

PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

MINISTERIO DE AGRICULTURA



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION AGRARIA

MICROPROPAGACION DE ALCACHOFA SIN ESPINAS



LIMA - PERU

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION AGRARIA
DIRECCION GENERAL DE INVESTIGACION AGRARIA
PROGRAMA NACIONAL DE INVESTIGACION EN HORTALIZAS**

**MICROPROPAGACION DE
ALCACHOFA SIN ESPINAS
*(Cynara Scolymus L.)***

Ing. MSc. Julio Olivera Soto

ESTACION EXPERIMENTAL DONOSO

**CENTRO DE INVESTIGACION Y CAPACITACION HORTICOLA
KIYOTADA MIYAGAWA - HUARAL**

**Serie
Folleto N° 03-00**

**Lima - Perú
Octubre, 2000**

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION AGRARIA - INIA

**DIRECCION GENERAL DE INVESTIGACION AGRARIA
DIRECCION GENERAL DE TRANSFERENCIA DE TECNOLOGIA AGRARIA**

Revisión:

Comité Central de Edición y Publicaciones

Diagramación e Impresión:

Proyecto de Producción de Medios de Comunicación y Transferencia

Primera Edición:

Octubre, 2000

Tiraje: 500 ejemplares

Prohibida la reproducción total o parcial

INTRODUCCIÓN

La alcachofa sin espinas (*Cynara scolymus* L.) es una especie semiperenne que se propaga por semilla y vegetativamente. Debido a la propagación vegetativa se transmite enfermedades causadas por hongos y virus de generación en generación, que reducen los rendimientos y calidad del producto cosechado; otro problema que se presenta cuando se emplea semilla en algunas variedades es la diversidad en forma y calidad de cabezuelas.

Ante estos problemas se tiene como una alternativa la micropropagación a partir del cultivo de meristemas el cual nos permite obtener material libre de patógenos y genéticamente idéntico. Esta labor se lleva a cabo en condiciones artificiales de laboratorio sin depender de los factores climáticos.

El contenido de este folleto es el resultado de los trabajos realizados en la EE Donoso - Huaral, a partir de 1997 con la finalidad de desarrollar variedades de alcachofa sin espinas para Exportación y Procesamiento.

MICROPROPAGACIÓN

SELECCIÓN DEL MATERIAL VEGETATIVO

De plantas madres seleccionadas por sus buenas características de inflorescencia: compactas y redondas se extraen hijuelos de 4 semanas y 10 cm de longitud o yemas recién brotadas (Ver foto 1).

En laboratorio se enjuaga con abundante agua de caño y se elimina todas las hojas, dejando solo la yema con dos hojas en formación, completamente limpia. Luego se corta los lados y la base de la yema, dándole forma cuadrangular para facilitar su manipuleo al momento de realizar la disección del meristema.



Foto 1 *Hijuelos y yemas de alcafofa sin espinas óptimas para disección de meristemas*

DESINFECCIÓN DEL EXPLANTE

Las yemas obtenidas se deben lavar con agua de caño y luego 3 veces con agua destilada; en la cámara de flujo laminar se sumerge las yemas en alcohol 70% durante 2 minutos para facilitar la penetración del desinfectante. La desinfección se realiza con Hipoclorito de Sodio al 1% durante 12 minutos y se enjuaga 3 veces con agua esterilizada para eliminar todo residuo y luego se coloca en una solución antioxidante de ácido ascórbico al 0,1% para evitar la fenolización que es el necrosamiento del tejido afectado a causa de la segregación de elevadas concentraciones de polifenoles que son producidos por la planta como respuesta al daño.



Foto 2 Esterilización por filtración de solución antioxidante

MEDIO DE CULTIVO

Se emplea el medio de cultivos MS (Murashige y Skoog, 1962) modificado. Se esteriliza en autoclave durante 20 minutos a 121° C y presión 1,2 kg/cm². Para el medio de iniciación (ver anexo 1 y 2) se utiliza tubos de prueba de 100 x 15 mm, que facilita la siembra de las meristemas.

La disección (corte) del meristema apical se realiza cortando los primordios en formación y dejando dos primordios foliares y el domo meristemático, evitando la fenolización del tejido, que puede producir el necrosamiento del meristema.



Foto 3 *Disección de meristema de alcachofa en condiciones asépticas*

FASE DE INICIACIÓN

El meristema es colocado en un medio de cultivo (ver anexo 1 y 2) donde los tubos permanecerán en oscuridad los primeros 3 días para que la luz no acelere el proceso de fenolización y luego se pasa a luminosidad de 3000 lux. Es necesario descartar microplantas que presenten síntomas de fenolización y vitrificación (aparición húmeda y traslúcida, desarrollo anormal y necrosis); esta fase dura aproximadamente 10 semanas. El fotoperíodo debe ser de 16 horas/luz.

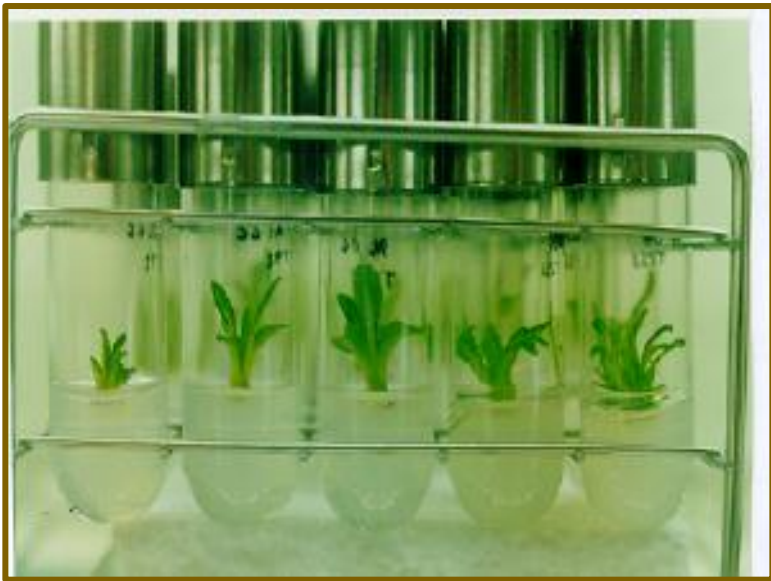


Foto 4 Microplantas de alcachofa en diferentes etapas de desarrollo en la fase de iniciación

FASE DE MULTIPLICACIÓN

Después que las microplantas alcanzan el tamaño promedio de 2 cm se transfieren a cajas de polipropileno (magentas) o frascos de vidrio, colocándose 1 ó 2 brotes por envase, en un medio de multiplicación. (Ver anexo 1 y 2). Luego de 6 a 7 semanas se obtiene en promedio 6 brotes por microplanta, donde la mitad alcanza el tamaño necesario para realizar un subcultivo ó pasar a la fase de enraizamiento (Ver anexo 3).



Foto 5 Microplanta de alcachofa en multiplicación

FASE DE ENRAIZAMIENTO

1. Primero debemos promover la diferenciación de los tejidos para inducir la formación de raíces, ya que algunas especies por su fisiología no pueden enraizar directamente 'in vitro' durante 4 o 5 semanas para ello se emplea un medio MS donde la concentración de reguladores se especifica en el anexo 1 y 2 (a).
2. En seguida las plántulas son transferidas a magentas en un medio de proliferación de raíces (ver anexo 2), hasta la formación del sistema radicular en 4 semanas promedio (b).



Foto 6 Formación de sistema radicular en alcahofa

ACLIMATACIÓN

Las raíces de las plántulas se lavan bien sin dejar restos de agar adheridos a las mismas, para evitar que los hongos patógenos se alimenten ellos y causen pudrición radicular sujetando delicadamente las plántulas para no quebrar las raíces que no son muy flexibles. El sustrato es de arena de río lavada y esterilizada, la cual se coloca en bolsas negras pequeñas con orificios y se riega ligeramente; la temperatura debe fluctuar entre 22°C a 23°C para evitar marchitamiento de las plántulas, las que deben permanecer en aclimatación durante 4 semanas como promedio.



Foto 7 Plántulas de alcachofa en aclimatación

INVERNADERO

Luego de la aclimatación se pasa las plántulas a bolsas grandes con sustrato de arena y humus en una proporción de 1:1 donde permanecen 5 semanas; estando listas para el trasplante del invernadero de camas desinfectadas o bolsas a campo. Se cortan las hojas para estimular el prendimiento, trasplantando a raíz desnuda previa desinfección ó con sustrato. En invernadero se realizan las evaluaciones de planta y de sanidad. La presencia de virus se realiza con plantas indicadoras (*Chenopodium quinoa* y *Gomphrena globosa*) por inoculación mecánica para detectar virus del enamismo y del moteado que son los más difundidos en nuestro país.



Foto 8 Plantas de alcachofa sin espinas en invernadero

ANEXO 1. COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO DE MURASHIGE Y SKOOG (1962)

Stock I : Macroelementos (20 x)	mg/l	1 l H₂O dest.
NH ₄ NO ₃	1650	33,0 g
KNO ₃	1900	38,0 g
CaCl ₂ . 2H ₂ O	440	8,8 g
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	370	7,4 g
KH ₂ PO ₄	170	3,4 g
Stock II: Microelementos (100 x)	500 ml H₂O dest.	
KI	0,83 0	0,083 g
H ₃ BO ₃	6,2	0,62 g
MnSO ₄ . 4 H ₂ O	22,3	2,23 g
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	8,6	0,86 g
Na ₂ MoO ₄ . 2 H ₂ O	0,25	0,025 g
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	0,025	0,002 g
CoCl ₂ . 6 H ₂ O	0,025	0,002 g
Stock III: Fe - EDTA (50 x)	500 ml H₂O dest.	
FeSO ₄ . 7 H ₂ O	27,8	1,39
Na ₂ – EDTA	37,3	1,86
Stock IV: Vitaminas (100 x)	500 ml H₂O dest.	
Myo - Inositol	100,0	10,0 g
Glicina	2,0	0,2 g
Acido Nicotínico	0,5	0,05 g
Piridoxina - H Cl	0,5	0,05 g
Tiamina - H Cl	0,1	0,01 g

ANEXO 2 COMPOSICIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS PARA LAS DISTINTAS FASES DE MICROPROPAGACIÓN DE ALCACHOFA SIN ESPINAS (para 1 I MS)

1. Fase de Iniciación o establecimiento		
Solución Stock I	50	ml
Solución Stock II	5	ml
Solución Stock III	10	ml
Solución Stock IV	5	ml
ANA (Acido naftalenacético)	2.69	µM
BAP (Bencil aminopurin)	0.88	µM
2. Fase de Multiplicación		
Solución Stock I	50	ml
Solución Stock II	5	ml
Solución Stock III	10	ml
Solución Stock IV	5	ml
BAP (Bencil aminopurin)	4,44	µM
3. Fase de Enraizamiento		
Solución Stock I	50	ml
Solución Stock II	5	ml
Solución Stock III	10	ml
Solución Stock IV	5	ml
a. ANA (Acido naftalenacético)	5,37	µM
b. IBA (Acido indolbutírico)	4.90	µM

ANEXO 3 ESQUEMA DE MICROPROPAGACIÓN DE ALCACHOFA SIN ESPINAS (*Cynara scolymus* L.)

