

MICROPROPAGACIÓN *in vitro* DE DOS VARIEDADES DE PAPA PARA LA OBTENCIÓN DE SEMILLA PREBÁSICA

In vitro MICROPROPAGATION OF TWO VARIETIES OF POTATOES TO OBTAIN PRE-BASIC SEED

Ing. Jheanete Pérez Guzmán ^{1 * §}
<https://orcid.org/0000-0002-6454-4643>

Recibido: Julio 17, 2023; Aceptado: Noviembre 23, 2023

RESUMEN

La propagación de papa se produce principalmente de manera vegetativa, lo que lleva a los productores a utilizar principalmente los tubérculos-semilla de la cosecha anterior. Sin embargo, este método favorece la propagación de enfermedades sistémicas, lo que a su vez resulta en rendimientos más bajos. En programas de producción de tubérculos-semilla, se requieren técnicas de micropropagación *in vitro* para generar una gran cantidad de plántulas genéticamente idénticas, mediante el cultivo de tejidos vegetales. El cultivo de tejidos vegetales o cultivo *in vitro*, es una alternativa de propagación que permite obtener gran cantidad de plantas en espacios reducidos y en poco tiempo. La micropropagación de las dos variedades de papa, se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de la Escuela Militar de Ingeniería. El objetivo del presente trabajo fue micropropagar *in vitro* dos variedades de papa con la finalidad de obtener semilla prebásica. El establecimiento *in vitro* de las dos variedades de papa en laboratorio de cultivo de tejidos vegetales se inició mediante la selección de plantas morfológicamente idóneas. El medio de cultivo basal que se utilizó es Murashige & Skoog adicionado con hormonas vegetales como: Ácido giberélico, Pantotenato de calcio, Ácido Naftalenacético y vitaminas como: Myoinositol, tiamina, piridoxina, glicina y Ácido nicotínico. El propósito de la multiplicación es obtener un número grande de plántulas en un período corto de tiempo. Se realizó la micropropagación de las dos variedades de papa (huaycha y holandesa) en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal obteniendo vitroplantas para la obtención de tubérculos de semilla prebásica de papa.

Palabras claves: Micropropagación, *in vitro*, semilla prebásica.

ABSTRACT

Potato propagation occurs mainly vegetatively, which leads producers to mainly use the seed tubers from the previous harvest. However, this method encourages the spread of systemic diseases, which in turn results in lower yields. In seed tuber production programs, *in vitro* micropropagation techniques are required to generate a large number of genetically identical seedlings, through the cultivation of meristems. Plant tissue culture or *in vitro* culture is a propagation alternative that allows obtaining a large number of plants in small spaces and in a short time. The micropropagation of the two potato varieties was carried out in the Plant Biotechnology Laboratory of the Science and Technology Research Institute of the Military School of Engineering. The purpose of this work was to micropropagate two potato varieties *in vitro* in order to obtain pre-basic seed. The *in vitro* establishment of the two potato varieties in the plant tissue culture laboratory began by selecting morphologically suitable plants. The basal culture medium used is Murashige & Skoog added with plant hormones such as: Gibberellic Acid,

Calcium Pantothenate, Naphthalenacetic Acid and vitamins such as: myoinositol, thiamine, pyridoxine, glycine and nicotinic acid. The purpose of multiplication is to obtain a large number of seedlings in a short period of time. The micropropagation of the two potato varieties (huaycha and hollandaise) was carried out in the Plant Biotechnology Laboratory obtaining vitroplants to obtain pre-basic potato seed tubers.

Keywords: Micropropagation, in vitro, prebasic seed.

Citación: Pérez Guzmán Jheanete, **MICROPROPAGACIÓN in vitro DE DOS VARIEDADES DE PAPA PARA LA OBTENCIÓN DE SEMILLA PREBÁSICA.** Revista Científica EMINENTE 2024, 8-1: 49-56.

¹ Ingeniero en Agronomía – Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología - Unidad Académica La Paz - Escuela Militar de Ingeniería

* Corresponde al Autor (correo electrónico: jperez@adm.emi.edu.bo).

⁵ Dirección de contacto Investigador: Irpavi, calle 3 No 687 - Telf.: (+591) 71902730, La Paz – Bolivia.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de tejidos vegetales o cultivo *in vitro*, es una técnica de reproducción en condiciones plenamente asépticas, en la que, a partir de un pequeño segmento inicial de tejido vegetal, es posible regenerar en poco tiempo miles de plantas idénticas a la planta madre, cuando a este tejido le es aplicado un estímulo por medio de variables físicas y químicas controladas en un medio de cultivo.

A diferencia de las técnicas tradicionales de cultivo, esta herramienta permite la propagación de grandes volúmenes de plantas en menor tiempo; así como el manejo de estas en espacios reducidos.

Se trabaja en la Transferencia de Resultados de la Investigación de cultivo *in vitro* para la obtención de semilla prebásica de papa a productores de semilla.

Tabla 1. Lineamientos para la Transferencia de Tecnología

TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA	
Programa:	Biotecnología
Línea de Investigación:	Micropropagación de Especies Vegetales
Técnica:	Cultivo de tejidos vegetales
Cultivo:	Papa (<i>Solanum sp.</i>)
Variedades:	Huaycha y Holandesa

Fuente: Elaboración propia

El objetivo fue micropropagar *in vitro* dos variedades de papa con la finalidad de obtener semilla prebásica.

METODOLOGÍA

La Micropropagación de las dos variedades de papa, se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de la Escuela Militar de Ingeniería, ubicada en la zona de Alto Irpavi, Urbanización la Pradera de la ciudad de La Paz, provincia Murillo, a 3350 m.s.n.m. entre los 16°32' de latitud sur y 68°10' longitud oeste. (IGM, 2001).

Micropropagación de Vitroplantas en Laboratorio.

El material vegetal con el que se trabajó en el proyecto corresponde a dos variedades de papa:

Tabla 2. Variedades de papa (*Solanum sp.*)

N°	CÓDIGO	VARIEDAD	GÉNERO
1	HU-EMI1	Huaycha	<i>Solanum sp.</i>
2	HO-EMI2	Holandesa	<i>Solanum sp.</i>

Fuente: Elaboración propia

En la cámara de flujo laminar se debe tener especial cuidado con la asepsia, tomando como primera medida para la eliminación de agentes contaminantes, la esterilización de la cámara con alcohol al 70% (v/v), además del uso de una lámpara ultravioleta durante 15 minutos.

Preparación de medios de cultivo

Para la preparación de soluciones madre, se usaron frascos ámbar, así evitar degradaciones por efecto de la luz.

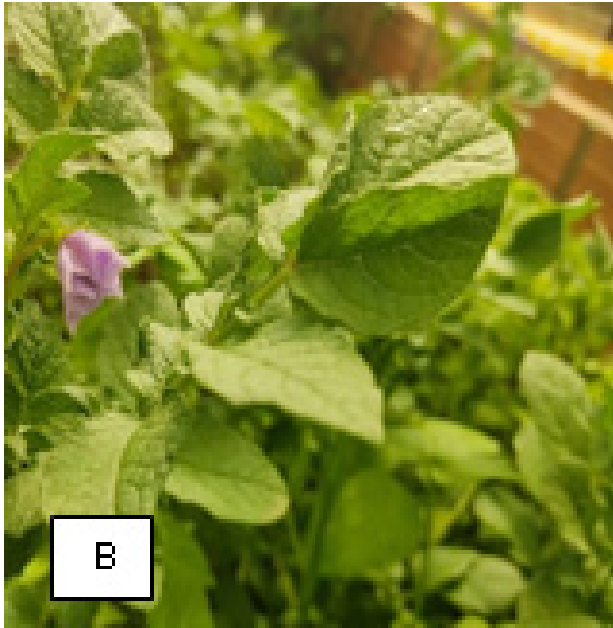
Al finalizar la preparación de los diferentes medios de cultivo, éstos fueron cubiertos con papel aluminio, seguidamente se procedió a la esterilización de los mismos en la autoclave a 121°C, con una presión de 15 lb/pulg² durante 15 minutos; los cuales se utilizaron 48 horas después.

Establecimiento

El establecimiento *in vitro* de las dos variedades de papa en laboratorio de cultivo de tejidos vegetales se inició mediante la selección de plantas morfológicamente idóneas.

Figura 1. Selección de la planta madre:
A) Variedad holandesa B) variedad huaycha





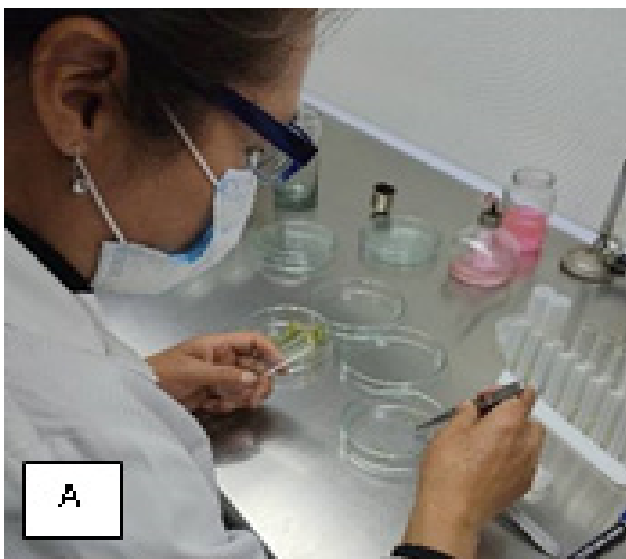
Fuente: Elaboración propia

El medio de cultivo basal que se utilizó es Murashige & Skoog adicionado con hormonas vegetales como Ácido giberélico, Pantotenato de calcio, Ácido Naftalenacético y vitaminas como myoinositol, tiamina, piridoxina, glicina y Ácido nicotínico.

Se inoculó tejidos de crecimiento (meristemos) de las dos variedades de papa en tubos de ensayo con el medio de cultivo preparado.

Figura 2. Establecimiento de meristemos de papa:

A) Extracción de meristemo B) Siembra de meristemo.



Fuente: Elaboración propia

Diseño Experimental

Para la fase de establecimiento en laboratorio, se utilizó el diseño experimental completamente al azar (DCA), donde los factores de estudio fueron: medios de cultivo y variedades.

Factor M = Medio de cultivo

Medio de cultivo A (MS+0,1mg AG3 + 0,1 mg ANA+ 20 mg $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$)

Medio de cultivo B (MS + 0,1mg AG3 + 20 mg $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$)

Factor V = Variedades

Se contó con 4 tratamientos, que son la interacción de ambos factores de estudio. Las evaluaciones se realizaron cada 10 días, donde se registraron como variables de respuesta:

Porcentaje de contaminación

Porcentaje de sobrevivencia

Figura 3. Explantes de papa en la sala de crecimiento



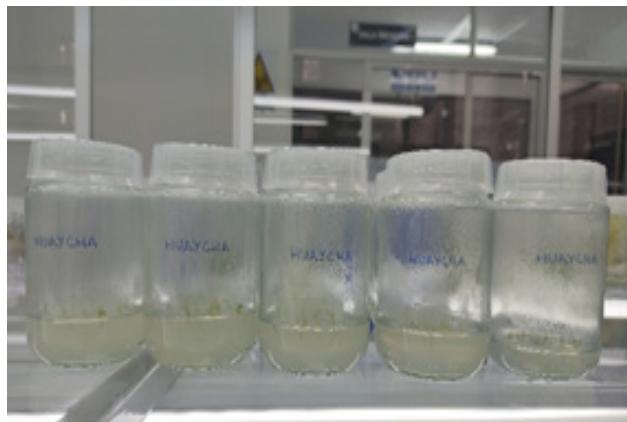
Fuente: Elaboración propia

Multiplicación

El propósito de la multiplicación es obtener un número grande de plántulas en un período corto de tiempo. Para tal objeto se siguió la metodología del Centro Internacional de la Papa, basada en la obtención de esquejes de tallo en medio sólido. A partir de las plántulas in vitro en la cámara de flujo laminar se seccionaron segmentos de tallos provistos de una yema axilar.

Posteriormente se realizó la siembra de los esquejes en el medio de cultivo, debidamente tapados y fueron trasladados a la sala de crecimiento.

Figura 4. Propagación de vitroplantas de papa (Solanum sp.)



Fuente: Elaboración propia

Diseño Experimental

Para la fase de multiplicación en laboratorio, se utilizó el diseño bloques al azar, se bloqueó el tiempo de repique; dónde los factores de estudio fueron: medios de cultivo y variedades.

Factor M = Medio de cultivo

Medio de cultivo A (MS+0,1 AG3 + 0,1 ANA)

Medio de cultivo B (MS + 0,1 AG3)

Enraizamiento

Se preparó el medio de cultivo para el traslado de vitroplantas de la fase de multiplicación para el desarrollo radicular.

Se realizaron evaluaciones periódicas para evidenciar la provisión de raíces en las vitroplantas para finalmente pasar a la fase de aclimatación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Establecimiento

Porcentaje de contaminación por variedad de papa. El gráfico N° 1 muestra que la variedad holandesa fue la más afectada por la contaminación y la variedad huaycha fue la menos contaminada.

Gráfico 1. Porcentaje de contaminación por variedad de papa



Fuente: Elaboración propia

El riesgo de aparición de patógenos en los tejidos vegetales aumenta con el incremento del tamaño de los explantes iniciales (García y Noa 1998).

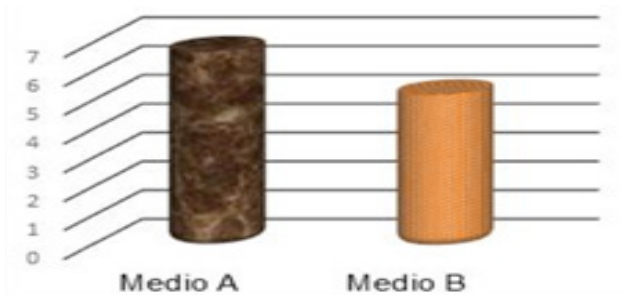
Multiplicación

Número de Foliolos

Se realizó el análisis de varianza de la variable número de foliolos, donde se encontraron diferencias altamente significativas en el factor que corresponde a la variación de fitohormonas en el medio de cultivo, al igual que en las variedades en estudio.

No se tuvieron diferencias significativas en los bloques, vale decir que el tiempo de repique no afectó de manera significativa a esta variable, tampoco se tuvo diferencias significativas en la interacción de ambos factores; sin embargo, se encontraron diferencias significativas en los medios de cultivo y diferencias altamente significativas entre las variedades

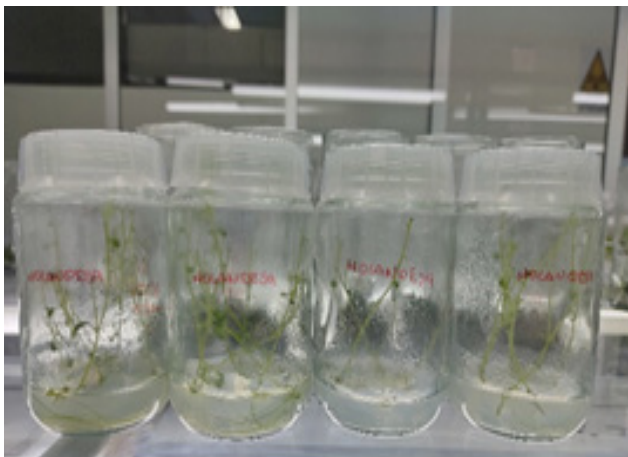
Gráfico 2. Número de Foliolos por tratamiento
 (A - MS + ANA + AG3 / B MS + AG3)



Fuente: Elaboración propia

El tratamiento A suplementado con AG3 + ANA presentó el mayor promedio de número de foliolos con respecto al tratamiento B suplementado solo con AG3.

Figura 5. Número de foliolos en medio de cultivo



Fuente: Elaboración propia

Con respecto al Factor V que representa las variedades de acuerdo con la prueba de Duncan, la variedad HO-EMI2 presentó un promedio más bajo en número de foliolos para ambos medios de cultivo (4 foliolos), mientras que la variedad HU-EMI1 muestra el mayor promedio de número de foliolos (6 foliolo) sin importar el medio en el que se encontraba.

Las diferentes respuestas que mostraron las variedades de papa (*Solanum sp*) con respecto al número de foliolos está determinada por el genotipo ya que varía para cada una de las especies, variedades o clones dentro de la especie (Vuylsteke, 1985 citado por Jiménez 1990).

Tamaño de Foliolos (Cualitativo)

Esta variable fue evaluada de forma cualitativa, donde se observó el tamaño del foliolo en dos categorías: a) medianas bien formadas b) pequeñas poco formadas.

Tabla 3. Tamaño de foliolos de las variedades en ambos medios de cultivo.

VARIETADES	A	B
HU-EMI1	1	2
HO-EMI2	1	2

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 3 se muestra la comparación de medias para esta variable.

Donde:

- 1 = Foliolos pequeños, poco diferenciados
- 2 = Foliolos medianos, bien diferenciados

El efecto del ANA (Ácido Naftalen Acético) en el medio de cultivo produce la formación de callos en la base de las vitroplantas y estas a su vez inhiben el desarrollo foliar debido a que la presencia de estos callos, interrumpen el crecimiento activo intercalar para que los foliolos se conviertan en hojas definitivas.

Figura 6. Variedad HO2 con foliolos pequeños



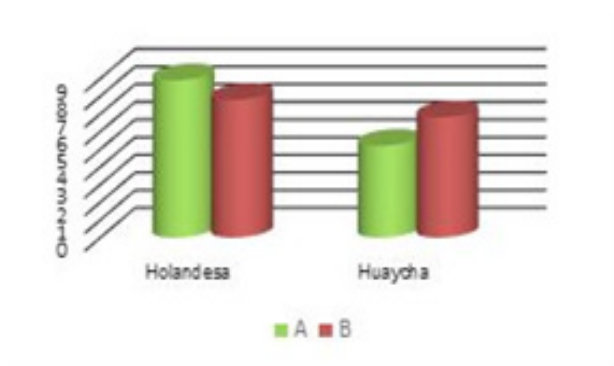
Fuente: Elaboración propia

Altura de vitroplanta

Para esta variable en el análisis de varianza se encontró diferencias significativas entre las dos variedades al igual que para la interacción medio de cultivo por variedad.

No se encontró diferencias significativas en los bloques ni en los medios de cultivo, lo cual significa que el tiempo de repique no tuvo incidencia en esta variable.

Gráfico 3. Efectos simples para la interacción de las variedades en medios de cultivo.



Fuente: Elaboración propia

Al presentarse interacción en esta variable de respuesta nos indica que los factores de estudio no son independientes y la altura de vitroplanta de las variedades de papa dependen o están relacionados con la adición de reguladores de crecimiento al medio de cultivo basal, es decir los efectos son interactivos o multiplicativos, tal como indica Reyes, (1978).

Gráfico 4. Efectos simples para la interacción de los medios de cultivo en variedades.



Fuente: Elaboración propia

Se encontraron diferencias altamente significativas para los medios de cultivo en las dos variedades holandesa y huaycha respectivamente, y una diferencia significativa para los medios de cultivo en las dos variedades.

Se observa en el Gráfico 4 que el tratamiento B mostró mejor respuesta con relación a la variable altura de vitroplantas para la variedad huaycha, ya que el ácido giberélico (AG3), es una fitohormona beneficiosa en cultivos cuyo sistema de propagación se basa en la elongación de brotes y la división por entrenudos como es el caso de la papa, cuya principal acción se plantea en la promoción de la elongación y reprime cualquier clase de tejido organizado (Darias, 1993).

CONCLUSIONES

Se efectuó la Micropropagación de vitroplantas de papa de las dos variedades (huaycha y holandesa) en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal para la obtención de tubérculos de semilla prebásica de papa.

En la fase de establecimiento se evidenció mayor porcentaje de contaminación en la variedad de papa holandesa.

Para la fase de multiplicación el mejor medio de cultivo es el que contenía MS+0,1 AG3 + 0,1 ANA en la formación de mayor número de folíolos.

Con relación a la altura de planta el medio de cultivo MS + 0,1 AG3 mostró mejor resultado en la variedad huaycha.

Así mismo se trabaja en la transferencia de tecnología teórica y práctica en el área de cultivo de tejidos vegetales a productores de semilla.

CONFLICTO DE INTERÉS

La autora declara que no tiene conflictos de interés con la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] DARIAS, R. (1993). Recopilación de temas sobre técnicas de cultivo in vitro. Oruro, Bolivia. U.T.O. Universidad Camilo Cienfuegos de Matanzas. Cuba. 169 p.

- [2] IBTEN-CIN VIIACHA, Curso “Producción de Semilla Pre-Básica de papa a partir de Cultivos In Vitro”. Instituto de Ciencia y Tecnología Nuclear. La Paz, Bolivia
- [3] JIMÉNEZ, E. 1999. Aplicaciones de la biotecnología en la mejora genética de plantas y en la producción de semillas. Módulo 4. Propagación Masiva de Plantas in vitro. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa Clara, Cuba. 82 p.
- [4] LITZ Y JARRET, (1993). Cultivo de tejidos en la Agricultura. Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos, Embriogénesis somática y Organogénesis. Cali. CO.P xii, 970p.
- [5] PIERIK, R.L.M. 1990. Cultivo in vitro de las plantas superiores. Departament of Horticulture. Agricultural University Wageningen. The

Netherlands. Versión Española. Madrid, España. 325 p.



Jheanete Pérez Guzmán.

Ingeniero en Agronomía titulada de la Universidad Técnica de Oruro, Oruro - Bolivia. Trabaja bajo la línea de investigación Micropropagación de especies vegetales. Es responsable del Laboratorio de Biotecnología vegetal de la Escuela Militar de Ingeniería. Docente Universitaria en la asignatura botánica aplicada. Hizo la Especialidad en cultivo de tejidos vegetales en la Universidad Pontificia Católica de Chile. Es miembro de la REDBIO Bolivia. Participó en el Congreso de la OWSD en Beijing- China.