



Validación de un sistema de micropropagación fotoautotrófica para la obtención de plantines de *Vaccinium corymbosum* "Arándano" de la variedad Biloxi con mejores características morfológicas y fisiológicas, para optimizar la producción comercial de plantines

Autores:

Lissete Graterol Caldera
Martha Guillen Murrieta
Eder Flores Bedregal
Tany Azaña Colchado
Noemí Eustaquilo Cruz

Cofinanciado por

Innovate Perú



PERÚ

Ministerio
de la Producción

La empresa Camposol, S.A, con el cofinanciamiento del Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú), ejecutaron el presente proyecto de investigación. Con el objetivo de implementar un sistema de micropropagación fotoautotrófica como una alternativa frente a la propagación convencional, con la finalidad de obtener plantas de arándano con sobrevivencia del 90%, una reducción en el valor comercial de venta al 50% respecto al costo actual y un tiempo producción reducido de 13 meses.

Para el inicio el proyecto se obtuvieron plántulas madres de arándano variedad Biloxi, provenientes de plantas donantes seleccionadas de campos productivos, dichas plantas fueron caracterizadas molecularmente y evaluadas a través de un diagnóstico fitosanitario para asegurar su calidad genética y fitosanitaria. A partir de estas plantas se realizó el establecimiento de material vegetal en condiciones in vitro, las cuales fueron desarrolladas en sistemas de cultivo fotoautotrófico, es decir con presencia de CO₂ en el microclima de cultivo y con exposición a luz natural y en sistema de cultivo de micropropagación convencional como comparativos de procesos. El sistema fotoautotrófico nos permitió obtener plantas con mejores características morfológicas y fisiológicas que potencian su aclimatación y sobrevivencia en condiciones ex vitro comparado con el sistema convencional. Las plántulas provenientes de in vitro fueron aclimatadas en invernaderos por un período de 4 meses durante el cual se evaluó de forma cuantitativa la capacidad fotosintética, contenidos de pigmentos fotosintéticos, morfología, así como su desarrollo a través de evaluaciones biométricas, encontrándose mejores valores para el sistema fotoautotrófico.

RESULTADOS	Al Finalizar el proyecto se ha logrado la validación de un protocolo propio de micropropagación fotoautotrófica para la obtención de plantines de arándano de la variedad Biloxi. Se ha logrado 2000 plantines con mejores características anatómicas y fisiológicas respecto a la micropropagación convencional, obtenidas en menor tiempo (13 meses), con menor valor comercial (50 % menos) y con tasas de sobrevivencia de hasta 90%.
PROBLEMA	Camposol, tiene la necesidad de ampliar y replantar sus áreas de cultivo de arándano, por lo que debe cubrir en el menor tiempo posible la demanda de plantines de arándano con elevada calidad genética y fitosanitaria, que tengan una mejor aclimatación en invernadero y rápida adaptación en campo. Bajo el sistema convencional se ha identificado tasas de sobrevivencia ex vitro, menores a 90%, mayores valores comerciales y tiempo prolongados.
OBJETIVO	Implementar un sistema de micropropagación fotoautotrófica como alternativa a la micropropagación convencional, optimizando la producción de plantines de arándano con una sobrevivencia ex vitro de 90%, con una reducción del valor comercial de 50 % y con un tiempo de producción reducido de 13 meses
HIPÓTESIS	Si se implementa un protocolo de micropropagación fotoautotrófica validado entonces se optimizaría la producción de plantines con mayores tasas de sobrevivencias ex vitro, menor valor comercial y menor tiempo de producción.

METODOLOGÍA

Para el establecimiento in vitro de la variedad biloxi se realizó la selección de plantas donantes de los campos élitos de la Empresa Camposol, teniendo en cuenta características agronómicas que potencien a la planta. A partir de una colecta de esquejes se realizó el acondicionamiento de un lote de plantas madres aisladas en invernaderos, para su identificación varietal y diagnóstico fitosanitario que aseguren su calidad vegetal.

Luego del desarrollo y crecimiento de las plantas madres, se tomó tejido libre de agentes fitopatógenos para el inicio del cultivo in vitro (Fig. 01).



Figura 1. Proceso de obtención de plantas madres mediante la técnica del estaquillado a partir de plantas donantes, A. Generación de brotes en esquejes sembrados sobre sustrato poroso, B. Desarrollo y generación de raíces en plantas madres.

Implementación de un sistema propio de micropropagación fotoautotrófica

La implementación del sistema de micropropagación fotoautotrófica inició con la proliferación de brotes in vitro sobre un medio de cultivo enriquecido, seguido de la multiplicación y la elongación de las plántulas (Fig. 02). En esta última fase las plántulas generadas son acondicionadas en una sala con iluminación de luz natural con el fin de activar de desarrollar su sistema fotosintético y pre aclimatar a las plántulas a las condiciones ex vitro mejorando su desarrollo, reflejado en las evaluaciones morfológicas y fisiológicas.

Evaluación de la calidad de los plantines en invernadero y vivero.

Una vez culminado el proceso de elongación, las plántulas fueron transferidas a invernaderos para su aclimatación ex vitro (Fig. 03). En este proceso se estipularon tres fases que determinan el proceso de desarrollo ex vitro de las plántulas permitiendo llevar a cabo las evaluaciones de calidad a través de: determinación de enzimas de estrés, tasa fotosintética neta, tasa de transpiración, conductancia estomática, concentración de pigmentos fotosintéticos como indicadores de estrés fisiológico. Finalmente se realizó evaluaciones biométricas para comprobar el desarrollo masal de las mismas.

Durante el proceso de aclimatación las plántulas llevaron un manejo agronómico y nutricional eficiente.



Figura 2. Proceso de establecimiento e introducción de explantes en condiciones de laboratorio, bajo el sistema de micropropagación fotoautotrófico, siendo A. Desinfección de explantes, B. Establecimiento de explantes en medio de cultivo, C. Generación y proliferación de explantes y D. Etapa de multiplicación in vitro de plantines.



Figura 3. Aclimatación de plántulas de arándano en condiciones ex vitro, la numeración secuencial representa las fases de desarrollo de las plántulas, siendo A. Fase 1, B. Fase 2 y C. Fase 3; todas estas fases se llevan a cabo en invernaderos.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en la Tabla 1, se observó que las plántulas cultivadas bajo el sistema fotoautotrófico mostraron mayor desarrollo morfológico respecto a las plántulas del sistema convencional evidenciado en menores densidades estomáticas, mayor desarrollo de pelos foliares y formación definida del tejido mesófilo y capa empalizada. Dichos resultados están relacionados a la presencia de CO_2 en el microclima de cultivo y la exposición a luz natural. En plantas superiores como los arándanos existen funciones fisiológicas que involucran el intercambio de gases entre la atmósfera y la hoja, con el fin de regular las funciones químicas involucradas en el equilibrio dinámico (Barrientos et al., 2003).

Por otro lado, en la Tabla 2 se reportan los resultados obtenidos a partir de las evaluaciones fisiológicas en plántulas de ambos sistemas en estudio, siendo las plántulas del sistema fotoautotrófico las que mostraron mayor capacidad fotosintética, expresado en mayores tasa fotosintética, tasa de transpiración, conductancia estomática y mayores contenidos de pigmentos fotosintéticos como clorofila y carotenoides totales. El intercambio de gases se lleva a cabo a través de los estomas en la epidermis, son los responsables de la toma de CO_2 y la pérdida de agua durante la transpiración (Salas et al., 2001). Por otro lado, las características anatómicas de las plantas están relacionadas en los procesos fisiológicos de la mismas, así la cantidad de estomas y su distribución en las hojas influyen en la asimilación de clorofila (Salas et al., 2001).

Tabla 1
Determinación de características morfológicas de plántulas de arándano cultivadas por el sistema convencional y fotoautotrófico.

sistema de cultivo	Pelos foliares				Tejido mesófilo	Capa empalizada
	Densidad Estomática	Índice estomático	N° pelos foliares	Altura de pelos foliares (px)		
Fotoautotrófico	5	20	8	2096.35	SI	SI
Convencional	7	25	6	1182.04	NO	NO

Tabla 2
Determinación de características fisiológicas de plántulas de arándano cultivadas por el sistema convencional y fotoautotrófico.

Sistema de propagación	Tasa de transpiración (mmol/ m ² s)	Conductancia estomática de agua (mol/m ² s)	Tasa fotosintética (µmol /m ² s)	Clorofila (mg/g muestra)	Carotenoides totales (mg/g muestra)
Convencional	0.85 ± 0.054	0.18 ± 0.011	0.32 ± 0.461	0.143 ± 0.008	0.025 ± 0.001
Fotoautotrófico	1.33 ± 0.548	0.65 ± 0.026	13.3 ± 0.035	0.275 ± 0.007	0.047 ± 0.001

Tabla 3
Evaluación biométrica de plántulas de arándano variedad (Blau), desarrolladas bajo el sistema de micropropagación fotoautotrófica y convencional.

sistema de cultivo	Diámetro de tallo (mm)	Altura de planta(cm)	Longitud de raíz (cm)	N° brote	Longitud de hoja (mm)	N° hojas	Longitud hoja
Fotoautotrófico	0.59	5.05	12.4575	1.75	10.78	12.75	10.7
convencional	0.3175	4.05	9.9675	1	5.83	9.5	5.9

Los resultados expresados tablas anteriores indican que las plántulas de arándano establecidas bajo el sistema fotoautotrófico presenta ventajas morfológicas y fisiológicas sobre el sistema convencional, lo que se reflejó en las evaluaciones biométricas de la Tabla 3, donde las plántulas del sistema fotoautotrófico muestran mayores diámetros de tallo, mayor altura de planta, mayor longitud de raíz y mayor longitud de hojas.

Al finalizar el proyecto, el valor comercial de las plantas del sistema fotoautotrófico fue de s/. 1.13 soles, respecto a s/. 2.09 soles de valor de plantas obtenidas bajo el sistema convencional. Así mismo, el tiempo del proceso de producción fue de 13 meses y 18 meses respectivamente.



CONCLUSIONES

- Se presentó mayor capacidad fotosintética en plantas del sistema fotoautotrófico, expresadas en mayores tasas fotosintéticas y mayor contenido de pigmentos fotosintéticos respecto a las plántulas del sistema convencional.
- Se determinó la formación definida de tejido mesófilo y capa empalizada en plantas cultivadas bajo el sistema fotoautotrófico respecto al convencional, así como mayor desarrollo de estomas y pelos foliares.
- Se logró determinar por evaluación biométrica que las plantas cultivadas bajo el sistema fotoautotrófico presentan mayores alturas, diámetros, longitud de raíz y hoja respecto a las plántulas del sistema convencional.
- Se logró la reducción del valor comercial de plantines de arándano de s/. 2.03 a s/.1.13 soles, así como la reducción de tiempos de producción de 18 meses a 13 meses.



IMPACTO

El presente proyecto de investigación tendrá un impacto tecnológico y económico positivo, por implementar nuevos sistemas de cultivo de micropropagación que reducen tiempos en las etapas de desarrollo del cultivo, por ende, reducen los costos de mantenimiento y producción.



FINANCIAMIENTO

El proyecto tuvo una duración programada de 24 meses, con un presupuesto total de S/. 559,335.00soles, su ejecución fue posible gracias al cofinanciamiento del "Programa Nacional de Innovación para la competitividad y productividad - Innóvate Perú" (49.9%), y al aporte de la empresa ejecutora Camposol S.A (50.1%), agradecemos a ambas entidades por promover y apoyar la investigación e innovación, permitiendo el avance científico en la empresa y el país.

Fuente de Financiamiento	Porcentajes
Programa Nacional de Innovación para la competitividad y productividad (Innóvate Perú)	49.9 %
Aporte monetario CAMPOSOL S.A.	13.1%
Aporte no monetario CAMPOSOL S.A.	36.9%



REFERENCIAS

Barrientos, J., Borys, M., Trejo, C., & López, L. (2003). Stomatal density and index in leaves of three races of avocado seedling. *Revista Fitotécnica Mexicana*, 26(4), 285 -290. Salas, J., Sanabria, M., & Pire, M. (2001). Variación en el índice y densidad estomática en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) sometidas a tratamientos salinos. *Bioagro*, 99 - 104. ✓