

## 8. Efecto de tres concentraciones de sales minerales en ocho accesiones de papa (*Solanum tuberosum*) para la conservación *in vitro*

Margarita Calle; Lisett Vaca, Juan José Vicente

Profesionales del Laboratorio de Cultivo de Tejidos, Toralapa

### 8.1. Antecedentes

Los sistemas de conservación *ex situ* surgen como una medida complementaria a los mecanismos de conservación *in situ*. La conservación *ex situ* se refiere al mantenimiento de los organismos fuera de su hábitat natural, conservando las especies amenazadas y los recursos genéticos en bancos de semillas, bancos genéticos *in vitro*, bancos de genes, colecciones de campo y jardines botánicos (Withers et al., 1990; Rao, 2004; Soengas et al. 2009). Esta actividad es costosa e implica un riesgo por pérdida de materiales a causa de factores ambientales, requiere de grandes extensiones y mayor cantidad de muestras representativas (20 a 30 plantas de una sola población) por lo que su uso se ha visto limitado en cierta medida (Engelmann, 1991, Wang et al. 2005).

Las dificultades derivadas de las colecciones de campo y la necesidad de conservar a las especies recalcitrantes, han llevado al desarrollo de metodologías de conservación *in vitro* es decir, una parte de la planta (órgano, tejido, célula o protoplasto) se cultiva asépticamente en un medio nutritivo bajo condiciones de luz y temperatura controlada. Su uso destaca la conservación de un gran número de plantas en espacios reducidos, un mayor control sobre el estado fitosanitario de las colecciones, la reducción de los tiempos de multiplicación, la facilidad de intercambio de material genético, e incremento de la tasa de multiplicación clonal de germoplasma valioso (Seguel, 2010). Por otro lado la limitación en crecimiento permite la disminución de la división celular y el metabolismo de las plántulas, incrementa la longevidad *in vitro* de los cultivos sin que se produzcan cambios genéticos, reduciendo la frecuencia de transferencia de las plantas a medio de cultivo fresco (Roca et al., 1994).

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los cultivos más estudiados en la implementación de nuevos medios y técnicas de cultivo de tejidos y de conservación. El medio de cultivo a base Murashige Skoog (1962) es ampliamente utilizado en la propagación y conservación de papa, las concentraciones de sales y vitaminas que contienen permiten un normal crecimiento o limitación de crecimiento cuando el propósito es conservar. El presente trabajo tiene por objetivo evaluar el efecto de tres concentraciones de sales minerales en ocho accesiones de papa (*Solanum tuberosum*) para la conservación *in vitro*.

### 8.2. Materiales y métodos

Este trabajo se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Estación Experimental de Toralapa, ubicado en el municipio de Tiraque, departamento de Cochabamba. Se utilizaron ocho accesiones de papa del banco de tubérculos *in vitro*: ID 164 (BOL 2143), ID 734, (BOL 3435), ID 175 (BOL 4708), ID 105 (BOL 2640), ID 860 (BOL 1255), ID 101 (BOL 2145), ID 1190 (BOL 4987) e ID 575 (BOL 2976).

La etapa de multiplicación se realizó con ocho accesiones de papa en medios de cultivo compuesto de sales MS (Murashige-Skoog, 1962), 100 mg myoinositol, 0,4 mg de tiamina, 0,3 mg de AG3 y 2 mg de Pantotenato de calcio, 0,25 % de azúcar, 0,07 % de carragenina, pH 5,7, contenidos en tubos de ensayo. Los explantes sembrados fueron incubados por 20 días a temperatura de 22±2°C, intensidad de luz de 2500 lux y un fotoperiodo de 16 horas luz.

La etapa de conservación se consideró tres segmentos nodales por tubo y se incubó por lapso de tres semanas a temperatura de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , intensidad de luz de 2500 lux y fotoperiodo de 16 horas luz. Transcurrido este tiempo los explantes se almacenaron en cámara fría a  $8^{\circ}\text{C}$ , intensidad de luz de 1600 lux y un 60 % de humedad relativa. En esta etapa se evaluaron tres concentraciones de sales minerales MS en el medio de cultivo:

- a)  $\frac{1}{4}$  MS, 100 mg myoinositol, 0,25 % de azúcar, manitol 0.4 %, 0,02 % de phytigel y pH 5,7.
- b)  $\frac{1}{2}$  MS, 100 mg myoinositol, 0,25% de azúcar, manitol 0.4%, 0,02 % de phytigel y pH 5,7.
- c) MS completo, 100 mg myoinositol, 0,25 % de azúcar, manitol 0.4 %, 0,02 % de phytigel y pH 5,7

Los parámetros evaluados fueron la sobrevivencia, altura de la vitroplanta, desarrollo de raíces y vitrificación. El tiempo de evaluación del ensayo fue cada dos meses por lapso de seis meses.

El diseño experimental utilizado fue factorial completamente al azar. Los factores fueron 8 accesiones, 3 concentraciones de sales MS en medio de conservación con 8 repeticiones.

### 8.3. Resultados y discusión

#### 8.3.1. Porcentaje de sobrevivencia

El análisis de varianza de los datos de la variable sobrevivencia evidenció diferencias significativas ( $P\leq 0.05$ ) de la interacción Accesoión por Concentración de sales MS, esto denota que existe dependencia de las accesiones a las concentraciones de sales MS.

En la Tabla 8.1, muestra el análisis de comparación de promedios con la prueba Duncan ( $P\leq 0.05$ ).

**Tabla 8.1 Comparación de promedios de la variable sobrevivencia de las accesiones de papa en concentraciones de sales MS**

ID Accesoión	1/4 MS	1/2 MS	MS
10	87,5 c	95,8 a	100 a
105	100 a	100 a	100 a
164	95,8 a	91,6 b	87,5 b
175	100 a	100 a	100 a
575	95,8 a	100 a	95,8 a
734	100 a	87,5 c	100 a
860	100 a	100 a	100 a
1190	79,1 d	100 a	95,8 a

La concentración  $\frac{1}{4}$  MS en la Tabla 8.1, evidencia que las accesiones 164, 575, 105, 175, 734, 860 tienen valores de sobrevivencia entre 95.8 y 100 % sin embargo las accesiones 10 y 1190 presentan rangos de sobrevivencia de 87,5 y 79,2% respectivamente.

Por otro lado la concentración  $\frac{1}{2}$ MS muestra un grupo de accesiones que registran los valores más altos de sobrevivencia entre 95,8 a 100% en las accesiones 10, 105, 175, 575, 860, 1190. La accesoión 164 con 91,6% y con menor porcentaje de sobrevivencia la accesoión 734 (85,5 %).

En la concentración MS completa los resultados en relación a las otras concentraciones ( $\frac{1}{4}$  MS y  $\frac{1}{2}$  MS) evidencia que las accesiones 10, 105, 175, 734, 860, 575, 1190 muestran valores entre 95.8 a 100% de sobrevivencia y la accesoión 164 con menor valor de 87,5 %.

Se deduce que el porcentaje de sobrevivencia en las tres concentraciones de sales MS está influido por el genotipo de cada accesoión. Al respecto De Cásares y Gonzales (2001) indican que la respuesta al desarrollo aéreo y radical con los tratamientos: sacarosa, manitol, ácido absícico-ABA y Bencilaminopurina-BAP bajo condiciones de crecimiento mínimo varió de acuerdo al cultivar de papa.

### 8.3.2. Altura de la vitroplanta

El análisis de varianza para la variable altura de vitro planta se evidenció diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) en el factor accesiones y no significativas en el factor concentración de sales e interacción (Accesiones por Concentración).

En la Figura 8.1, se observa el análisis de los promedios con la prueba Duncan ( $P \leq 0,05$ ) para la variable altura de vitroplanta en ocho accesiones.

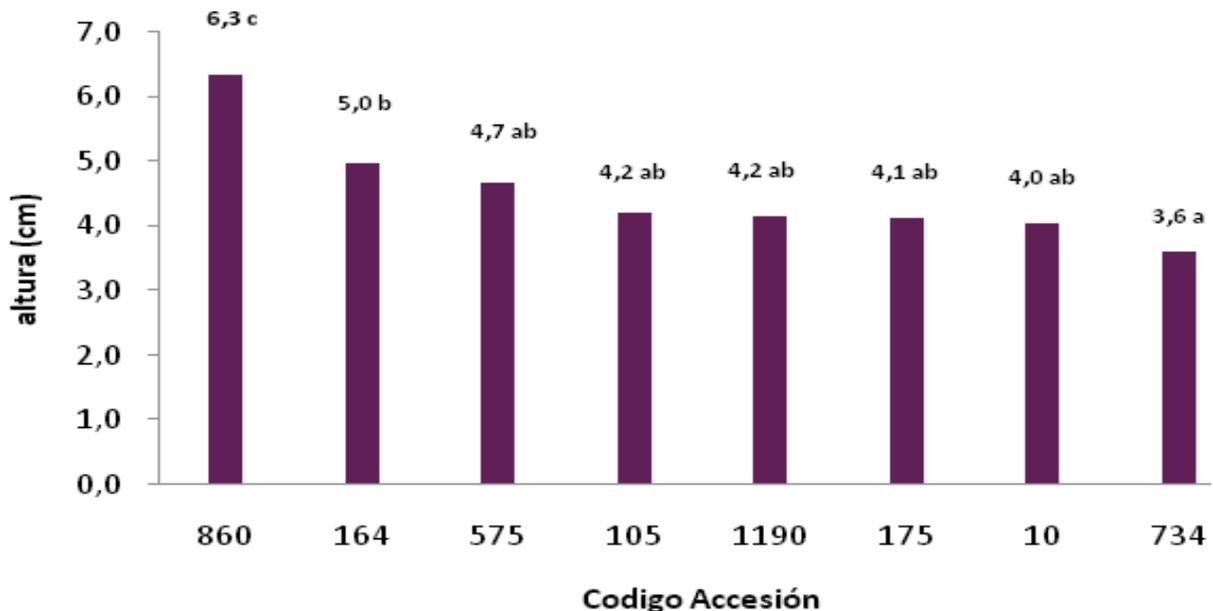


Figura 8.1 Altura de las ocho accesiones sometidas a concentración de sales MS

La accesión 734, en la Figura 8.1, presentó un crecimiento de 3.6 cm, la cual se considera una altura óptima en promedio para la conservación *in vitro*. El grupo conformado por las accesiones 10, 175, 1190, 105 y 575 presentan una altura promedio de 4,25 cm. Un tercer grupo que también muestra diferencias significativas ante los otros conforman las accesiones 164 y 860 que tienen una altura de 5 y 6.3 cm respectivamente. Se deduce que cada accesión tiene una altura variable, y que está en función del genotipo de la planta (Figura 8.2).



Figura 8.2 Altura de ocho accesiones en 1/2 sales MS.

### 8.3.3. Desarrollo de raíces y vitrificación

El análisis de los parámetros vitrificación y número de raíces no fueron significativos al análisis de ANVA. Se observó el desarrollo normal de raíces y ausencia de vitrificación en las ocho accesiones evaluadas durante los seis meses.

### 8.4. Conclusiones

- Las accesiones 105, 175, 575 y 860 presentaron porcentajes de sobrevivencia entre 95,8 y 100 % en las concentraciones de sales  $\frac{1}{4}$  MS,  $\frac{1}{2}$  MS y MS completo en medio de conservación.
- La influencia del genotipo de las ocho accesiones determina la variabilidad en el porcentaje de sobrevivencia en las tres concentraciones de sales minerales MS (Murashige Skoog, 1962) a los seis meses.
- La accesión 734 presentó un crecimiento de 3,6 cm, la cual se considera una altura óptima en promedio para la conservación *in vitro* a mediano plazo.
- La altura de las vitroplantas está en función de las características genéticas de cada accesión.

### 8.5. Bibliografía

- Engelmann, F. 1991. In vitro conservation of tropical plant germplasm: a review. *Euphytica* 57:227-24
- Seguel, I. 2000. Estrategia en Recursos Fitogenéticos para los países del Cono Sur. IN Conservación de Recursos fitogenéticos ex situ. In PROCISUR. IICA
- Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Rao, NK. 2004. Plant genetic resources: advancing conservation and use through biotechnology. *African journal of biotechnology* 3:136-145.
- Roca, WM, Escobar R, Mafla G. (1994) Conservación de germoplasma de yuca in vitro. Principios y técnicas. CIAT, Cali. de medios de cultivo para la conservación *Biotecnología Vegetal* 2(4): 249-251
- Soengas, P; Cartea, E; Lema, M; Velasco, P. 2009. Effect of regeneration procedures on the genetic integrity of Brassica oleracea accessions. *Molecular Breeding* 23:389-39.
- Wang, YL; Fan, MJ; Liaw, SL. 2005. Cryopreservation of in vitro-grown shoot tips of papaya (*Carica papaya* L.) by vitrification. *Botanical Bulletin of the Academia Sinica* 46:29-34.
- Withers, LA, Wheelans, SK; Williams, JT. 1990. In vitro conservation of crop germplasm and the IBPGR databases. *Euphytica* 45:9-22.
- De Cásares, JP, González, R. 2001. Conservación in vitro de dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo condiciones de crecimiento mínimo. *Revista Latinoamericana de la Papa* 12:121-129