**Estabilidad morfo-anatómica, fisiológica y bioquímica de brotes de piña regenerados de ápices conservados durante diferentes tiempos en nitrogeno líquido.**

**Morpho-anatomical, physiological and biochemical stability of regenerated pineapple shoots from apices stored during different times in liquid nitrogen.**

Ariel Villalobos-Olivera1, Julia Martínez Rodríguez2, Nicolás Quintana Bernabé1, Lelurlys Nápoles Borrero2, Justo González Olmedo2, Marcos Edel Montero Montero2,

1. Universidad de Ciego de Ávila (UNICA). Carretera a Morón Km 9 ½, Ciego de Ávila, Cuba. E-mail: [ariel@unica.cu](mailto:ariel@unica.cu), [villalobos.olivera@gmail.com](mailto:villalobos.olivera@gmail.com), [cubaplantas@gmail.com](mailto:cubaplantas@gmail.com)
2. Centro de Bioplantas, UNICA, Cuba.

**Resumen**

Para prevenir la pérdida de la biodiversidad en este cultivo de la piña (*Ananas comosus* var*. comosus*), se han implementado varias técnicas de conservación a corto, mediano y largo plazo. La técnica de más perspectivas de conservación a largo plazo en la actualidad es la crioconservación. En el cultivo de la piña se han optimizado las técnicas de crioconservación y se han logrado obtener porcentajes de supervivencias y regeneración superiores al 90%. Además, se ha determinado la calidad óptima de las plantas donantes para lograr, reintroducir el material a las condiciones naturales con el mínimo de afectaciones durante el proceso de crioconservación. Sin embargo, en las investigaciones existentes en el tema, no se han regenerado ápices conservados más de 24 horas en nitrógeno líquido (NL). El presente trabajo se realizó con el objetivo de caracterizar los indicadores morfo-anatómicos, fisiológicos y bioquímicos de brotes de piña regenerados de ápices conservados durante diferentes tiempos en NL. Las plantas donantes *in vitro* tenían metabolismo CAM y fueron establecidas en un medio de cultivo MS con 1 mg∙L-1 Biojas® durante 45 días. En los resultados se pudo apreciar, que los ápices conservados en NL durante 1, 90, 180, 270 y 365 días, tuvieron estructura celular similar, sin afectación a su integridad física, a los 3 días de regeneración. A su vez, los ápices tuvieron porcentajes de supervivencia y regeneración superiores al 95%, sin mostrar diferencias estadísticas en ninguno de los tratamientos. Los brotes regenerados de estos ápices mostraron similitud en la estructura celular de la base del tallo y las hojas, lo que indicó una correcta funcionabilidad de los brotes durante la regeneración *in vitro.* Los brotes de cada tiempo de inmersión en NL no mostraron diferencias en los indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos durante la regeneración *in vitro*. Además, en la extensión de los resultados se pudo apreciar porcentajes de supervivencia y regeneración superiores al 95 % en 10 accesiones del banco de germoplasma del cultivo, después de 365 días de conservación en nitrógeno líquido.

**Palabras claves**: **Crioconservación, metabolismo, plantas donantes, inmersión, regeneración**

To prevent the loss of biodiversity on pineapple crop (*Ananas comosus* var. comosus), several conservation techniques have been implemented in the short, medium and long term. Actually, the technique of more perspectives for long-term preservation is the cryopreservation. In the case of pineapple, cryopreservation techniques have been optimized and percentages of survival and regeneration above 90% have been obtained. In addition, the optimum quality of the donor plants has been determined in order to achieve, reintroduce the material to the natural conditions with the minimum of damages during the cryopreservation process. However, in the existing research apices stored more than 24 hours in liquid nitrogen (LN) have not been regenerated. The present work was carried out with the objective of characterizing morpho-anatomical, physiological and biochemical indicators of regenerated pineapple shoots from apices stored during different times in LN. The *in vitro* donor plants had CAM metabolism and were established in an MS culture medium with 1 mg ∙ L-1 Biojas® for 45 days. In the results it was possible to appreciate, that the apices conserved in LN during 1, 90, 180, 270 and 365 days, had similar cellular structure, without affecting their physical integrity, after 3 days of regeneration. In turn, the apices had survival and regeneration percentages higher than 95%, without showing statistical differences in any of the treatments. The regenerated buds of these apices showed similarity in the cellular structure of the base of the stem and the leaves, which indicated a correct functioning of the shoots during the *in vitro* regeneration. The shooting of each time of immersion in LN did not show differences in the morphological, physiological and biochemical indicators during the *in vitro* regeneration. In addition, during the extension of the results, percentages of survival and regeneration higher than 95% could be observed in 10 accessions of the germplasm bank of the crop, after 365 days of storage in LN.

**Keywords:** Cryopreservation, metabolism, donor plants, immersion, regeneration