

6. Efecto de estrés salino (NaCl) e hídrico (manitol) en tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*) *in vitro*

Margarita Calle M.; Lisett Vaca L., Víctor Hugo Mendoza, Juan José Vicente R.

Profesionales del Laboratorio de Cultivo de Tejidos, Toralapa

6.1. Antecedentes

La papa (*Solanum tuberosum*) es un cultivo ampliamente distribuido en Bolivia, sin embargo es sensible a factores bióticos y abióticos. Al respecto Bedogni *et al.*, (2010) indican que ante la creciente influencia del cambio climático existe la necesidad de identificar o inducir materiales genéticos con resistencia o tolerancia a salinidad y sequía.

La cantidad excesiva de sales en el suelo puede llegar a impedir tanto la absorción de agua por las raíces, como alterar una equilibrada absorción de nutrientes, pudiéndose en casos extremos inhibir su crecimiento (Ibañez, 2007).

La sequía, es uno de los factores abióticos que reduce el rendimiento de los cultivos. Martínez y Moreno (1992), indican que el agua es uno de los factores más importantes para el desarrollo de las plantas, su carencia constituye una de las principales fuentes de estrés, muchas plantas han desarrollado respuestas que les permiten tolerar diferentes niveles de déficit de agua, que van desde un estrés hídrico leve, causado por la disminución del potencial hídrico al mediodía, hasta aquellas que les permiten sobrevivir en hábitat desérticos. Shinozaki y Yamaguchi- Shinozaki (2007), mencionan que las plantas también responden al estrés por déficit hídrico a nivel celular y molecular que se da por la modificación de la expresión génica. Este trabajo tiene los siguientes objetivos:

- Determinar el efecto de estrés salino (NaCl) e hídrico (Manitol) en tres variedades de papa (Sani Negra, Imilla Negra y Huaycha) en condiciones de cultivo *in vitro* con tolerancia a salinidad y estrés hídrico.
- Analizar el porcentaje de sobrevivencia, plantas normales y anormales en cultivo de tejido *in vitro* bajo diferentes concentraciones y combinaciones de NaCl y Manitol

6.2. Materiales y métodos

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Cultivo de tejidos de la Estación Experimental de Toralapa, Cochabamba. Los materiales genéticos que se utilizaron para el trabajo de investigación fueron tres variedades de papa: Huaycha, Sani negra e Imilla Negra).

El trabajo se inició con la multiplicación en magentas (25 vitroplantas/magenta) de las 3 variedades de papa, previamente sometidas a radiación gamma – Cobalto 60, en medio de cultivo a base sales MS (Murashige y Skoog, 1962), 100 mg myo-inositol, 0,4 mg de tiamina, 0,3 mg de AG3, 2 mg de pantotenato de calcio, 0,25 % de azúcar, 0,07 % de carragenina y pH 5,7. Incubándolas posteriormente en cámara de crecimiento a 22° C, fotoperiodo 16 hrs luz – 8 hrs oscuridad y humedad relativa del 60 %.

6.2.1. Inducción a estrés salino e hídrico

El material vegetal multiplicado de las tres variedades de papa fue sometido a cuatro tratamientos con diferentes concentraciones de NaCl y Manitol a base de sales MS (Murashige y Skoog, 1962), incubadas posteriormente en cámara de crecimiento. El diseño utilizado fue bifactorial completamente al azar con 9 repeticiones. Los factores de estudio fueron: **Factor A:** Variedades de papa; **a₁:** Sani Negra, **a₂:** Imilla Negra y **a₃:**

Huaycha. **Factor B:** Tratamientos; **b₁:** T1 - MS + 76.8 mM de NaCl, **b₂:** T2 - MS + 228 mM de Manitol, **b₃:** T3 - MS + 100 % - NaCl + Manitol y **b₄:** T4 - MS + 125 % - NaCl + Manitol.

Las variables evaluadas fueron: por ciento de *Sobrevivencia*; por ciento de prendimiento por variedad después de 45 días; *Vitroplantas normales*; desarrollo y crecimiento normal de las plántula *in vitro* en un periodo de tiempo de 45 días y *Vitroplantas anormales*; desarrollo y crecimiento anormal (desarrollo de raíces limitado, tallos y hojas gruesos) en un periodo de tiempo de 45 días.

6.3. Resultados y discusión

En el periodo de multiplicación *in vitro* se observó en las tres variedades enrosetamiento apical, formación de hojas y tallos gruesos, en el caso de la variedad Huaycha yemas axilares múltiples. Estos cambios fenotípicos se pueden atribuir a la radiación gamma – Cobalto 60 a la que fueron sometidas. Al respecto Cherry (2000) indica que cualquier molécula de la célula puede ser alterada por la radiación, por tanto el daño del ADN que queda sin reparar o es mal reparado puede manifestarse o causar mutaciones, de esta forma se seleccionan caracteres deseables.

El Análisis de Varianza para cada variable de respuesta: Sobrevivencia (%), Vitroplantas normales y Vitroplantas anormales indican que los efectos principales (Variedades y Tratamientos) y la interacción Variedades por Tratamiento fueron altamente significativos (P<0,01).

6.3.1. Sobrevivencia (%)

Con los datos observados (Figura 6.1) se realizó un análisis de efectos simples para la interacción Tratamientos por Variedades en la variable Sobrevivencia (%) al nivel de (P<0,05).

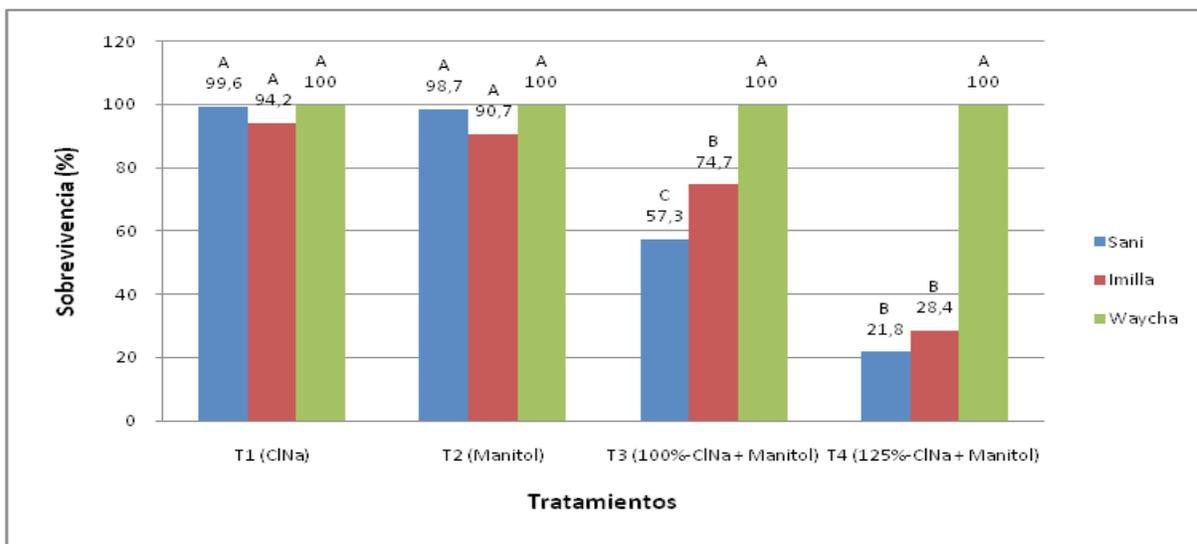


Figura 6.1 Efectos simples para la interacción tratamiento por variedad en la variable de sobrevivencia

De la Figura 6.1 se extrae que el promedio de sobrevivencia de las variedades de papa son 97,9, 96,5, 77,33 y 50,1 % para los T1, T2, T3 y T4 respectivamente. En los tratamientos T1 y T2 muestran un porcentaje de sobrevivencia entre 90.7 y 100 % para las tres variedades de papa, en los tratamientos T3 y T4 la variedad Huaycha tiene 100% de sobrevivencia, en el tratamiento T3 las variedades Sani Negra e Imilla Negra evidenciaron 57,3 y 74,7 %, en el T4 para las mismas variedades el porcentaje de sobrevivencia es de 21,8 y 28,4 %.

6.3.2. Vitroplantas normales (%)

En la Figura 6.2, se presentan los resultados del análisis de efectos simples del factor Tratamiento en Variedades, con un nivel de significancia del ($P < 0,05$) para la variable Vitroplantas normales (%). Para el T1 las variedades Sani negra, Imilla negra y Huaycha mostraron 19,1, 5,3 y 9,3 % de plantas normales respectivamente, lo cual indica menor tolerancia de las variedades tratadas con NaCl.

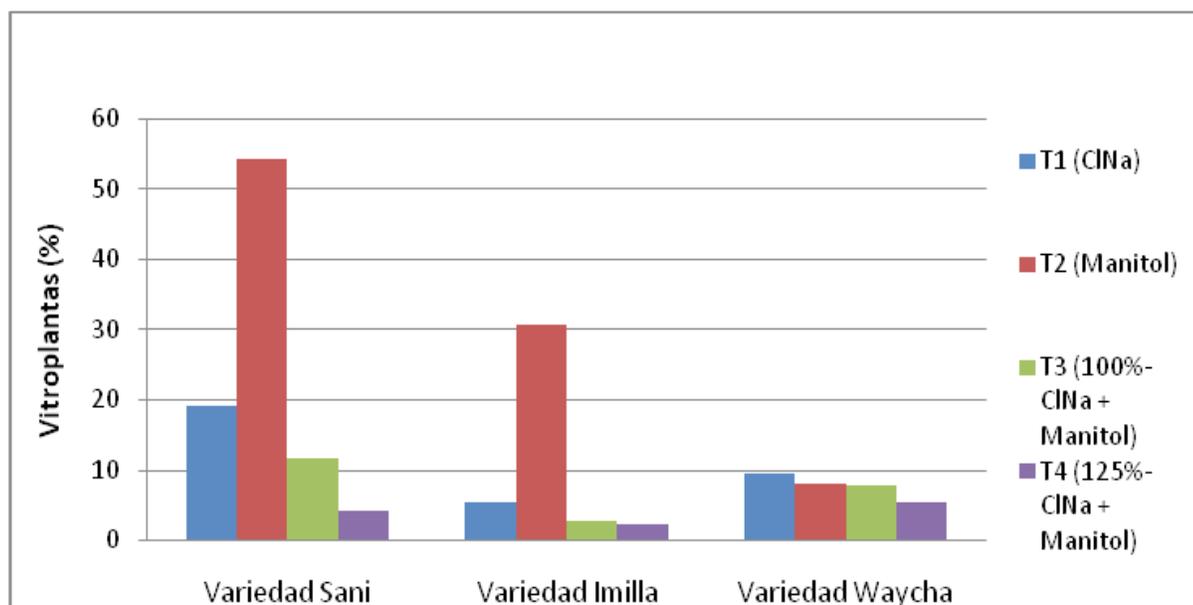


Figura 6.2 Respuesta de las variedades por tratamiento

En el tratamiento T2 (manitol) la variedad Sani Negra muestra 54,2 % de plantas normales, seguido de la variedad Imilla Negra con 30,7 % y menor porcentaje de plantas normales con 8 % en la variedad Huaycha. Esto indica que el T2 presenta un elevado porcentaje de plantas normales sometidas a estrés hídrico.

Sin embargo en los tratamientos T3 (MS + 100 % - NaCl + Manitol) y T4 (MS + 125 % - NaCl + Manitol) la variedad Sani negra presentó 11,6 y 4 % de plantas normales, seguido de la variedad Huaycha con 7,6 y 5,3 % y Sani negra con 2,7 y 2,2 de plántulas normales.

Esto permite deducir que el efecto de los tratamientos T3 y T4 fue menor a los tratamientos T1 y T2 en el crecimiento normal de las variedades. Martínez y Moreno, (1992) indican que el desbalance del contenido de agua puede reducir o inhibir el crecimiento de la parte aérea y radicular en varias especies.

6.3.3. Vitroplantas anormales

En la Figura 6.3 se observa el análisis de efectos simples de la interacción Tratamientos por variedades para la variable Vitroplantas anormales (%) con un nivel de significancia de ($P < 0,05$). Se observa en el T1 y T2, la variedad Sani negra presentó 44,4 y 45,8% de plántulas anormales, seguido de la variedad Imilla negra con 60 y 72%. En la variedad Huaycha se observó 92,0 y 92,4% de vitroplantas anormales. Esto permite deducir que la variedad Sani Negra tiene mayor tolerancia al efecto del NaCl y manitol.

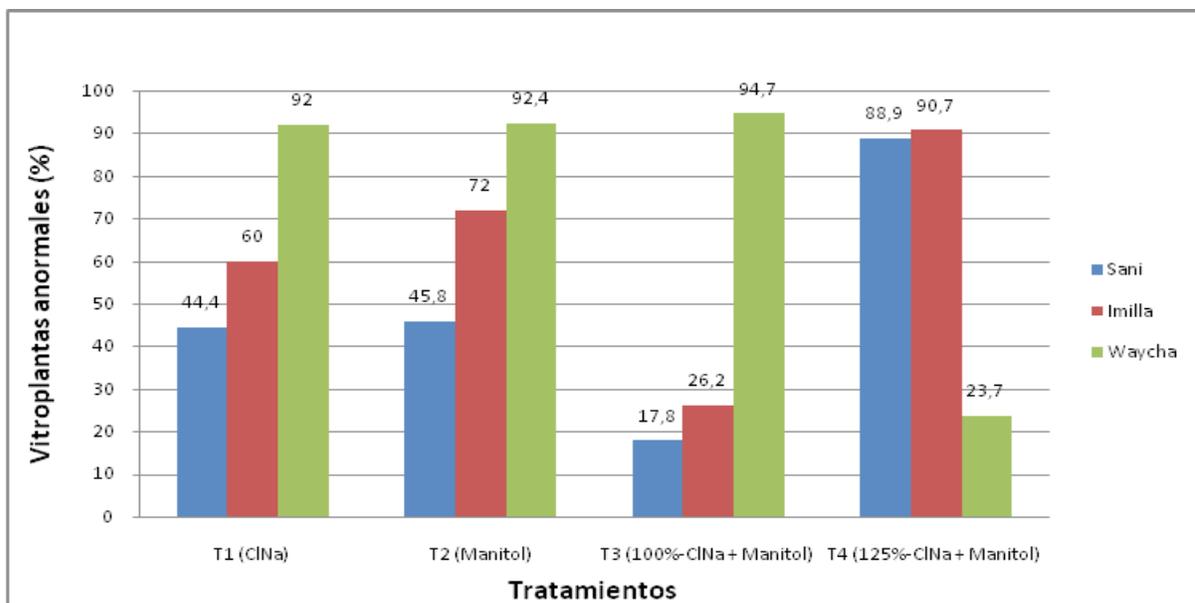


Figura 6.3. Efectos simples de los tratamientos de la interacción tratamientos por variedad para la variable vitróplantas anormales

En el tratamiento T3 (MS + 100% - NaCl + Manitol) en las variedades Sani negra e Imilla negra mostraron valores de 17,8 y 26,2% de plántulas anormales respectivamente, sin embargo la variedad Huaycha reporta un 94,7 %, mostrando de esta manera una menor tolerancia al tratamiento T3.

Por otro lado en el tratamiento T4 (MS + 125 % - NaCl + Manitol) la variedad Huaycha, presentó 23,7 % de plántulas anormales, a comparación de las variedades Sani Negra e Imilla Negra con 88,9 y 90,7 % respectivamente. Lo cual permite deducir que la variedad Huaycha tiene mayor tolerancia a T4.

Las tres variedades presentaron vitróplantas anormales en el desarrollo, crecimiento (radicular y tallos), presencia de hojas gruesas en los tratamientos T3 y T4. Al respecto Sánchez *et al.*, (2008), mencionan que el estrés hídrico y/o tóxico guarda relación con la disminución del potencial osmótico en las soluciones salinas.

De manera similar Covarrubias (2007), indica que estas condiciones inducen en las plantas respuestas que afectan su morfología, fisiología y metabolismo como parte de una respuesta adaptativa, disminuyen su velocidad de crecimiento y eficiencia fotosintética.

En la Figura 6.4, se observa el comportamiento de la variedad Imilla Negra en los diferentes tratamientos realizados.



Figura 6.4. Comportamiento de variedad Imilla negra en laboratorio de cultivo *in vitro*

6.4. Conclusiones

- La variedad Huaycha presentó 100 % de sobrevivencia en los tratamientos T1, T2, T3 y T4 a comparación de las variedades Sani negra e Imilla negra.
- El tratamiento T2 (manitol) presentó 54,2, 30,7 y 8 % de vitroplantas normales en las variedades Sani negra, Imilla negra y Huaycha, seguido de T1 con 19,1, 5,3 y 9,3 % respectivamente.
- Las variedades Sani negra e Imilla negra presentaron un 17,8 y 26,2 % de vitroplantas anormales en el tratamiento T3, en comparación de los tratamientos T1, T2 y T4 en un rango de 44,4 a 90,7 %.

6.5. Recomendación

Se recomienda la caracterización morfológica de las tres variedades (Sani Negra, Imilla Negra y Huaycha) sometida a NaCl y manitol en invernadero.

6.6. Bibliografía

- Bedogni, M.C., Capezio S. y Huarte M. (2010), Comportamiento frente a estrés hídrico de variedades nativas cultivadas y especies silvestres de papa, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA); Facultad de Ciencias Agrarias - Argentina.
- Covarrubias R. (2007), Sobrevivir al estrés: Cómo responden las plantas a la falta de agua, Biotecnología V14 CS3, pg. 253 – 262.
- Cherry R. N., (2000), Radiaciones ionizantes, Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo, Cap. 48.
- Ibáñez J. J., (2007), Salinidad de los Suelos, Estrés Hídrico y Producción Vegetal
- Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Martínez, A. y Moreno, U., (1992), Expresiones fisiológicas de resistencia a la sequía en dos variedades de papa sometidas a estrés hídrico en condiciones de campo. *Bras. Fisiol. Veg.*, pg. 33-38.
- Sánchez-Bernal E., Ortega-Escobar M., González-Hernández V., Camacho-Escobar M. y Kohashi-Shibata J., (2008), Crecimiento de plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) Cv. Alpha, inducido por diversas soluciones salinas, INCI -Caracas.