

OBTENCIÓN DE VITROPLANTAS DE CLONES PROMISORIOS DE PAPA (*Solanum tuberosum* L) A PARTIR DE SEMILLA SEXUAL.

OBTAINING VITROPLANTS FROM PROMISORY CLONES OF POTATO FROM SEXUAL SEED

Meza Norkys Marilyn¹, Carrera-Villegas Héctor¹, Elsy Bastidas¹,
Piñero-Pernalet Zuleima¹ y Castañeda Rossmar¹
¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) Lara-Venezuela.

Resumen

La reproducción sexual por semilla de papa es utilizada en programas de mejoramiento genético para la obtención de nuevas variedades. En la actualidad, los mejoradores esperan uniformizar la progenie con el fin de obtener un material con características determinadas. La viabilidad de las semillas depende de las condiciones ambientales y de su origen; la semilla puede estar almacenada por un largo periodo (seis o siete años) sin perder su potencial de germinación. Con el objetivo de evaluar el porcentaje de germinación de semilla sexual de papa a través de la técnica de cultivo in vitro se estableció un ensayo con clones introducidos del Centro Internacional de la Papa (CIP). El ensayo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del estado Lara. Las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1%, durante 15 minutos, luego se enjuagaron dos veces con agua destilada. Posteriormente, fueron sembradas en tubos de ensayo con medio de cultivo Murashige y Skoog, colocando una semilla por tubo. El ensayo se condujo bajo un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones, 11 tratamientos correspondientes a cada uno de los materiales evaluados. Los tubos fueron colocados en cuarto de crecimiento, a condiciones controladas (temperatura promedio 21 °C, 70 % humedad relativa y 16 horas de fotoperiodo en luz difusa). El clon 998010 alcanzó el 100% de germinación a los 14 días después de la siembra, mientras que el 988144 y el 901017 lograron 73 %. Los clones 901050, 997003 y 903027, arrojaron 67, 33 y 26 % respectivamente. No se obtuvo germinación en 902005, 903051, 903051, 998022 y 901016.

Palabras clave. biotecnología, germinación, semilla, *Solanum tuberosum*.

Abstract

Sexual reproduction by potato seed is used in breeding programs to obtain new varieties. Currently, breeders hope to standardize the progeny in order to obtain a material with certain characteristics. The viability of the seeds depends on the environmental conditions and their origin; the seed can be stored for a long period (six or seven years) without losing its germination potential. In order to evaluate the percentage of germination of sexual potato seed through the in vitro culture technique, an assay was established with clones introduced from the International Potato Center (CIP). The trial was carried out at the Plant Biotechnology Laboratory of the National Institute of Agricultural Research of the state of Lara. The seeds were disinfected with 1% sodium hypochlorite for 15 minutes, then rinsed twice with distilled water. Subsequently, they were sown in test tubes with Murashige and Skoog culture medium, placing one seed per tube. The trial was conducted under a completely randomized experimental design with 10 repetitions, 11 treatments corresponding to each of the materials evaluated. The tubes were placed in a growth room, under controlled conditions (average temperature 21 °C, 70 % relative humidity and 16 hours of photoperiod in diffused light). Clone 998010 reached 100% germination 14 days after sowing, while 988144 and 901017 achieved 73%. Clones 901050, 997003 and 903027, showed 67, 33 and 26%, respectively. Germination was not obtained in 902005, 903051, 903051, 998022 and 901016.

Keywords. biotechnology, germination, seed, *Solanum tuberosum*.

Recibido: 21-03-2023 / **Aprobado:** 28 /07/2023

Introducción

La papa es uno de los cultivos de mayor importancia en el mundo para la alimentación humana por ser una fuente importante de carbohidratos, ocupando el cuarto lugar después del trigo arroz y maíz. Seleccionada y mejorada por los países desarrollados, la papa regresó a su lugar de origen condicionando a muchos países a importar material de siembra (semillas), y, en consecuencia, a depender de ellos. Este rubro ha recibido constantemente la influencia de los avances técnicos y científicos, lo que ha permitido mejorarla genéticamente en aspectos de rendimiento, calidad, manejo de cultivo, conservación, industrialización y resistencia a plagas y enfermedades (Salomón et al., 2015).

En la reproducción sexual de la papa se produce la semilla verdadera o botánica, la cual proviene de la fertilización del ovario de la flor hasta convertirse en un fruto. Por lo general, éste es de forma esférica, pero algunas variedades producen frutos ovoides, o cónicos, de color verde, denominados bayas (Torres y Olivas, 1993). El número de semillas por fruto llega a más de 200, según la variedad y otros factores. Las semillas de papa se caracterizan por ser pequeñas de 0,13-0,18 cm largo, numeroso, oval y comprimido, de color blanco, amarillas o pardo-amarillento; en promedio, un gramo puede contener unas 1500 semillas. La viabilidad de las semillas dependerá de las condiciones ambientales y del origen de esta, sin embargo, se reporta que la semilla puede ser almacenadas por un largo periodo (seis o siete años) sin perder su potencial de geminación. Al obtener semilla sexual de nuevos clones promisorios con alguna característica importante la vía biotecnológica (cultivo in vitro) permite obtener vitroplantas de una manera rápida,

garantizando la sanidad vegetal, de allí la importancia de esta metodología para la producción de semilla.

Este medio de multiplicación, o siembra de semilla verdadera en el cultivo papa, es conocido a nivel internacional como TPS (true potatoes seed), es de muy buena aceptación como producción para semilla (Chávez et al., 1996). Su utilización para la producción de papa comercial es mínima, pero representa una tecnología que podría convertirse en una excelente alternativa para aquellos pequeños productores que no tienen ninguna posibilidad de acceder a semilla certificada. La pericia en sistemas de semilla es necesaria para sacar provecho de los beneficios potenciales ofrecidos por los recientes adelantos en biotecnología y métodos in vitro de eliminación de patógenos, almacenamiento y multiplicación rápida de reservas de semillas libres de enfermedades (Torres, 1991).

El uso de la semilla sexual ofrece, bajo ciertas circunstancias, ventajas sobre la reproducción vegetativa, y al parecer habrá de expandirse en el futuro (Sorquis y López 1999). Trabajos relacionados con germinación de semilla sexual de papa con utilización de herramientas biotecnológicas son escasos en el país, por lo antes planteado en esta investigación, se propuso como objetivo obtener vitroplantas de papa a partir de semilla sexual de los clones promisorios provenientes del programa de mejoramiento genético del Centro Internacional de la Papa (CIP): 901051, 902005, 901017, 998010, 903051, 901050, 997003, 903027, 998022, 901016 y 988144, a través de herramientas biotecnológicas.

Materiales y métodos

El ensayo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) del estado Lara. Las semillas de papa de los 11 clones promisorios fueron suministradas por el CIP. Una vez en el laboratorio, las semillas fueron lavadas, seguidamente se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1%, por espacio de 15 minutos. Luego de enjuagar las semillas tres veces con agua destilada, fueron sembradas en tubos de

ensayo con medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) colocando una semilla por tubo. El ensayo se condujo bajo un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones, 11 tratamientos correspondientes a cada uno de los materiales evaluados. Los tubos fueron colocados en cuarto de crecimiento, en condiciones controladas (temperatura promedio 21 °C, 70% humedad relativa y 16 horas de fotoperiodo en luz difusa). El origen de estos clones se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Parentales de los híbridos promisorios de papa evaluados bajo la técnica de cultivo in vitro

N° CIP	Parentales
901016	(FLS-2) x (TPS-13)
901017	(FLS-2) x (TPS-67)
901050	(FLS-20) x (TPS-13)
901051	(FLS-20) x (TPS-67)
902005	(C96H-02.4 x (TPS-13)
903027	(C96H-02.4) x (C98HT-64.8)
903051	(C96H-02.4) x (C99HT2-58.1)
997003	(C95C-16.5) x (TPS-13)
998010	(LT-8) x (T5-15)
998022	(TPS-7 x (T5-15)
988144	(TPS-25) x (TPS-13)

Las variables evaluadas consistieron en: porcentaje de germinación, número y longitud de raíces por planta, altura de la planta, número de hojas, color de las hojas y el tallo. Estas variables se sometieron a análisis de varianza. Cuando se detectaron

diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos, se realizó la prueba de comparación de medias de Tuckey. Los análisis se realizaron con el programa estadístico INFOSTAC (Di Rienzo et al. 2017).

Resultados y discusión

En la Figura 1, se observa el porcentaje de germinación obtenido en los diferentes clones promisorios de papa. Los clones 901016, 901051, 902005 y 903051 no lograron germinar posiblemente por condiciones de la semilla o por los parentales de la misma. Los mayores porcentajes se consiguieron en los clones 998010, 988144, 901017, 901050 y 997003, con 100, 73, 67 y 33%, respectivamente. El

menor porcentaje se obtuvo con clones 903027 y 998022, alcanzando 13 y 5%, respectivamente. Las semillas comenzaron a germinar a los seis días después de establecido el ensayo y la emergencia se completó a los 14 días. Andrade-Díaz et al., (2013), al evaluar semillas del género *Solanum*, encontró 90,6% de germinación utilizando el mismo medio de cultivo utilizado en la presente investigación.

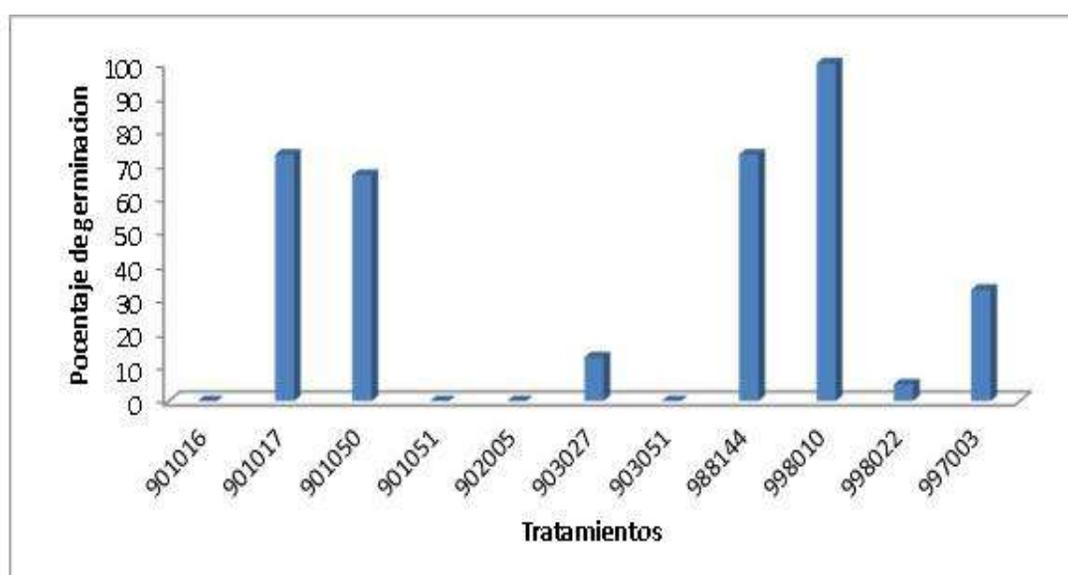


Figura 1. Porcentaje de germinación obtenido en los diferentes clones promisorios de papa

En el Cuadro 2, se presentan las características evaluadas en los diferentes clones. Las vitroplantas provenientes del clon 998010 mostraron mayor número y longitud de raíces, así como altura y número de hojas. En relación al número de raíces por vitroplanta, destacaron igualmente los clones 998010, 901017, 988144 y el 997003.

El color de las hojas fue verde y la coloración del tallo varío entre verde, verde claro y morado (Figura 2). Los clones 998010 y 901017 exhibieron las mayores diferencias estadísticas. Resultados similares fueron encontrados por Andrade-Díaz et al., (2013), al evaluar semillas

sexuales de clones promisorios de papa bajo la técnica *in vitro*.

Graziano (2011) manifestó que la técnica de cultivo *in vitro* para la germinación de semilla de papa es una alternativa factible para la producción de vitroplantas sobre todo en aquellos materiales que fueron producidos para promover la diversidad genética, además, es importante en aquellas plantas en las que no se dispone de semilla sexual, esto permitiría una solución adecuada para el pequeño productor. La selección de buenas progenies híbridas harán económicamente factible el uso de la semilla sexual a través de herramientas biotecnológicas. El uso de semilla sexual puede conducir a obtener existencia de tubérculos-semilla con altos rendimientos ya que permite el desarrollo rápido de la planta con altos niveles sanitarios.

La propagación con el uso de semilla sexual a través de la biotecnología en el

cultivo papa, puede considerarse como uno de los ingredientes de una tecnología moderna orientada a minimizar la influencia de algunos factores que impiden la obtención de altos rendimientos y a fomentar la expansión del cultivo hacia otras áreas no tradicionales, en especial las zonas tropicales a fin de aumentar la producción de semilla de este cultivo alimenticio.

Se ha afirmado para algunas especies silvestres del género *Solanum* (Azcon-Bieto y Talon, 1993), que existen elementos exógenos que influyen en el rompimiento de la latencia de las semillas y que los procesos metabólicos y morfo-genéticos que influyen en la germinación de la semilla son afectados por las características y la composición de los medios de cultivo utilizados, favoreciendo o limitando la germinación de las mismas.

Cuadro 2. Características de las vitroplantas evaluadas en los clones promisorios de papa

Tratamiento	Número de raíces	longitud raíz (cm)	Altura (cm)	Número de hojas	Color de las hojas	Color del tallo
901017	6a	4b	2,5b	4bc	Verde	verde claro
901050	4b	6a	4b	7a	Verde	morado
903027	2b	2b	1b	2c	Verde	verde
988144	5a	3b	2b	5b	Verde	morado
998010	7a	7a	6a	8a	Verde	verde
998022	3b	2b	1b	2c	Verde	verde
997003	5a	3,5b	2,8b	5b	Verde	verde
Significancia	*	*	*	*		

Columnas con diferentes letras indican diferencias significativas (P<0,05) *Significativo

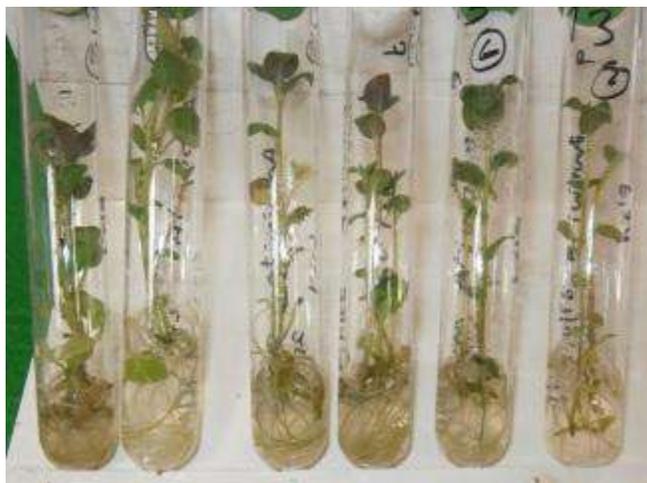


Figura 2. Características de las vitroplantas evaluadas en los clones promisorios de papa

Conclusiones

La técnica de cultivo *in vitro* es una alternativa viable en la propagación de semillas sexuales de *Solanum tuberosum*, su empleo constituye una forma sostenible de replicar clones de papa de interés genético como es el caso del material 998010 y el 901017. Estos clones exhibieron la mejor respuesta a esta técnica de cultivo *in vitro*

Referencias

- Andrade-Díaz D, Córdoba M. E, Escobar-Hernando C y Lagos Burbano T. 2013. Evaluación de medios de cultivo para propagación *in vitro* de semillas y explantes de especies silvestres de *Solanum* Acta Agron., 62, (1): 27-36
- Azcon-Bieto, J. y Talon, M. 1993. Fisiología y bioquímica vegetal. Interamericana McGraw-Hill, Nueva York. 581 p.
- Chávez Alfaro, R., Upadhya, M., Cabello, R., Berrios, R., & Siles, P. 1996. Producción de papa en zonas áridas y salinas a partir de semilla botánica: factibilidad y perspectivas. Revista Latinoamericana de la Papa (3): 1-32
- Di Rienzo, J; Casanoves, F; Balzarini, M; González, L; Tablada, M; Robledo, C. 2017. InfoStat versión 2017, Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en <http://www.infostat.com.ar>
- Graziano Jorge E. 2011. Producir papa con semilla sexual. Una alternativa Posible. Presencia (56):10-14
- Murashige, T., Skoog, F.S. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Plant Physiology, 15: 173-197.
- Salomón J. L., Castillo J. G., Arzuaga J. A., Torres W., Caballero A., Varela M. y Hernández Betancourt V. M. 2015.

Análisis de la interacción progenie-ambiente con minitubérculos a partir de semilla sexual de papa (*Solanum tuberosum*, L.) en cuba. Cultivos Tropicales, vol. 36(2): 83-89.

Sorquis J. L, López F. J. 1999. Evaluación de Características en Planta, Tubérculo y Rendimiento para Progenies de Semilla Sexual de Papa (*Solanum tuberosum*), en Valles Altos del Centro de México. Revista Latinoamericana de la Papa. . (11):26-39

Torres F. y Olivas A. 1993. Producción de semilla sexual bajo las condiciones tropicales de Nicaragua Revista Latinoamericana de la Papa. 5/6:1-19

Torres Guevara, F. 1991. Guía de Manejo de la Semilla Botánica (Sexual) de Papa para Producción de Tubérculos-semillas. Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). Región "Las Segovia". 23 p.

Autores

Meza Norkys Marilyn, Dra. en Ciencias Agrarias, Universidad del Zulia Venezuela. Profesional de investigación Nivel 8-5 perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, estado Lara. Fitomejoradora en el rubro papa. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1256-9718>. e-mail: norkysmeza@gmail.com

Carrera-Villegas Héctor, profesional de la investigación en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Lara.

Bastidas Elsy, profesional de la investigación en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Lara. ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-5573-598x>. e-mail: ebastidas28@gmail.com

Piñero-Pernalet Zuleima, profesional de la investigación en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Lara. ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-1294-135x>. e-mail: zule65@yahoo.com

Castañeda Rossmary, profesional de la investigación en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Lara. ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-8712-1182>. e-mail: rosmarycha@gmail.com