COMPORTAMIENTO DE VITROPLANTAS DE PAPA, EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN, A PARTIR DE ESQUEJES APICALES, MEDIOS Y BASALES

Zenteno López, Víctor Enrique[1]

[1]Laboratorio de Fitopatología y Cultivo in vitro

Correo electrónico: vezl15@gmail.com

RESUMEN

El objetivo general planteado para desarrollar la investigación fue el de evaluar el comportamiento de vitroplantas en la fase de multiplicación a partir de esquejes apicales, medios y basales. Se trabajó con esquejes de yemas de la variedad desiré, desarrolladas en un medio de cultivo (Murashige y Skoog, 1962), una vez obtenidas las vitroplantas se procedió a realizar una evaluación tomando en cuenta las variables: altura, número de hojas y pesos en verde y seco de las mismas. El diseño experimental fue completamente al azar con tres repeticiones.

Como resultado se determinó que los esquejes de yemas medias obtuvieron una mejor respuesta a los 23 días en cuanto se refiere a la altura, peso en verde y peso en seco de las vitroplantas, presentándose diferencias altamente significativas; en cuanto al número de hojas no hubo diferencias significativas entre los tres tratamientos.

Las vitroplantas obtenidas de esquejes provenientes de yemas medias y apicales son las más adecuadas para la multiplicación, en el proceso de producción de semilla pre básica de papa.

PALABRAS CLAVE:

in vitro, vitro plantas, explantos.

INTRODUCCIÓN

Por su gran interés agrícola y económico la papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los principales cultivos de cosecha a nivel mundial, es originaria de los Andes sudamericanos y actualmente es uno de los cuatro alimentos básicos de la humanidad, junto al trigo, arroz y maíz.

Se reporta que *Solanum tuberosum* L. se domesticó en Sudamérica, específicamente en Bolivia, entre los lagos Titicaca y Poopó hace unos 10,000 a 7,000 años, aunque los primeros vestigios se encontraron en el cañón de Chilca, al sur de Lima en Perú y tienen una antigüedad de 10,500 años. Si bien existe controversia y opiniones muy diversas en cuanto al origen de la papa, sin duda se estima que el altiplano peruano-boliviano es el centro de origen de este importante cultivo.

Hoy en día, se presenta un serio problema para los agricultores para poder obtener semillas de alta calidad, libres de patógenos y principalmente libres de virus. Aspecto que se ha tornado como una limitante en el manejo del cultivo, razón por la cual los promedios del rendimiento son bajos.

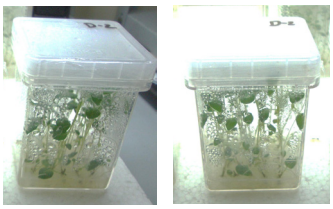
El costo de producción de la semilla pre-básica a través de la producción de vitroplantas, es alto, tornándose inaccesible para los productores de semillas, en algunos casos la producción de semilla básica es subvencionada por instituciones gubernamentales y no gubernamentales.

El cultivo de tejidos es una técnica que consiste en aislar una porción de planta (explante) y proporcionarle artificialmente las condiciones físicas y químicas apropiadas para que las células expresen su potencial intrínseco. La investigación en cultivos de tejidos puede cubrir un rango amplio de actividades que van desde la investigación básica sobre los procesos bioquímicos y morfológicos de la diferenciación celular hasta la investigación clonal o el mejoramiento genético de las plantas

El Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal, desarrolla un esquema de certificación de semilla, partiendo de plantas propagadas *in vitro*, las cuales son aclimatadas en invernaderos o jaulas anti áfidos. El número de plantas que se obtiene dependerá de la especie vegetal y de las condiciones del medio de cultivo, aunque permite alcanzar incrementos exponenciales, considerando que todos los factores

De acuerdo al cuadro N° 4, al establecer el análisis de varianza para el número de hojas de las vitroplantas, se observa que no presentan diferencias significativas entre los tratamientos.

Figura N° 2: Magentas con vitroplantas del Tratamiento 2.



Peso en verde de las vitroplantas

Luego se analizó el peso en verde, como se observa en el cuadro N° 5 el coeficiente de variación de estos datos alcanzó un valor de 12,56% otorgando confiabilidad a los datos obtenidos. Los valores corresponden a 10 vitroplantas.

CUADRO N° 5: Peso en verde de las vitroplantas

TRAT.	REPLICAS			Σ	X
	I	II	III		
T1	1,100	1,400	1,500	4,000	1,333
T2	1,900	1,800	1,700	5,400	1,800
T3	0,800	0,700	0,800	2,300	0,767
Σ	3,800	3,900	4,000	11,700	1,300
CV					12,561

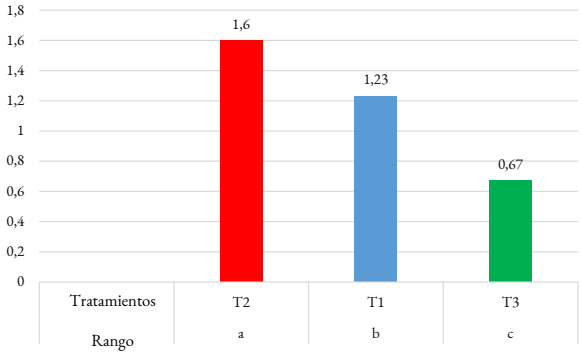
Los resultados obtenidos en esta variable, muestran que el tratamiento 2, presenta el mayor peso en verde de las vitroplantas constituidas por esquejes de yemas medias, obteniéndose una media de 1,8 gramos por 10 vitroplantas, seguido del tratamiento 1 constituido por esquejes de yemas apicales, con una media de 1,33 gramos y finalmente el tratamiento 3 constituido por vitroplantas obtenidas de esquejes de yemas basales, con una media de 0,76 gramos.

Cuadro N° 6: Análisis de Varianza peso verde de vitroplantas

FUENTE DE VARIACIÓN	gl	SC	CM	F_c	F_t 5%	F_t 1%
TOTAL	8	1,720				
REPETICIONES	2	0,007	0,003	0,13	6,94	18,00
TRATAMIENTOS	2	1,607	0,803	30,13	6,94	18,00
ERROR	4	1,107	0,027			

De acuerdo al cuadro N° 6, al establecer el análisis de varianza para el peso en verde de las vitroplantas, se observa que presentan diferencias altamente significativas entre los tratamientos, por lo tanto se procedió a realizar la prueba de Tukey,

Grafica N° 2: Prueba Tukey, peso en verde de las vitroplantas



En la gráfica Nº 2, observamos que el mayor peso en verde se presentó con el tratamiento 2, constituido por vitroplantas de esquejes de yemas medias con 1,6 gramos por 10 vitroplantas, estadísticamente no presenta diferencias significativas con el tratamiento 1 constituido por esquejes de yemas apicales, pero ambos tratamientos son estadísticamente diferentes al tratamiento 3, constituido por vitroplantas de esquejes de yemas basales.

Figura N° 3: Plántulas de papa cosechadas puestas sobre una bandeja de papel absorbente

que afectan el crecimiento hayan sido optimizados, sin embargo, los inconvenientes principales en la producción de semilla de papa mediante las técnicas del cultivo *in vitro* se han presentado en el tipo de explantos utilizados en la fase de multiplicación, variable importante para la obtención de vitroplantas de calidad y que posteriormente garanticen su aclimatación en condiciones de campo.

El presente trabajo nos permitirá conocer, en la micro propagación de papa, el explante más apropiado para ser utilizado en la fase de multiplicación, que permita formar vitroplantas con buenas características y desarrolle un material genético de alta calidad.

El objetivo general planteado para desarrollar la investigación fue el de evaluar el comportamiento de las vitroplantas en la fase de multiplicación a partir de esquejes apicales, medios y basales. Se plantearon como objetivos específicos: comprobar si existen cambios morfológicos y determinar si existen diferencias significativas entre los explantos utilizados para los distintos parámetros en observación.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el departamento de Tarija, provincia Cercado, en las instalaciones del laboratorio de Fitopatología y Cultivo In Vitro de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales de la Universidad Autónoma "Juan Misael Saracho".

Trabajo realizado desde la fase 1 de establecimiento *in vitro* con la variedad de papa desiré, pasando luego a la fase 2 de multiplicación de las vitroplantas que provenían de la primera fase. Para la investigación usamos diferentes tipos de explantes: tratamiento 1, esquejes de yemas apicales; tratamiento 2, esquejes de yemas medias y tratamiento 3, esquejes de yemas basales; sembrados en cultivo aséptico en magentas que contenían el medio de cultivo previamente esterilizado, siendo llevados a las cámaras bioclimáticas para su respectivo crecimiento y evaluación.

El medio de cultivo está compuesto por el medio M&S base al cual se le adicionó agar al 0,7% y con una concentración de azúcar al 3%. Las plantas se desarrollaron con un fotoperiodo de 8 horas luz y 16 horas oscuridad. Esta cámara se mantuvo a una intensidad lumínica promedio de 3500 lux y a una temperatura de 22°C de acuerdo a las mediciones realizadas periódicamente.

El diseño experimental empleado para determinar las diferencias fue completamente al azar con 3 tratamientos y con 3 réplicas haciendo un total de 9 unidades experimentales. Cada unidad experimental estaba compuesta de 50 plantas.

Una vez desarrolladas las vitroplantas en un total de 23 días se procedió a realizar una evaluación del ensayo tomando en cuenta los siguientes parámetros:

Altura de vitroplantas.

La evaluación se realizó a los 23 días de iniciado el ensayo midiendo cada planta, se tomó la medida desde el cuello hasta la punta de la misma.

Número de hojas de las vitroplantas.

Para la evaluación de la variable "número de hojas" se procedió a contar cada una de las hojas desarrolladas en cada tipo de explante, apical, medio y basal

Peso en verde de las vitroplantas.

Para esta variable se procedió a eliminar los residuos del medio de cultivo con agua, posteriormente se las dejó en papel secante, para pesarlas en una balanza analítica de 0,1 miligramos de precisión.

Peso seco o materia seca de las vitroplantas.

Para la variable "materia seca" se trabajó inicialmente con los datos obtenidos de peso en verde, se sometieron 10 vitroplantas, por tratamiento, a calor en un horno a temperatura de 60°C hasta lograr peso constante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con los datos obtenidos, se realizó el análisis del comportamiento de la variedad de papa desiré en la multiplicación de los explantes obtenidos de esquejes de yemas apicales, medias y basales.

Altura de las vitroplantas a los 23 días

Se inició la tabulación de los resultados de altura de las vitroplantas, como se muestra en el cuadro N° 1 el coeficiente de variación alcanzó un valor de 3,79% lo que permite otorgar confiabilidad a los datos obtenidos.

CUADRO N° 1: Altura de las vitroplantas a los 23 dias

	REPLICAS			Σ	X
T1	I	II	III		
T2	6,1	5,4	5,4	16,9	5,63
T3	7	6,45	5,85	19,3	6,43
Σ	5,45	5,15	5,05	15,65	5,22
cv	18,55	17	16,3	51,85	5,76
CV					3,79

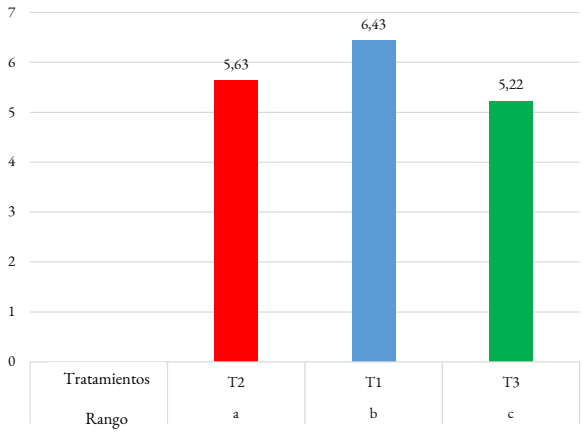
Los resultados obtenidos en esta variable, muestran que el tratamiento 2, presenta la mayor altura de las vitroplantas, este tratamiento está constituido por esquejes de yemas medias, obteniéndose una media de 6.43 centímetros de altura, está seguido del tratamiento 1 constituido por esquejes de yemas apicales, con una media de 5,63 centímetros y finalmente el tratamiento 3 constituido por vitroplantas obtenidas de esquejes de yemas basales, con una media de 5,22 centímetros.

CUADRO N° 2:Análisis de varianza altura vitroplantas

FUENTE DE VARIACIÓN	gl	SC	CM	F_c	F_t 5%	F_t 1%
TOTAL	8	3,369				
REPETICIONES	2	0,884	0,442	9,25	6,94	18,00
TRATAMIENTOS	2	2,294	1,147	24,01	6,94	18,00
ERROR	4	0,191	0,048			

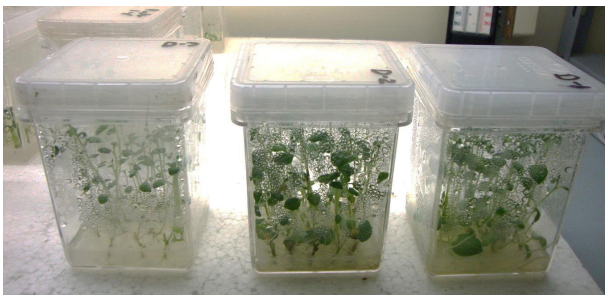
De acuerdo al cuadro N° 2, al establecer el análisis de varianza para la altura de las vitroplantas, se observa que presentan diferencias altamente significativas entre los tratamientos, por lo tanto se procedió a realizar la prueba de Tukey,

Grafica 1: Prueba Tukey, Altura de las vitroplantas a los 23días



En la gráfica Nº 1, podemos observar de la mayor altura a los 23 días se presentó con el tratamiento 2, constituido por esquejes de yemas medias con 6,43 cm., estadísticamente presenta diferencias significativas con el resto de los tratamientos, seguido del tratamiento 1 constituido por esquejes de yemas apicales también significativamente diferente del tercer tratamiento.

Figura 1: Magentas con vitroplantas de 23 días de los tres tratamientos.



Número de hojas de las vitroplantas

Posteriormente, tal como se puede visualizar en el cuadro N° 3, se procedió a cuantificar el número de hojas por vitroplanta, en base a los datos se obtiene un coeficiente de variación que alcanzó un valor de 6,54%, lo que permite otorgar confiabilidad a los datos obtenidos.

CUADRO N° 3:Número de hojas de las vitroplantas a los 23 días

TRAT.	REPLICAS			Σ	X
	I	II	III		
T1	5,4	6,2	5,6	17,2	5,73
T2	6	6,3	6,8	19,09	6,36
T3	5,7	5,6	5,3	16,65	5,55
Σ	17,14	18,09	17,7	52,93	5,88
CV					6,54

Los resultados obtenidos en esta variable, muestran que el tratamiento 2, presenta el mayor promedio de número de hojas en las vitroplantas, este tratamiento está constituido por esquejes de yemas medias, obteniéndose una media de 6.36 hojas por planta, seguido del tratamiento 1 constituido por esquejes de yemas apicales, con una media de 5,73 hojas por planta y finalmente el tratamiento 3 constituido por vitroplantas obtenidas de esquejes de yemas basales, con una media de 5,55 hojas por planta.

Cuadro N° 4: Análisis de Varianza Número de hojas

FUENTE DE VARIACIÓN	gl	SC	CM	F_c	F_t 5%	F_t 1%
TOTAL	8	1,831				
REPETICIONES	2	0,150	0,075	0,507	6,94	18,00
TRATAMIENTOS	2	1,089	1,545	3,681	6,94	18,00
ERROR	4	0,592	0,148			

Peso en seco de las vitroplantas

Por último se estudió la materia seca, y se obtuvo el peso en seco de 10 vitroplantas por tratamiento, como se observa en el cuadro N° 7 el coeficiente de variación de estos datos alcanzó un valor de 9,934%, lo que permite otorgar confiabilidad a los datos obtenidos.

CUADRO N° 7:Peso en seco de las vitroplantas

TRAT.	REPLICAS			Σ	X
	I	II	III		
T1	0,092	0,102	0,082	0,275	0,092
T2	0,133	0,143	0,153	0,428	0,143
T3	0,061	0,061	0,071	0,194	0,065
Σ	0,286	0,306	0,306	0,898	0,100
CV					9,939

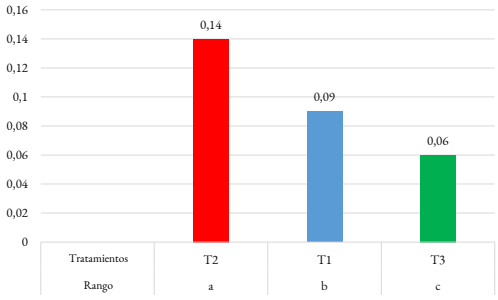
Los resultados obtenidos en esta variable, muestran que el tratamiento 2, presenta el mayor peso en seco de las vitroplantas, está constituido por esquejes de yemas medias, obteniéndose una media de 0,143 gramos por 10 vitroplantas, seguido del tratamiento 1 constituido por esquejes de yemas apicales, con un peso de 0,092 gramos por 10 vitroplantas y finalmente el tratamiento 3 constituido por vitroplantas obtenidas de esquejes de yemas basales, con un peso de 0,065 gramos por 10 vitroplantas.

Cuadro N° 8: Análisis de Varianza peso seco de vitroplantas

FUENTE DE VARIACIÓN	gl	SC	CM	F_c	F_t 5%	F_t 1%
TOTAL	8	0,009942				
REPETICIONES	2	0,000092	0,000046	0,470588	6,94	18,00
TRATAMIENTOS	2	0,009456	0,004728	48,117647	6,94	18,00
ERROR	4	0,000393	0,000098			

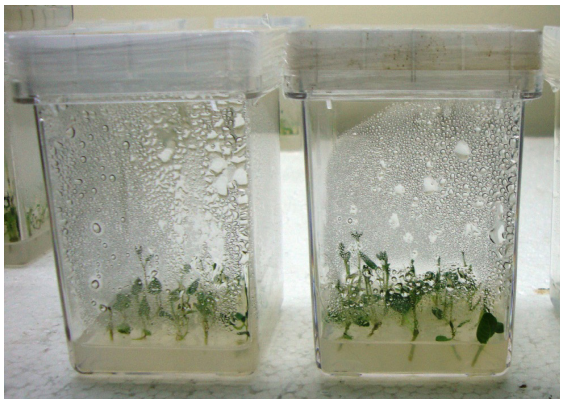
De acuerdo al cuadro N° 8, al establecer el análisis de varianza para el peso en seco de las vitroplantas, se observa que presentan diferencias altamente significativas entre los tratamientos, por lo tanto se procedió a realizar la prueba de Tukey,

Grafica N° 3: Prueba Tukey, peso en seco de las vitroplantas .



En la gráfica Nº 3, observamos que el tratamiento 2, constituido por vitroplantas de esquejes de yemas medias obtuvo el mayor peso en seco, con 0,14 gramos por 10 vitroplantas, estadísticamente presenta diferencias significativas con el resto de los tratamientos, el tratamiento 1 constituido por esquejes de yemas apicales, con 0,09 gramos por 10 vitroplantas es estadísticamente diferente al tratamiento 3, constituido por vitro plantas de esquejes de yemas basales con un peso de 0,06 gramos por 10 vitroplantas. Los tres tratamientos son estadísticamente diferentes.

Figura N° 4: Vitroplántulas de papa de 5 días



CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos y nuestro análisis de resultados, nos permitimos presentar las siguientes conclusiones:

- Para la producción y obtención de semilla pre básica, en la fase de multiplicación de vitroplantas, los explantes apropiados son los obtenidos de yemas medias y apicales
- Las vitroplantas que desarrollaron mayor altura a los 23 días, son las obtenidas por esquejes de yemas medias.
- Las vitroplantas obtenidas de esquejes de yemas basales, medias y apicales no presentan diferencias estadísticas tomando en cuenta la variable número de hojas.
- El peso en verde y peso seco es mayor en las vitroplantas obtenidas de esquejes con explantos de yemas medias y apicales.
- Los tres tratamientos no presentan diferencias estadísticas en el contenido de materia seca.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre G.; Pierre J; y Leigue L.2010 Aplicación de cultivos de Tejidos a la Multiplicación y Conservación de los Recursos Filogenéticos. UMSS, Facultad de Ciencias Agrícolas, Pecuarias, Forestales y Veterinarias. Cochabamba, Bolivia. 200p.
2. Arce, C. 2013. Cultivo in vitro en (Solanum tuberosum L). Perú-Oxapampa. (en línea) consultado en fecha 10-03-2015 disponible en: http://es.slideshare.net/luistibhyacostatrinidad/expo-cultivo-in-vitro-papa
3. Calderon, A. 1984. Enfermedades de Cultivos Bolivianos. Los Amigos del Libro. La Paz, Cochabamba-Bolivia. 284 p.
4. Díaz R, et all: Biotecnología-Cultivo de Tejidos y Microprogacion. CIAT .-1996
5. Gómez, E. 2003. Efecto de Medios de Cultivo y Tipos de Recipientes en la Tuberización in vitro de la Papa (Solanum tuberosum L.). Tesis de Grado. Guatemala. Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala. 136p.
6. Hurtado, D. 1994. Cultivo de Tejidos Vegetales. Editorial.- Trillas- tercera Edición, Mexico. 229p.
7. Roca W. 1993.Cultivo de Tejidos en la agricultura Fundamentos y Aplicaciones.-Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 953p.
8. Toledo J. 1998. Cultivo de Tejidos Manejo de Plántulas In Vitro en la Producción de Semilla de Papa. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP).- Manual de Capacitación.
9. FDTA Fundación Para El Desarrollo Tecnológico y Agropecuario De Los Valles. Orégano/Manual De Cultivo/ FDTA- Valles, Cochabamba: 2007.
10. Calandra, P.; D. Ortiz; G. Pozo y B. Noziglia. 2012. Manual para la redacción de referencias bibliográficas. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 84p.