promisorio para los pequeños cultivadores y para el estado como productor de mayores ganancias y de divisas, por la demanda internacional que cada día va aumentando. Entre las principales dificultades que imposibilitan el acrecentamiento en la calidad de la producción en nuestro país se recalca la falta de apoyo económico, falta de transferencia de tecnologías en el área agronómica, manejo de pos cosecha y el mal estado de los caminos vecinales que dificultan la salida de los productos a su debido tiempo, dañando la calidad de la fruta.

Los inconvenientes que se manifiestan en la producción de las especies exóticas y frutales de las Bromeliáceas, son diversos y universalmente se exhiben en diferentes etapas, eso crea que el agricultor averigüe como optimizar la calidad de la planta mediante el uso de plantas meristemáticas. La gran trascendencia económica que posee, ha promovido la indagación biotecnológica en cultivos de tejidos vegetales ofrece alternativas en la producción de plantas en grandes volúmenes en un periodo de tiempo relativamente corto, donde se ha logrado el aumento de la producción, tasa de crecimiento, plantas libres de patógenos.

La micropropagación de plantas técnica que nos permite mejorar la eficiencia en la propagación de los cultivos obteniendo de esta manera material de alta calidad genética y fitosanitaria. Es objetivo de este estudio describir las técnicas para reproducir vitro plantas in vitro de la familia Bromeliáceae.

#### Palabras clave:

Semilla de calidad, reproducción in vitro, multiplicación.

#### ABSTRACT

Bromeliad is a crop with a promising future for small growers and for the state as a producer of higher profits and foreign exchange, because of the international demand that is increasing every day. Among the main difficulties that make impossible to increase the quality of production in our country are the lack of economic support, lack of transfer of technologies in the agronomic area, post-harvest management and poor road condition neighborhoods that make it difficult to get the products out in due course, damaging the quality of the fruit. The drawbacks that manifest in the production of the exotic and fruit species of the Bromeliaceous are diverse and are universally exhibited at different stages, which creates that the farmer finds out how to optimize the quality of the plant by using meristematic plants.

Its great economic significance has promoted biotechnological research in plant tissue crops, offering alternatives in the production of plants in large volumes in a relatively short period, where the increase in production, growth rate, pathogen-free plants. The technical micro propagation of plants that allows us to improve the efficiency in the propagation of crops thus obtaining material of high genetic and phytosanitary quality. It is the objective of this study to describe the techniques for reproducing vitro plants in vitro of the bromeliad family.

#### Keywords:

Quality seed, in vitro reproduction, multiplication.

## INTRODUCCIÓN

La Familia Bromeliáceae es esencialmente neotropical, la cual se propaga vegetativamente, presentando un porcentaje de multiplicación muy lento. En la actualidad ha adquirido gran importancia, a nivel mundial por la demanda de su fruto (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2015). El 90 % de las frutas tropicales se originan de países que están en vías de desarrollo, según datos proyectados por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura muestran que la demanda de la fruta ascenderá para los años siguientes, pero será la calidad la que marcará la diferencia en un mercado global cada vez más abastecido. Sin embargo, el factor limitante para la exportación de la fruta tropical a los mercados internacionales es el fitosanitario y la trazabilidad.

Los últimos años, los frutos exóticos y no tradicionales como mango, piña maracuyá, pitahaya, etc., han tomado gran aceptación en los mercados internacionales. Siendo así que el año 2013 tuvo una exportación de cincuenta y dos mil sesenta y ocho toneladas (Zambrano de Andrioli, 2014). Mediante datos obtenidos a través del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Ecuador (2015), en el año 2014 se exportaron cincuenta y siete mil trescientas ochenta toneladas haciendo una reseña histórica de las exportaciones y un análisis concienzudo me doy cuenta que estos últimos años decreció la exportación de esta fruta exótica a pesar que las demandas internacionales han aumentado. Esto nos da la pauta a hacer un enfoque sobre un problema que se encuentra latente aquí en nuestro país.

En la economía a nivel mundial, las producciones y saberes tecnológicos han tomado un carácter prioritario en estos últimos años, Ecuador no es la excepción. De allí que en nuestra nación se están adoptando estrategias que aprueben el progreso de investigaciones que ayuden a la construcción de este fin. En Ecuador se invierte peculios materiales y humanos para desplegar procesos de investigación que humanicen las tecnologías de información biotecnológicas y eleven la producción máxima de capitales. Sobre este tópico, el cultivo de tejidos vegetales in vitro, con sus incomparables tácticas de micropropagación, admite la producción de plantas élite que logra ir desde producciones a nivel de laboratorio hasta nivel industrial y comercial.

Los inconvenientes que se manifiestan en la producción de las especies exóticas y frutales de las Bromeliáceas, son diversos y universalmente se exhiben en diferentes etapas, eso crea que el agricultor averigüe como optimizar la calidad de la planta mediante el uso de plantas meristemáticas. Es por ello que la obtención de la simiente básica de calidad en esta plantación es de gran envergadura agrícola,

económica y social. La gran trascendencia económica que posee, ha promovido la indagación biotecnológica en cultivos de tejidos vegetales ofrece alternativas en la producción de plantas en grandes volúmenes en un periodo de tiempo relativamente corto, donde se ha logrado el aumento de la producción, tasa de crecimiento, plantas libres de patógenos.

Las Bromelias es un cultivo con un futuro promisorio para los pequeños cultivadores y para el estado como productor de mayores ganancias y de divisas, por la demanda internacional que cada día va aumentando. Entre las principales dificultades que imposibilitan el acrecentamiento en la calidad de la producción en nuestro país se recalca la falta de apoyo económico, falta de transferencia de tecnologías en el área agronómica, manejo de pos cosecha y el mal estado de los caminos vecinales que dificultan la salida de los productos a su debido tiempo, dañando la calidad de la fruta.

La micropropagación de plantas igualmente llamada clonación in vitro de plantas, es una de los instrumentos de la biotecnología vegetal que más progreso ha tenido en los últimos años. A través de esta técnica nos permite mejorar la eficiencia en la propagación de los cultivos obteniendo así de esta manera material de alta calidad genética y fitosanitaria. Entre los métodos de propagación in vitro se encuentra la micro propagación convencional, la embriogénesis somática citado por Llanos (2015) y el cultivo de inmersión temporal. Es objetivo de este estudio describir las técnicas para reproducir vitro plantas in vitro de la familia Bromeliáceae.

## DESARROLLO

Los sistemas de inmersión temporal (SIT) constituyen una tecnología accesible que permite automatizar de forma parcial algunas etapas del cultivo in vitro, aumentando la eficiencia biológica y productiva del material propagado sin los efectos colaterales causados por los medios de cultivo líquido estáticos conocidos como hiperhidricidad e hipoxia (De Fera, Jiménez & Chávez (2002). El principio básico es la inmersión periódica de los explantes en el medio de cultivo, lo que permite el intercambio gaseoso dentro del recipiente.

Los sistemas de inmersión temporal emplean medios líquidos lo cual facilita la asimilación de nutrientes por explantes. La planta entra en contacto con este medio con cierta frecuencia durante un corto periodo de tiempo lo que evita los problemas de Hiperhidricidad (desorden morfológico y fisiológico que provoca una estructura cristalina y acuosa del tejido, además de un crecimiento distorsionado) provocados por los medios líquidos en contacto permanentes. Además, estos sistemas permiten la renovación constante de la atmosfera interna de los frascos y evita la acumulación de gases nocivos como el etileno (que promueve

la senescencia de los tejidos). Los sistemas de inmersión temporal facilitan la regulación de la concentración de CO<sub>2</sub> y mejoran la oxigenación de los tejidos (Posada, et al. 2003).

### Estudios de cultivo in vitro de la piña

El Sistema de Inmersión Temporal Automatizado (RITA®) se ha utilizado con éxito para la propagación de piña, caña de azúcar, banano, plátano, especies forestales y ornamentales. Con el empleo de este sistema los coeficientes de multiplicación se incrementan en un rango de 20 a 70% en dependencia de la especie y las condiciones del cultivo. De igual forma, la calidad intrínseca de los brotes aumenta, permitiendo alcanzar niveles de supervivencia superiores al 95 %. Para lograr una mayor efectividad en el sistema se evalúan diferentes variables in vitro como el tiempo y frecuencia de inmersión, el volumen de medio de cultivo, la presencia de retardantes del crecimiento en el medio de proliferación, condiciones ambientales, duración de la fase de proliferación y genotipo, entre otros (Ángel & González, 2013).

Ángel & González, (2013), lograron obtener alrededor de 5000 plantas a partir de un solo explante con medio líquido Murashige y Skoog (MS) adicionado con agua de coco y transferidos a BAP para formar brotes axilares capaces de enraizar. Demostró que *Ananas erectifolius*, una especie silvestre de piña, puede formar embriones somáticos sometiendo los brotes a cinetina (KIN) y la auxina 2,4 D en un medio líquido Kheik y Hildebrand, primero se forma un callo que requiere ser transferido a un medio semisólido MS con adenosina y posteriormente a un medio con citocinina BAP y finalmente a un medio MS con auxina de naftalenacetico (NAA).

Berthouly & Etienne (2002), mencionan que en piña la tasa de supervivencia aumenta linealmente con el tamaño del brote, es decir, que brotes de piña de más de 6 cm de longitud pueden cultivarse directamente en el invernadero, con 90 a 100% de sobrevivencia.

Sistema de Inmersión Temporal (SIT) de la familia Bromeliaceae en el proceso de la micropropagación. SIT en el cultivo de células y tejidos vegetales in vitro. De Feria, et al. (2002), destacan que en sus investigaciones realizadas en el cultivo de caña de azúcar, en todos los tratamientos con SIT se estimula la propagación del material vegetal y la formación de nuevos brotes además de un incremento de masa fresca al ser comparados con sistemas tradicionales en medio semi-sólido. Indica que esto nos da una explicación al existir una mayor disponibilidad de nutrientes y también por la posible eliminación de sustancias tóxicas que pueden haber sido excretadas al medio.

Etienne & Berthouly (2002), indican que la inmersión temporal estimula la producción de brotes en diferentes especies. En el cultivo de *Pinus radiata*, esta

técnica admitió la evolución continua de los explantes durante 18 meses sin hacer ninguna transferencia del material. Los brotes obtenidos fueron más largos y de mejor calidad que en medio semisólido.

En *Musa sp.* Los SIT admitieron incrementar la tasa de multiplicación en relación al medio sólido desde 2,2 a más de 5, utilizando un biorreactor tipo RITA con 20 minutos de inmersión cada 2 horas.

Partiendo de un análisis literario me puedo dar cuenta que no siempre los SIT ocasionan un mayor coeficiente de multiplicación. En el caso *Charibdis sp.* (Hyacinthaceae) los sistemas de inmersión temporal engendraron coeficientes de multiplicación mínimos a otros sistemas de micropropagación convencional, sin embargo, en los SIT, al usar contenedores de gran tamaño y mayores densidades poblacionales del inóculo, es viable obtener una mayor cuantía de brotes por contenedor con un mínimo input de mano de obra, lo cual puede tener un gran impacto en los costos.

Los SIT han sido usados para incitar la proliferación de cultivos embriogénicos en balance con sistemas convencionales en medio semisólido o suspensiones en frascos Erlenmeyer. Inmersiones de 5-10 minutos cada 2 horas produjeron mayor cantidad de embriones y cultivos embriogénicos más grandes en *Phoenix dactylifera* (Etienne & Berthouly, 2002).

En trabajos realizados en *Citrus deliciosa*, (Etienne & Berthouly, 2002) indican que el 60% de los embriones somáticos que fueron ubicados en medio semisólido desplegaron el estado cotiledonar, pero con hiperhidricidad. EL progreso continuo en un cultivo en suspensión a 100 rpm entorpeció el estado cotiledonar y la formación de protodermis, estando los embriones somáticos inhábiles de desarrollarse más allá de la etapa globular. La inmersión temporal en un sistema RITA permitió que el 60 % de los embriones somáticos emanados fueran cotiledonares, análogos morfológicamente a los embriones nucleares.

Como es conocido generalmente, las técnicas de cultivo in vitro necesitan conservar un control estricto de la asepsia para mantener el adecuado desarrollo y producción de plántulas y, las técnicas de cultivo en medios líquidos como el Sistema de Inmersión Temporal no son la excepción. En este tipo de sistemas, la probabilidad de contaminación se puede desplegar más rápidamente y dispersar con mayor facilidad en el medio líquido y puede acarrear pérdidas hasta del 100% del cultivo. Por ello, el material vegetal a ser inoculado en el Sistema de Inmersión Temporal debe estar sometido previamente a subcultivos que permitan asegurar su asepsia en fin de controlar el crecimiento indeseado de microorganismos patógenos (Albarracín, 2012).

En este experimento la capacidad fotosintética siempre se mantuvo baja en SIT, existiendo una alta

actividad respiratoria que, aumentaba a medida que se incrementaba el tiempo de inmersión, explicada principalmente por algunas situaciones de stress oxidativo producidas por el estado de inmersión, las cuales quedaron en evidencia por una mayor actividad de la enzima su peróxido dismutasa y pardeamiento lipídica (Escalona, et al., 2003).

Los autores de este experimento señalan que en piña los SIT no producen un aumento en la actividad fotosintética sino que el aumento en biomasa se explica a través de una mayor absorción de azúcares y nitrógeno desde el medio de cultivo (Escalona, et al., 2003). Los mismos autores indican que al estimar el máximo rendimiento fotoquímico del fotosistema II a través de mediciones de fluorescencia de clorofila a y radio Fv/Fm, se detectó un decrecimiento en altos niveles de PPF, lo que estuvo acompañado por un incremento en la absorción de carbohidratos y nitrógeno, lo cual indica un comportamiento mixotrófico, lo que indicó que la formación de brotes no parece depender de la actividad fotosintética sino más bien de la asimilación de nutrientes del medio en Sistemas de Inmersión Temporal.

## CONCLUSIONES

El SIT presenta un amplio número de ventajas al propagar plantas de interés, ya que los nutrientes del medio de cultivo están más fácilmente disponibles en medios de cultivo líquido y las plantas adquieren una mayor capacidad de absorción.

Una ventaja adicional del SIT consiste en el espacio que brinda el emplear envases de grandes capacidades, pudiéndose utilizar de esta manera un mayor número de explantes en cada contenedor.

Disminuye los costos de la mano de obra, debido a la facilidad de manipulación de los explantes y del cambio de medio.

Permite una mejor nutrición mineral, por el contacto estrecho entre la superficie de los explantes y el medio durante la fase de inmersión por capilaridad, ya que una fina película de medio se mantiene sobre los explantes. morfológicos debido a la frecuencia de las inmersiones

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Albarracín Acosta, C. P. (2012). Evaluación de la Eficiencia de un sistema de inmersión temporal frente al método de propagación convencional en la multiplicación in vitro de cilantro cimarrón (*Eryngium foetidum*) a partir de hojas, yemas y segmentos nodales. (Tesis de licenciatura). Universidad de las Fuerzas Armadas

Ángel, J. X., & González, J. J. (2013). Evaluación de dos métodos de micropropagación masal en piña (*Ananas comosus* L.Merr.) variedad golden. (Tesis). Universidad de El Salvador.

De Fera, M., Jiménez, E., & Chávez, M. (2002). Empleo de los sistemas de inmersión temporal para la multiplicación in vitro de brotes de *Saccharum* spp. var. IBP-112. *Bioteología Vegetal* 2 (3), 143-147.

Ecuador. Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2015). Sistema de información nacional de agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca. MAGAP. <http://sinagap.agricultura.gob.ec/pina>

Escalona, M., Samsom, G., Borroto, C., & Desjardins, Y. (2003). Physiology of effects of temporary immersion bioreactors on micropropagated pineapple plantlets, In vitro cellular and Development *Biology - Plant*, 39(6), 651-656.

Etiene, H., & Berthouly, M. (2002). Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 69, 215 - 231.

Llanos, B. C. (2015). Micropropagación in vitro de piña, *Ananas comosus* (L.) Merr Var. MD2 (Bromeliaceae) bajo un sistema de biorreactores de inmersión temporal. (Tesis EP Ciencias Biológicas). Universidad Mayor de San Marcos.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2015). Vaticinan que la producción mundial de fruta tropical ascenderá en 2014. FAO. <http://www.freshplaza.es>. <http://www.freshplaza.es/article/66756/Vaticinan-que-la-produccion-mundial-de-fruta-tropical-ascendera-en-2014>

Posada, L., Gómez, R., Reyes, M., & Alvares, L. (2003). Empleo de los sistemas de inmersión temporal (RITA) en la propagación de plantas vía organogénesis en caña de azúcar y bananos. *Bioteología Vegetal*, 3(1), 3-8.

Zambrano de Andrioli, A. (2014). Ecuador entre los primeros exportadores de fruta en América Latina. *El Agro*, 214.