

## Evaluación de tres concentraciones de sales minerales en diez accesiones de papalisa (*Ullucus tuberosus*) para conservación in vitro

Rosario Lucero<sup>1</sup>; Justina Villca<sup>2</sup>; Mauricio Barrancos<sup>3</sup>  
 Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal  
 e-mail: charito15lucero@hotmail.com

### Resumen

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el objeto de evaluar el efecto de sales minerales en diez accesiones de papalisa (*Ullucus tuberosus*) para la conservación in vitro a corto y mediano plazo, en el laboratorio de Cultivo de Tejidos del Centro Nacional de Innovación Toralapa, para tal efecto se emplearon tres niveles de sales minerales y como material genético 10 accesiones de papalisa del Banco Nacional in vitro, Para el estudio se consideró dos fases, multiplicación y conservación. El diseño utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial, comprendió 10 accesiones, 3 niveles de sales MS en medio de conservación con 10 repeticiones. Los parámetros de evaluados fueron: porcentaje de sobrevivencia, altura del explante, desarrollo de raíces y vitrificación del explante, a los 60, 120 y 180 días durante el lapso de 6 meses. Los datos se analizaron estadísticamente con el análisis de varianza y test de Duncan ( $p < 0,05$ ). Los resultados de éste estudio evidenciaron un alto nivel de significancia en la interacción accesión por concentración de sales MS después de 6 meses, por lo cual se deduce la dependencia de las accesiones de la concentración de las sales minerales en los medios de conservación.

**Palabras clave:** Accesión, Papalisa, In vitro, Conservación

### Introducción

La conservación in situ involucra el mantenimiento de los recursos genéticos en el centro de origen de mayor diversidad genética o cultivo en campos de productores agrícolas en sistemas de agricultura tradicional.

Cuando la conservación se realiza fuera del centro de origen de la especie que proveen las condiciones adecuadas para la conservación de material propagativo por largo tiempo reciben el nombre de conservación ex situ. Los métodos de conservación ex situ incluyen el almacenamiento de semillas, bancos de genes en campo, colecciones in vitro y jardines botánicos (Withers et al. 1990, Rao 2004, Soengas et al. 2009).

La conservación in situ, bancos de genes en campo y jardines botánicos presentan los inconvenientes de tener altos costos de mantenimiento, de

necesitar condiciones especiales para ciertas plantas que se encuentran fuera de su hábitat natural. Esto implica un riesgo por pérdida de materiales a causa de factores ambientales; además, se requieren de grandes extensiones y gran 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).

La conservación in vitro constituye parte esencial de la estrategia general de conservación y el intercambio de recursos genéticos en todo el mundo. Entre otras ventajas, ofrece la posibilidad de almacenar un gran número y variedad de muestras en un área reducida, además de garantizar la sanidad de las muestras, e incrementa la posibilidad del intercambio de materiales vegetales (Águila, y Acosta 2007).

Para solucionar los inconvenientes de las vías

mencionadas anteriormente se puede recurrir a la conservación de los recursos genéticos en condiciones controladas de laboratorio y que involucran diversas técnicas de cultivo y almacenamiento in vitro, por otro lado evita pérdidas por plagas y enfermedades: incidencias climatológicas y desastres naturales (Chiang y Jiménez, 2010). En este sentido, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto que tienen las tres concentraciones de sales minerales en diez accesiones de papalisa (*Ullucus tuberosus*) para la conservación in vitro a corto y mediano plazo.

### Materiales y métodos

El presente trabajo se desarrollo en el Laboratorio de Cultivo de tejidos del Centro Nacional de Innovación Toralapa, ubicada en el Municipio de Tiraque, departamento de Cochabamba.

**Material biológico:** Se trabajó con diez accesiones de papalisa del banco de tubérculos andinos in vitro del INIAF, que son las siguientes:

| N° | ID | BOL  | N° | ID  | BOL  |
|----|----|------|----|-----|------|
| 1  | 43 | 4233 | 6  | 92  | 4474 |
| 2  | 57 | 4299 | 7  | 104 | 4528 |
| 3  | 69 | 4376 | 8  | 124 | 4582 |
| 4  | 76 | 4391 | 9  | 143 | 4602 |
| 5  | 89 | 4771 | 10 | 164 | 4625 |

Para el estudio se consideró dos fases, multiplicación y conservación. Los procedimientos seguidos fueron:

Fase de multiplicación:

Se trabajó con diez accesiones de papalisa los cuales fueron multiplicados en medios de cultivo compuesto de sales MS basal (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, 0,06% de agar, pH 5.7, dosificados en tubos de ensayo. Una vez sembrados los explantes en su respectivo medio de cultivo estos fueron incubados en la cámara de crecimiento por el lapso de dos semanas a una temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , con una intensidad de

luz de 2500 lux y un fotoperiodo de 16 horas luz.

*Fase de conservación:*

Después de un mes, los explantes fueron disectados de las plantas que se encontraban en un medio MS (Murashige & Skoog, 1962). Se sembró tres explantes (segmentos) por tubo y se colocaron en una cámara a temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , con una intensidad de luz de 2500 lux y un fotoperiodo de 16 horas de luz. Los tubos fueron distribuidos al azar en gradillas. Después de 2 semanas cuando las plantas empezaron a emitir raíces se almacenó en una cámara fría a  $8^\circ\text{C}$  con una intensidad de luz de 1600 lux y un 60 % de humedad relativa. En esta fase se evaluaron las tres concentraciones de salesminerales (MS) en el medio de cultivo de conservación:

- 100% MS, 0.3% sorbitol, 100 mg myoinositol, 0,4 mg de tiamina, 0,25% de azúcar, 0,024% de Phytigel, pH 5.7.
- 50% MS, 0.3% sorbitol, 100 mg myoinositol, 0,4 mg de tiamina, 0,25% de azúcar, 0,024% de Phytigel, pH 5.7.
- 25% MS, 0.3% sorbitol, 100 mg myoinositol, 0,4 mg de tiamina, 0,25% de azúcar, 0,024% de Phytigel, pH 5.7.

Los parámetros de evaluados fueron: porcentaje de sobrevivencia, altura del explante, desarrollo de raíces y vitrificación del explante, a los 60, 120 y 180 días durante el lapso de 6 meses.

El diseño utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial, comprendió 10 accesiones, 3 niveles de sales MS en medio de conservación con 10 repeticiones. Los datos se analizaron estadísticamente con análisis de varianza y el test de Duncan ( $p < 0,05$ )

### Resultados discusión

*Porcentaje de sobrevivencia*

El análisis de varianza del porcentaje de sobrevivencia evidenció un alto nivel de significancia al  $P \leq 0.05$  de la interacción accesión por concentración de sales MS después de 6 meses, por lo cual se deduce la dependencia de las accesiones de la concentración de las sales

minerales en los medios de conservación.

En el cuadro 1, se muestra el análisis de promedios de la variable sobrevivencia de accesiones en concentraciones de 25% de MS, la prueba de Duncan al  $P \leq 0.05$  evidenció que

las accesiones 43, 76, 92, 104, 143, 164, 69, 89, tienen una sobrevivencia alta entre 96.4 y 100% y sin embargo las accesiones 57 y 124 presentan un porcentaje de sobrevivencia de 83.2% y 81.8% respectivamente.

**Cuadro 1.** Comparación de promedios de la variable sobrevivencia de accesiones de papalisa en medio de conservación.

| ID Ac-<br>cesión | 25%<br>MS | 50%<br>MS | 100%<br>MS |
|------------------|-----------|-----------|------------|
| 43               | 100 a     | 98,6 a    | 100 a      |
| 57               | 83,2 b    | 98,9 a    | 98,9 a     |
| 69               | 96,4 a    | 100 a     | 100 a      |
| 76               | 100 a     | 100 a     | 100 a      |
| 89               | 96,4 a    | 88,2 b    | 95,7 a     |
| 92               | 100 a     | 100 a     | 100 a      |
| 104              | 100 a     | 100 a     | 100 a      |
| 124              | 81,8 b    | 88,2 b    | 88,2 a     |
| 143              | 100 a     | 100 a     | 100 a      |
| 164              | 100 a     | 100 a     | 98,6 b     |

Analizando el comportamiento de las accesiones en la concentración 50% de MS para la variable sobrevivencia; las accesiones 69, 76, 92, 104, 143, 164, 43 y 57 presentan entre 98.6 y 100% de sobrevivencia y las accesiones 89 y 124 un 88.2%.

En la concentración de 100% de MS la sobrevivencia de las accesiones 43, 69, 76, 92, 104, 143, 57, 89 y 124 expresaron 98.9 a 100% de sobrevivencia, y 88.2 % en la accesión 164.

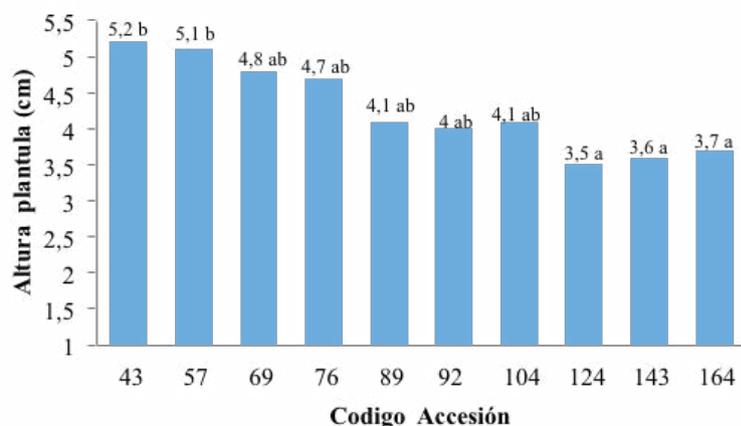
Por tanto se deduce que existe un efecto varietal en la sobrevivencia de las diez accesiones de papalisa en las diferentes concentraciones de sales MS en medio de conservación. Al respecto Cadimay Ugarte (1996) mencionan que la papalisa se conserva más adecuadamente utilizando Sorbitol como retardante de crecimiento en combinación con bajas temperaturas (8°C), en estas condiciones las plántulas se mantuvieron adecuadamente durante 10 meses. La aplicación

sólo de bajas temperaturas (8°C) como retardante de crecimiento, también ha sido efectiva para la conservación in vitro de la papalisa, sin embargo las plántulas se degeneraron más rápidamente respecto a las que estuvieron en medio con Sorbitol y por lo tanto requirieron ser transferidas con anticipación a condiciones de crecimiento normal.

*Altura de plántulas*

El análisis de ANVA para la variable altura de plántulas evidenció diferencias significancias a la probabilidad  $P \leq 0.05$  de accesiones en forma independiente y no significativa de la concentración de Sales MS en forma simple, ni de la interacción accesiones por concentración.

En la figura 1, se observa los promedios con la prueba de Duncan  $P \leq 0.05$  para la variable altura de plántulas en las diez accesiones.



**Figura 1.** Altura de las diez accesiones de papalisa en 50% de sales minerales

La accesión 124 presentó un menor crecimiento de 3,5 cm, seguida de las accesiones 143, 164, 92, 89, 76 y 69 y 164 con altura de 3,6, 3,7, 4, 4,1, 4,7 y 4,8 cm respectivamente, las accesiones 43 y 57 presentan una altura de 5,2 y 5,1 cm. Esto muestra que cada accesión tiene una altura variable, por lo cual se deduce que existe

influencia del genotipo de las accesiones, como se puede observar en la figura 2.

En la Figura 2, se puede observar la altura de las plántulas de diez accesiones de papalisa in vitro en 50 % sales minerales MS.



**Figura 2.** Altura de plántulas en diez accesiones en 50% sales minerales MS

### *Desarrollo de raíces y vitrificación*

El análisis para los parámetros de vitrificación y desarrollo de raíces no fueron significativos al análisis de varianza. Observándose que el desarrollo de raíces fue normal y no hubo presencia de vitrificación en ninguna de las diez accesiones evaluadas durante los seis meses en ninguna de las concentraciones de sales minerales.

### **Conclusiones**

- Se observó que las accesiones 43, 76, 92, 104, 143, 164, 69, 89 presentaron porcentajes de sobrevivencia entre 96.4 y 100 % en las diferentes concentraciones de de sales minerales MS (25%, 50% y 100 %) en el medio de conservación.
- La influencia del genotipo de las diez

accesiones determina la variabilidad en el porcentaje de sobrevivencia en las tres concentraciones de sales minerales MS (Murashige Skoog, 1962) al término de los seis meses.

- La accesión 124 presentó un menor crecimiento de 3,5 cm, la cual se considera una altura óptima en promedio para la conservación in vitro a mediano plazo.
- La altura de plántula depende directamente de las características genéticas de cada una de las accesiones.

### Referencias citadas

Águila, G. L; Acosta, KMF. 2007. Aspectos básicos de la conservación in vitro de germoplasma vegetal. *Biología Vegetal* 7(2): 67 – 79.

Chiang, NS; Jiménez, MV. 2010. Técnicas de conservación in vitro para el establecimiento de bancos de germoplasma en cultivos tropicales 21(1):193-205.

Murashige, T. and 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.

Withers, LA; Whelan's, SK; Williams, JT. 1990. In vitro conservation of crop germplasm and the IBPGR databases. *Euphytica* 45:9-22.

Soengas, P; Carrea, E; Lema, M; Velasco, P. 2009. Effect of regeneration procedures on the genetic integrity of Brassica oleracea accessions. *Molecular Breeding* 23:389-395

Engelmann, F. 1991. In vitro conservation of tropical plant germplasm – a review. *Euphytica* 57:227-243.

Cadima, X., M. L. Ugarte. 1996. Mantenimiento in vitro de las colecciones de oca, papalisa e isaño. En: Informe anual 1995-96 IBTA PROINPA. Cochabamba, Bolivia. Pp. VI 37-VI 38.