

13

INDUCCION DE TUBERIZACION "IN VITRO" EN SEGMENTOS DE TALLOS DE PAPA CON UNA YEMA Y UNA HOJA

E. Costa¹, W. Torres² y E. Jerez²

1 Estación Experimental de Papa, MINAGRI (~~LA HABANA~~)
2 Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas

Palabras claves: Cultivo *in vitro*, tubérculo, tallo, regulación del crecimiento, fisiología vegetal, *Solanum tuberosum*, brotación.

ABSTRACT. This experiment was aimed at inducing "*in vitro*" tuber bulking in potato stem pieces of Desirée cv. having a bud and a leaf. Such experiment was performed in a Tissue Culture Laboratory pertaining to the Potato Research Station from the Ministry of Agriculture. The basal medium used was similar to that of Murashige and Skoog's (1962), supplemented with 80 g/l sucrose. The influence of BAP, CCC and kinetine as well as of leaf presence and its developing degree at the stem piece planted was determined on tuberlet size and its fresh matter content. Results have shown that kinetine induces tuber bulking in potato stem pieces whereas BAP alone does not have any promoting effect, however, the best results are recorded if combined with CCC. On the other hand, it was evident that a leaf together with its developing degree plays a very important role in this process.

RESUMEN. La presente experiencia estuvo encaminada a inducir tuberización "*in vitro*" en segmentos de tallos de papa con una yema y una hoja de la variedad Desirée, y se desarrolló en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Estación Experimental de Papa del Ministerio de la Agricultura. Se utilizó como medio basal uno similar al desarrollado por Murashige y Skoog en 1962, con la adición de 80 g/l de sacarosa. Se determinó la influencia del BAP, CCC y Kinetina, así como la influencia de la presencia y el grado de desarrollo de la hoja en el esqueje plantado, sobre el tamaño y la masa fresca de los pequeños tubérculos formados. Los resultados obtenidos muestran que la Kinetina induce tuberización en los segmentos, mientras que el BAP por si solo no ejerce un efecto promotor; sin embargo, cuando se combina con CCC se obtienen los mejores resultados. Se puso de manifiesto, además, que la hoja presente en los segmentos y su grado de desarrollo juegan un papel decisivo en tan importante proceso.

INTRODUCCION

Desde hace mucho tiempo, los fisiólogos se han interesado en la fisiología del desarrollo y control hormonal de la tuberización de la papa. En estudios con plantas enteras y esquejes de tallo con un solo nudo, se ha demostrado que el control hormonal de la tuberización de la papa, es un proceso de

desarrollo extremadamente complejo y existen muchas formas de alterar el balance hormonal de la planta e inducir así la tuberización (Pilar Tovar *et al.*, 1985).

Este proceso es controlado por factores ambientales, principalmente el fotoperíodo y la temperatura, los cuales regulan los niveles endógenos de sustancias del crecimiento. Días cortos y bajas temperaturas nocturnas

(condiciones de inducción) favorecen la tuberización, mientras que días largos y altas temperaturas nocturnas retardan e inhiben el proceso (Gregory, 1956; Slater, 1968).

Madec (1963) ha sugerido la existencia de un estímulo para la formación de tubérculos, el cual se forma en las hojas bajo condiciones de inducción y se trasloca hacia los lugares donde ocurre la tuberización.

Aunque la naturaleza exacta de este estímulo permanece aún desconocida, se ha especulado que esta puede ser similar a las citoquininas (Courdoroux, 1967, citado por Mauk y Langille, 1978). Resultados obtenidos por ellos confirman la teoría de que el factor tuberizante puede ser por naturaleza semejante a las citoquininas, encontrando que la actividad total de estas fue significativamente mayor en las plantas inducidas, en comparación con las no inducidas.

El presente trabajo se desarrolló con el objetivo de determinar la influencia de diferentes reguladores del crecimiento en la inducción de tuberización "in vitro", en segmentos de tallos con una yema y una hoja, así como la influencia de la presencia y el grado de desarrollo de la hoja de los segmentos cultivados, en el tamaño y la masa fresca de los pequeños tubérculos formados.

MATERIALES Y METODOS

La experiencia se desarrolló en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Estación Experimental de Papa, perteneciente al Ministerio de la Agricultura y estuvo encaminada a inducir tuberización "in vitro" en segmentos de tallos con una yema y una hoja, con el propósito de producir tubérculos sésiles, para lo cual se probaron diferentes reguladores del crecimiento en el medio de cultivo, determinando además la influencia de la presencia y el nivel de desarrollo de la hoja del segmento en este proceso.

Plántulas de papa de la variedad Desirée, procedentes del cultivo "in vitro" con 60 días en cultivo, se seccionaron en segmentos de 10 mm de tamaño aproximadamente con una yema y una hoja, los cuales se plantaron bajo completas condiciones de asepsia, en tubos para ensayo de 25 x 250 mm, los que contenían 12 ml de medio nutritivo similar al desarrollado por Murashige y Skoog (1962), con pH ajustado a 5,7 y con la adición de 5 g/l de agar y 8 % (m/v) de sacarosa. Los medios se esterilizaron en autoclave a 1,5 atmósferas de presión y 120 °C de temperatura, durante 15 minutos.

Los diferentes reguladores estudiados así como su concentración pueden apreciarse en la tabla I, utilizándose el medio M6 informado por Pilar Tovar *et al.* (1985) como control.

Los tubos conteniendo las secciones se colocaron en condiciones de completa oscuridad y temperatura de 20 ± 2 °C durante 30 días. Posteriormente, se seleccionó el medio que mejores resultados brindó y se cultivaron segmentos de tallos sin hoja (T₀), segmentos de tallos con una hoja (T₁), provenientes de plántulas con 30 días en cultivo, así como segmentos de tallo con una hoja (T₂), provenientes de plántulas con 60 días en cultivo, los que se colocan en las condiciones descritas anteriormente.

Las variables analizadas fueron: tamaño y masa fresca de los tuberculillos formados a los 30 días en las condiciones descritas.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, evaluándose 20 segmentos por cada tratamiento, procesándose los resultados por análisis de varianza con un modelo de clasificación simple y comparándose las medias por la dódima de rangos múltiples de Duncan a $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos muestran, de forma general, que sobre el medio que se utilizó como control, es decir M6, se obtiene una mejor respuesta a la tuberización de los segmentos, seguido de M4 y M5 (Tabla II), aunque entre estos dos últimos no se aprecian diferencias significativas en el tamaño y la masa fresca de los tubérculos formados. En los medios M3, M1 y M2 se obtienen los tubérculos más pequeños y de menor masa fresca respectivamente.

Teniendo en cuenta los reguladores utilizados en los medios, así como su concentración (Tabla I), se destaca que el BAP en las dos concentraciones utilizadas, no ejerció un efecto promotor y por el contrario, cuando se utiliza en M3, los tubérculos que se obtienen son de un tamaño y una masa fresca inferiores, incluso a los que se obtienen en M1, medio muy simple que no presenta en su composición ninguno de estos reguladores (Tabla II). Sin embargo, cuando se combina BAP y CCC de la forma que se hace en M6 se logran los mejores resultados.

La Kinetina, por su parte, sí ejerce un buen efecto promotor para la concentración que se utiliza en M4 (Tablas I y II), no observándose un aumento en el tamaño y la masa fresca de los tubérculos formados, cuando aumentamos su concentración de la forma que se hace en M5.

Numerosos investigadores (Menzel, 1980; Hussey y Stacey, 1984; Pilar Tovar *et al.*, 1985) han demostrado el efecto promotor que ejerce el CCC sobre la tuberización "in vitro" de la papa, razón por la cual lo recomiendan como componente esencial de los medios que se utilizan para estos propósitos.

Tabla I. Reguladores del crecimiento utilizados y su concentración en mg/l.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6
BAP	-	5	10	-	-	5
Kinetina	-	-	-	5	10	-
CCC	-	-	-	-	-	500

Tabla II. Tamaño y masa fresca de los tubérculos formados en los diferentes medios nutritivos.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	E.S. \bar{x}
tamaño (mm)	4,1 c	4,2 c	3,7 d	4,9 ab	4,70 b	5,2 a	0,14 ***
masa fresca (g)	0,051 cd	0,052 cd	0,044 d	0,062 b	0,060 bc	0,073 a	0,003 ***

Medias con letras no comunes difieren según d^ocima de rangos múltiples de Duncan a $p < 0,05$. *** $p < 0,001$

Otros investigadores (Palmer y Smith, 1969; Mingo-Castel, Young y Smith, 1976; Mauk y Langille, 1978) plantean que por muchas razones las citoquininas son a menudo consideradas de mayor importancia en el proceso de tuberización, debido en primer lugar, a que ellas estimulan la división celular; además, hay evidencias de que estas sustancias inhiben la elongación celular, siendo estos cambios necesarios para la formación del tubérculo y su posterior desarrollo.

Koda y Okazawa (1983), por su parte, plantean que el papel de las citoquininas en el proceso de tuberización es aún materia de controversia y resultados obtenidos por ellos parecen indicar que estas sustancias no son la causa directa de la tuberización.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo pusieron de manifiesto, además, la influencia decisiva de la presencia y el nivel de desarrollo de la hoja (Tabla III), lográndose un mayor tamaño y masa fresca de los tubérculos, al sembrarse los segmentos

con la hoja presente y tener esta un grado de desarrollo superior. Es de destacar, además, que la presencia y el nivel de desarrollo de la hoja no solo influyeron en el tamaño y la masa fresca de los tuberculillos, sino también en el porcentaje de tuberización de los segmentos, siendo el 40 % en los segmentos cultivados sin hojas (T₀) y del 85 y 95 % en T₁ y T₂, respectivamente. Estos resultados confirman la hipótesis de numerosos investigadores (Gregory, 1956; Chapman, 1958 y Kumar y Wareing, 1973), quienes sugieren la existencia de un estímulo de la tuberización, el cual se forma en las hojas bajo condiciones de inducción y es traslocado hacia los sitios donde ocurre la tuberización.

Queremos señalar, además, que como bien plantea Ewing (1981), este sistema puede resultar de utilidad, para realizar estudios sobre el control químico de la tuberización y no recomendamos utilizarlo para producir masivamente tubérculos *in vitro* con fines comerciales, debido a que los tubérculos que se obtienen son demasiado pequeños.

Tabla III. Influencia de la presencia y el nivel de desarrollo de la hoja en el tamaño y la masa fresca de los tubérculos.

	T ₀	T ₁	T ₂	ES \bar{x}
tamaño (mm)	1,4 c	3,4 b	5,3 a	0,25 ***
masa fresca (g)	0,011 c	0,026 b	0,089 a	0,003 ***

Medias con letras no comunes difieren según d^ocima de rangos múltiples de Duncan a $p < 0,05$. *** $p < 0,001$

BIBLIOGRAFIA

- Chapman, H. W. Tuberization in the potato plant. *Physiol. Plant (Copenhagen)* 11:215-224, 1958.
- Ewing, E. E. Heat stress and the tuberization stimulus. *Ame. Pot. Jour. (Orono, Maine)* 58:31-48, 1981.
- Gregory, L. Some factors for tuberization in the potato plant. *Jour. Bot.* 43:381-388, 1956.
- Hussey, G. y N. L. Stacey. Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum*, L.). *Annals of Botany (Oxford)* 53:565-578, 1984.
- Koda, Y. y Y. Okazawa. Influence of Environmental, Hormonal and Nutritional factors on Potato tuberization *in vitro*. *Japan. Jour. Crop Sci. (Tokio)* 52(4):582-591, 1983.
- Kumar, D. y P. F. Wareing. Studies on tuberization in *Solanum andigena*, L. Evidence for the existence and movement of specific tuberization stimulus. *New Phytologist (London)* 72:283-287, 1973.
- Madec, P. Tuber-forming substances in the potato. *Growth of the Potato*. Butterworth. / P. Madec.-- Londres : Ed. J. Ivins y F. C. Milthorpe, 1963.-- 131 p.
- Mauk, C. S. y A. R. Langille. Physiology of tuberization in *Solanum tuberosum*, L. *Plant Physiology (Rockville)* 62:438-442, 1978.
- Menzel, C. M. Tuberization in potato at high temperatures: responses to gibberelline and growth inhibitors. *Annals of Botany (Oxford)* 46:259-265, 1980.
- Mingo-Castel, A. M.; R. E. Young y O. E. Smith. Kinetin-induced tuberization of potato *in vitro*: on the mode of action of Kinetin. *Plant and cell Physiol. (Kyoto)* 17:557-570, 1976.
- Murashige, T. y F. Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plantarum (Copenhagen)* 15:473-497, 1962.
- Palmer, C. E. y O. E. Smith. Cytokinin and tuber initiation in the potato *Solanum tuberosum*, L. *Nature (New York)* 221:279-280, 1969.
- Slater, J. W. The effect of night temperature on tuber initiation of the potato. *Eur. Pot. Jour. (Wageningen)* 11:14-22, 1968.
- Tovar, Pilar [et al.]. Inducción y utilización de tubérculos de papa. *CIP Circular (Perú)* 13(4):1-5, 1985.

Recibido: 3 de enero de 1990

REVISTA CUBANA DE CIENCIA AGRICOLA

Publicada por el
INSTITUTO DE CIENCIA ANIMAL
Carretera central km 47 1/2 Catalina, Habana



Escríbanos solicitando su inscripción a:
Revista Cubana de Ciencia Agrícola
Calle Tulipán No. 1011 e/ 47 y Loma
Nuevo Vedado, La Habana, Cuba