

Marzo 2022.Numero 1

Serie1 No. 1

BOLETIN INFORMATIVO



# PROPAGACIÓN IN VITRO DE PORTAINJERTO PARA DURAZNERO

*Prunus persica* [L.] Batsch



Centro de Investigación e Innovación Agrotecnológica la  
Barranca -CIIAB

Laboratorio de Biotecnología

Colaboración en la sistematización de  
investigaciones con el:

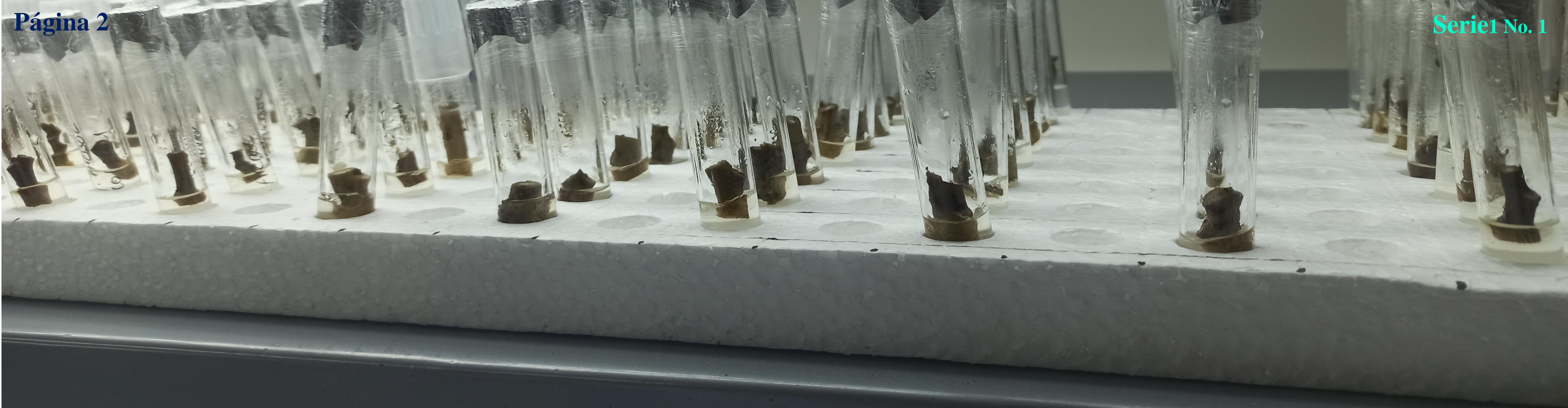
Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria



UNIVERSIDAD  
**SAN FRANCISCO XAVIER**  
UNIVERSIDAD DIGNA







*Agr. Fátima Shirley Duarte Royder*

## RESUMEN

La investigación en propagación del porta injerto para duraznero en cultivo In Vitro fue ejecutado en el Centro de Investigación e Innovación Agrotecnológica La Barranca (CIIAB), dependiente de la Carrera Agronomía Técnico Superior de la Facultad de Ciencias Agrarias, con el apoyo de Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria IASA, el CIIAB se encuentra a 14 km. de la ciudad de Sucre en la comunidad de La Barranca. Se probaron tres protocolos para cada una las diferentes fases de propagación “establecimiento, multiplicación y enraizamiento”, se utilizó yemas de porta injerto G\*N para el establecimiento de los ex plantes, de esta manera realizar la propagación in vitro. En la fase de establecimiento se utilizó para la desinfección el hipoclorito de sodio al 1% y un fungicida sistémico en base a Captan, durante 10 – 15 minutos de sumersión. En la preparación de los medios de establecimiento, el medio que tuvo mejor resultado fue MS (Murashige & Skoog) completo, suplementado con AG3 (ácido giberelico), una fuente de carbono y agar que es el gelificante. En la fase de multiplicación, tuvo mejor resultado MS (Murashige & Skoog) completo suplementado con BAP (6-Benzylaminopurine), una fuente de carbono siendo el azúcar y agar que es el gelificante; en el enraizamiento el medio que tuvo mejor resultado fue el MS (Murashige & Skoog) al 50% adicionado con IBA (ácido indol-3- butírico), ANA (**Ácido naftalenacético**) y carbón activado todos con un Ph de 5,7.

Logrando el establecimiento in vitro de segmentos nodales “explantes” del portainjerto “G\*N” usando yemas de ramas y/o brotes jóvenes

Se adiciono giberelina en el medio de establecimiento tuvimos mejor desarrollo de los brotes logrando mayor cantidad de posibles vitro plantas, en el medio de multiplicación de agrego citoquininas con buenos resultados y para el medio de enraizamiento se incorporaron auxinas y un antioxidante el carbón activado nos ayudó mucho para la proliferación y desarrollo de las raíces.

En la última fase de aclimatación no se tuvieron buenos resultados por la alta mortandad de las vitro plantas enraizadas, debido al cambio de sustrato, las fluctuaciones de temperatura y humedad relativa del ambiente muy baja.

**Palabras claves:** Explante, G\*N, In Vitro, Vitro plantas.

## INTRODUCCIÓN

La producción y consumo de frutas a nivel internacional tiende a crecer a un ritmo acelerado de acuerdo con la demanda de los mercados. La producción se centra en países como China e India. A nivel latinoamericano, se destacan Brasil, Argentina y Chile; de los cuales los dos últimos países son proveedores de frutas frescas a Bolivia (Kempff et al. 2015).

En Bolivia, la producción frutícola se encuentra localizada principalmente en los valles interandinos de los departamentos de La Paz, Tarija, Chuquisaca, Potosí, Santa Cruz y Cochabamba. De acuerdo a Coca (2011) estos valles conforman microrregiones con características de clima y suelo, aptas para la producción de frutales, en particular el durazno (*Prunus pérsica*) un miembro de la familia Rosaceae.

Cotevisa (2004), y Parada (2009), refieren que el portainjerto ‘GXN 15’, llamado también ‘Garnem’ fue obtenido en España por el Servicio de Investigación Agraria de la Diputación General de Aragón, Zaragoza. Es un híbrido entre almendro y durazno seleccionado entre las plantas originadas por el cruzamiento del ‘Garfi x Nemared’ (Serie GxN).

Sotomayor et al. (2005), menciona que el GxN 15 Garnem, portainjerto obtenido por el SIA de Zaragoza. Híbrido de almendro (*Prunus amygdalus*) y duraznero (*Prunus persica*), pertenece a la serie de portainjertos denominada G\*N, debido a sus parentales: el almendro Garfi (elegido por su fácil propagación y porte erecto) y el duraznero Nemared (elegido por su buena compatibilidad para el injerto, su resistencia a nematodos y sus buenas características agronómicas). Es de hoja roja, apto para el injerto de almendro, duraznero, nectarino, ciruelo y damasco.

Así mismo Felipe et al. (1997), recalca que el híbrido es el resultado de la selección de las descendencias del cruce de un híbrido entre *Prunus dulcis* y *Prunus persica*.

Centellas et al. (2011), menciona que gradualmente el GxN se está convirtiendo en la principal porta injertos para el durazno en Bolivia por la buena adaptación a las condiciones de suelos de valles, buen vigor, rápida entrada en producción, y principalmente, por la facilidad de enraizamiento bajo invernadero en buena parte de los meses del año.

El objetivo de nuestra investigación fue obtener plantas “portainjerto” y de esta manera llegar a coadyuvar en el fortalecimiento de experiencias en campo con este portainjerto. Además de la producción de plantas de variedades comerciales, y de esta manera garantizar la sanidad, homogeneidad de las plantas obtenidas, asimismo lograr establecer un plantel de plantas madres obtenidas por este sistema de propagación en el CIIAB.

La demanda existente plantas de nueva calidad y cantidad que cumplan con las características sanitarias y morfológicas del clon se logran con la multiplicación en el laboratorio in vitro.



# MÉTODOS Y EQUIPOS

El Laboratorio de Biotecnología del Centro de Investigación e Innovación Agrotecnológica la Barranta (CIIAB), con el apoyo del Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria en la sistematización del resultado de la investigación y desarrollo de la experimentación utilizando técnicas de micropropagación o propagación clonal de esta especie, que es una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo In Vitro

**Fases.** - - En propagación In Vitro se tienen varias fases, donde se realizan las operaciones y preparaciones de los medios de cultivo ya sea de establecimiento, multiplicación, elongación y enraizamiento, en nuestro caso trabajamos establecimiento, multiplicación y enraizamiento de duraznero, durante el período comprendido entre noviembre 2020 a junio 2021 donde se siguieron las siguientes fases:



## Fase 0

### Preparación de la planta madre

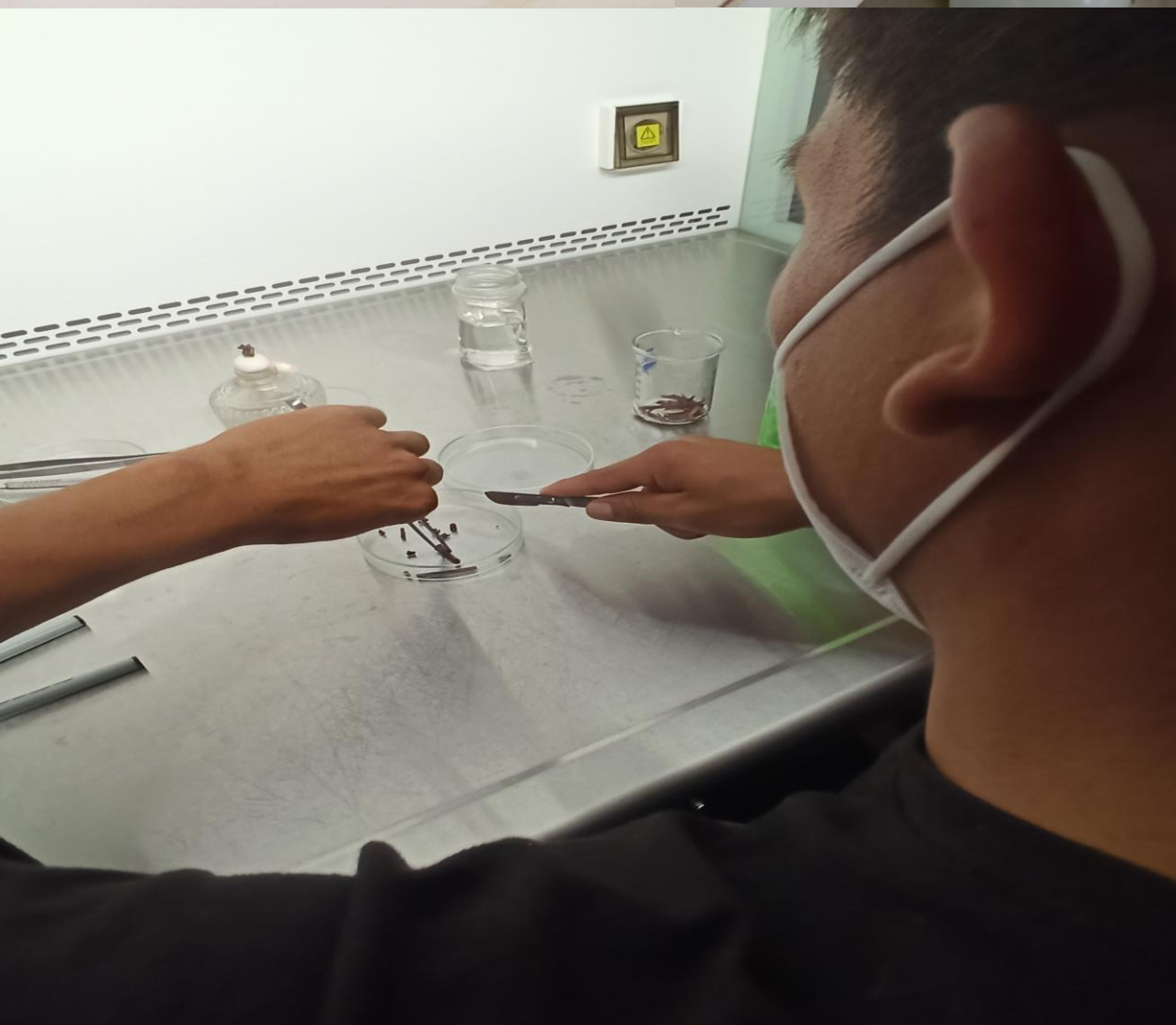
Para establecer el cultivo en condiciones asépticas, se deben obtener explantes de durazno “yemas” que estén en buenas condiciones siempre teniendo en cuenta que nuestra planta madre tiene que ser una planta vigorosa, no presentar ninguna plaga ni enfermedad, que este en constante cuidado, bajo riego adecuado y si se pudiera bajo invernadero. Dando así a nuestra planta madre, las condiciones óptimas para poder ser una planta madre donadora de material vegetal.



## Fase 1

### Desinfección del material vegetal

Los contaminantes más comunes son los hongos y las bacterias que habitan en forma natural en el ambiente. Una vez desinfectado el material vegetal con jabón neutro y agua de llave, se procede a hacer 3 enjuagues con agua destilada, y agregar un fungicida sistémico en base a Captan cuyo nombre químico es N-(triclorometiltio) ciclohex-4-en-1,2-dicarboximida; en la proporción de 2 gr/l.

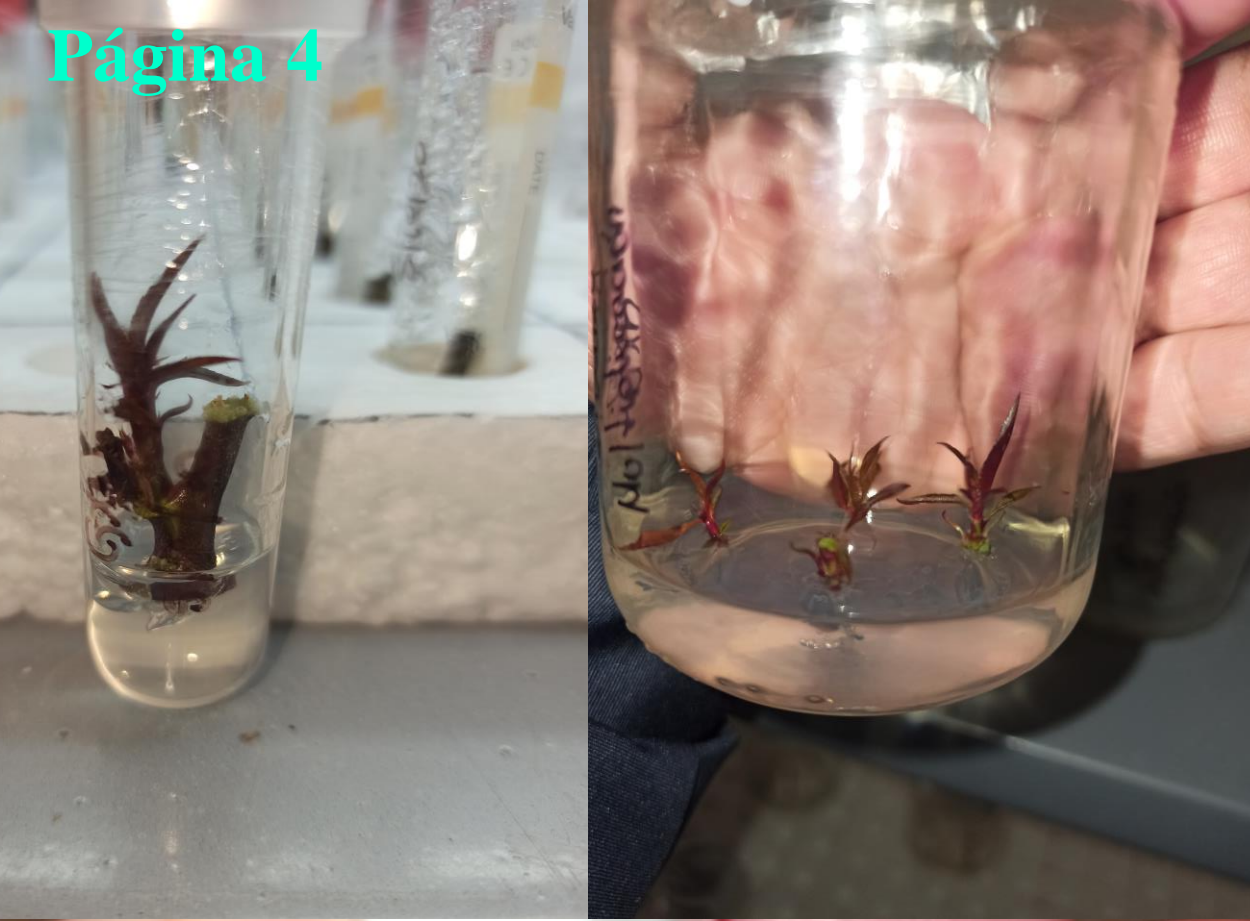


## Fase 2

### Siembra del material in vitro

Luego de la desinfección superficial, de las semillas o las yemas dependiendo del material seleccionado, que en nuestro caso se utilizó yemas, se debe seguir el proceso de desinfección con alcohol al 70% durante 3 minutos e hipoclorito de sodio al 1% y 3% durante 3, 5, 10 minutos secuencialmente viendo cual nos resulta óptimo para nuestras yemas, siempre tomando en cuenta el grosor y tipo de material que se haya recolectado, y proceder con los respectivos enjuagues con agua destilada esterilizada para seguir con el siguiente paso, que consiste en poner los explantes en medio de cultivo estéril. En un período de 15 a 30 días, comienza el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo de cultivo in vitro.





### Fase 3

#### Multiplicación de los brotes:

Durante esta fase se espera que los explantes de duraznero en nuestro caso yemas, que sobrevivieron las fases anteriores, originen brotes cada 30 a 45 días. Estos nuevos brotes se pueden subcultivar “sub dividir” en un nuevo medio periódicamente para la obtención de mayor cantidad de plantas. El número de vitro plantas que se obtendrá dependerá de la especie vegetal y de las condiciones del medio de cultivo.



### Fase 4

#### Elección de un medio de enraizamiento para los brotes obtenidos:

Para enraizar los brotes y futuras “vitro plantas” se utilizan principalmente plantines individuales de un tamaño aproximado de 2 cm. Los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación se transfieren a un medio libre de reguladores de crecimiento, o que solo contengan fitohormonas del tipo de las auxinas. Algunas especies de plantas no necesitan pasar por esta etapa y emiten sus raíces en el mismo medio de cultivo donde desarrollan yemas nuevas, por lo tanto, el proceso de multiplicación y enraizamiento transcurren en forma simultánea.



### Fase 5

#### Aclimatación de las vitro plantas enraizadas:

Los brotes recién enraizados “vitro plantas” son muy sensibles a los cambios ambientales, de manera que el éxito o el fracaso de todo el proceso dependen de la respuesta al periodo de aclimatación. En esta etapa las plantas sufrirán cambios de diferente tipo que permitirán la adaptación de las mismas a vivir en condiciones naturales.

**Tabla N. 1. Composición de los medios de establecimiento, multiplicación y enraizamiento para duraznero (*Prunus persica*).**

Componentes	Establecimiento	Multiplicación	Enraizamiento
Ms (Murashige & skoog)	Completo	Completo	50
Azúcar	30 gr/l	30 gr/l	40 gr/l
AG3	3 ml/l	3 ml/l	-
BAP	-	3 ml/l	-
ANA	-	-	3,5 ml/l
IBA	-	-	4 ml/l
Carbón Activado	-	-	10 gr/l
Agar	7 gr/l	7 gr/l	7 gr/l
pH	5,7	5,7	5,7

En la tabla N. 1 podemos observar las diferentes cantidades de los elementos para la preparación de 1 litro de agua usados en los medios en sus diferentes fases “establecimiento, multiplicación y enraizamiento”.





## Protocolos

Durante el inicio del trabajo en el laboratorio se prepara un protocolo para cada especie, y para cada una de las fases ya sea de establecimiento, multiplicación o enraizamiento del material biológico.

Se tiene un protocolo desde la recolección del material vegetal, ingreso al laboratorio, tiempos de lavado y desinfección, analizando con ¿cuáles productos se desinfectará el material contaminado?, y si fuese necesario como almacenar el material vegetal, decidir ¿qué tipo de instrumental se usará?, para la desinfección del instrumental, ambientes, como la preparación de los diferentes medios “en peso/litros de agua”. También considerar en el llenado de los envases a usar, la esterilización del medio, y durante la aplicación de la metodología de establecimiento o manejo dentro de la cámara de siembra. Todo esto para cada una de las fases y el manejo en la sala de crecimiento “temperatura y fotoperiodo”, y la esterilización del sustrato para la fase de aclimatación.

### Equipos, materiales y reactivos

Para poder realizar el trabajo en el laboratorio se debe contar con los siguientes que se detallan a continuación:

**Tabla N. 2.** Materiales, equipos y reactivos con los que debemos contar en el Laboratorio

Equipos	Material de vidrio	Reactivos	
Cámara o cabina de flujo laminar	Tubos de ensayo	Ms (Murashige & skoog)	IAA, 2,4 D
Balanza analítica	Frascos de vidrio	azúcar	BAP, KINETINA, TDZ, 2IP
Balanza de precisión	Probetas	AG3	
Agitador magnético	Pípetas	BAP	
pH metro	Cajas Petri	PaCa	
Destilador de agua	Frascos o botellas de polipropileno	ANA	
Autoclave	Goterros	IBA	
Horno mufla	Vasos precipitados	Tiamina	
Refrigerador	Gradillas para tubos de ensayo	Myoinositol	
Microondas	Mechero	Carbón Activado	
Cocina	Pisetas	Agar	

### Resultados

## Resultados

En el cuadro N° 2 se pueden observar los resultados obtenidos para los protocolos y/o medios, que serían los más prometedores en la investigación.

**Cuadro N. 2. Resultados del establecimiento de G\*N en diferentes medios en las diferentes fases de propagación**

FASES	Protocolos	N° explantes establecidos	% de	% de	Observaciones
			brotación	contaminación	
ESTABLECIMIENTO	1	250	70	30	La mayor contaminación se observó en explantes más lignificados
	2	300	75	25	
MULTIPLICACION	1	400	58	42	
	2	400	60	40	
ENRAIZAMIENTO	1	230	65	35	
	2	240	70	30	

De la misma manera se observan los resultados del número de explantes en porcentajes de explantes logrados en las fases de propagación y comparación de los dos protocolos más prometedores, donde el resultado más bajo alcanza 58% en uno de los medios de cultivo que se dio en la fase de multiplicación, como también podemos prestar atención en los porcentajes de contaminación.

En cada una de las fases se obtuvo un 42 % como el valor más alto y 25% el más bajo, en fases de la propagación del porta injerto.

## Conclusiones

Se pudo lograr el establecimiento in vitro de segmentos nodales “explantes” del portainjerto “GxN” usando yemas de ramas y/o brotes jóvenes provenientes de plantas madres, en el proceso de desinfección se empleado hipoclorito de sodio al 1% y fungicida sistémico en base a captan con sumersión de 15 minutos siendo el que tuvo mejor resultado.

En la preparación de medios se pudo evidenciar que:

Adicionando giberelina en el medio de establecimiento tuvimos mejor desarrollo de los brotes logrando mayor cantidad de posible vitro plantas, en el medio de multiplicación de agregó diferentes dosis de citoquininas tuvimos buenos resultados y para el medio de enraizamiento se incorporaron auxinas y un antioxidante, con el carbón activado nos ayudó mucho para la proliferación y desarrollo de las raíces.

En la última fase de aclimatación no se tuvieron buenos resultados por la alta mortandad de las vitro plantas enraizadas, debido al cambio de sustrato, las fluctuaciones de temperatura y humedad relativa del ambiente muy baja.

## Agradecimiento

Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca. Facultad de Ciencias Agrarias. Carrera Agronomía Técnico Superior.

Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria IASA

Centro de Investigación e Innovación Agrotecnológica La Barranca (CIAB).

Revisores: Ing. Martha Serrano, Ing. Fritz Hamel, Ing. Alfredo Salinas

Diseño y Diagramación: Ing. Zorayda Montalvo Avendaño

## Referencias bibliográficas

Castillo, A. 2020. Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Investigadora, Unidad de Biotecnología, INIA Las Brujas Disponible en <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/410/1/111219220807102417.pdf>

Fowler, M. W. 1987. Products from Plant Cells. En: Bu'lock J., Kristiansen B. (Eds.) Basic Biotechnology. Academic Press, M., London, England. pp. 525-544.

Pérez, B. K. 2018. Establecimiento In Vitro de Hypericum goyanesii Cuatrec. e Hypericum juniperinum Kunth, a partir del cultivo de semillas. Disponible en: <file:///G:/CULTIVO%20DE%20TEJIDPS.pdf>

Ramírez, M. 2016. Evaluación del desarrollo de estacas de durazno GxN Garnem bajo diferentes tipos de sustratos en condiciones controladas en la ciudad del Alto. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/23797/T2740.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Rivas, C. G. 2016. Cultivo In Vitro de Células y Tejido Vegetal. Serie Nutrición Vegetal. Núm. 59. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 5 p. Disponible en: <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/cultivo-in-vitrode-celulas-y-tejidos-vegetal>

Uribe, M. & L. Ciifuentes. 2004. Aplicación de técnicas de cultivo in vitro en la propagación de Legrandia concinna. Bosque, Vol. 25 N° 1, 2004, pp. 129-135. Disponible en: <http://revistas.uach.cl/pdf/bosque/v25n1/art12.pdf>

Cultivo "in vitro" de tejidos vegetales, marzo 2019. Disponible en: <https://www.utec.edu.pe/blog-de-carreras/bioingenieria/cultivovitro-de-tejidos-vegetales>



