EL CULTIVO DE LA PAPA EN CUBA

Ana Estévez Valdés
Coordinadora

EL CULTIVO DE LA PAPA EN CUBA

Coordinadora: Ana Estéves Valdés

Ediciones INCA
2007

Corrección y edición: María Mariana Pérez Jorge
Diseño y realización: Yamila Isabel Díaz Bravo

SOBRE LA PRESENTE EDICIÓN

© Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), 2007
© Ana Estévez Valdés

ISBN: 959-7023-32-6

Ediciones INCA
Gaveta postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba, CP 32 700

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

Importancia y situación mundial 1

CAPÍTULO I

Origen, evolución y migración 3

CAPÍTULO II

Los recursos genéticos 9

CAPÍTULO III

Introducción, desarrollo y evolución en Cuba 14

CAPÍTULO IV

Caracterización y evaluación del germoplasma conservado en el INCA 20

CAPÍTULO V

Fertilidad del polen 34

CAPÍTULO VI

Mejoramiento genético 58

CAPÍTULO VII

Obtención y uso de semilla sexual 100

CAPÍTULO VIII

Aplicación de técnicas biotecnológicas para el mejoramiento en Cuba 134

CAPÍTULO IX

Creación de variabilidad y selección *in vitro* para resistencia a *A. solani* (Ellis y Martin) Jones y Grout. Desarrollo de metodologías y estudio de somaclones obtenidos 175

CAPÍTULO X

Transformación genética de variedades comerciales 197

CAPÍTULO XI

Algunas aplicaciones de los marcadores moleculares en el estudio del germoplasma cubano 217

CAPÍTULO XII
Enfermedades virales en Cuba 236
CAPÍTULO XIII
Enfermedades fungosas y bacterianas: descripción, epidemiología y manejo 278
CAPÍTULO XIV
Nutrición y fertilización 408
CAPÍTULO XV
El riego en Cuba 498

INTRODUCCIÓN

IMPORTANCIA Y SITUACIÓN MUNDIAL

Ana Estévez

La papa es el cuarto cultivo alimenticio en orden de importancia a escala mundial, después del trigo, el arroz y el maíz. La producción anual representa la mitad de la producción mundial de todas las raíces y tubérculos, aproximadamente el producto llega a más de mil millones de consumidores de todo el mundo, dentro de este total, figuran 500 millones de consumidores de los países en vías de desarrollo, cuya dieta básica incluye la papa.

Los primeros cultivos se atribuyeron a las zonas más altas de los Andes sudamericanos, cerca del lago Titicaca, posiblemente hace más de mil años. Los españoles la encontraron a mediados del siglo XVI en Perú y la introdujeron en Europa, cultivándola primero como planta tropical exótica, a la que se le atribuyeron desde tiempos inmemoriales misteriosas propiedades medicinales. Solo dos siglos más tarde, se incorporó efectivamente a la dieta regular de los países de Europa.

En la actualidad, está difundida en todas las regiones del mundo, constituyendo en muchos un alimento básico para la población.

Actualmente la producción mundial anual suma 321.9 millones de toneladas y cubre 18.6 millones de hectáreas para un rendimiento promedio de 17.3 $t.ha^{-1}$ (FAO 2005). China es el primer productor de papa a escala mundial con 73.7 millones de toneladas, seguida de la Federación Rusa con 36.4, India con 25.0 y Ucrania con 19.3 (FAO, 2005).

El sector dedicado al cultivo de la papa en el ámbito mundial está en transición, la mayor parte de la producción provenía de Europa y el área ocupada por la Unión Soviética, pero esta situación se está modificando rápidamente. A principios de la presente década, 30 % de la producción mundial correspondía a los países en vías de desarrollo, cifra que representa un aumento considerable en relación con 11 % de principios de la década de los sesenta del pasado siglo; si esta tendencia se mantiene en menos de una generación, la mayor parte de la papa producida en el mundo será cosechada en Asia, África y América Latina; como consecuencia de ello, el cultivo de la papa se está convirtiendo en una fuente cada vez más importante de alimento, empleo rural e ingresos para la población de estas regiones, que registran un constante aumento.

En América Latina, el crecimiento de la producción en las últimas cuatro décadas fue de 2.3 % anual, donde el aumento de la productividad se consideró como el principal responsable, ya que la superficie cultivada solo creció en una tasa de 0.2 % anual (Ezeta, 2002).

Recientes estudios publicados por IFPRI y el CIP demuestran que la papa mantendrá o aumentará su importancia económica relativa en la canasta familiar de los países en desarrollo en los próximos 20 años (Scott *et al.*, 2000, citado por Ezeta, 2002).

La utilización de la papa, según informes del CIP y FAO (1995), es como sigue: del total de la producción obtenida, 51 % es destinado a la alimentación humana, 21 % a la alimentación animal, 13 % a semilla, 7 % a procesamiento industrial y 8 % para otros fines. Se ha observado un decremento del consumo per cápita a nivel mundial, fundamentalmente en países de Europa occidental, Europa oriental y Rusia, mientras que en los países en vías de desarrollo se nota un incremento en Asía y Africa. En el caso de América Latina y el Caribe, aunque se informa disminución de consumo, se aprecia que en países como Brasil, Colombia, Cuba y México aumenta el consumo per cápita.

En Cuba ocupa el primer lugar entre las raíces y tubérculos, se plantan cada año entre 10 000 y 15 000 ha, con un rendimiento medio entre 18 y 25 $t.ha^{-1}$, y una producción anual de 300 000 t.

La papa es uno de los cultivos de gran importancia alimenticia. Es superior a todos los otros cultivos en la producción de proteínas por unidad de tiempo, superficie y en la producción de energía.

Su proteína es muy valiosa, debido a su alto contenido de aminoácidos esenciales, lo cual no es común en las proteínas de otras plantas; en ello se asemeja a la proteína de la leche y es sobresaliente la forma en que se complementa con otras proteínas como la soya (Estrada, 2000).

La papa constituye un alimento de suma importancia en la dieta de la población cubana, por lo que es una necesidad la producción de este cultivo y la obtención de variedades con mayor cantidad de masa seca, bajos contenidos de azúcares y que soporten mejor la conservación en cámaras refrigeradas sin perder sus atributos organolépticos.

Las principales variedades que se plantan en Cuba son procedentes de Holanda y Canadá, por lo que desde 1985 se introdujo un germoplasma de especies silvestres y cultivadas, con el objetivo de incrementar la biodiversidad en este cultivo y su utilización en el mejoramiento genético.

La papa posee los mayores recursos genéticos conocidos para un cultivo, unas 200 especies silvestres que tienen gran diversidad de caracteres y la ventaja de que ese rico germoplasma se puede incorporar en cultivares mediante cruzamiento o manipulación genética.

La humanidad está necesitada de alimentos y Cuba tiene un reto por delante, lograr incrementos de producción y calidad del cultivo, como uno de los principales alimentos, línea en la que deben trabajar científicos y productores.

CAPÍTULO I

ORIGEN, EVOLUCIÓN Y MIGRACIÓN

Ana Estévez y María E. González

Existen diversas versiones sobre el origen de la papa, siendo la más aceptada la propuesta por Hawkes (1963), que la sitúa en las cercanías del lago Titicaca, Perú, dado que en esta zona el número y la diversidad de especies cultivadas y silvestres es muy alto. Esta teoría fue corroborada por Ugent (1970) y Bukasov (1973), quienes señalaron que las especies de papa más antiguas del mundo se encuentran cerca del lago Titicaca, con latitudes de 10 a 20° Sur y altitudes que oscilan de 3 000 a 4 000 m. Una evidencia más es que en los Andes se pueden encontrar especies con número de cromosomas diploides a pentaploides, encontrándose la mayoría en el lago Titicaca en la región de Bolivia y Perú (Ochoa, 1990).

La evolución de las especies cultivadas de papa es todavía tema de discusión (Brown, 1990) y según lo planteado por Grun (1990), las especies diploides del complejo *Solanum stenotomum* se originaron, probablemente, de progenitores silvestres pertenecientes al complejo *S. brevicaule*. Por otra parte, López (1993) postula a *S. leptophyes* como el ancestro de la especie *S. stenotomum* y esta, por cruzamiento natural con *S. sparcipilum*, dio origen a la papa cultivada *S. tuberosum ssp. andigena* y también postula a *S. stenotomum* como la especie que dio origen a *S. phureja*.

Según lo planteado por Grun (1990), el comienzo de la evolución de *Solanum tuberosum spp tuberosum* surgió, posiblemente, del cruce entre la *subespecie andigena* como parental macho y otra especie silvestre no identificada.

La especie diploide *Solanum stenotomum* se considera la más primitiva (Hawkes, 1963) y según Grun (1990), es probable que se haya originado de la especie silvestre *Solanum brevicaule*. Sin embargo, López (1993) postula a *Solanum leptophyes* como el ancestro silvestre de la especie *Solanum stenotomum* y esta, por cruzamiento natural con *Solanum sparcipilum*, dio origen a la papa cultivada *Solanum tuberosum ssp andigena*. El mismo autor, a su vez, postula a *Solanum stenotomum* como la especie que dio origen a la especie cultivada *Solanum phureja*.

Por otra parte, Hawkes (1994) postula a la especie diploide *S. leptophyes* como posible progenitor de *S. stenotomum*, aunque da la posibilidad también mediante *S. canasense*, la cual todavía se puede encontrar en la parte central de su centro de distribución.

Esto solo fue el comienzo de la evolución de la papa cultivada, donde al menos cuatro especies silvestres están involucradas en este proceso. La hibridación de *S. stenotomum* con la especie *S. sparcipilum* y el posterior doblamiento cromosómico dio origen a la especie tetraploide *S. tuberosum ssp andigena* (Cribb y Hawkes, 1986). Esta subespecie fue llevada por los antepasados al sur de Chile, donde se adaptó a las días largos, dando lugar a la *subespecie tuberosum.*

La *subespecie andigena* fue introducida en Europa a través de España en 1570, aunque según Hawkes (1990), se produjo una segunda entrada por Inglaterra. Esta subespecie fue prácticamente eliminada en 1840 a causa del ataque del tizón tardío (*Phytophthora infestans)*, por lo que se introdujo desde Chile la *subespecie tuberosum* que formaba tubérculos en días largos, lo que permitió obtener mayor productividad y favoreció la difusión del cultivo a gran escala. Esta especie necesitó varios ciclos de selección para adaptarse a los largos días del verano en el norte de Europa; así, no fue hasta finales del siglo XVIII y principios del XIX que esta adaptación le permitió al cultivo distribuirse al centro y este de Europa (Brown, 1993).

El esquema propuesto por Hawkes (1963, 1979 y 1988) es el más aceptado, considerando a *Solanum stenotomum* como la especie base del esquema evolutivo, la cual se derivó de *S. Leptophyes* y *S. stenotomum* posiblemente se cruzó con *S. sparsipilum*, una especie silvestre diploide, de la que surge la *S. andigena* y la *S. tuberosum,* papa tetraploide actual.

Desde 1950, las dos taxas han sido frecuentemente hibridizadas en programas de fitomejoramiento. *Neotuberosum,* una cepa de *S. andigena* adaptada a las condiciones del norte, ha sido seleccionada y algunos de ellos son parecidos a la *subespecie tuberosum*. También en el norte se han producido plantas que tienen genes de la *subespecie tuberosum* combinados con factores citoplasmáticos de especies andinas.

La mayoría de las variedades de papa existentes provienen de *S. tuberosum*. La subespecie *tuberosum* es cultivada en todo el mundo, mientras que la *subespecie andigena* solo se cultiva en la región Andina (Huamán, 1986). Según Huamán y Schmiediche (1991), una consecuencia del proceso evolutivo fue la selección de papa de excelente calidad culinaria.

DOMESTICACIÓN DE LA PAPA CULTIVADA

Se han encontrado restos arqueológicos de papas que datan de 7 000 años (Hawkes, 1990), por lo que se cree que la papa fue domesticada aún antes de esa fecha; se ha encontrado también en cerámicas de la cultura Mochi al Norte de Perú (1-600 dne) y de los pueblos Chimu (900-1450 dne). Todas estas cerámicas provienen de las áreas costeras y se piensa que los habitantes de esas zonas obtenían papas mediante cambios con los productores de las zonas altas donde la papa se cultivaba (Hawkes, 1990).

Datos obtenidos con el carbono 14 han demostrado que la papa fue domesticada hace por lo menos 10 000 años en el altiplano, al suroeste de Perú y noroeste de Bolivia (Engel, 1964). No se conoce con exactitud la especie silvestre que originó las especies cultivadas diploides. Es posible que esa especie desapareciera al cruzarse con otras especies semicultivadas o silvestres.

Varias especies silvestres se han citado como posibles ancestros de las cultivadas, entre ellas *Solanum leptophyies*, *S. canasemse*, *S. sparsipilum* (Hawkes, 1978b), *S. brevicaule* y *S. vernei* (Grun, 1990).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

El género *Solanum* contiene más de 2 400 especies distribuidas por todo el mundo, con gran representación en las regiones tropicales y subtropicales, en las cuales existen más de 300 especies que producen tubérculos y otras como el caso de *S. melongena* producen frutos comestibles, existiendo también algunas especies que producen frutos venenosos (Ochoa, 1990). Duval (1852), citado por Ochoa (1990), dividió al género *Solanum* en dos secciones: *Pachystemonum*, el cual incluye especies sin espinas y anteras cortas, y *Leptostemonum*, el cual incluye plantas con espinas en las hojas, anteras largas y estrechas. Este mismo autor dividió la segunda sección en cinco subsecciones: *Tuberarium, Morella, Dulcamara, Micranthes* y *Lycianthes*.

Bitter (1912), citado por Bradshaw (1994), elevó las secciones *Leptostemonum* y *Pachystemonum* al rango de subgénero; a su vez, también dividió la sección *tuberarium* en dos grandes subsecciones: *Basarthrum* e *Hyperbasarthrum*. La subsección *Basarthrum* incluye especies que tienen el pedicelo articulado cerca de la base, pelos en forma de bayoneta y tallo pubescente, no presenta estolones ni tubérculos. La subsección *Hyperbasarthrum* incluye especies con el pedicelo

articulado, no presenta pelos en forma de bayoneta y la mayoría presenta estolones y tubérculos, aunque se han observado algunas especies que no tuberizan. Esta sección fue dividida por Bitter en grupos taxonómicos más pequeños llamados series, constituyendo 19 de ellas que van desde especies diploides hasta hexaploides. D'Arcy (1991) elevó la sección *tuberosum* a la categoría de subgénero *Potatoe*, quedando las especies tuberíferas en la sección *Petota*; esta última categoría taxonómica tiene prioridad nomenclatural respecto a *tuberarium* (Spooner, Anderson y Jansen, 1993).

El sistema taxonómico de series y especies presenta algunas diferencias, según Bukasov, Correl, Hawkes, Hjerting, Ochoa y Spooner; a continuación se presenta la tomada de varios autores, según Estrada (2000).

Como se aprecia, la papa pertenece al género *Solanum*, Subgénero *Potatoe* y Sección *Petota* y las subsecciones *Estolonifera* y *Potatoe*, la primera con dos series y la segunda con 19 y 250 especies.

Género: *Solanum* Linnaeus.
Subgénero: *Potatoe* (G. Don) Arcy
Sección: *Petota* Dumortier
Subsección: *Estolonifera* Hawkes
- Serie I: *Etuberosa* Juzepczuk
- Serie II: *Juglandifolia* (Rydb) Hawkes

Subsección: *Potatoe* G. Don

Superserie: Stellata Hawkes (corola estrellada)

Serie I: Morellifornia Hawkes
Serie II: Bulbocastana (Rydb.) Hawkes
Serie III: Pinnatisecta (Rydb.) Hawkes
Serie IV: Polyadenia Bukasov y Correl
Serie V: Commersoniana Bukasov
Serie VI: Circaefolia Hawkes
Serie VII: Lignicaulia Hawkes
Serie VIII: Olmosiana Ochoa
Serie IX: Yungasense Correll

Superserie: Rotata Hawkes (corola rotácea)

Serie X: Megistacroloba Card. y Hawkes
Serie XI: Cuneoalata Hawkes
Serie XII: Conicibaccata Bitter

Serie XIII: Piurana Hawkes
Serie XIV: Ingaefolia Ochoa
Serie XV: Maglia Bitter
Serie XVI: Tuberosa (Rydb.) Hawkes
Serie XVII: Acaulia Juzepczuk
Serie XVIII: Longipedicellata Bukasov
Serie XIX: Demissa Bukasov

Hay tres sistemas de clasificación de las variedades cultivadas de papa, los cuales reconocen tres, ocho y dieciocho especies. De ellas, el que reconoce ocho especies cultivadas es más universalmente utilizado: *S. x ajanhuiri, S. goniocalix, S. phureja, S. stenotomum*, con 24 cromosomas (diploides), *S. x chaucha, S. x juzepczukii*, con 36 cromosomas (triploide), *S. tuberosum ssp tuberosum y ssp andigena* con 48 cromosomas (tetraploides) y *S. x curtilobum* que es un pentaploide con 60 cromosomas.

Entre las especies cultivadas, la *Solanum tuberosum* 2n=4x=48 es la que más expandida está en el mundo, cubriendo el 98 % de la superficie global de la papa con sus dos subespecies, *tuberosum* y *andigena*; la primera adaptada a condiciones de fotoperíodos largos y la segunda a fotoperíodos cortos.

Otros estudios más recientes sobre nuevas colectas y taxonomía de la papa han sido realizadas por Spooner y Hijmans (2001) y Salas *et al*. (2001).

BIBLIOGRAFÍA

Brown, C. R. Modern evolution of the cultivated potato gene pool. *Biotechnology in Agriculture*, 1990. 3:41-48.

Bradshaw, J. E.; MacKay, G. R. Breeding strategies for clonally propagated potatoes. En: Potato Genetic. Wallingford, CAB International. 1994. p. 467-498.

Bukasov, S. M. Cytogenetic basis of the evolution of potato species of the genus *Solanum* L. section *Tuberarium* (Dunk) Buk. *Soviet Genetics*. 1973, 6:463-471.

D'Arcy, W.G. The *Solanaceae* since 1976, with review. Biogeography effects. En. Hawkes J. C. ed. London, *Solanaceae* III, Taxonomy, Chemistry Evolution, The linnean society of London. D'Arcy, W.G. 1991.

FAO. Draft report on the state of the world's. Plant Genetic Resources. Roma, FAO. 1996. 35 p.

Grun, P. The evolution of cultivated potatoes. *Economic Botany,* 1990, 44(3): 39-55.

Hawkes, J. G. A revision of the tuber-bearing *Solanum* 2ed. Rep. Scott Plant Breed 5t Rec. 1963. 181 p.

Huamán, Z. Botánica sistemática y morfología de la papa. CIP. *Boletin de información técnica*. 1986, 6: 22.

Huamán, Z. y Schmiediche, P. La importancia de la conservación *ex situ* de recursos genéticos de la papa. *Diversit,* 1991, 7(1):74-45.

López, L. E. Las papas silvestres de Colombia. *Revista Papa,* 1993, 7: 4-13.

Ochoa, C. M. The potatoes of South America. Cambridge, University Press. 1990. 503 p.

Salas, R.; Spooner, D.; Huamán, Z.; Torres, R.; Hoekstra, R.; Schüler, K. y Hijmans, R. Taxonomy and new collections of wild potato species in Central and Southern Perú in 1999. *American Journal of Potato Research*, 2001, 78(3):197-207.

Sasson, A. La alimentación del hombre del mañana. Madrid, Ed. UNESCO, Madrid, 1993. 807 p.

Spooner D. M.; Anderson y Jansen. Wild potato (*Solanum* Sect. Petota) germplasm collecting expedition to Argentina in 1990, and status of *Argentinian* potato germplasm resources. *Potato Research*, 1993, 36(1):3-12.

Spooner, D. y Hijmans, R. Potato systematics and germplasm collecting, 1982-2000. *American Journal of Potato Research*, 2001, 78(4):237-208.

Ugent, D. The Potato: What is the origin of this important crop plant, and how did it first become domesticated?. *Science*, 1970, 170:1161-1166.

CAPÍTULO II

LOS RECURSOS GENÉTICOS

Ana Estévez y María E. González

Los recursos genéticos de las plantas son tan esenciales para la vida sobre la tierra, como lo son el aire y el agua, y constituyen la base del desarrollo agrícola de los países, por lo que es muy importante su recolección, evaluación, caracterización, conservación y uso (Esquinas-Alcazar, 1996).

Los recursos fitogenéticos son la base de la subsistencia de la humanidad, suplen las necesidades básicas y ayudan a resolver problemas como el hambre y la pobreza. Se pueden conservar dentro o fuera de su hábitat natural o combinando ambas alternativas (Lastra, 2000).

El germoplasma vegetal es el recurso renovable más importante que tienen los países de América Latina para satisfacer sus necesidades de alimentos, medicinas y otros bienes para la vida; bien explotado, serviría para cubrir las necesidades vitales e impulsar el desarrollo industrial.

Las plantas se comenzaron a domesticar, es decir, a seleccionar y mejorar para obtener las variedades cultivadas, hace aproximadamente 12 000 años. Estos trabajos fueron realizados especialmente por la mujer. Los ancestros de la papa cultivada actual se encuentran en las especies silvestres, que tienen un valor singular por tres razones principales (Estrada, 2000).

1. El número de especies silvestres es aproximadamente 200 y si se cuentan las diversas variantes o clones de cada una, pasan de 2 000 con características variables dentro de una misma especie.
2. La mayoría de las especies silvestres se pueden cruzar con las especies cultivadas, debido a que no tienen diferencias básicas estructurales en sus cromosomas, porque los cambios en sus cromosomas se realizan por mutaciones simples. No es difícil lograr el apareamiento cromosómico entre diferentes especies. Esta característica es definitiva para obtener fertilidad y facilitar la transferencia de genes de los híbridos a las generaciones siguientes.
3. Las especies silvestres constituyen un reservorio de genes de valor incalculable, por sus características de resistencia a plagas y enfermedades, así como por su adaptación a factores abióticos como heladas, sequía, granizo, suelos salinos, suelos ácidos, etc.

En la Tabla 1 se presenta un grupo de especies silvestres como fuente de resistencia a plagas y enfermedades. Como se puede apreciar hay un gran reservorio de genes de resistencia a enfermedades y plagas aún no explotado al máximo en el germoplasma de especies silvestre, lo que debe tenerse en consideración por los mejoradores de este cultivo.

Tabla 1. Germoplasma de papa para resistencia

Materiales	*P. infest.*	S. Común	Áfidos	Virus Y	Virus X	PLRV	PSTV
S. demissum	x			x			
S. bulbocastanum	x						
S. stoloniferum	x			x			
S. andigenum	x			x		x	
S. commersonii		x					
S. chacoense		x		x	x		
S. jamesii		x	x				
S. berthaultii	x		x				x
S. etuberosum						x	
S. brevidens						x	
S. acaule						x	
S. circaeifolium	x						
S. microdontum	x						
S. phureja	x			x	x		
S. pinnatisectum	x						
S. gengasense		x					
S. vernei	x						
S. verrucosum	x						
S. polyadenium	x						
S. tarijense	x				x		
S. curtilobum					x		

Fuente: Beukema y van der Zaag (1990) y Hawkes (1994)

Las colecciones más valiosas se han hecho probablemente donde se originó cada cultivo. En la actualidad, las colecciones de germoplasma de especies silvestres y cultivadas de papa se encuentran fundamentalmente en los países en desarrollo, especialmente en las zonas tropicales (Henrik, Paz y Miño, 1991), y juegan un papel principal en el mantenimiento de la diversidad biológica existente. Durante su largo proceso de evolución, estos materiales han acumulado componentes genéticos que constituyen valiosos recursos para el mejoramiento de este cultivo, el cual está expuesto a numerosos estrés bióticos y abióticos (Arwin y Caligari, 1991).

Existen varios factores que amenazan la diversidad genética, causando la llamada erosión genética, por la destrucción de los ambientes naturales e incrementos de las pérdidas causadas por plagas y enfermedades. Además, los antiguos cultivares de papa están en riesgo de perderse, pues los agricultores están cultivando grandes extensiones de sus

tierras con cultivares mejorados de alto rendimiento y genéticamente uniformes, reduciendo el área de siembra de los cultivares nativos (Stephen, 1991; Brush, Taylor y Bellon, 1992) y a veces causando la pérdida de variedades tradicionales (Álvarez, 1994; CIP, 1995).

Los métodos de conservación de germoplasma pueden dividirse en dos grandes grupos: método *in situ* y método *ex situ*. En los primeros, la variabilidad se mantiene dentro del hábitat natural. En los métodos *ex situ*, por su parte, las entradas se conservan fuera de su hábitat natural y la forma de conservación de la colección dependerá de su modo de reproducción (Esquivel, 1992). Según Evenson (1996), la conservación *ex situ* es la predominante.

En América existen áreas protegidas para el cultivo de la papa. En Bolivia y Perú se encuentran las mayores áreas protegidas del cultivo, las que incluyen cultivares andígenos, donde es mantenida la población en la comunidad a la cual pertenece y dentro del ambiente al que está adaptada (Lleras, 1991).

La colección *ex situ* de germoplasma de papa mundial mantenida desde 1971 en el Centro Internacional de la Papa (CIP), está compuesta fundamentalmente por especies silvestres y cultivadas, y se considera el banco de genes más completo y diverso de las colecciones de papa existentes.

El CIP ha costeado expediciones recolectoras, con el objetivo de obtener muestras más representativas de la diversidad genética total de cada especie y cuenta con 1 500 entradas que representan 93 especies silvestres diferentes de 10 países y 3 694 cultivares andinos (Huamán, 1994).

Numerosas expediciones de recolección en América del Sur y México han sido realizadas; la primera se hizo por los científicos rusos Vavilov, Bukasov y Juzepczuk (1927), citados por González (1998), otros como Ochoa (1990), Spooner *et al*. (1994), Spooner y Clausen (1993), Huamán (1994) y López (1993), para obtener especies silvestres y cultivadas, y asegurar el acceso mundial y su uso en el mejoramiento, con el fin de incrementar la productividad y resistencia a enfermedades de la papa.

Las mayores colecciones se encuentran en Perú, Rusia y Alemania, y otras colecciones importantes existen en Chile, Argentina, Colombia, Bolivia, Polonia, Holanda, Estados Unidos, Francia, Japón y Canadá (Karp, Foulger y Bright, 1989).

Según la base de datos FAO (1999), en el mundo existen 77 países y 178 instituciones que mantienen y conservan germoplasma de especies de *Solanum*, con un total de 95 879 accesiones de diferentes tipos de

muestras, especies silvestres, especies cultivadas, cultivares, clones de mejoramiento y mutantes.

Las diferentes actividades del banco de genes generan gran cantidad de datos, siendo necesario el desarrollo de un sistema adecuado de manejo de estos, pues este es uno de los requerimientos para la utilización de estos recursos genéticos. En la actualidad, existen diversos bancos computarizados, con el fin de asegurar un rápido y eficiente sistema para registrar, almacenar y recuperar la información. Estos datos se registran siguiendo una lista estandarizada de descriptores (CIP, 1995a).

Han sido creadas diversas bases de datos para colecciones activas (Withers, Wheelans y Williams, 1990; Sarkar y Prakash, 1996).

El conocimiento de la diversidad genética disponible en una colección de germoplasma, permite al mejorador establecer la estrategia adecuada de mejoramiento. Esta diversidad puede estudiarse a diferentes niveles, como son caracteres agronómicos o bioquímicos. Existen métodos matemáticos que permiten darle una mayor utilidad a la información obtenida (Lefort-Buson, Hebert y Damerval, 1988). Entre los métodos matemáticos más utilizados para el análisis de la información resultante, en el estudio de colecciones de germoplasma, se encuentran los métodos multivariados (Jarret y Florkowski, 1990; Esquivel, 1992).

BIBLIOGRAFÍA

Arwin, J. y Caligari, P. D. Screening for salinity tolerance *in vitro* potatoes. En: Abst 11th Trienn. Conf. EAPR, Edinburgh. 1991, p. 355-356.

Alvarez, N. Biodiversidad agrícola cultivando para el futuro. *Hoja de Maela*, 1994, 6: 25-27.

Brush, S. B.; Taylor, J. E. y Bellon, H. R. Biological diversity and technology adoption in andean potato agriculture. *Journal of Development Economics*, 1992, 39: 365-387.

CIP. (1995a). Informe anual del CIP. Lima: 55 p.

CIP. Producción sostenible y protección de los recursos naturales. CIP Circular. 1995b, 21(1): 20.

Esquinas-Alcazar, J. Farmers' rights. En: Symposium on the economic of valuation and conservation of genetic resources for agriculture. Roma, Universita de Roma "Tor Vergata", 1996.

Esquivel, M. Estudio de los recursos fitogenéticos y su documentación mediante un sistema de documentación computarizado: el género *Arachis* L. en Cuba. Tesis de grado (Dr. en Ciencias Agrícolas, INIFAT), 1992.

Evenson, R. E. Valuing resources for plant breeding. Hedonid trait value, and breeding function methods. En: Symposium on the economics of valuation

and conservation of genetic resources for agriculture, Roma. Universita de Roma "Tor Vergata", 1996.

Estrada, N. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa, 2000.

FAO. Draft report on the state of the world's. Plant Genetic Resources. Roma, FAO. 1999. 35 p.

González, M. Mejoramiento por hibridación de la papa en Cuba. Tesis de grado (Dr. en Ciencias Agrícolas); INCA, 1998. 71p.

Henrik, B.; Paz, G. y Miño, C. Dinamarca y Ecuador colaboran en la capacitación sobre recursos fitogenéticos para beneficio mutuo. *Diversity*, 1991, 7(1): 32-34.

Huamán, Z. Conservación *ex situ* de papa. Recursos genéticos en el CIP. *CIP Circular*, 1994, 20(3): 13.

Jarret, R. L.; Florkowski, W. J. *In vitro* active field genebank maintenance of seed potato germoplasm; major costs and considerations. *Hort. Science*, 1990, 25: 141-146.

Karp, A.; Foulger, F. y Bright, R. Variability in potato tissue culture. *Am. Pot. Journal*, 1989, 66(10): 669.

Lastra, R. Conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogeneticos (IPGRI), 2000.

Lefort-Buson, M.; Hebert, Y. y Damerval, C. Les outils d' evaluation de la diversité génetique et phenotype. *Agronomie*, 1988, 8: 173-178.

Lleras, E. Conservación de recursos genéticos *in situ*. *Diversity*. 1991, 7(1): 78-79.

López, L. E. Las papas silvestres de Colombia. *Revista Papa*, 1993, 7: 4-13.

Ochoa, C. M. The potatoes of South America. Cambridge, University Press. 1990, 503 p.

Sarkar, D. y Prakash, S. N. Use of computer databases to manage an *in vitro* collection of potato germplasm. *Plant Genetic Resources. Newsletter*, 1996, 106: 20-25.

Spooner D. M. y Clausen, M. A. Wild potato (*Solanum* Sect. Petota) germplasm collecting expedition to Argentina in 1990 and status of A*rgentinian* potato germplasm resources. *Potato Research*, 1993, 36(1): 3-12.

Spooner, D. R.; Vandenberg, R. G.; García, W. y Ugarte, M. L. Bolivia potato germplasm collecting expeditions 1993, 1994: Taxonomy and new germplasm resources. *Euphytica*, 1994, 79: 137-148.

Stephen, B. Conservación de los cultivos del nuevo continente realizada por el agricultor: El caso de las papas andinas. *Diversity*, 1991, 7(1): 82-86.

Withers, L. A.; Wheelans, S. K. y Willians, J. T. *In vitro* conservation of crop germplasm and the IBPGR databases. *Euphytica*, 1990, 45: 9-22.

CAPÍTULO III

INTRODUCCIÓN, DESARROLLO Y EVOLUCIÓN EN CUBA

Ana Estévez, J. P. Guerra y F. Manso

En la actualidad no se conoce con exactitud cuando se introdujo este cultivo en Cuba; la primera referencia escrita fue realizada por Don Pablo de la Serna, el 7 de febrero de 1778, quien envió una comunicación al Real Consulado Español exponiendo las dificultades existentes para la obtención de las semillas del cultivo en el país.

A finales del siglo XIX, en Cuba, se comercializaba la papa en las regiones de Güines en la provincia de La Habana, y en Potrerillo de Gibara, en la antigua provincia de Oriente. Las prácticas del cultivo eran diferentes en ambos lugares, pues en Potrerillo utilizaban semillas de pequeño tamaño procedentes de Norteamérica y las plantaban enteras; en Güines lo hacían con semillas de gran tamaño, de las Islas Canarias y España, que picaban antes de la plantación.

Muchos años después se comenzó a practicar la siembra de semillas cubanas, las que al picarse y plantarse generalmente se podrían; esto hizo que se extendiera el método de guardar de una cosecha a otra, papas que tenían poco valor comercial y que se podían plantar enteras en épocas de siembra muy tempranas (agosto-septiembre), y aunque su desarrollo y producción eran malos, siempre daban al cosechero alguna ventaja económica, pues por entrar muy temprano en el mercado obtenía un precio muy elevado, a veces el doble del que se lograba en los meses de la cosecha principal. En esa época de plantación, no es posible obtener semillas en prácticamente ningún mercado, lo que hizo que se viera el método como algo ventajoso para alargar el período de cosecha del gustado tubérculo.

Los cambios que se produjeron en las áreas del cultivo hasta 1920 fueron pocos; a partir de este año y principalmente después de 1929 se produjeron grandes crisis económicas por la caída de los precios del azúcar (principal fuente de ingreso del país), lo que propició que los agricultores cubanos trataran de encontrar cultivos que sin necesidad de grandes extensiones de tierra fueran capaces de dar buenas ganancias en corto tiempo.

Las condiciones de dependencia económica de Cuba de los Estados Unidos de América, causaron que más adelante se establecieran impuestos sobre la importación de papa de consumo y fundamentalmente en épocas que propiciaron un beneficio a la entrada de papa desde ese país y obstruyeran la procedente de otros. Así, desaparecieron del mercado de consumo las papas de España e Islas Canarias.

Estos impuestos sirvieron a la vez de estímulo a un grupo de comerciantes del país, que comenzaron a controlar el mercado interno, financiando los cultivos de los agricultores, vendiéndoles semillas, fertilizantes, pesticidas y facilitándoles algún dinero en forma de créditos, con el compromiso de tener ellos la exclusividad en la compra del producto.

De esta manera, se fue extendiendo el cultivo a otras regiones de La Habana primeramente y a otras provincias al este y oeste de esta con posterioridad.

Todos estos manejos de impuestos, posibilidades de mercado y control del comercio por un pequeño número de negociantes impidieron que el cultivo se extendiera a grandes áreas en el país, pues los precios eran muy inestables y muchos apenas cubrían los gastos en que se incurría.

A partir de enero de 1959 con el cambio socio-económico que se produjo en el país, tras el triunfo de la Revolución la situación varió, se eliminaron como primera medida todos los intermediarios, con lo que desapareció el control del mercado por personas aisladas y se estableció un precio estable para el producto.

A pesar de esta estabilización de los precios, el área de siembra no se mantuvo al mismo nivel. Se produjo un aumento más o menos sostenido hasta la siembra de 1967, año a partir del cual por problemas económicos del país y la gran dependencia de ese cultivo del exterior en recursos de todo tipo, esta comenzó a descender hasta 1972.

En ese año la siembra descendió a límites muy bajos, debido a problemas que se presentaron con la semilla que se importó, en la que la pudrición en algunos lotes sobrepasó el 5 %; además, se tomó la decisión de realizar siembras con semillas enteras, las que garantizan buena población y mejores plantaciones y rendimientos en general.

Hasta ese momento, en Cuba no se había seguido esta práctica con la semilla importada, pues toda era plantada después de ser cortada.

En la cosecha de la campaña 1972-1973, por primera vez en la historia de la papa en Cuba se sobrepasó ampliamente el rendimiento de 10 $t.ha^{-1}$ que tanto se había deseado y que solo había sido posible en una ocasión anterior como promedio nacional (1959-1960).

A partir de 1970 se estableció un programa de certificación de semilla, tomando como base la experiencia de otros países y estableciendo algunos principios técnicos para este trabajo (Guerra y Rodríguez, 1990).

Como se aprecia en la Figura 1, después de la campaña 1972-1973 se han logrado incrementos importantes de rendimiento, obteniéndose valores superiores a las 19 $t.ha^{-1}$ en las campañas 1991-1992, 1994-1995, 1995-1996, 1996-1997 y 1997-1998, lo que demuestra la posibilidad real que existe en Cuba de establecer los rendimientos por encima de las 20 $t.ha^{-1}$ (MINAG, 1998).

En la actualidad, en Cuba se logran rendimientos de hasta 25 $t.ha^{-1}$, lo que se aprecia en la Figura 1. Por otro lado, hay que puntualizar que en los últimos años se ha intensificado el uso de la semilla picada, lo que ha dado buenos resultados en los lugares que han cumplido con las normativas al respecto.

En la Figura 2, se presentan los rendimientos medio de cinco años de países de América, según datos de la FAO (2003) y MINAG-CUBA (2003).

Se observa que Cuba está entre los cuatro primeros países, superada por Argentina, lo que demuestra la potencialidad de Cuba dentro de Latinoamérica.

Como se aprecia en la Figura 3, en los últimos años los rendimientos por área de Cuba están por encima de la media mundial. Cuba es solo superada por Oceanía, Norte y Centroamérica, en este último dado por los rendimientos de EE.UU.

En Cuba, en 1959, se contaba en la producción papera con muy pocas variedades; a partir de 1964 se iniciaron trabajos de evaluación de variedades procedentes de diferentes países, con el objetivo de ampliar la estructura varietal.

En el período comprendido entre 1969-1974, se evaluaron alrededor de 89 variedades de diversas procedencias (Medina *et al*., 1975, citado por Zamora *et al*., 1993 y 1998).

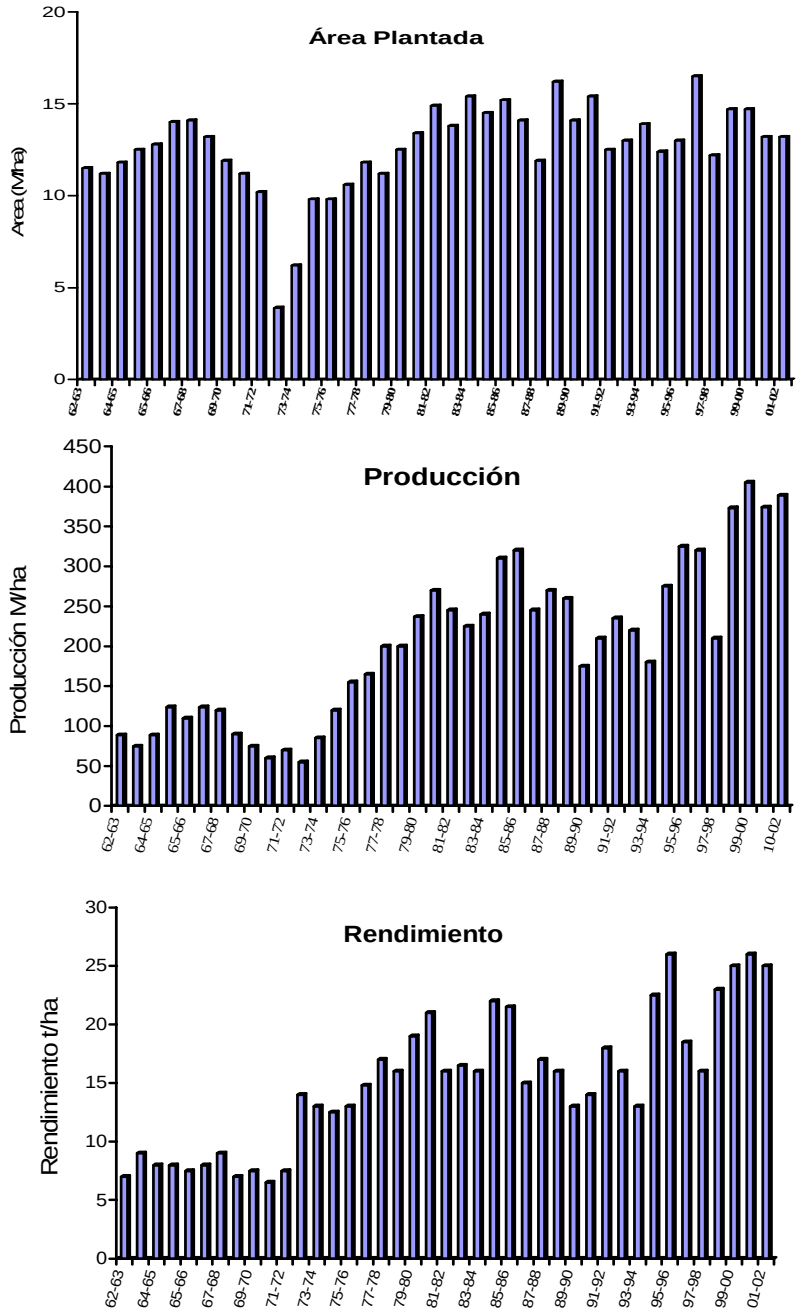


Figura 1. Rendimiento producción y área de la papa en Cuba durante las campañas 1963/1964 hasta 2001/2002

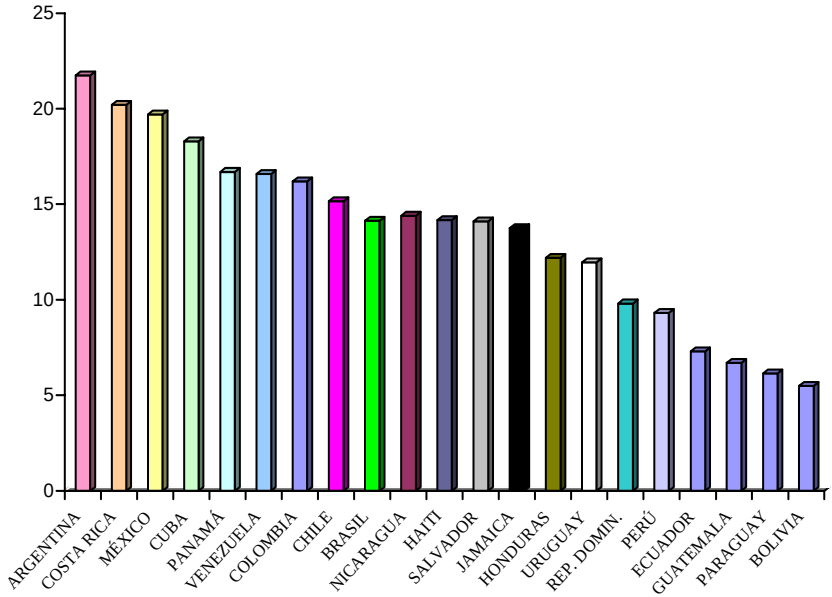


Figura 2. Rendimientos medio de cinco años de países de América

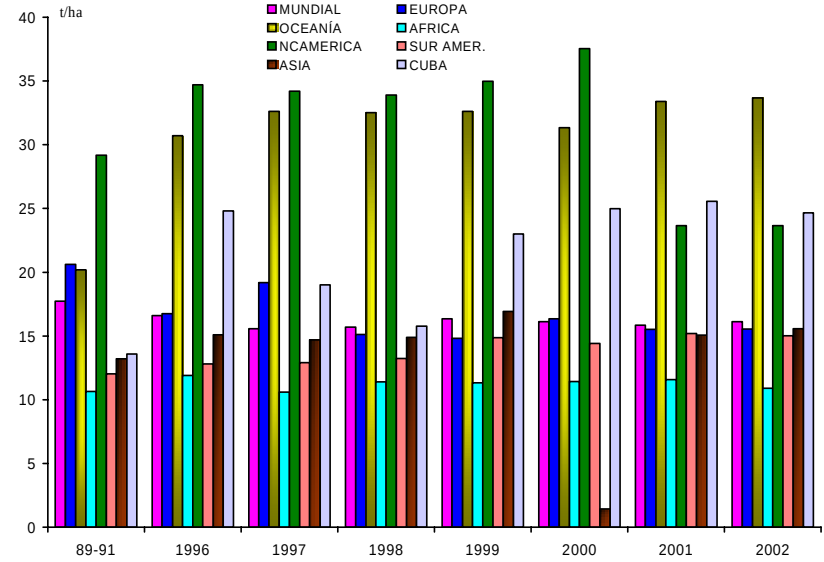


Figura 3. Rendimiento mundial de papa durante el período 1989-1991 hasta 2002

Desde 1974 a la fecha, se han estudiado más de 200 variedades foráneas, procedentes de Holanda, Canadá, Francia, RDA, URSS, RFA, y un germoplasma de especies silvestres y cultivadas de 552 accesiones representativas de la variabilidad de la zona andina, lo que demuestra el incremento del germoplasma de papa en Cuba y su diversidad.

En 1985, se inicia el programa cubano de mejoramiento genético de la papa, del cual contamos con más de 500 clones cubanos de diferentes generaciones y diversas variedades cubanas.

BIBLIOGRAFÍA

FAO. Draft report on the state of the world's. Plant Genetic Resources. Roma, FAO, 1998. 35p.

Guerra, J. P. y Rodríguez, Y. La Papa. Elementos de su historia. El Cultivo de la Papa en Cuba, 1990. Tomo I, p1-9.

MINAG. Informe estadístico del cultivo de la papa en Cuba, 1998.

Zamora, N.; Carrasco, A.; Estévez, A.; González, M. E. y Sánchez, H. Interacción genotipo-ambiente y estabilidad de doce variedades de papa. Análisis del rendimiento. En**:** Reunión Latinoamericana de la Papa. Compendio, 1993. (15 sept 8-14: Santo Domingo).

Zamora, N.; Estévez, A.; Sánchez, H.; Cordero, M.; Salomón, L.; González, M.E.; Iglesias, I. y Peeten, H. Estudio y selección de variedades foráneas de papa (*Solanum tuberosum* Lin) En**:** Reunión Latinoamericana de la Papa Compendio, 1998. (9-13 febrero: Cochabamba, Bolivia).

CAPÍTULO IV

CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DEL GERMOPLASMA CONSERVADO EN EL INCA

Ana Estévez, María E. González, J. G. Castillo y J. L. Salomón

La colección de especies silvestres y cultivadas que consta de 552 accesiones se conservó mediante cultivo *in vitro* con crecimiento mínimo, así como una colección de especies silvestres mediante semilla botánica en condiciones refrigeradas y una colección de especies silvestres y cultivadas *in vivo* mediante tubérculos.

Un grupo importante de accesiones del banco se evaluaron en campo, para los principales caracteres del rendimiento y sus componentes, tizón temprano y tizón tardío. La *Alternaria solani* se evaluó en una escala de nueve grados, según Horsfall y Barrat (1945), citados por González (1998), donde uno es el mínimo de afectación y nueve el máximo. Se realizó el análisis de componentes principales, para valorar el grado en que cada carácter contribuye a la diferenciación varietal, partiendo de la matriz de correlaciones entre las variables analizadas. Con los grupos resultantes de los componentes principales se realizó un análisis discriminante.

Se trabajó en el sistema de información y documentación del germoplasma.

En la Tabla 1 se muestra un grupo de accesiones conservadas y su procedencia.

En la Tabla 2 se presentan los valores y vectores propios; las componentes C_1 y C_2 extrajeron el 64.3 % de la variación total, contribuyendo más al eje C_1 el rendimiento y la masa promedio (con 0.62 y 0.60 respectivamente), mientras que en la componente 2 (eje C_2) fueron las enfermedades causadas por la *Phytophthora infestans* y la *Alternaria solani*.

De acuerdo con el análisis de componentes principales, se formaron ocho grupos que fueron comprobados mediante el análisis discriminante. En los grupos I y II se encontraban los genotipos Monona, Bartina, 15-1-86, 6-264-85 y YP-85-100, que presentaron las mejores características en cuanto al rendimiento, número de tubérculos, masa promedio y *A. solani* y *P. infestans*.

Tabla 1. Accesiones y su procedencia

No.	Variedades	Procedencia	No.	Variedades	Procedencia
1	Frisia	Holanda	51	Bienmond79-157	Holanda
2	Desirée	Holanda	52	AP-8021	Holanda
3	Atzimba	México	53	NL 79-186	Holanda
4	Spunta	Holanda	54	Ovatio	Holanda
5	Bintje	Holanda	55	Alwara	Holanda
6	Bartina	Holanda	56	Holanda	Holanda
7	Delcora	Holanda	57	RZ-4-533	Holanda
8	Volzhanin	URSS	58	AP 80-2	Holanda
9	Iroise	Francia	59	Dorisa	RDA
10	Claudia	Francia	60	Arkula	RDA
11	Simcoe	Canadá	61	Ivonne	Holanda
12	F-73008	Canadá	62	Berber	Holanda
13	Ono	N. Zelandia	63	Brador	Holanda
14	Brigth	Holanda	64	Ajiba	Holanda
15	Diamant	Holanda	65	Agria	Holanda
16	Korrigane	Francia	66	KO-82-0845	Holanda
17	Lola	Francia	67	Saginam Gold	Canadá
18	Atlantic	Canadá	68	Amadeus	Holanda
19	Cardinal	Canadá	69	Cosma	Holanda
20	Baraka	Canadá	70	Erick	Holanda
21	Sahel	Francia	71	Cherokee	Canadá
22	Empire	Holanda	72	Felsina	Holanda
23	Arka	Holanda	73	Murillo	Holanda
24	Lady Roseta	Holanda	74	Soltana	Holanda
25	Onaway	Canadá	75	Lido	Holanda
26	Obelix	Holanda	76	MGB	Holanda
27	Crystal	Canadá	77	6-264-85	Cuba
28	BK-76-199-81	Holanda	78	3-27-85	Cuba
29	Brasovean 6 000	Rumanía	79	6-21I-85	Cuba
30	SB-71-105	Holanda	80	15-1-86	Cuba
31	Volzisky	URSS	81	6-340-85	Cuba
32	Ulianovsky	URSS	82	6-370-85	Cuba
33	Runa Redonda	URSS	83	Granola	Alemania
34	Ssp argentinicum	URSS	84	Mirakel	Holanda
35	V. Curtipilosum	URSS	85	Arinda	Holanda
36	V. Rosada	URSS	86	Norkata	Canadá
37	V. Morelos	URSS	87	Rossetta	Canadá
38	Funzanum	URSS	88	Pamina	Francia
39	F6-2322	URSS	89	Charisma	Francia
40	P6-10	URSS	90	Charlote	Francia
41	Ditta	Holanda	91	YP-85-100	Holanda
42	Kora	URSS	92	Aerelle	Holanda
43	Lipsi	RDA	93	Renoska	Holanda
44	Escort	Holanda	94	Concorda	Holanda
45	Mondial	Holanda	95	14-186	Cuba
46	KO 78-1096	Holanda	96	8-126-86	Cuba
47	Allagash Russet	Canadá	97	10-6-86	Cuba
48	Monona	Canadá	98	Novita	Holanda
49	Matilde	Holanda	99	Veronuska	RDA
50	AP 80-4	Holanda			

Tabla 2. Valores y vectores propios

	C1	C2
Valores propios	1.8	1.4
% Contribución total	36.1	29.2
% Acumulado	64.3	
Vectores propios		
Rendimiento	0.6236	-0.2487
Masa promedio	0.6055	-0.3964
No. de tubérculos por planta	0.0442	0.2276
P. infestans	0.2412	0.6824
A. solani	-0.4294	-0.5134

Se trabajó el sistema de información y documentación utilizando las potencialidades brindadas por *Borland Delphi 3.0 y Microsoft Access 97* sobre la plataforma *WINDOWS 95*.

Se emplean las técnicas de análisis y diseño orientado a objetos, haciendo uso para ello de la metodología *ADOOSI Visual* (Análisis y Diseño Orientado a Objetos de Sistemas Informáticos para medios ambientes visuales), en lo referido a la base de datos pasaporte y de caracterización de todo el germoplasma.

Otro grupo de 149 variedades del germoplasma procedentes de Holanda, Canadá, Francia y Alemania se evaluaron durante 10 años en el INCA. Los valores de la media, el coeficiente de variación, y los valores máximos y mínimos se estimaron para todas las variedades según su procedencia, los que se presentan en las Tabla 3.

Se encontró variabilidad para todos los caracteres evaluados; para el carácter número de tubérculos por planta se apreciaron diferencias en la procedencia, siendo las variedades de Alemania las de mayor número de tubérculos por planta y las de Canadá presentaron los valores más bajos. En cuanto a la variabilidad, las variedades del germoplasma alemán resultaron más variables. En relación con el tamaño de los tubérculos, dado por la masa promedio, se constató que las variedades procedentes del germoplasma de Canadá presentaron los valores más altos y el procedente de Holanda el más variable. Para el rendimiento ($kg.planta^{-1}$ y $t.ha^{-1}$), las variedades del germoplasma de Francia presentaron los mayores valores medio de rendimientos y el de Alemania, los valores medio más bajos, todos por encima de las 20 $t.ha^{-1}$. La mayor variabilidad se encontró en Holanda, con variedades que mostraron rendimientos superiores a 1.075 $kg.planta^{-1}$, lo que posibilitará la selección

de variedades con altos potenciales de rendimiento dentro de este germoplasma.

Tabla 3. Media, varianza, coeficiente de variación y valores máximos y mínimos para el rendimiento y sus componentes de un grupo de variedades procedentes de Holanda, Canadá, Francia y Alemania

Variables	Media	Coeficiente de variación	Valores Máximos	Valores Mínimos
Holanda				
Número de tubérculos.planta^{-1}	6.958	34.516	13	2
Masa promedio del tubérculo	0.079	32.890	0.177	0.029
Rendimiento (kg.planta^{-1})	0.542	41.209	1.075	0.065
Rendimiento (t.ha^{-1})	23.832	39.787	47.77	2.445
Masa seca	16.650	14.012	25.3	11.9
A. solani	3.947	32.505	6	1
Canadá				
Número de tubérculos.planta^{-1}	5.769	31.927	11	3
Masa promedio del tubérculo	0.092	27.610	0.147	0.051
Rendimiento (kg.planta^{-1})	0.523	36.690	0.924	0.091
Rendimiento (t.ha^{-1})	23.77	35.676	41.00	4.045
Masa seca	16.388	15.707	23.01	14.30
A. solani	3.3513	35.091	6	1
Francia				
Número de tubérculos.planta^{-1}	6.666	34.369	9	3
Masa promedio del tubérculo	0.084	17.203	0.106	0.066
Rendimiento (kg.planta^{-1})	0.631	24.458	0.827	0.066
Rendimiento (t.ha^{-1})	28.32	24.73	36.60	14.44
Masa seca	16.28	7.84	17.79	14.80
A. solani	3.66	33.40	5.00	3.00
Alemania				
Número de tubérculos.planta^{-1}	7.250	44.159	12	5
Masa promedio del tubérculo	0.064	24.817	0.084	0.0450
Rendimiento (kg.planta^{-1})	0.045	14.705	0.556	0.417
Rendimiento (t.ha^{-1})	20.520	18.010	26.044	18.548
Masa seca	16.2750	15.780	19.700	14.300
A. solani	4.250	32.527	5.00	3.00

Otro de los aspectos de gran importancia para el desarrollo de la industrialización de la papa es el contenido de masa seca de los tubérculos y se pudieron apreciar valores medio muy similares para las diferentes procedencias; sin embargo, las variedades de Holanda y Canadá mostraron contenidos superiores al 23 %, lo que demuestra la posi-

bilidad de seleccionar dentro de este germoplasma algunas variedades para la industria. En cuanto a la resistencia en campo al tizón temprano (*A. solani)*, se apreció variabilidad, presentándose valores medio de afectación bajos; no obstante, en el germoplasma de Holanda y Canadá, se cuenta con variedades con buena resistencia de campo a este patógeno.

Otro grupo importante de accesiones del banco se evaluó en campo para los principales caracteres del rendimiento y sus componentes, tizón temprano y tizón tardío. Se estimaron los principales estadígrafos (Tabla 4).

Tabla 4. Estadígrafos para el germoplasma

Caracteres	Media	DS	CV	Valores	
				Mínimo	Máximo
Rendimiento (kg.planta^{-1})	0.7491	0.324	43.25	0.10	1.825
Número de tubérculos por planta	7.8983	3.518	44.55	2.00	29.50
Masa promedio de los tubérculos (kg)	0.0999	0.035	35.45	0.014	0.228
Alternaria solani	6.255	1.440	23.02	3.000	9.000
Phytophthora infestans (%)	37.61	18.08	48.10	10.00	90.00

En la Tabla 4 se muestran los estadígrafos, donde se aprecia alta variabilidad para los diferentes caracteres evaluados; los valores para el rendimiento fluctuaron desde 0.10 hasta 1.825 kg.planta^{-1}. En relación con las enfermedades *A. solani* y *P. infestans*, se apreció una alta variabilidad, lo que nos permite tener en este germoplasma una fuente genética para la mejora de la papa.

En la Tabla 5, se presentan los genotipos que presentaron rendimientos por encima de 1 kg.planta^{-1}, apreciándose el híbrido AP-80-4 y la variedad foránea Berber, que presentaron muy buen comportamiento en campo ante las enfermedades.

El clon cubano 6-311-85 y el CIP 24, este último seleccionado a partir de progenies traídas del Centro Internacional de la Papa, presentaron altos rendimientos y muy buena resistencia en campo a los hongos *A. solani* y *P. infestans.*

La obtención de germoplasma con resistencia a *A. solani* y *P. infestans*, así como contar con variedades de alta calidad para consumo fresco e industrial es de suma importancia para el desarrollo de la papa en Cuba y la región.

Tabla 5. Germoplasma con rendimientos superiores a 1 kg.planta^{-1}

Clones	Rendimiento (kg.planta^{-1})	Número de tubérculos por planta	Masa promedio de los tubérculos (kg)	*Alternaria solani*	*Phytophthora infestans* (%)
Simcoe	1.025	10.16	0.100	7.00	25.00
Ono	1.000	29.50	0.033	8.00	75.00
Diamant	1.133	17.00	0.066	8.00	25.00
Campbell 13	1.050	10.50	0.100	4.00	25.00
Candidat	1.100	13.00	0.084	7.00	25.00
KO 78-1096	1.000	8.00	0.125	7.00	50.00
Matilde	1.593	8.57	0.185	7.00	25.00
AP 80-4	1.300	17.00	0.076	5.00	25.00
AP 80-21	1.000	6.00	0.166	4.00	50.00
NL 79-186	1.450	9.00	0.161	5.00	50.00
Ovatio	1.262	13.00	0.097	7.00	50.00
Berber	1.500	12.17	0.123	4.00	25.00
Turbo	1.050	8.00	0.131	8.00	25.00
Ilona	1.060	10.40	0.102	8.00	25.00
Karpina	1.050	8.00	0.130	8.00	50.00
263-43	1.250	8.87	0.140	5.00	50.00
293-12	1.033	10.00	0.103	8.00	25.00
6-84-85	1.162	7.87	0.147	7.00	50.00
6-87-85	1.142	12.28	0.093	8.00	25.00
6-311-85	1.025	9.75	0.105	4.00	25.00
6-340-85	1.000	11.60	0.086	7.00	25.00
6-342I-85	1.233	9.44	0.130	7.00	50.00
Rossetta	1.300	9.00	0.144	8.00	25.00
Yesmina	1.166	7.33	0.159	7.00	50.00
Fianna	1.300	12.00	0.108	7.00	25.00
Cornado	1.400	12.00	0.116	5.00	25.00
8-96-86	1.200	13.00	0.092	6.00	75.00
14-1-86	1.150	11.50	0.100	6.00	50.00
8-82-86	1.100	12.00	0.092	7.00	50.00
Elba	1.425	13.00	0.109	7.00	25.00
14-57-86	1.060	13.40	0.079	7.00	25.00
6-31I-85	1.150	9.00	0.127	5.00	50.00
CIP 14	1.100	5.00	0.220	5.00	50.00
CIP 15	1.633	16.33	0.100	7.00	10.00
CIP 18	1.266	13.00	0.097	6.00	25.00
CIP 24	1.400	8.75	0.160	4.00	10.00
CIP 35	1.010	9.60	0.105	5.00	25.00
CIP 42	1.600	15.00	0.106	5.00	25.00
CIP 51	1.344	11.00	0.122	7.00	50.00
CIP 52	1.060	17.40	0.060	7.00	25.00
CIP 59	1.100	6.00	0.183	8.00	50.00
CIP 68	1.020	10.60	0.096	7.00	50.00
CIP 81	1.100	7.00	0.157	7.00	25.00
CIP 82	1.000	10.00	0.100	5.00	10.00
CIP 87	1.075	11.00	0.097	6.00	25.00
CIP 89	1.286	20.66	0.062	5.00	25.00
CIP 107	1.230	12.20	0.100	7.00	25.00
CIP 109	1.050	12.00	0.087	7.00	50.00
CIP 113	1.550	13.50	0.115	5.00	50.00
CIP 114	1.086	6.42	0.168	7.00	25.00
CIP 115	1.080	8.20	0.131	8.00	50.00
CIP 116	1.300	12.00	0.108	7.00	50.00
CIP 128	1.125	8.00	0.140	3.00	10.00
CIP 143	1.087	8.62	0.126	6.00	50.00
CIP 144	1.600	7.00	0.228	7.00	25.00

CARACTERIZACIÓN DE CLONES CUBANOS DE DIFERENTES GENERACIONES PERTENECIENTES AL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO CUBANO

Se caracterizaron indistintamente 660 clones de primera generación, 162 de segunda, 75 de tercera, 38 de cuarta y 90 de quinta, para el rendimiento y sus componentes; la resistencia en campo a los hongos *A. solani* (tizón temprano) y *P. infestans* (tizón tardío), y el contenido de materia seca de los tubérculos en porcentaje. Se presentan los estadígrafos y se resaltan los clones que presentaron rendimientos por encima de 1 kg.planta^{-1} (Tablas 6 a la 14).

Se seleccionaron cinco clones procedentes de familias híbridas del CIP (Tabla 15), los que se plantaron en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas, usándose las variedades comerciales Red Pontiac, Desirée y Baraka como controles. Se evaluaron el rendimiento (kg.planta^{-1}), número de tubérculos por planta, masa promedio de los tubérculos (kg), porcentaje de materia seca de los tubérculos y la resistencia en campo a los hongos *A. solani* y *P. infestans*.

Se plantaron 13 clones cubanos (Tabla 16) en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas, usándose las variedades comerciales Red Pontiac, Desirée y Baraka como controles. Se evaluaron el rendimiento (kg.planta^{-1}), número de tubérculos por planta, masa promedio de los tubérculos (kg.), porcentaje de materia seca de los tubérculos y la resistencia en campo a los hongos *A. solani y P. infestans.*

En todos los casos para la evaluación del tizón temprano *(A. solani*), se utilizó una escala de nueve grados propuesta por Horsfalll y Barrat, citados por González (1998). El tizón tardío (*P. infestans*) se expresó en porcentaje.

Se evaluó el comportamiento de un grupo de clones cubanos y variedades para el virus del enrollamiento de la hoja (PLRV); la severidad de los síntomas se evaluó según la escala de 0.5 grados (Cordero, 1998), así como la aparición de los síntomas (Tabla 17).

RESULTADOS

En la Tabla 6 se presentan los estadígrafos media, desviación estándar, coeficiente de variación y los valores mínimos y máximos para el número de tubérculos por planta, rendimiento (kg.planta^{-1}) y masa promedio.

Tabla 6. Estadígrafos de clones en primera generación

Caracteres	Media	DS	CV	Valores	
				Mínimos	Máximos
Rendimiento (kg.planta^{-1})	1.020	0.404	39.65	0.150	2.500
Número de tubérculos por planta	10.07	5.27	52.35	3	41
Masa promedio de los tubérculos (kg)	0.115	0.050	43.85	0.019	0.383

Se observa una alta variabilidad del rendimiento y sus componentes, encontrándose clones con rendimientos máximos de 2,50 kg.planta^{-1}; en esta población se seleccionaron 23 clones con rendimientos superiores a 1 kg.planta^{-1}.

En la población de segunda generación se evaluaron 304 clones. En la Tabla 7 se observan los estadígrafos para los principales caracteres del rendimiento, la calidad y resistencia a tizón tardío y temprano

Tabla 7. Estadígrafos de clones en segunda generación

Caracteres	Media	DS	CV	Valores	
				Mínimos	Máximos
Rendimiento (kg.planta^{-1})	0.984	0.253	25.70	0.300	1.650
Número de tubérculos por planta	9.5	3.2	34.0	3.5	21
Masa promedio de los tubérculos (kg)	0.108	0.027	25.34	0.050	0.280
Alternaria solani	5.0	1.14	22.7	2	8
Phytophthora infestans (%)	53.7	20.9	39.3	10	97.5

Se aprecia alta variabilidad para todos los caracteres; 23 clones de esta población (Tabla 8) presentan rendimientos superiores a 1 kg.planta^{-1}, igualmente se apreciaron clones con alta resistencia y alto porcentaje de materia seca. Se destaca el clon 1-16-96, con altos rendimientos y resistencia a *Alternaria solani* y *P. infestans.*

La Tabla 9 presenta los estadígrafos de la población de clones de tercera generación, un total de 75 clones se seleccionaron y se aprecia una alta variabilidad para los caracteres en estudio.

Esta población se destaca por poseer clones con altos porcentajes de materia seca y resistencia a *A. solani* y *P. infestans*.

En la Tabla 10 se presentan los estadígrafos, media, desviación estándar, coeficiente de variación y los valores máximos y mínimos para un grupo de caracteres de clones de papa cubanos, de cuarta generación. En la tabla se aprecia variabilidad para todos los caracteres, siendo la masa promedio y el número de tubérculos por planta los más variables, seguido de la resistencia a *P. infestans*; el porcentaje de materia seca para esta población resultó el menos variable.

Tabla 8. Clones de segunda generación con rendimientos superiores a 1 kg.planta^{-1}

Clones	Rendimiento (kg.planta^{-1})	Número de tubérculos por planta	*Alternaria solani*	*Phytophthora infestans* (%)
1-65-96	1.020	8	5	50
1-16-96	1.030	13	3	25
11-3-96	1.031	8	5	50
1-76-96	1.036	20	4	25
1-33-96	1.040	7	4	50
3-15-96	1.045	17	6	90
3-12-96	1.052	6	5	50
7-25-96	1.052	15	5	25
2-13-96	1.050	7	4	25
1-44-96	1.050	16	4	25
1-40-96	1.100	11	5	50
12-59-60	1.100	12	5	75
11-8-96	1.100	7	4	50
7-7-96	1.100	15	5	50
5-12-96	1.100	13	5	50
1-10-96	1.150	18	5	25
11-19-96	1.200	6	3	25
17-9-96	1.300	6	5	25
1-36-96	1.300	17	4	50
4-1-96	1.300	17	5	50
1-28-96	1.400	6	4	90
2-11-96	1.600	12	5	50
1-5-96	1.650	10	5	25

Tabla 9. Estadígrafos de clones en tercera generación

Caracteres	Media	DS	CV	Valores	
				Mínimos	Máximos
Rendimiento (kg.planta^{-1})	0.941	0.181	19.29	0.500	1.433
Número de tubérculos por planta	9.9	3.5	35.8	4.2	23.0
Masa promedio de los tubérculos (kg)	0.104	0.030	29.2	0.050	0.201
Alternaria solani	5.1	1.05	20.5	2	8
Phytophthora infestans (%)	54.2	20.9	38.7	10	90
Materia seca (%)	16.33	0.88	5.4	14.1	19.1

Tabla 10. Estadígrafos de clones en cuarta generación

Caracteres	Media	DS	CV	Valores	
				Mínimo	Máximo
Rendimiento (kg.planta^{-1})	0.855	0.236	27.71	0.300	1.400
Número de tubérculos por planta	8.1	2.64	32.57	3.8	14.3
Masa promedio de los tubérculos (kg)	0.114	0.041	35.59	0.023	0.203
Alternaria solani	4.7	0.990	21.1	3	7
Phytophtora infestans (%)	48.4	14.5	29.9	25	90
Materia seca	19.14	1.35	7.04	16.25	21.44

Para el carácter rendimiento, se apreció que existen clones con 1.4 kg.planta^{-1}, o sea, superiores a las 60 t.ha^{-1} (Tabla 11)**,** lo que nos permitirá utilizarlos directamente en la producción papera por sus altos rendimientos; en cuanto a la resistencia en campo a *A. solani* y *P. infestans*, se cuenta con clones resistentes para las condiciones cubanas.

Tabla 11. Clones de cuarta generación con rendimientos superiores a 1 kg.planta^{-1}

Clones	Rendimiento (kg.planta^{-1})	Número de tubérculos por planta	Materia seca (%)	*Alternaria solani*	*Phytophthora infestans* (%)
10-95-94	1.017	14	20.56	5	50
10-25-94	1.008	14	19.70	4	50
9-31-94	1.025	7.8	18.70	5	50
2-2-94	1.062	13	17.00	4	25
9-20-94	1.111	7.7	16.40	4	50
8-68-94	1.125	9.8	20.00	7	50
8-8-94	1.200	7.5	20.40	5	50
7-79-94	1.217	6.0	21.20	4	75
4-66-94	1.285	6.4	18.70	5	50
9-65-94	1.400	9.8	20.00	4	25

Para la calidad, aspecto de suma importancia y que está siendo priorizado dentro de los programas de Cuba y la región, se constató la presencia de clones con valores superiores al 20 % de materia seca, lo que debe continuarse estudiando en diferentes años y localidades.

En la Tabla 12 se muestra el comportamiento de un grupo de 90 clones de quinta generación.

Tabla 12. Estadígrafos de clones de quinta generación

Caracteres	Media	DS	CV	Valores	
				Mínimos	Máximos
Rendimiento (kg.planta^{-1})	0.852	0.208	24.5	0.454	1.600
Número de tubérculos por planta	8.4	2.8	33.9	4	23.3
Masa promedio de los tubérculos (kg)	0.160	0.024	23.1	0.045	0.181
Alternaria solani	4.5	0.84	18.6	3	6
Phytophthora infestans (%)	56.1	15.0	26.7	25	97.5
Materia seca (%)	17.23	9.3	53.74	19.44	22.38

En la tabla se aprecia variabilidad para los diferentes caracteres evaluados, sobresaliendo el porcentaje de materia seca, que en las poblaciones anteriores se había notado con poca variabilidad. Se puede apreciar que estos clones mostraron alto porcentaje de materia seca y altos rendimientos, que se presentan en la Tabla 13. El clon 1-420-93 presentó contenido de materia seca y rendimientos altos así como un comportamiento aceptable ante las enfermedades.

Tabla 13. Clones de quinta generación con rendimientos superiores a 1 kg.planta^{-1}

Clones	Rendimiento (kg.planta^{-1})	Número de tubérculos por planta	Materia seca (%)	*Alternaria solani*	*Phytophthora infestans* (%)
6-84-93	1.012	9.8	17.00	4	50
6-73-93	1.025	9.0	17.40	4	50
2-80-93	1.033	13.3	19.20	4	50
6-82-93	1.043	8.4	20.70	4	50
1-218-93	1.050	13	15.30	5	50
2-158-93	1.050	11.5	17.60	3	25
14-36-93	1.068	11.6	17.10	3	25
3-52-93	1.117	12.0	17.40	6	75
10-6-93	1.125	9.1	18.70	4	50
1-420-93	1.143	9.7	21.80	4	50
1-88-93	1.228	10.7	20.50	6	75
2-14-93	1.264	7	17.00	5	50
4-6-93	1.460	19.4	17.40	4	50
2-125-93	1.475	15.50	17.60	4	50
1-401-93	1.600	11.0	17.10	4	50

En la Tabla 14 se aprecia el comportamiento de cinco clones cubanos, seleccionados a partir de progenies híbridas introducidas del Centro Internacional de la Papa (CIP).

Se aprecia en la tabla que los clones CIP 95, CIP 107 y CIP 1 presentaron rendimientos por encima de 1 kg.planta^{-1}, difiriendo de la variedad control Baraka; además, se encontraron diferencias altamente significativas para todos los caracteres en estudio.

Tabla 14. Comportamiento del rendimiento y sus componentes, porcentaje de materia seca y resistencia a las enfermedades de clones cubanos provenientes de familias híbridas del CIP

Clones	Rendimiento (kg.planta^{-1})	Número de tubérculos por planta	Masa promedio de los tubérculos (kg)	*Alternaria solani*	*Phytophthora infestans* (%)	Materia seca (%)
CIP 95	1.070 a	5.2 d	0.220 a	5.00 bc	31.25 d	17.47 cd
CIP 107	1.040 ab	7.4 ab	0.140 b	4.00 d	17.50 e	16.35 de
CIP 1	1.020 ab	8.6 a	1.120 bc	5.50 ab	56.25 b	20.76 a
Desirée ©	0.900 ab	8.6 a	0.100 c	5.25 b	56.25 b	18.15 bc
CIP 81	0.880 ab	8.1 ab	0.110 c	4.00 d	31.25 d	20.66 a
Red Pontiac©	0.850 ab	8.1 ab	0.110 c	6.25 a	75.00 a	15.64 e
Baraka ©	0.800 b	6.8 bc	0.110 c	4.25 cd	43.75 c	18.56 bc
CIP 142	0.410 c	5.6 cd	0.070 d	3.75 d	37.50 cd	19.22 ab
Es x ±	0.025***	0.228***	0.004***	0.262***	3.800***	0.533***

© Control *** Significativo para P<0.01

Medias con letras en común no difieren significativamente según Duncan para P<00.5

En la Tabla 15 se presentan los principales caracteres del rendimiento, la calidad y resistencia a enfermedades de un grupo de clones cubanos de papa.

Tabla 15. Comportamiento del rendimiento y sus componentes, porcentaje de materia seca y resistencia a las enfermedades de un grupo de clones cubanos

Clones	Rendimiento (kg.planta^{-1})	Número de tubérculos por planta	Masa promedio de los tubérculos (kg)	*Alternaria solani*	*Phytophthora infestans* (%)	Materia seca (%)
8-100-86	1.460 a	13.8 a	0.110 abc	4.75 bc	43.75 bcd	17.10
6-220-85	1.280 ab	12.7 ab	0.110 abcd	4.00 cdef	37.50 cde	18.16
6-341-85	1.130 bc	10.6 bcd	0.110 abc	3.50 ef	33.75 cdef	17.87
6-340I-85	1.120 bcd	9.2 cde	0.120 ab	4.00 cdef	17.50 efg	17.20
8-84-86	1.050 bcd	7.7 e	0.140 a	3.50 ef	17.50 efg	17.73
Desirée ©	1.010 bcde	8.0 de	0.130 ab	5.00 ab	62.50 ab	17.30
6-427-85	0.970 cdef	11.4 ab	0.080 cde	3.75 def	37.50 cde	17.00
6-340A-85	0.920 cdef	6.9 e	0.140 a	3.25 f	13.75 fg	17.72
3-27-85	0.840 cdefg	6.7 e	0.130 ab	3.75 def	27.50 defg	17.76
6-10I-85	0.830 defg	8.0 de	0.100 bcd	3.75 def	31.25 cdef	18.00
R. Pontiac©	0.820 defg	8.1 de	0.100 bcd	5.75 a	75.00 a	16.10
6-463-85	0.730 efg	7.2 e	0.130 ab	3.50 ef	10.00 g	17.82
3-92-85	0.680 fg	8.3 de	0.080 cde	3.50 ef	17.50 efg	18.29
Baraka ©	0.620 g	7.0 e	0.090 cde	4.50 bcd	43.75 bcd	17.79
6-10-85	0.580 g	8.5 de	0.070 e	4.25 bcde	50.00 bc	17.40
8-95-86	0.550 g	7.2 e	0.070 de	4.25 bcde	37.50 cde	17.75
Es x ±	0.090 ***	0.858 ***	0.010 ***	0.276 ***	6.182 ***	0.263 ns

© Control *** Significativo para P<0.01

Medias con letras en común no difieren significativamente, según Duncan para P<00.5

Se aprecian diferencias altamente significativas para todos los caracteres evaluados. Los valores del rendimiento fluctuaron entre 0.550 y 1.460 kg.planta^{-1}, sobresaliendo el clon 8-100-86 con rendimientos de 1.460 kg.planta^{-1}, superiores al resto de los clones y las variedades controles, Desirée, Red Pontiac y Baraka.

En relación con la resistencia al tizón temprano (*A. solani*) y tizón tardío (*P. infestans*), se apreciaron diferencias altamente significativas entre los clones para el caso de *A. solani*, evaluada en una escala de nueve grados; los clones presentaron un buen comportamiento ante esta enfermedad.

Para el tizón tardío (*P. infestans*), todos los clones fueron superiores estadísticamente a la variedad Red Pontiac, la que es muy susceptible al tizón temprano. En cuanto al porcentaje de materia seca, no se encontraron diferencias significativas entre los clones y las variedades en estudio.

A nivel mundial se realizan diferentes trabajos para la búsqueda de resistencia en especies silvestres y cultivadas (Douche *et al.*, 2001 y Dorrance *et al.*, 2001).

En la Tabla 16 se muestran las variedades que mejor comportamiento del rendimiento presentaron a escala de producción.

Tabla 16. Variedades foráneas que presentaron los mayores rendimientos durante la campaña 1998-1999 en condiciones de producción

Variedades	Rendimientos	
	$t.ha^{-1}$	$qq.cab^{-1}$
Spunta	35.57	10380
Santana	30.56	8919
Bartina	30.30	8841
Mondial	30.29	8840
Diamant	29.60	8639
Romano	29.41	8582
Ajiba	29.12	8499
Desirée	28.27	8251

Se aprecia que los rendimientos fluctuaron entre 28.27 a 35.57 $t.ha^{-1}$. Las variedades Spunta, Santana, Bartina y Mondial presentaron rendimientos por encima de las 30 $t.ha^{-1}$, lo que demuestra la posibilidad que tiene Cuba de producir papa a pesar de las condiciones de país subtropical y dependiente de frentes fríos para el desarrollo de este cultivo; es de destacar los altos rendimientos presentados por la variedad Desirée, que es de alta calidad para la conservación en cámara refrigerada y de gran aceptación por la población cubana. Diferentes trabajos para la selección de variedades foráneas de papa y la interacción genotipo-ambiente han sido realizados en Cuba (Estévez *et al*., 1994, 1994a y 1996 y Zamora *et al*., 1998).

En la Tabla 17 se muestran los rendimientos de un grupo de variedades foráneas en diferentes etapas de evaluación.

Tabla 17. Rendimiento de variedades foráneas durante la campaña 1998-1999

Introducción		Primer año		Segundo año		Tercer año	
Variedades	Rendimiento ($t.ha^{-1}$)	Variedades	Rendimiento ($t.ha^{-1}$)	Variedades	Rendimiento ($t.ha^{-1}$)	Variedades	Rendimiento ($t.ha^{-1}$)
Calvite	38.888	MarInca	48.100	Fabula	29.100	Armada	35.521
Be 84-085-32	34.073	Amurosa	33.054	Desirée	36.050	Latona	31.781
Novan	22.592	Desirée	35.39	Vivaldi	31.111	Picasso	29.565
Racket	13.703	Colombus	26.851	Cantate	30.971	Desirée	33.441
Stet 90-35-08	26.481	Chieftain	33.517	Chieftain	30.462	Kuroda	30.154
Velox 72-108	27.036	Platina	28.626	Santana	32.082	Florissant	27.404
Desirée	36.295	Arnova	40.358	Arosa	29.536	Bimonda	25.923
Chieftain	30.925	YP 88-056	37.221			Synfonia	26.811
Stet 91-41-78	34.073					Chieftain	28.482

BIBLIOGRAFÍA

Cordero, M. Bases metodológicas para la evaluación de la resistencia al PLRV en genotipos de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Cuba. Tesis para optar por la Maestría en Ciencias Biológicas, 1998, 69 p.

Douches, D.; Bamberg, J.; Kirk, W.; Jastrzebski, K.; Niemira, B.; Coombs, J.; Bisognin, D. y Felcher, J. Evaluations of wild *Solanum* species resistance to the US-8 genotype of *Phytophthora infestans* utilizing a fine-screening technique. *American Journal of Potato Research*, 2001, 78 (2):159-165.

Dorrance, A.; Inglis, D., Helgeson, J. y Borwn, C..Partial resistance to *Phytophthora infestans* in four *Solanum* crosses. *American Journal of Potato Research*, 2001, 78 (1): 9-18.

Estévez, A.; González, M. E. y Cordero, M. Primeras variedades de papa cubanas. *Cultivos Tropicales*, 1994, 15 (2): 74-79.

Estévez, A.; Esquivel, M.; González, M. E. y Varela, M. Study and utilization of potato genetic resources in Cuba. *Plant Genetic Resources*. Newsletter, 1994a. 9: 29-33.

Estévez, A.; González, M. E.; Nimubona, N. y Castillo, J. Obtención y evaluación de progenies de semillas sexual de papa. Parte I. *Cultivos Tropicales***,** 1996, 17(1): 60-64.

González, M. E. Mejoramiento por hibridación de la papa en Cuba. Tesis de grado (Dr. en Ciencias Agrícolas); INCA. 1998, 71 p.

Zamora, N.; Estévez, A.; Sánchez, H.; Cordero, M.; Salomón, L.; González, M. E.; Iglesias, I. y Peeten, H. Estudio y selección de variedades foráneas de papa (*Solanum tuberosum* Lin) En**:** Reunión Latinoamericana de la Papa. Compendio (1998:9-13 Febrero: Cochabamba Bolivia).

CAPÍTULO V

FERTILIDAD DEL POLEN

María E. González y Ana Estévez

INTRODUCCIÓN

La determinación de la fertilidad del polen es de gran importancia en investigaciones relacionadas con la reproducción sexual y especialmente para asegurar el éxito de las hibridaciones al iniciar un programa de mejoramiento.

Entre los principales problemas que se presentan en los cruzamientos en papa (*Solanum tuberosum* L.) se encuentra la no funcionalidad del polen (Huamán, 1995; Trognitz, 1995; Conicella, *et al*., 1996 y Maine, 1997), lo que puede ser provocado por problemas genéticos, como es la incompatibilidad en la germinación o el desarrollo del tubo polínico cuando existen barreras para la hibridación (Van Marrewijk, 1993; Trognitz, 1995; Hosaka y Haneman, 1998). Las condiciones ambientales adversas pueden causar la no funcionalidad polínica (Fernández-Muñoz, González-Fernández y Cuartero, 1994 y 1995 a, b; Stone, Thomson y Dent-Acosta, 1995), lo que está en dependencia del genotipo. Las altas temperaturas inhiben la floración, la producción de polen y su viabilidad, limitando la producción de semilla botánica. También es bloqueada la diferenciación y el crecimiento del esporofito es reducido (Bamberg, 1995; Almekinders, 1995; Towil y Walters, 2000).

Las variedades de la subespecie tuberosum usualmente no florecen en condiciones de días cortos y fríos. Además, algunas variedades de papa, especialmente las muy precoces, raramente florecen y si lo hacen es por un período muy corto (Estrada, 2000).

Según Towill y Walters (2000), el estrés de calor y humedad provocan una disminución de la cantidad y calidad del polen, lo que puede ser ocasionado por una menor cantidad de nutrientes presentes en la antera y la degeneración temprana del tapete, así como una reducción importante en el número de granos formados, como consecuencia del elevado porcentaje de abortos de células madres de polen y de microsporas en diferentes etapas de su formación (Domínguez, 2000).

MÉTODOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL POLEN

El éxito de las hibridaciones depende en gran medida de la capacidad del polen para germinar y las condiciones ambientales durante la formación, el desarrollo y la maduración del polen (Adiwilaga y Brown, 1991 y Huamán, 1995), por lo que se hace necesario el desarrollo de métodos de evaluación de la fertilidad del polen confiables y de rápida ejecución, así como el ajuste de medios de cultivo óptimos para la germinación del polen (Jahier *et al.*, 1992 y Singh, 1993), pues los componentes que requiere el medio de germinación del polen varían entre las diferentes especies de plantas (Demeke y Hughes, 1991).

La calidad del polen se podría definir en términos de fertilidad, como la potencialidad del microgametofito para fecundar al macrogametofito y producir el cigoto (Fernández, 1990). Se han utilizado diferentes métodos para analizar la calidad del polen, que se pueden agrupar en: tinciones morfológicas, pruebas de vitalidad del grano de polen, germinación *in vitro* y los basados en el desarrollo del tubo polínico *in vivo* y *semi vivo* tras realizar polinizaciones controladas.

TINCIONES MORFOLÓGICAS O VIABILIDAD DEL POLEN

Esta prueba consiste en la observación del polen al microscopio tiñéndolo con algún colorante. Se consideran como granos válidos aquellos que se colorean y presentan una morfología normal característica de cada tipo de polen (Stanley y Linskens, 1974 y Singh, 1993). Se han utilizado diversos colorantes como acetocarmín, azúl de algodón, la mezcla verde de metilo, rosa de Bengala, mezclas de colorantes más complejos, azúl de resorcina, violeta genciana y yodo-yoduro potásico, entre otros. La principal ventaja de las tinciones morfológicas estriba en la facilidad y rapidez de las lecturas (Brown *et al.*, 1991) y que permiten manejar un gran número de muestras en relativamente poco tiempo (González *et al.*, 1992 y Jahier *et al.*, 1992), siendo posible, además, acumular las muestras para realizar las observaciones en serie, ya que los colorantes van acompañados de algún tipo de fijador (Fernández, 1990).

Sin embargo, a pesar de los inconvenientes que presentan estas tinciones, podrían permitir una buena estimación de la viabilidad del polen sometido a algún tipo de estrés, siempre que este se manifieste fundamentalmente en un aumento del número de granos de polen abortados (Fernández-Muñoz *et al*., 1994).

En la Tabla 1 se aprecia el porcentaje de tinción del polen de algunas especies silvestres y cultivadas de papa. Estas especies en su mayoría presentaron valores de tinción superiores al 90 %; solamente las especies *Solanum hougassi, Solanum guerreroense* Corr., *Solanum brevicaule* Bitt, *Solanum knappei* Yuz et Buk, *Solanum schickii* Yuz et Buk, *Solanum subtilius, Solanum ochoanum Lechn* y *Solanum garciae Yuz et Buk* obtuvieron menores porcentajes. Pandey y Gupta (1995) señalaron que la fertilidad del polen es muy superior cuando proviene de la *subespecie andigena* que cuando proviene de la *subespecie tuberosum.*

Tabla 1. Porcentajes de tinción del polen de especies de papa

Especies	Tinción (%)
S. bulbocastanum Dun	98
S. cardiophyllum Lindl	99
S. brachicarpum Cor	97
S. demissum Lindl	99
S. hougasii	71
S. guerreroense Corr	77
S. semidemissum Yus	96
S. ajuscoense Buk	97
S. fendleri Gray	96
S. polytrichow Rydb	98
S. vallis-mexici Yuz	96
S. brachistotrichum (Bitt) Rydb	97
S. acaule Bitt	98
S. arrac-papa Yuz	99
S. brevicaule Bitt	82
S. lechnoviczii Hawk	96
S. leptophyes Bitt	99
S. multidissectum Hawk	97
*S. sparsipilum (*Bitt) Yuz et Buk	96
S. spegazzini Bitt	97
S. macolae Buk	97
S. simplicifolium Bitt	96
S. tarigense Hawk	99
S. chacoense Bitt	97
S. chacoense Bitt pi 21 7451	94
S. chacoense Bitt Pi 27 5136	96
S. chacoense Bitt Pi 27 5141	96
S. chacoense Bitt Oka	99
S. laplaticum Buk	93
S. knappei Yuz y Buk	72
S. parodii Yuz y Buk	98
S. saltemse Hawk	98
S. schickii Yuz y Buk	77
S. subtilius	89
S. ochoanum Lechn	85
S. commersonii Dun	91
S. garciae Yuz y Buk	68
S. phureja Yuz y Buk	96
S. tuberosum subsp. andigena	92

El comportamiento de la tinción del polen de las variedades estudiadas se presenta en la Tabla 2, destacándose las variedades Lady Rosseta y Redsen con 91 y 87 % respectivamente. Las variedades Larga, Spunta, Atlantic, Crystal, Maradonna, Phyne Red, Lutetia y Rosa presentaron porcentajes inferiores al 50 %, siendo la variedad Atlantic la que alcanzó el menor valor (15 %).

Tabla 2. Porcentajes de tinción del polen de variedades de papa

Variedades	Viabilidad (%)
Larga	47
Cascade	54
Desirée	51
Spunta	40
Atlantic	15
Monona	72
Crystal	34
F-72090	65
Maradonna	45
Redsen	87
Romano	69
Delcora	59
Phyne Red	31
Lutetia	23
Rosa	21
Lady Rosetta	91
Bienmond 79-157	75

Es de resaltar que la variedad Spunta presentó anteras pálidas, lo cual a veces coincide con la esterilidad masculina. Según Estrada (2000), las plantas con citoplasma de *tuberosum* con frecuencia muestran baja fertilidad del polen, debido a la esterilidad masculina genético-citoplasmática.

Los estadígrafos de las variedades y especies estudiadas (Tabla 3) evidenciaron una media del 93 % para las especies y 51 % para las variedades, con un rango que osciló entre 71 y 99 % y 15 y 91 % respectivamente, así como una mayor variabilidad entre variedades con un coeficiente de variación de 41.8 %. Estévez (1985), en estudios de viabilidad del polen en cinco variedades de papa, encontró que los valores oscilaban entre 30 y 80 % .

Para el polen conservado que normalmente mantiene su capacidad de hidratación y su morfología normal, aunque va perdiendo su potencialidad para germinar en el tiempo, se ha probado que las tinciones morfológicas no son buenas técnicas de medida de la fertilidad real

(Shivanna, Linskens y Cresti, 1991, b; Moreno, Mendoza y Mendoza, 1992; Stone, Thomson y Dent-Acosta, 1995).

Tabla 3. Estadígrafos de variedades y especies de papa

Genotipos	Media	Desviación estándar (%)	Coeficiente de variación (%)	Rango
Especies	93	8.6	9.2	71-99
Variedades	51	21.3	41.8	15-91

En la Tabla 4 se observa que el porcentaje de tinción del polen, de nueve especies de papa a los 150 días de conservación, se mantuvo superior al 95 %. Si se comparan estos valores con los obtenidos al primer día de colectado el polen (Tabla 4), se aprecia que casi no hubo variación. En investigaciones realizadas por Estévez (1985) en cinco variedades de papa, se pudo apreciar un comportamiento diferencial con valores más bajos para el porcentaje de viabilidad, que disminuyó con el tiempo de forma más marcada, lo cual puede deberse a que son diferentes genotipos y otras condiciones de almacenamiento del polen.

Tabla 4. Porcentajes de tinción del polen de nueve especies de papa a los 150 días de almacenamiento a 17ºC

Especies	Tinción (%)
Solanun brachistotrichum (Bill) Rvdb	96
Solanum vallis mexici Yuz	96
Solanun ajuscoense Buk	97
Solanum flenderi Grav.	97
Solanum multidissectum Hawk.	96
Solanum brachycarpum Corr.	97
Solanum simplicifolium Bitt.	95
Solanun chacoense Bitt.	98
Solanum phureja	96

En la Tabla 5 se muestra la apreciación visual de los granos de polen viables para el método de tinción morfológica con acetocarmín y lactofenol-carmín. Con carmín son teñidos de rojo, los granos redondos vivos, redondos con citoplasma muerto y redondos con degeneración del citoplasma. Con lactofenol-carmín son teñidos de rojo brillante, los granos vivos y redondos con citoplasma muerto.

Tabla 5. Apreciación visual de los granos de polen viables para dos tinciones. Clasificación basada en la forma y el contenido de los granos de polen

Tinciones	Características fenotípicas del grano de polen		
	Redondos con citoplasma vivo	Redondos con citoplasma muerto	Redondos con degeneración del citoplasma
Carmín	+	+	+
Lactofenol	+	+	-

El carmín y el lactofenol tiñeron citoplasmas vivos y muertos, donde se realiza una sobrestimación de la fertilidad del polen. Esto se evidencia en la Tabla 6, donde se observan valores muy similares para los dos métodos, aunque hay que resaltar que el lactofenol no coloreó los granos de polen con degeneración del citoplasma; sin embargo, estos granos se presentaron en muy baja frecuencia y es por ello que no aportaron mucho al porcentaje total. Janssen y Hersem (1976) encontraron valores de viabilidad del polen para *Solanum phureja* superiores al 80 % y menores de 40 % en *Solanum tuberosum*, logrando los mismos resultados de viabilidad utilizando acetocarmín y fuccina.

Tabla 6. Porcentajes de tinción de polen fresco y almacenado por diferentes días a 4ºC

Variedades	Días	Tinciones	
		Carmín	Lactofenol-carmín
Marinca	1	78	77
	5	82	81
	10	86	84
Kondor	1	78	75
	5	83	80
	10	80	78
Aninca	1	55	54
	5	56	55
	10	59	57
Desirée	1	49	50
	5	52	50
	10	50	51
Atlantic	1	10	10
	5	12	9
	10	9	8

Estos métodos son muy fáciles y rápidos pero dan solamente una indicación de la fertilidad masculina. Los análisis de proporciones realizados para cada variedad, tinciones y días de almacenamiento (Tabla 6),

no encontraron diferencias entre colorantes y sus valores fueron muy parecidos. Las variedades Marinca y Kondor presentaron los mayores porcentajes de viabilidad del polen, mientras que la variedad Atlantic alcanzó muy bajos valores, lo que la limita como progenitor masculino. Según lo planteado por Estrada (2000), la esterilidad masculina es más común que la femenina en los cultivares de *Solanum tuberosum.*

En polen fresco, las tinciones tampoco expresan con exactitud la capacidad germinativa, ya que estas técnicas se basan en el aborto o no del polen, proceso un tanto alejado de la germinación, y aún más de la fertilización, sobrestimando la viabilidad polínica real (Tanner *et al.*, 1990; González y Estévez, 1991; Kearns e Inouye, 1993), ya que una parte de los granos no abortados puede que hayan perdido la facultad de germinar, sin que ello implique malformaciones morfológicas (Stanley y Linskens, 1974; Janssen y Hermsen, 1976).

Los resultados del análisis de varianza para el porcentaje de viabilidad del polen evidenciaron la inexistencia de interacción entre variedades, temperatura de conservación y días de almacenamiento. Los resultados de la prueba de rangos múltiples de Duncan ($p<0.05$) mostraron la existencia de diferencias significativas entre las variedades con valores que oscilaron entre 34.7 y 53.7 %, destacándose la Omega y la Cardinal con los porcentajes más elevados y diferencias significativas entre ellas y el resto de las variedades (Tabla 7).

Tabla 7. Porcentajes de tinción del polen de variedades utilizadas como progenitores

Variedades	Medias
Omega	53.7 a (64.9)
Cardinal	50.9 b (60.2)
Baraka	49.2 c (57.3)
Desirée	46.8 d (53.3)
Lizen	39.3 e (40.2)
Marlene	36.6 f (35.5)
Spunta	34.7 g (32.5)
x ± Es	44.5± 0.3***

( ) valor original *** significativo para $p<0.001$

Medias con letras en común no presentan diferencias significativas según prueba de Duncan para $p<0.05$

El polen conservado mantuvo su morfología normal a través del tiempo y fue capaz de colorearse, no apreciando variación para las dos temperaturas de conservación y días de almacenamiento; sin embargo, el polen va perdiendo su potencial para germinar con el tiempo (Stone,

Thomson y Dent-Acosta, 1995). Estos resultados coinciden con lo señalado por Origo y Hershey (1984) y González *et al*., (1992), quienes encontraron porcentajes de tinción similares para el polen fresco y almacenado.

Según Tanner *et al*. (1990), el acetocarmín sobrestima la viabilidad del polen, pero da información adicional de la morfología nuclear. Este método se puede utilizar para la discriminación cuando se tienen muchos genotipos, pues tiene la ventaja de permitir hacer predicciones rápidas de la fertilidad masculina.

Las tinciones solo permiten detectar diferencias entre granos de polen abortados y no abortados y su utilidad es, fundamentalmente, en los estudios de androesterilidad (Stone, Thomson y Dent-Acosta, 1995; Filotico, Carputo y Barone, 1995), para conocer el diámetro del polen (Bamberg y Hanneman, 1991a; Brown *et al.*, 1991; Ortíz y Camadro, 1994; García, González y Sam, 1996; De Maine, 1997) y la dotación cromosómica (Huamán, 1995).

En la Tabla 8 se aprecian las mediciones del diámetro del polen de especies utilizadas como progenitores así como los niveles de ploidía informados y estimados. Las especies diploides 2n=2x=24 presentaron medias muy similares, que oscilaron entre 21.10 y 22.84 µm respectivamente. Sin embargo, la especie tetraploide presentó un valor de 25.51 µm. Brown *et al*. (1991) plantearon un diámetro de 20 µm para polen "n" y 26 µm para "2n".

Tabla 8. Mediciones del diámetro del polen y niveles de ploidía de algunas especies silvestres y cultivadas de papa

Especies	Diámetro del polen (µm) x ± Es	Ploidía	
		Informada	Estimada
S. leptophyes Bitt.	21.10 ± 0.23	2x	2x
S. tarijense Hawkes	22.37 ± 0.16	2x	2x
S. verrucosum Schlechtd	22.20 ± 0.20	2x	2x
S. commersonii Dun.	22.70 ± 0.19	2x	2 x
S. chacoense Bitt.	22.12 ± 0.18	2x	2x
S. multidisectum Hawkes	20.57 ± 0.14	2x	2x
S. politrychon Rydb.	25.51 ± 0.17	4x	4x
S. stenotomum Juz. y Buk.	22.84 ± 0.23	2x	2x
S. phureja Juz. y Buk.	22.72 ± 0.19	2x	2x

De acuerdo con los resultados, se pudo determinar que existió coincidencia total entre los niveles de ploidía informados y observados, pudiéndose determinar el nivel de ploidía de las especies silvestres

diploides (2n=2x=24) y tetraploides (4n=4x=48), según el diámetro del polen, lo que corrobora la efectividad del método de medición del diámetro del polen para la estimación del nivel de ploidía.

Los resultados al analizar el diámetro del polen estimado de un tetraploide a partir de la relación ^{3}vn.d1x, difieren de lo observado en 0.18 µm con una coincidencia de 99.5 % y una correlación de 0.98 (Tabla 9), lo que confirma para este caso que el método es válido. Esta relación entre ploidía y diámetro del polen de papa coincide con Brown *et al*. (1991). Por otra parte, Bamberg y Hanneman (1991b) afirmaron que este método es válido para distinguir diploides de tetraploides, sin tener en cuenta sus antecedentes taxonómicos.

Tabla 9. Resultados al analizar el diámetro del polen (µm)

Ploidía del donante	2x	4x
Ploidía del polen	1x	2x
Diámetro observado	22.23	26.49
Diámetro estimado	-	26.67
Diferencia	-	0.18
Porcentaje de coincidencia	-	99.50
Coeficiente de correlación	-	0.98

PRUEBAS DE VIABILIDAD DEL POLEN

Estas técnicas son un paso de avance con respecto a las tinciones morfológicas. Con ellas se trata de establecer una conexión entre la fertilidad polínica y algunas características enzimáticas o bioquímicas inherentes a las células vivas.

La primera de estas pruebas es la tinción con sales de tetrazolio. La respuesta positiva se produce cuando el sistema enzimático respiratorio del polen es funcional, reduciendo las soluciones neutras de tetrazolio, que son incoloras. Así, en el citoplasma se forma un compuesto insoluble formazan reducido de color rojo. Esta tinción da resultados bastante aceptables en cuanto a la estimación de la fertilidad del polen. Según Stone, Thonson y Dent-Acosta (1995), esta prueba no es muy confiable, dando un estimado relativo de la viabilidad en dependencia de la especie. Otra dificultad del método es que el grano de polen puede tener intensidades de pálido a rojo, dificultando su observación (Shivanna y Rangaswamy, 1992).

El *test* de la benzidina o la peroxidasa se basa en la oxidación de la benzidina por las peroxidasas presentes en las células vivas en presencia de peróxido de hidrógeno por la acción de la catalasa. La respuesta

a la reacción es característica a cada tipo de polen. Los granos abortados se distinguen por su morfología irregular y carencia de contenido. Los conteos se deben realizar inmediatamente, pues el polen viable termina por estallar. En *Solanum* la prueba de la peroxidasa no parece estimar bien la fertilidad del polen (Jansen y Hersen, 1976). Esta prueba puede dar resultados erróneos en granos de polen malformados; por ello se utiliza muy poco.

La prueba de la reacción fluorocromática (FCR) también usa la actividad enzimática como un indicador. Esta técnica se basa en la facilidad del diacetato de fluoresceina para atravesar las membranas biológicas. Este compuesto es hidrolizado en el citoplasma por una esterasa, liberándose fluoresceina, que tiene mucha dificultad para salir del grano. De esta forma, la fluoresceina se acumula en el polen y si se observa con un microscopio de fluorescencia, la emisión es fácilmente apreciable. Si la membrana de la célula vegetativa está dañada, la fluorescencia liberada puede salir del grano de polen y no se observa fluorescente. De igual manera, si en el grano no existe la esterasa funcional, tampoco se acumula la fluoresceina. El *test* confirma la actividad enzimática y membrana celular intacta (Kearns e Inouye, 1993). La prueba de reacción de la fluoresceina correlaciona bien con la germinación *in vitro* para algunas especies (La Porta y Roselli, 1991), aunque a veces puede sobrestimar la viabilidad (Stone, Thomson y Dent-Acosta, 1995).

Las pruebas de vitalidad del polen parece que sobrestiman su fertilidad (Domínguez, 2000), aunque en menos grado que las tinciones morfológicas, ya que algunos granos con respuesta positiva en algunas de estas técnicas puede que no sean capaces de germinar. La FCR parece estimar con precisión el porcentaje de granos que germinan en el estigma. No obstante, algunos de estos granos potencialmente germinales no tendrían suficiente vitalidad, como para emitir un tubo polínico capaz de atravesar toda la longitud del estilo hasta alcanzar el ovario (Fernández, 1990).

Germinación *in vitro*

Según lo señalado por Porta y Roselli (1991), el método más usado para determinar la viabilidad del polen es la germinación *in vitro*, que consiste en observar si el polen es capaz de iniciar la germinación y emitir el tubo polínico en un medio de cultivo artificial, considerando no viables a aquellos granos que no lo consiguen. Además, se usa como método de estimación de la fertilidad del polen, con la finalidad de

conseguir el material necesario para el estudio de la fisiología de la germinación y el crecimiento del tubo polínico.

La germinación *in vitro* es un método eficaz para distinguir polen viable de incompatibilidades que impiden el desarrollo del tubo polínico *in vivo* (Bamberg y Hanneman, 1991a).

Abdul-Baki y Hayme (1993) reconocen que las técnicas de germinación *in vitro* han sido muy exitosas para la evaluación de la viabilidad y potencialidad del polen para germinar.

Las pruebas de germinación *in vitro* necesitan ser cuidadosamente controladas; muchos factores ambientales tales como la temperatura, el tiempo de incubación, el estado de hidratación del polen, la concentración de granos y composición del medio, pueden afectar el crecimiento del tubo polínico (Kearms e Inouye, 1993; Rihova, Hrabetova y Tupy, 1996), por lo que los resultados negativos deben ser interpretados cautelosamente (Golan-Goldhirsh *et al.*, 1991).

Las condiciones de almacenamiento, especialmente la temperatura y humedad relativa, tienen grandes efectos sobre el desarrollo del polen (Stanley y Linskens, 1974; Shivanna, Linskens y Cresti, 1991b).

La germinación del polen es afectada por la temperatura (Demeke y Hughes, 1991) y, según lo señalado por Howard (1970), el polen de papa puede conservar la viabilidad durante dos años si se seca durante 16 horas a temperatura ambiente en un desecador al vacío y se almacena a –20ºC. También es posible conservar polen por largos períodos de tiempo a ultrabajas temperaturas (–196ºC) en nitrógeno líquido (Quat y Daniel, 2000).

La hidratación es necesaria en algunas especies donde se logra recuperar la actividad enzimática, incrementando la germinación y competitividad del polen. Granos de polen hidratados con mayor número de aperturas germinan más rápido que los de menor número.

Los componentes del medio más comúnmente requeridos para la germinación del polen son, según Shivanna y Johri (1985), una fuente de carbohidratos (normalmente sacarosa) y trazas de boro (generalmente H_3BO_3) y calcio ($CaCl_2$ ó $Ca(No_3)_2$). No obstante, muchos han utilizado hormonas de crecimiento, vitaminas, aminoácidos, extractos de estigmas y otros compuestos. Excepto en algunos casos, la adición de estas sustancias no mejora apreciablemente la germinación.

Algunas especies pueden germinar en medios que contengan agua solamente (Shivanna y Rangaswamy, 1992; Kearns e Inouye, 1993).

Sin embargo, otras especies necesitan medios de germinación más complejos (Stanley y Linskens, 1974).

El grano de polen puede germinar en soluciones de sacarosa en medio líquido o sólido. Se supone que el azúcar estimula la germinación, actuando como fuente de energía para el metabolismo y/o manteniendo la presión osmótica del medio. Según Bamberg y Hannaman (1991), la lactosa es superior a la sacarosa en el medio de germinación del polen en papa, así como la aireación activa es superior a la pasiva, favoreciendo la germinación y el crecimiento de los tubos polínicos. Como norma general, el polen binucleado requiere concentraciones de 10 a 20 % de sacarosa.

El boro juega un papel muy importante en la germinación del polen de muchas especies en plantas y su efecto parece estar relacionado con el transporte de azúcares. Se asume que mantiene la integridad de la membrana de la planta. Generalmente se añade en forma de ácido bórico en pequeñas cantidades (10-150 ppm).

El calcio es otro componente que aumenta el porcentaje de germinación del polen; bastando concentraciones muy pequeñas para que muestre su efecto. Este elemento incrementa la longitud del tubo polínico. Según Feijo, Malho y Overmeyer (1995), el calcio interviene en la diferenciación espacial citoplasmática y su presencia es esencial para mantener el crecimiento de la zona apical del tubo.

No todos los granos capaces de germinar en el estigma tendrán la capacidad de hacerlo en el medio de germinación; entonces el porcentaje de germinación sería una subestimación de la fertilidad real. Sin embargo, este método es recomendado siempre que la correlación entre ambos parámetros sea estrecha. En papa ha sido recomendado este método para determinar la germinación del polen (Janssen y Hermsen, 1976; Bamberg y Hanneman, 1991a; González *et al.*, 1992). Además, está correlacionado con la potencialidad del polen para producir semilla (González, Estévez y García, 1995).

En la Tabla 10 se muestra el porcentaje de germinación de especies de papa en diferentes días de almacenamiento, el cual disminuyó a medida que transcurrió el tiempo, no existiendo a los diez días ningún polen germinado. Se observó un comportamiento muy similar entre las especies silvestres, solamente la especie cultivada, *Solanum phureja*, fue la que presentó un comportamiento diferencial, perdiendo rápidamente su potencialidad para germinar.

Tabla 10. Porcentajes de germinación del polen de nueve especies de papa en diferentes días de almacenamiento a 17ºC

Especies	Germinación (%) Días		
	1	5	10
Solanun brachistotrichum (Bill) Rvdb	75	28	0
Solanum vallis mexici Yuz	74	26	0
Solanun ajuscoense Buk	72	25	0
Solanum flenderi Grav.	75	26	0
Solanum multidissectum Hawk.	79	19	0
Solanum brachycarpum Corr.	77	20	0
Solanum simplicifolium Bitt.	80	22	0
Solanun chacoense Bitt.	76	26	0
Solanum phureja	73	5	0

Los resultados evidencian que no se debe almacenar el polen a 17ºC por más de cinco días.

El análisis de varianza para los porcentajes de germinación del polen en dos temperaturas de conservación (17 y 4ºC), puso de manifiesto la existencia de interacción entre las variedades y los días de almacenamiento del polen.

En las Tablas 11 y 12 se muestran las medias después de efectuada la prueba de rangos múltiples de Duncan ($p<0.05$). El polen de las variedades Omega, Cardinal, Baraka y Desirée al primer día, presentaron los porcentajes más elevados de germinación *in vitro*, con valores de 33.6, 32.7, 32 y 30.1 % respectivamente. Para las dos temperaturas de conservación, existió una disminución de forma significativa a través del tiempo, pero más marcada para el polen conservado a mayor temperatura. Cuando se conservó a 17ºC, a los 10 días no existió ningún polen germinado, lo que coincide con González *et al*. (1992) en estudios de conservación del polen a 17ºC en especies silvestres y cultivadas de papa; sin embargo, a 4ºC todavía hubo porcentajes superiores al 18 %.

Al comparar estos resultados con los obtenidos por las técnicas de tinción (Tabla 7), se aprecia una marcada disminución en los valores, lo que evidencia que este método es más confiable para estimar la viabilidad del polen. En papa ha sido recomendado por Janssen y Hermsen (1976) y Bamberg y Hanneman (1991a), los que plantearon que es el método más directo y aporta resultados más precisos, correspondiéndose en gran medida con los éxitos en los cruzamientos.

Tabla 11. Porcentajes de germinación *in vitro* del polen fresco y almacenado por diferentes días a 17ºC

Días	Variedades	Conservación a 17°C	
1		33.6 a	(30.70)
5	Omega	9.1 f	(2.50)
10		0 i	(0)
1		32.7 ab	(29.20)
5	Cardinal	8.9 f	(2.40)
10		0 i	(0)
1		32.0 b	(28.10)
5	Baraka	8.7 f	(2.40)
10		0 i	(0)
1		30.1 c	(25.20)
5	Desirée	5.6 h	(0.96)
10		0 i	(0)
1		29.1 c	(23.70)
5	Lizen	6.7 g	(1.40)
10		0 i	(0)
1		27.8 d	(21.80)
5	Marlene	5.6 gh	(0.96)
10		0 i	(0)
1		25.6 e	(18.70)
5	Spunta	5.3 h	(0.86)
10		0 i	(0)
	x + Es	12.42 +0.4 ***	

Tabla 12. Porcentajes de germinación *in vitro* del polen fresco almacenado por diferentes días a 4ºC

Días	Variedades	Conservación a 4 ºC	
1		33.6 a	(30.70)
10	Omega	24.2 ef	(16.70)
20		3.1 i	(0.3)
1		32.7 a	(29.20)
10	Cardinal	22.9 f	(15.20)
20		3.6 i	(0.40)
1		32.0 b	(28.10)
10	Baraka	24.0 ef	(16.60)
20		1.6 i	(0.80)
1		30.1 b	(25.20)
10	Desirée	20.6 gh	(12.40)
20		1.6 ijk	(0.80)
1		29.1 c	(23.70)
10	Lizen	22.2 fg	(14.30)
20		1.1 jk	(0.40)
1		27.8 d	(21.80)
10	Marlene	19.4 h	(11.00)
20		0.8 k	(0.02)
1		25.6 e	(18.70)
10	Spunta	18.3 h	(9.90)
20		0 k	(0)
	x ± Es	17.82 ± 0.7***	

( ) Valor original *** Significativo para $p<0.001$

Medias con letras comunes no presentan diferencias significativas para $p<0.05$

Estos resultados evidencian un incremento en valor cuando se disminuye la temperatura, lo que coincide con Ganeshan y Lee, Thomas y Buchman (1985), los que plantearon una mayor prolongación del polen con la disminución de la temperatura.

El resultado de los cruces con polen de diferentes días de almacenamiento a 4ºC se aprecia en la Tabla 13. Cuando se utilizaron como progenitores masculinos las variedades Baraka, Omega y Cardinal, se logró la mayor cantidad de frutos, así como los mejores porcentajes de fructificación, destacándose la combinación Desirée x Baraka con 33.3 %. En cambio, con polen del primer día de colectado, se alcanzaron los menores valores (20 %) en la combinación Marlene x Desirée.

Tabla 13. Resultados de las combinaciones híbridas con polen conservado a 4ºC en diferentes días de almacenamiento

Combinaciones híbridas	Días	Número de polinizaciones	Número de frutos	Porcentaje de fructificación	Número de semillas por fruto
Desirée	1	30	9	30.0	35
x	10	30	7	23.3	20
Omega	20	30	1	3.3	5
Desirée	1	30	9	30.0	33
x	10	30	6	20.0	22
Cardinal	20	30	1	3 .3	7
Cardinal	1	30	8	26.7	24
x	10	30	6	20.0	14
Desirée	20	30	0	-	-
Baraka	1	30	7	23.3	22
x	10	30	6	20.0	16
Desirée	20	30	0	-	-
Desirée	1	30	10	33.3	28
x	10	30	9	30.0	18
Baraka	20	30	0	-	-
Spunta	1	30	10	33.3	22
x	10	30	8	26.7	15
Desirée	20	30	0	-	-
Lizen	1	30	7	23.3	23
x	10	30	5	16.7	11
Desirée	20	30	0	-	-
Marlene	1	30	6	20.0	22
x	10	30	5	16.7	10
Desirée	20	30	0	-	-
	1	240	64	26.2	26.7
Total	10	240	54	22.5	16.1
	20	240	2	0.8	6

Resultados similares fueron encontrados por Estrada (2000), quien señaló que el polen de papa mantiene una buena viabilidad de dos a tres semanas, si es conservado en ambiente seco y temperatura próxima a los 5ºC.

Según Almekinders (1995), en los trópicos húmedos la producción de semilla botánica es afectada seriamente, con una disminución del número de bayas, la producción de polen y su fertilidad.

El mayor número de semillas por fruto se encontró en la combinación Desirée x Omega (35), seguido de Desirée x Cardinal (33) y Desirée x Baraka (28), lo que se corresponde con los resultados encontrados anteriormente para la germinación del polen (Tabla 13). Las combinaciones híbridas donde Desirée fue el progenitor masculino presentaron valores muy similares, oscilando entre 22 y 24 semillas por fruto. Se pudo apreciar que a medida que aumentaron los días de almacenamiento, fueron disminuyendo los valores de las variables estudiadas, por lo que no es recomendable utilizar el polen conservado a 4 ºC por más de 10 días para realizar las polinizaciones.

En la Tabla 14 se observan los valores de los coeficientes de correlación, entre la germinación del polen *in vitro* de las variedades utilizadas como progenitores masculinos y el número de bayas y semillas por fruto. Según Brown y Adiwilaga (1991), un normal desarrollo de las bayas es debido a polinizaciones con polen compatible, que permite una abundante formación de semillas.

Tabla 14. Correlaciones lineales entre la germinación del polen *in vitro*, el número de frutos y semillas por fruto

Caracteres	Germinación del polen *in vitro*	Número de frutos
Número de semillas por fruto	0.80**	0.73**
Número de frutos	0.78**	

** significativo para $p<0.01$

Se encontraron correlaciones positivas y altamente significativas entre las variables, alcanzándose una correlación de 0.80** entre la germinación del polen *in vitro* y el número de semillas por fruto. Resultados similares encontraron Janssen y Hermsen (1976); González, Estévez y García (1995) y Ermishin, Savchuk y Kaloshmikova (1997); Ermishin, Savchuk y Kaloshnikova (1997), quienes señalaron que este método da resultados confiables para planificar los cruzamientos, así como que la germinación del polen *in vitro* está significativamente correlacionada con el número de frutos y semillas por fruto, brindando un estimado confiable de la fertilidad masculina.

Los resultados encontrados pueden ser de utilidad para los mejoradores, pues es necesario conocer la viabilidad del polen, para determinar el tipo de progenitor a emplear como hembra o macho en los programas de mejoramiento tradicional de cultivo.

Germinación *semi-vivo*

Las pruebas de germinación *semi-vivo* consisten en polinizar de forma manual el estigma y se coloca el estilo en un medio de germinación. El tubo polínico crece y sale fuera del estilo dentro del medio. Estas pruebas semi-vivas son superiores a las pruebas *in vitro*; aunque algunos granos de polen pueden ser también estresados por exposición ambiental para el crecimiento de los tubos hasta el estilo, todavía capaz de germinar en el medio. Estas pruebas pueden introducir complicaciones porque ellas envuelven interacciones polen-estigma.

Germinación *in vivo*

Uno de los aspectos más interesantes de la fertilización en las plantas es el crecimiento y la orientación del tubo polínico del estigma al ovario (Feijó, Malhó y Obermeyer, 1995), siendo una condición indispensable para que el cruzamiento sea efectivo que el polen fértil sea colocado sobre un estigma receptivo.

El grano de polen puede tener una estructura bi o tricelular y es responsable de trasmitir la información genética del gametofito masculino. Cuando el polen se coloca sobre el estigma, este desarrolla el tubo polínico, que crece a través del pistilo hasta el óvulo. La función primaria de la célula vegetativa es el transporte de las células espermátidas hasta el óvulo, donde ellas participan en la doble fertilización. El tubo entra en el saco embrionario y los núcleos generativos se fusionan con la ovocélula y los núcleos polares (Feijo, Malhó y Obermeyer, 1995).

Las pruebas de germinación *in vivo* presentan gran exactitud para estimar la fertilidad del polen (Orenstein *et al.*, 1993). Esta se realiza después de emascular las flores, que deben poseer estigma y estilo compatibles con el polen a probar. En este *test* se cuenta el número de semillas por fruto, el porcentaje de frutos con semillas o el número de tubos polínicos en el estilo (Fernández, 1990). Según Heslop-Harrison y Heslop-Harrison (1984), los dos primeros tienen muchas limitaciones, ya que además de ser laborioso el proceso, requiere de bastante tiempo hasta que los frutos maduren. No obstante, estas medidas son las que están más cerca de una auténtica estimación de la fertilidad del polen

(Shivanna y Johri, 1985). Según Brown y Adiwilaga (1991), un normal desarrollo de los frutos en papa es debido a polinizaciones con polen compatible, el cual permite una abundante formación de semillas.

En cuanto a la observación de los tubos *in vivo*, el mayor problema consiste en que no existen técnicas de laboratorio simples, necesitándose tiempo y un microscopio de fluorescencia. Esta técnica está basada en la fluorescencia que emite la callosa, que siempre está presente en los tubos polínicos, cuando se tiñe con azúl de anilina hidrosoluble.

Los resultados pueden cuantificarse con el número de tubos polínicos al final del estilo, o con el número de estilos con tubos polínicos en toda su longitud. Cuando las observaciones microscópicas de los estilos indican que los tubos polínicos no penetran en el estilo, esto puede ser debido a la incompatibilidad estilar o que el polen no es viable (Bamberg y Hanneman, 1991a).

En estudios realizados sobre el comportamiento del crecimiento de los tubos polínicos a través del pistilo en las ocho combinaciones híbridas intraespecíficas, se pudo determinar que después de las 24 horas de polinizadas las flores, los tubos polínicos sobrepasaron la base del estilo y penetraron al ovario; esto posibilitó la utilización de los estilos para estimar la germinación del polen sin afectar el ovario, el cual puede continuar desarrollándose y formar el fruto.

La Tabla 15 muestra los porcentajes de germinación *in vivo* del polen en el estigma, el número de tubos polínicos en la base del estilo y el número de semillas por fruto de las combinaciones híbridas estudiadas. El mayor porcentaje de germinación lo presentó la variedad Omega con 41.7, que no difirió significativamente de la Cardinal (36.5) pero sí del resto de las variedades, que a su vez no difirieron entre sí.

Teniendo en consideración los porcentajes alcanzados anteriormente por el método de germinación del polen *in vitro* (Tablas 10 y 11), se apreció un incremento para las variedades Omega y Cardinal; sin embargo, disminuyó en las variedades Baraka y Desirée con excepción de la combinación Marlene x Desirée, lo que pudiera deberse a las condiciones ambientales.

Según lo planteado por Fernández (1990), la determinación de la germinación del polen *in vivo* posibilita hacer estimaciones confiables de la fertilidad, además de utilizarse para el estudio de incompatibilidades en los cruzamientos (Van Marrewijk, 1993).

Tabla 15. Porcentaje de germinación *in vivo* del polen en el estigma, número de tubos polínicos en la base del estilo y número de semillas por fruto

Combinaciones híbridas	Germinación del polen *in vivo*	Número de tubos polínicos	Número de semillas por fruto
Desirée x Omega	41.7 a (44.2)	4.0 a (16.0)	6.5 a (42.2)
Desirée x Cardinal	36.5 ab (35.4)	3.4 ab (11.8)	5.7 abc (32.6)
Marlene x Desirée	31.1 bc (27.0)	2.1 d (4.8)	4.4 c (20.2)
Spunta x Desirée	29.2 bc (25.0)	2.4 cd (6.2)	4.8 bc (24.4)
Desirée x Baraka	28.1 bc (22.2)	3.2 abc (10.6)	6.0 ab (37.0)
Lizen x Desirée	27.9 bc (23.0)	2.4 cd (6.2)	4.7 c (22.8)
Cardinal x Desirée	26.7 c (20.6)	2.7 bcd (7.8)	4.8 bc (23.6)
Baraka x Desirée	25.5 c (19.2)	2.2 d (5.4)	4.5 c (20.8)
x $\pm$ Es	30.8 $\pm$ 2.7 **	2.8 $\pm$ 0.3 ***	5.2 $\pm$ 0.4 **

( ) valor original **significativo para $p<0.01$ ***significativo para $p<0.001$
Medias con letras en común en la misma columna no presentan diferencias significativas, según prueba de Duncan para $p<0.05$

Con respecto al número de tubos polínicos en la base del estilo, se pudo apreciar que las combinaciones Desirée x Omega, Desirée x Cardinal y Desirée x Baraka presentaron los mayores valores, con 4, 3.4 y 3.2 respectivamente, los que no difirieron significativamente entre sí. Los cruces donde se utilizó a la Desirée como progenitor masculino presentaron los menores valores, sin diferencias significativas entre ellos. Es de resaltar que el cruce Marlene x Desirée, a pesar de tener un valor de 31.1 % de germinación, alcanzó el menor número de tubos polínicos en la base (2.1), lo que pudiera deberse a problemas en la compatibilidad de los alelos S entre estos progenitores (Van Marrewijk, 1993; Shittenhelm y Hockstra, 1995).

El número de semillas por fruto presentó un comportamiento similar al número de tubos en la base del estilo, oscilando entre 4.4 y 6.5. Presentó el valor más alto el cruce Desirée x Omega, seguido por Desirée x Baraka y Desirée x Cardinal. Según Brown y Adiwilaga (1991), se logra una abundante formación de semillas cuando existe compatibilidad polen-pistilo.

En la Tabla 16 se presentan los valores de los coeficientes de correlación lineal entre la germinación del polen *in vivo* en el estigma, el número de tubos en la base del estilo y el número de semillas por fruto. Se aprecian correlaciones positivas y altamente significativas entre las variables, presentándose la asociación más alta (0.95**) entre el número de semillas por fruto y de tubos en la base del estilo.

Tabla 16. Correlaciones lineales entre la germinación del polen *in vivo* en el estigma, el número de tubos polínicos en la base del estilo y el número de semillas por fruto

Caracteres	Germinación del polen *in vivo*	Número de tubos polínicos
Número de semillas por fruto	0.89**	0.95**
Número de tubos polínicos	0.90**	

Fernández (1990) encontró que el número de tubos polínicos al final del estilo fue la variable que más correlacionó con el número de semillas por fruto, recomendándolo como un buen indicador para estimar la eficiencia en las hibridaciones.

En general, se pudo apreciar que los métodos estudiados para la estimación de la calidad del polen no presentan la misma confiabilidad.

Se comprobó que la tinción morfológica no es una técnica confiable para estimar la viabilidad del polen fresco y almacenado de papa, pues sobrestiman la viabilidad polínica, no expresando con exactitud la capacidad germinativa, ya que se basan en el aborto o no del polen y pudiera ser que granos no abortados perdieran la capacidad de germinar, sin que ello se traduzca en malformaciones morfológicas. No obstante, puede usarse para la discriminación cuando se tienen muchos genotipos.

Se pudo comprobar que la germinación del polen *in vitro* e *in vivo* son métodos efectivos para la estimación de la calidad del polen, los cuales están correlacionados con el número de semillas por fruto, permitiendo estimados confiables de fertilidad masculina y, de esta forma, seleccionar al progenitor que será utilizado como hembra o macho.

El método más usado para determinar la viabilidad del polen es la germinación *in vitro*, pues es más directo y aporta resultados confiables. Sin embargo, las pruebas de germinación *in vivo* presentan gran exactitud.

En las pruebas de germinación *in vivo* se cuenta el número de semillas o tubos polínicos en la base del estilo; estas medidas son las que están más cerca de una auténtica estimación de la fertilidad del polen. Es un proceso laborioso, que requiere de tiempo y un microscopio de fluorescencia con luz ultravioleta, aunque presenta la ventaja de una vez fijados los estilos, puede conservarse el material hasta el momento de su tinción y observación.

En el trabajo también se puso de manifiesto que la medición del diámetro del polen es un indicador eficiente de la ploidía en papa y constituye un método indirecto que permite la identificación de materiales diploides y tetraploides.

BIBLIOGRAFÍA

Abdul-Baki, A. A. y Haymes, K. G. Male fertility of derived tetraploids of *S. tuberosum* from groups Tuberosum *phureja-stenotomun. Am. Pot. Journal*, 1993, 70: 885-895

Adiwilaga, K. D. y Brown, C. R. Use of 2n pollen producing triploid hybrids to introduce tetraploid Mexican wild species germoplasm to cultivated potato gene pool. *Ther. Appl. Genetics*, 1991, 81:645-652.

Almekinders, C. G. On flowering and botanical seed production in potato *(Solanun tuberosum* L.). Doctoral thesis, Wageningen Agricultural University. *The Netherlands*, 1995. 133p.

Arndt, D. G..; Rueda, J.L.; Kidame-Mariam, H. M. y Peloquin, S. J. Pollen fertility in relation to open pollinated true seed production in potatoes. *Am. Pot. Journal*, 1990, 67(8): 499-506.

Bamberg, J. B. y Hanneman, R. E. An effective method for culturing pollen tubes of potato. *Am. Pot. Journal*, 1991a. 68 (6): 373-379.

Bamberg, J. B. y Hanneman, R. E. Rapid ploidy screening of tuber-bearing Solanum (potato) species through pollen diameter measurement. *Am. Pot. Journal*, 1991b, 68: 279-285.

Bamberg, J. B. Screening potato (*Solanum*) species for male fertility under stress. *Am. Pot. Journal* , 1995, 72(1) :23-33.

Brown, C. R. y Adiwilaga, K. D. Use of rescue pollination to make a complex interspecific cross in potato. *Am. Pot. Journal*, 1991, 68: 813-820.

Brown, C. R.; Yang, C.P.; Wiatkowski, K. y Adiwilaga, K. D. Insert cry number, chromosome number, pollen stainability, and crossability of *Agrobacterium* transformed diploid potato. *Am. Pot. Journal*, 1991, 68: 813- 820.

Dajoz, I.; Bottrand, T. y Gouyon, P. H. Evolution of pollen morphology. *Science*, 1991, 253: 66-68.

Demeke, H. y Hughes, H. Germination and storage of pollen of *Phytolacca doceccandra* L. *Botany*, 1991, 68: 13-15.

Domínguez, E. Mejora genética de la fertilidad del polen de tomate (*Lycopersicon esculentun* Mill.) a bajas temperaturas: Aprovechamiento de la selección gametofítica. Tesis de grado. Universidad de Malaga, España, 2000. 180 p.

Estévez, A. Estudio de la viabilidad del polen en cinco variedades de papa (S. *tuberosum*). *Cultivos Tropicales*, 1985, 7 (3): 75-80.

Estrada, N. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. Ed. Bill Hardy y E. Martínez, Lima, CIP, 2000. 372 p.

Fernández, R. F. Fructificación a bajas temperaturas en *Lycopersicon* M. Tesis de grado. Universidad de Málaga, España, 1990. 228 p.

Fernández-Muñoz, R.; González-Fernández, J. J; Cuartero, J. Methods for testing the fertility of tomato pollen formed at low temperature. *Hort. Sci*, 1994, 69: 1083-1088.

Fernández-Muñoz, R.; González-Fernández, J. J. y Cuartero, J. Genetics of the viability of pollen grain produced at low temperature in *Lycopersicon Mill*. Euphytica, 1995a, 84: 139-144.

Fernández-Muñoz, R.; González-Fernández, J.J.; Cuartero, J. Viability of pollen tolerance at low temperatures in a tomato and related wild species. J. Hort. Sci, 1995b, 70: 41-49.

Feijó, J. A.; Malhó, R. y Obermeyer, G. Ion dynamics and its possible role during *in vitro* pollen germination and tube growth. *Protoplasma*, 1995, 187: 155-167.

Filotico, F.; Carputo, D. y Barone, A. 2n pollen production in *Solanun phureja S. tuberosum* hybrids. *J. Gent. and Breed* , 1995, 49: 255-260.

Ganeshan, S. Viability and fertilizing capacity of onion pollen stored in liquid nitrogen. *Tropical Agriculture*, 1985, 63: 46-48.

García, G..; González, M. E. y Sam, O. Algunas características asociadas con la ploidía en papa. *Cultivos Tropicales*, 1996, 17(1): 65-75.

Golan-Golghirsh, A.; Schmidhalter, U.; Muller, M.; Oertti, J. Germination of *Pistacio vera*. L. pollen in liquid medium. *Sex. Plant Reprod*, 1991. 4: 182-187.

González, M. E. y Estévez, A. Porcentaje de fertilidad del polen en especies y variedades de la papa. *Cultivos Tropicales*, 1991, 12(1): 5-7.

González, M. E.; Estévez, A.; Rodríguez, T. y Alvarez, M. Estudio de la fertilidad del polen en especies de papa. *Cultivos Tropicales*, 1992, 13(1):70-73.

González, M. E.; Estévez, A. y García, D. Métodos para la determinación de la fertilidad del polen y su relación con los resultados de las polinizaciones. *Cultivos Tropicales*, 1995, 16(2): 84-88.

Hamaoka, Y.; Fujita, Y. y Iwai, S. L. Effects of temperature on the made of pollen development in anther culture of *Brassica campestres*. *Physiologia Plantarum*, 1991, 82: 67-72.

Heslop-Harrison, J. y Heslop-Harrison, Y. Evolution of pollen viability by enzymatically induced fluorescence: intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. *Stain Technology*, 1980, 45: 115-120.

Howard, H. W. Genetics of the Potato (*Solanum tuberosum* L.). London, Lagos Press. 1970. 324 p.

Huamán, Z. Técnicas citológicas para determinar el número cromosómico y la fertilidad de las papas. Guía de investigación. CIP Circular, 1995. 10: 30.

Jahier, J.; Chevre, A. M.; Eber, F.; Deldurme, R. y CorTanguy, A. M. Techniques de citogénétique vegétale. Paris: INRA, 1992. 184p.

Janssen, A. W. B. y Hermsen, J. C. Estimating pollen fertility in *Solanum* species and haploids. *Euphytica*, 1976, 25: 575-586.

Kearns, C. A. y Inouye, D. W. Techniques for pollination biologists. Colorado, University Press of Colorado, 1993. 203 p.

Lee, C. W.; Thomas, J. C. y Buchman, S. L. Factors affecting *in vitro* germination and storage of jojoba pollen. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1985, 110: 671-676.

Moreno, E.; Mendoza M. C. y Mendoza, L. E. Relación de la fertilidad del polen y la posición de muestreo en la panoja de sorgo. *Chapingo*, 1992, 26(79/80): 74-98.

Orenstein, J.; Nachmias, A.; Colon, L.T. y Hoogendorn, J. The effect of a *Verticillum dahliae* phytotoxin on germination of potato pollen. *Israel Journal of Plant Sciences*, 1993, 42: 29-36.

Origo, J. y Hershey, C. Almacenamiento del polen de yuca por medio de liofilización y varios regímenes de humedad y temperatura. *Acta Agronómica*, 1984,34(1):21-25.

Ortíz, R. y Camadro, E. Utilización potencial de clones de papa obtenidos por autofecundación como inductores de haploidía en cruzamientos 4Xx 2X. *Revista Latinoaméricana de la Papa*, 1994, 5-6(1):46-53.

Pandey, S. K. y Gupta, P. K. Comparison of andigena and tuberosum for enhancing TPS production. *Journal of The Indian Potato Association*, 1995, 22 (3-4): 122-128.

Porta, N. y Roselli, G. Relationship between pollen germination *in vitro* and fluorochromatic reaction in cherry clone F(121) (*Phumus avium* L.) and some of its mutants. *Journal of Horticultural Science*, 1991, 66(2):171-175.

Ramanna, M. S. y Hersen, J. G. Unilateral sterility in reciprocal crosses. *Euphytica*, 1974, 23: 417-421.

Shivanna, K. D. y Johri, B. M. The angiosperm pollen. En: Structure and Function. New Delhi, Wiley Eastern Ltd, 1985. p.374.

Shivanna, K. D.; Linskens, H. F. y Cresti, M. Pollen viability and pollen vigor. *Theor. Applied Genetics*, 1991b, 81: 38-42.

Shivanna, K. D. y Rangaswamy, N. S. Pollen biology: a laboratory manual. Berlin, Springen-Verlarg, 1992. 57p.

Singh, R. L. Plant cytogenetics. Boca Ratón, CRC, 1993. 391p.

Singsit, C.; Hanneman, R.E. Haploid of tetraploid Mexican potato species. Their extraction cytology and crossability. *Am. Pot. Journal*. 1987, 64(9): 469-482.

Singsit, C. y Hanneman, R.E. Haploid induction in Mexican polyploid species and colchicine-doubled derivates. *Am. Pot. Journal*, 1991. 68(8): 551-556.

Sprange, C.P. Quantitative genetics in plant improvement in Plan Breeding. En: A Symposium at IOWA Univ. The IOWA State University Press, (1966). p. 315-344.

Stanley, G. R.; Linskens, H.F. Pollen biology, biochemistry, and management. Berlin, Springen-Verlag, 1974. 307p.

Steel, R. G.. D. y Torrie, J. Bioestadística: Principios y procedimientos. México: Mc Graw Interamericana de México. 1990, p. 328-333.

Stone, J. L.; Thomson, J. D.; Dent-Acosta, S. J. Assessment of pollen viability in hang-pollination experiments: A Review. *Am. Jour. of Botany*, 1995, 82(9): 1186-1197.

Tanner, G.. J.; Piecirilli, M.; Moore, A. E.; Lardin, P. J. y Arcioni, S. Initiation of non-physiological division in cultured microspores of *Medicago sp*. *Protoplasm*, 1990, 158: 165-167.

Towill, E. y Walsters, C. Cryopreservation of pollen. Pg. 115-129 in cryopreservation of Tropical Plant Germoplasm (IPGRI). Florent Engelmann and Hiroko Takigi (eds).Tsukuba, Japan, 2000.

Trognitz, B. R. Female fertility of potato dihaploids. *Euphytica*, 1995, 81(1): 27-33.

Van Marrewijk, G.. A. Flowering biology and hybrid varieties. Hybrid varieties. En: International Course on Applied Plant Breeding. The Netherlands, IAC. 1993. 80p.

CAPÍTULO VI

MEJORAMIENTO GENÉTICO

Ana Estévez, María E. González, J. G. Castillo, J. L. Salomón y J. A. Arzuaga

El mejoramiento de plantas es sin duda una de las realizaciones más antiguas del hombre, ya que antes de nuestra era empezó a cultivar las plantas y realizó algún tipo de selección. Por supuesto que en estas etapas, el mejoramiento era más bien un arte y no una ciencia, y los progresos eran muy lentos.

El mejoramiento vegetal como ciencia da un paso de avance notable cuando se descubrieron las leyes de Mendel, que primero tuvieron resonancia en los caracteres cualitativos, pero también son la base de los genes con efectos pequeños que determinan los llamados caracteres cuantitativos.

Más reciente se puede definir el mejoramiento como una forma de evolución, que depende en gran medida de las mismas normas que regulan la evolución de las especies naturales, pero con la diferencia fundamental que la selección natural ha sido reemplazada en alto grado por la selección artificial realizada por el hombre.

Según Gálvez (1978), citado por Estévez (1996), el mejoramiento de plantas es realizado generalmente por los mejoradores y genetistas, a través de un procedimiento llamado "Programa de mejoramiento", el cual tiene como propósito final la selección de los mejores genotipos para la obtención de variedades comerciales de plantas. En los últimos años, se ha desarrollado otra forma más interactiva de selección entre los mejoradores y productores, el llamado "Mejoramiento participativo", en el que el agricultor participa de forma activa en la selección de genotipos mejorados, y con buena adaptación en sus lotes, fincas o localidades específicas, aplicándose en diferentes cultivos con buenos resultados; un ejemplo es el desarrollado en la papa, en Bolivia.

Los principales objetivos de un Programa de mejora, por cualquiera de las vías que se utilicen, están dirigidos fundamentalmente a:

1. El incremento del rendimiento agrícola e industrial
2. La resistencia a plagas y enfermedades
3. La mejora de las características agronómicas
4. El incremento de la calidad de una variedad tanto para consumo fresco como para la industria

5. El logro de una combinación adecuada entre los aspectos antes mencionados.

El éxito de un programa de mejoramiento no depende solo de las frecuencias con que las combinaciones originan nuevos individuos, sino también de los métodos empleados para descubrirlos (Stevenson, 1954, citado por Estévez 1996).

HISTORIA DEL MEJORAMIENTO DE LA PAPA

No se conoce exactamente dónde y cuándo se produce la primera variedad de papa. Durante siglos se han originado muchas variedades cultivadas en Sudamérica, lugar de origen de la papa. Esas variedades probablemente no han sido producto del resultado de una polinización controlada por el hombre, sino de polinizaciones naturales.

Inconscientemente se realizaron selecciones para altos rendimientos por los nativos de Sudamérica, sin tener un conocimiento de lo que hacían (Howard 1969, citado por Estévez, 1996), así como para otros caracteres.

Desde el punto de vista de Hawkes (1963), el período donde se comienza a realizar el mejoramiento de la papa es después que los cultivares tetraploides de la subespecie *andigena*, fueron introducidos a finales del siglo XVI en Europa, que eran tipos adaptados a días cortos para la tuberización, por lo que fue necesario realizar una selección para una alta producción de tubérculos para días largos. Después de Europa, la papa fue introducida en diferentes partes del mundo, como Norteamérica, África del Sur, Australia, etc.

Las expediciones rusas y de coleccionistas de papa en América Latina (1925) renovaron el interés de extender los tipos de progenitores utilizados en el mejoramiento, para incluir tanto los tipos cultivados en América del Sur con las especies silvestres como las nuevas introducciones de la subespecie *andigena* y por supuesto con genes, incluso segmentos de cromosomas completos no hallados originalmente en la especie *tuberosum* (Howard, 1969 citado por Estévez, 1990).

El primer informe donde parece que se realizó un cruzamiento artificial entre diferentes variedades de papa fue dado por Knight (1807), citado por Bradshaw y MacKay (1994).

Otras revisiones sobre el mejoramiento de la papa han sido dadas por Caligari (1992), Tarn *et al*., (1992), Douches y Jostrzebski (1993), Rocha, (1994), Estrada *et al*. (1994), Estévez (1996) y Estrada (2000).

ASPECTOS DEL MEJORAMIENTO

La papa se puede propagar sexual o asexualmente, esta última vía es la más utilizada y también es conocida como reproducción vegetativa. La propagación de la papa mediante tubérculos semilla, un ejemplo de la reproducción asexual o vegetativa, es una ventaja para los mejoradores de papa, porque permite obtener fácilmente un genotipo seleccionado y multiplicarlo. Un grupo de plantas derivadas de una sola célula progenitora por división mitótica se denomina clon.

En el mejoramiento por esta vía se observa que:

1. Todas las plántulas serán una variedad potencial y su progenie será igual, excepto que ocurran algunas mutaciones.
2. Las variedades pueden ser extremadamente heterocigóticas y sus progenies contarán con un amplio rango de tipos; esto trae como consecuencia que grandes progenies tengan que ser manejadas para encontrar ocasionalmente buenas plántulas.
3. Debe tenerse extremo cuidado para mantener las plantas libres de enfermedades virosas en todas las etapas de selección y multiplicación de los clones, ya que casi todos los virus se trasmiten por el tubérculo, y en menor grado por la semilla botánica, por lo que al principio las plántulas están sanas, debiendo trabajar para mantenerlas así. Para evitar la degeneración de un clon o una variedad, debido a que puede ser afectada no solo por virus sino también por hongos y bacterias, debe realizarse el mantenimiento controlado y aislado de los mejores clones y variedades, y partir de semilla certificada.
4. Se utiliza el cultivo de meristemo para la obtención de plántulas libres de virus (Karsoner y Varma, 1967); no obstante, si el mejorador en el proceso de selección de la variedad, no es cuidadoso y realiza una selección negativa para virus, no tendrá éxito en su programa.

La mayoría de las variedades comerciales que existen son autotetraploides y muestran un tipo de herencia tetrasómico, es decir, los genes están en dosis cuádruple en lugar de doble, como en la mayoría de las plantas y provienen de *S. tuberosum*. En Europa y América del Norte se desarrolló la subespecie *tuberosum* y en la región andina la subespecie *andigena*.

En la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia y otras características en los programas de mejoramiento actuales, se han introducido muchas especies silvestres y cultivadas que se han utilizado para ampliar la base genética. En la Tabla 1 del Capítulo II, se exponen algunas

fuentes genéticas para el mejoramiento compuestas por especies silvestres y cultivadas.

Como la mayor parte de los cultivares son tetraploides y a su vez estos tienen el mayor potencial de rendimiento, la mayoría de los programas de mejoramiento se llevan a cabo a este nivel.

En este sistema existen cuatro cromosomas en vez de dos, por tanto, hay cuatro alelos por locus, cinco genotipos, AAAA (cuadrúplice), AAAa (tríplice), AAaa (dúplice), Aaaa (símplice) y aaaa (nulíplice); tres tipos diferentes de gametos son posibles, o sea, AA, Aa y aa.

De esta forma, la segregación de un tetraploide es diferente de la de un diploide. En la formación de gametos de un dúplice (AAaa), dará como resultado: 1AA, 4Aa y 1aa gametos, cuando ese dúplice (AAaa) es cruzado con un nulíplice (aaaa) se espera la siguiente progenie:

De un dúplice	1 AA	4 Aa	1 aa
De un nulíplice (aaaa)	1 AAaa	4 Aaaa	1 aaaa

Se espera la segregación fenotípica de 5:1

De la autopolinización del dúplice (AAaa) se espera la siguiente progenie:

	1 AA	4 Aa	1 aa
1 AA	1 AAAA	4 AAAa	1 AAaa
4 Aa	4 AAAa	16 AAaa	4 Aaaa
1 aa	1 AAaa	4 Aaaa	1 aaaa

La segregación fenotípica es de 35:1

De lo anterior se evidencia que con la herencia tetrasómica en una progenie, solo se puede esperar una pequeña proporción de fenotipos, aaaa. Este porcentaje es mucho menor que en la herencia disómica (Beukema, 1986).

La papa supera a los demás cultivos en cuanto a la variabilidad de especies, porque posee cinco niveles de ploidía. No obstante, más del 70 % del reservorio de genes de las casi 200 especies de *Solanum* que producen tubérculos, son diploides (2n=2x=24). Una gran proporción de la variabilidad genética deseable, importante para el mejoramiento de la papa, se encuentra en estos diploides (Hanneman y Mamberg, 1986). Sin embargo, una amplia gama de problemas citológicos afecta las diferencias de nivel de ploidía entre las papas cultivadas y sus parientes 2x, y estos factores pesan fuertemente contra la hibridación directa entre la papa 4x y las especies útiles. El mejoramiento a nivel 4x

ayuda a obtener la máxima heterogeneidad de una planta cultivada tetraploide y toma ventaja de un patrón eficiente de herencia disómica (Hanneman y Peloquin, 1981).

PRODUCCIÓN DE NUEVAS FORMAS

Para la obtención de híbridos por reproducción sexual, nos enfrentamos a las siguientes dificultades:

1. Las variedades no florecen o el polen es estéril. La esterilidad del polen en papa es muy común e impone un límite en el número de cruces deseados que pueden hacerse.
2. La selección de plántulas puede ser ineficiente debido al método de propagación, y en el primer año de producción clonal debido al tamaño del plantón.
3. El material no puede almacenarse fácilmente y los clones deben cultivarse todos los años en condiciones específicas de temperatura.

Muchas variedades de *tuberosum* producen poca o ninguna floración; en algunos casos se forma la inflorescencia, pero poco después de un corto período las yemas florales cesan su crecimiento y se desprenden. Existen algunos métodos para inducir floración, como son el de injerto de esquejes sobre patrones de tomate y cultivos sobre ladrillos (Caligari, 1992). También se han utilizado reguladores del crecimiento (Bamberg y Hanneman, 1991b; Cabello y Patricio; 1993; Malagamba y Cabello, 1993).

Aun cuando se realiza la polinización con una variedad con polen fértil y que sean compatibles, existe la tendencia de que las flores caigan y no se produzcan bayas.

El método de decapitación, que ha dado mucho éxito para evitar la caída de las flores después de fecundadas, consiste en utilizar tallos cortados con flores de plantas cultivadas en el campo y colocarlos en recipientes con agua y en estas condiciones realizar la emasculación y polinización (Peloquin y Hougas, 1959, citados por González, 1998).

En Cuba, este método se desarrolla desde 1985 en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas con buenos resultados, lográndose un número adecuado de bayas y semillas.

Para el trabajo de mejoramiento de la papa se pueden hacer cruces dentro de variedades de la subespecie *tuberosum* e introducir variabilidad por el uso de variedades de la subespecie *andigena*, o explotar el amplio rango de variabilidad que aparece en las formas salvajes productoras de tubérculos del género *Solanum* (Howard, 1970).

Las especies silvestres y cultivadas de papa tienen barreras de cruzamientos con sistemas de incompatibilidad gametofítica (Abdalla y Hermsen, 1993; Watanabe *et al*., 1995), que en la mayoría de los casos es gobernada por un locus con una serie de alelos S (Van Marrewijk, 1993). Hay barreras estilares que impiden la fertilización por detener o crecer muy lentamente el tubo polínico (Camadro y Peloquin, 1981; Hawkes, 1994). Hay esterilidad masculina genético-citoplasmática (Iwanaga, Freyre y Watanabe, 1991). Hay barreras del endospermo que impiden que ocurra el normal desarrollo de la semilla (Hawkes y Jackson, 1992). Hay diversidad de tipos de citoplasma (Hanneman, 1989).

La mayoría de las especies diploides son autoincompatibles (Hawkes, 1994). Sin embargo, los cultivares de las subespecies *andigena* y *tuberosum* a pesar de tener alelos S, se comportan como autocompatibles, siendo explicada esta por la interacción competitiva de los alelos «S» y también por la posible presencia de genes modificadores de la acción de los alelos «S» (Cipar, 1965).

VÍAS USADAS EN EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LA PAPA EN CUBA

Introducción

Cada año pueden ser introducidos diferentes genotipos o clones de diversas procedencias, los que han sido estudiados en las condiciones del país de origen, realizándose selecciones de dicho material sobre la base de su rendimiento, calidad y resistencia a las enfermedades, pudiendo por esta vía aumentar el germoplasma y la cantidad de genotipos en el país; muchas de estas variedades seleccionadas pueden ser incorporadas después de un proceso de aproximadamente cinco años a la producción, y otras variedades son seleccionadas como progenitores para el programa de mejoramiento genético por hibridación (Estévez, 1996).

Método convencional (tradicional) de cruzamiento o hibridación

La *S. tuberosum ssp tuberosum* presenta dificultades en el mejoramiento por poseer una herencia compleja (Hawkes, 1994). Dada la naturaleza poligénica de la herencia de los caracteres importantes, se hace necesario el manejo de poblaciones grandes para asegurar el éxito (Huamán, 1994).

La posibilidad de que una plántula se convierta en una variedad útil es de 1:10 000. Con el fin de lograr éxitos, es necesario que en el mejoramiento de la papa se obtengan grandes cantidades de plántulas así

como métodos rápidos y eficientes para la selección de individuos superiores (Howard, 1970).

Para el método de hibridación se tienen en cuenta los siguientes pasos:

1. Elección de progenitores en base al carácter o caracteres a mejorar
2. Cruzamiento de los progenitores
3. Recolección de las bayas o frutos provenientes de los cruzamientos
4. Extracción de las semillas de las bayas provenientes de cada cruce
5. Siembra de las semillas en la próxima campaña
6. Selección de un tubérculo por planta y formación de las familias híbridas
7. Plantación de los tubérculos provenientes de cada cruce y selección de los mejores clones de acuerdo con el objetivo del programa en cuestión
8. Selecciones sucesivas en dicho material hasta la obtención de la variedad.

Muchos mejoradores han discutido los criterios de selección en la generación de plántulas y plantean que no se debe ser muy riguroso en la selección en esta generación. Howard (1970) sugiere que la selección en las primeras etapas debe ser realizada teniendo en cuenta el número de tubérculos, su forma y la profundidad de los ojos.

La selección en el primer año clonal en campo es más eficiente que en la etapa de plántula, pues permite una mayor expresión de los caracteres (Gopal, Gaur y Rona, 1992) y se hace generalmente de forma visual por el número de tubérculos, el tamaño de los estolones y la forma del tubérculo (Neele, Nab y Louwes, 1991). Según Caligari (1992) y Tarn *et al*. (1992), en las primeras etapas la selección muy fuerte es ineficiente, aunque los tamizados para resistencia a plagas y enfermedades en la etapa de plántula sí son efectivos, particularmente cuando la resistencia es gobernada por genes mayores (Jellis, 1992).

Para la obtención de una variedad de papa por la vía convencional de mejoramiento a nivel tetraploide, se necesitan aproximadamente de 10 a 13 años, aunque este tiempo puede ser reducido si se aplican las técnicas de reproducción acelerada con aquellos clones que se distinguen desde las generaciones iniciales del proceso de selección (Estévez, 1996).

Según Kidame-Mariam *et al*. (1985), el método convencional de cruzamientos entre líneas parentales tetraploides, puede producir familias, las cuales tienen la capacidad de producir rendimientos de tubérculos relativamente buenos con una uniformidad adecuada.

El mejoramiento tradicional es aún una fuente importante para obtener progenies con variabilidad y seleccionar genotipos deseados (Huamán, 1994).

En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), desde 1985, se inició un programa de mejoramiento genético, con el objetivo de obtener variedades de papa con altos rendimientos y resistencia a principales enfermedades que atacan al cultivo en Cuba.

Los principales objetivos fueron:

⇨ Precocidad: variedades con ciclo entre 90-100 días
⇨ Altos rendimientos y estabilidad
⇨ Resistencia a *P. infestans, A. solani* y virus del enrollamiento de la hoja (PLRV)
⇨ Calidad del tubérculo para procesamiento industrial

En la Figura 1 se muestra el esquema de utilización del germoplasma en el mejoramiento.

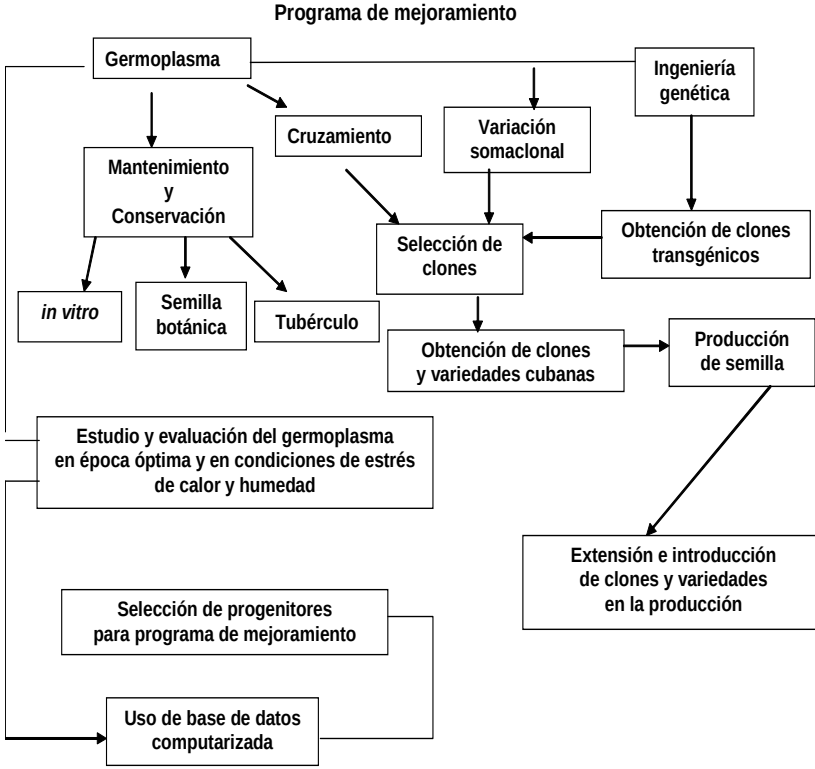


Figura 1. Esquema de mejoramiento de la papa

Este germoplasma de las especies silvestres y cultivadas de papa representativo de la variabilidad existente en la zona andina, se conserva en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), mediante semilla botánica, semilla-tubérculo e *in vitro* y ha sido caracterizado para el rendimiento y sus componentes, principales enfermedades que atacan al cultivo en Cuba y aspectos fenológicos. A partir de este germoplasma se seleccionan los progenitores para el programa de mejoramiento. Toda la información de datos pasaporte y caracterización se encuentra en un Sistema de Información y Documentación (SIDGEPA); para esto se elaboró un sistema en Microsoft Foxpro versión 2.6 para WINDOWS, en el que se diseñó una base de datos que contiene los principales caracteres del germoplasma de especies silvestres y cultivadas registradas en Cuba (Pérez *et al*., 1999)

A partir de la caracterización del germoplasma y de acuerdo con los objetivos del Programa de mejoramiento, se seleccionan los progenitores que serán utilizados en los cruzamientos; posteriormente se sigue un proceso de selección en campo hasta la selección de las variedades y/o clones, producción de semillas y finalmente regionalización, extensión e introducción a la producción como variedad comercial.

Otras de las vías que se está utilizando es la biotecnológica, mediante la variación somaclonal y la transgénesis.

En la Figura 2 se presenta el esquema cubano para la liberación y difusión de clones y nuevas variedades, así como el número de individuos, clones y variedades seleccionadas y liberadas en cada fase.

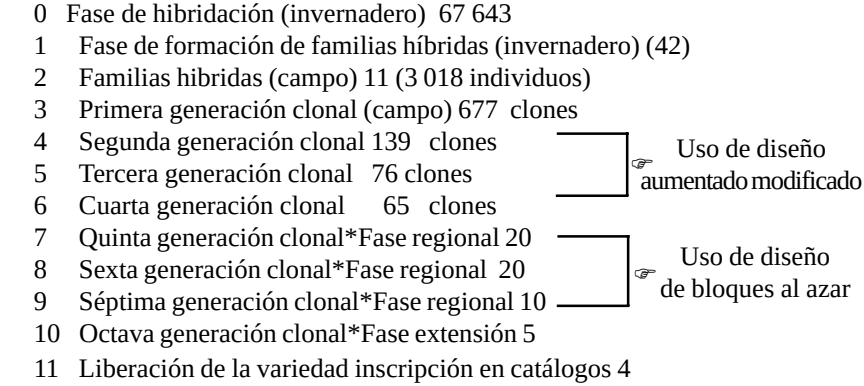


Figura 2. Esquema de liberación y difusión de clones avanzados y nuevas variedades y número de individuos por fase

Se aprecia la cantidad de individuos y/o clones en el programa que se desarrolla en el INCA y se muestra el uso del diseño aumentado modificado en las primeras fases de selección, donde se cuenta con una gran cantidad de individuos y pocos tubérculos de cada uno para replicar. A partir de la quinta y hasta la séptima generación clonal, se propone la regionalización de los clones elites y ya en la octava la regionalización de los seleccionados como variedades cubanas, por último se liberan las variedades. En el caso del programa cubano, se han obtenido 11 variedades que están en fase de producción de semilla.

En la Tabla 1 se presentan las características del rendimiento, la resistencia a enfermedades y calidad de las variedades.

Tabla 1. Características de once variedades cubanas de papa

Variedades	Rendimiento potencial ($t.ha^{-1}$)	Rendimiento media seis años ($t.ha^{-1}$)	*A. solana* (escala de 9 grados)	*P. infestans* (%)***	Masa seca (%)
Aninca	52	40	4	25	16.70
Marinca	54	36	3	20	17.30
Cubanita	67	37	4	25	16.30
Jorinca	60	38	5	50	15.10
Lizette	48	34**	4	25	17.80
Ibis	52	35**	4	25	16.60
Candita	42	31	4	50	17.00
Maruca	40	32	4	50	17.00
Anita	45	30	3	25	17.00
Maelena	42	34	4	50	18.00
Grettel	47	38	3	50	20.00

** Media de 10 años *** Evaluación en campo

En la tabla se aprecia que todas las variedades cubanas poseen rendimientos potenciales por encima de 40 $t.ha^{-1}$, resistencia al hongo *A. solani*, buen comportamiento en campo al hongo *P. infestans* y calidad para consumo fresco y la Grettel para industria.

Todas estas variedades se regionalizaron en Cuba y en estos momentos están en fase de producción de semilla.

Métodos no convencionales

Los métodos biotecnológicos y de ingeniería genética incluyen los fundamentados en el cultivo de tejidos, cultivos celulares y métodos moleculares. La diferencia principal con el mejoramiento convencional estriba en que los métodos nuevos ya no están basados en el cruzamiento, sino en la manipulación de células y genes, o sea, la manipulación genética.

Para ganar tiempo y que el mejoramiento y la selección sean más eficientes, las técnicas no convencionales son un buen complemento del mejoramiento tradicional (Trognitz *et al*., 1996).

Se han desarrollado diversas técnicas *in vitro* para superar obstáculos o barreras, debido a los problemas de polinización, fertilización o embriogénesis. Algunos pertenecen al campo del cultivo de células o tejidos: cultivo de embriones y óvulos; polinización y fertilización *in vitro*, hibridación somática y creación *in vitro* de líneas de sustitución y adición (Cubillos, 1990). Otro es el campo de la Iingeniería genética: utilización de vectores como plasmidios de *Agrobacterium tumefasciens* y *A. rhizogenes*, la transformación genética de plantas con ADN, aislamiento de genes, etc.

La tecnología de transgénesis más utilizada está basada en un proceso natural desarrollado a través de los años por la bacteria del suelo *Agrobacterium tumefaciens*: la bacteria coloniza genéticamente a las células vegetales, transfiriendo parte de su cromosoma (T-ADN) plasmídico al genoma de las plantas donde se integra y funciona produciendo mensajes de RNA y proteínas específicas. Este segmento del plásmido se ha modificado de tal manera que lleva el gén de interés. El transgén es un gen foráneo o endógeno modificado para ser introducido mediante la bacteria, puede ser de origen vegetal, animal o quimérico (Roca, 2002).

Se han realizado innumerables híbridos somáticos por fusión de protoplastos entre las especies silvestres y cultivadas de papa (Pehu *et al*., 1990; Xu, Pehu y Jones, 1990), los que han alcanzado resistencia a *Alternaria solani* (Helgeson *et al*., 1993; Helgenson, James y Stevenson, 1994), *P. infestans* (Helgeson *et al*., 1993), nematodos (Austin *et al*., 1993; Brown *et al*., 1994), heladas (García, 1991), virus (Thach, Frei y Wenzel, 1993; Rokka, Valkonen y Pehu, 1995), áfidos (Rajnchapel-Messai, 1987) y cambios en atributos orgánicos (Chaput *et al*., 1990; Serraf *et al*., 1991; Moller y Wenzel, 1992; Helgeson *et al*., 1991).

Se han logrado aislamientos exitosos de haploides de especies silvestres por cultivo de anteras (Hawkes, 1994). Las plantas generadas son más pequeñas y débiles con drástica reducción de la fertilidad masculina y femenina y se han notado anormalidades en la meiosis (Singsit y Hanneman, 1987).

La papa es una especie en la cual los biotecnólogos se han aplicado de forma pionera; tal es el caso del cultivo de embriones realizado por Haynes (1954), uso de los patrones isoenzimáticos para caracterizar

genotipos, el cultivo de meristemos para la obtención de materiales libres de patógenos, y la conservación y distribución de germoplasma *in vitro* (Schilde-Rentschler y Schmiediche, 1984).

Se desarrollan marcadores moleculares de los genes de resistencia fáciles de usar para hacer más eficiente la selección.

La selección por medio de los marcadores genéticos que son cuantitativos, es más precisa que la selección fenotípica en el campo (CIP, 1995a).

El RFLP se ha usado para generar mapas genéticos, con el fin de identificar genotipos específicos y caracteres agronómicos (Dodds y Watanabe, 1990 y Roca, 2002). Se estableció en papa el mapa de *linkage* de 12 grupos (Bonierbale, Plaisted y Tanksley, 1988 y Gebhardt *et al*., 1989).

Los métodos biotecnológicos deben ser considerados como un complemento y no como un reemplazo de los métodos tradicionales de mejoramiento, pues ellos amplían las posibilidades de explotar la variabilidad genética existente en la naturaleza.

Aspectos de genética cuantitativa y heredabilidad

En la actualidad, en los diferentes países que se trabaja en el mejoramiento de la papa, se siguen estas vías tradicionales como fundamentales y, a su vez, se trabaja e investiga en nuevas formas que hagan más seguro y dinámico dicho trabajo, para lo que se une la selección no para un solo carácter sino la selección simultánea para varios caracteres, creándose índices de selección en muchos casos basados en diferentes parámetros genéticos, tales como la heredabilidad y las correlaciones genéticas. También se emplean diferentes diseños genéticos estadísticos, que brindan una amplia información a los genetistas, como son los biparentales, Carolina del Norte I y II, dialélico, *Top-Cross*, etc.

Algunos de estos diseños permiten determinar las habilidades combinatorias de los progenitores: general (*GCA*) y específica (*SCA*) (Warden, 1964 y Sprange, 1966).

Otro de los aspectos a tener en consideración en el mejoramiento genético es el efecto de la interacción genotipo-ambiente (Finlay y Wilkinson, 1963; Eberhart y Russell, 1966; Tai, 1972; Estévez, 1981; Bradshaw y MacKay, 1994 y Estévez *et al* ., 2000).

En el caso de la papa, que básicamente su reproducción es asexual, muchos individuos con el mismo genotipo (clones) pueden ser producidos y plantados sobre diferentes condiciones ambientales, observándose efectos marcados del ambiente sobre la expresión fenotípica de ellos;

por lo que la variación fenotípica observada es debido a la variación genética más el efecto del ambiente, debiéndose trabajar por disminuir el efecto ambiental mediante el uso de diseños experimentales apropiados y ser cuidadosos en la experimentación.

En la papa, Estévez (1981), en Cuba, estimó la interacción genotipo-ambiente en un grupo de variedades foráneas. Talbot (1984), Baker (1988), Gauch (1988), Dale y Phillips (1989), Vermeer (1990) y Estévez (2000), han informado sobre la interacción genotipo-ambiente y métodos estadísticos de análisis de los parámetros de estabilidad.

En sentido estricto, el problema de si una cierta característica es hereditaria o ambiental, no tiene ningún significado. Los genes no pueden hacer que se desarrolle un carácter si no tienen el medio ambiente adecuado y, al contrario, ninguna manipulación del medio hará que se desarrolle una cierta característica si no están presentes los genes necesarios. A pesar de esto, debemos reconocer que la variabilidad observada en algunos caracteres es debido principalmente a diferencias en los genes que llevan los distintos individuos y la observada en otros se debe sobre todo a la diferencia en los medios a que han sido expuestos los individuos (Vayda, 1994).

El concepto de heredabilidad, originado como intento para describir si las diferencias genéticas entre individuos provenían de diferencias en su constitución genética o resultaban de diferentes fuerzas ambientales, fue definido por Knight (1948), citado por Gálvez (1980), como la parte de la varianza observada de la cual son responsables las diferencias hereditarias.

La heredabilidad tiene que ser referida al método empleado para estimarla, es decir, si se estima en base a una parcela, planta, parcela replicada en varios ambientes u otra base de referencia.

Gálvez (1980), citado por González (1998), plantea que la heredabilidad no es solamente una propiedad del carácter en cuestión, sino fundamentalmente una propiedad poblacional. Señala la necesidad de estandarizar el concepto de heredabilidad. En relación con la utilización de la heredabilidad en sentido ancho y estrecho, plantea que ambas son de utilidad y lógicamente deben ser aplicadas de acuerdo con el material con que el investigador cuenta así como el objetivo que persigue.

Mejoramiento para el procesamiento y la calidad industrial

Desde el tiempo de los incas, el hombre ha deshidratado las papas para conservarlas y calmar el hambre. Cuando los españoles llevaron la papa de América hacia Europa, ocurrió algo semejante.

Durante la Revolución Industrial, emergieron en Alemania e Inglaterra los procesos de deshidratación de la papa. En el siglo XIX se inició la fermentación de la papa, para obtener alcohol y fabricar almidón y después preparar las hojuelas de papa frita (Estrada, 2000).

Según Wilard (1993), en el siglo XX las necesidades de las guerras mundiales originaron una tecnología rápida para el secado y esto dio lugar a la producción de puré de papa por su fácil preparación. Después de la segunda guerra mundial, en la era de los alimentos rápidos y la tecnología de congelación, surgieron las "papas a la francesa", que es un producto en la actualidad de gran aceptación y una de las fuentes de mayor venta de papa mundialmente.

Según Estrada (2000), las tendencias recientes en tecnología y empleo se concentran en productos deshidratados, incluidos la harina de papa, las hojuelas, los gránulos y conglomerados, las tajadas secas y otros productos congelados, especialmente derivados de papas pequeñas y sus pedazos. Productos variados como papas peladas, almidón, alcohol y papas precocidas también se han difundido.

En el futuro este procedimiento continuará, ya que hace que la papa desprovista de agua sea más manejable para el transporte, la venta y su preparación para el consumo. Probablemente se mejorarán los métodos para tener más recursos disponibles y reducir los desperdicios, sin contaminar el ambiente.

En Cuba, la introducción del procesamiento de la papa será sin duda un paso importante para la agricultura y los consumidores cubanos.

En los países industrializados, la papa procesada ya llega al 80 % y en los países en vía de desarrollo varía desde un 5 a un 20 %.

En Cuba se realizan diferentes trabajos, encaminados a la búsqueda de variedades cubanas y foráneas con aptitud para la industria (Estévez *et al.*, 1998, 1998a, 1999, Castillo *et al*., 2000, y Gonzales *et al*., 2000).

FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LA PAPA PARA EL PROCESAMIENTO

Existen diversos factores que influyen en la calidad para el procesamiento de la papa como: el tamaño y la forma del tubérculo, los daños y defectos, el contenido de materia seca, los azúcares reductores, el ennegrecimiento no enzimático, las condiciones climáticas, la variedad, la densidad de plantación, el abonado del suelo, el riego, la cosecha, la transportación y el almacenamiento.

Los productores de papas fritas prefieren tubérculos ovalados alargados con un tamaño superior de 50 mm. Para la producción de papas *chips*, se requiere de tubérculos redondos con un tamaño que oscile entre 40-60 mm.

La manipulación desde la cosecha hasta la industria debe ser adecuada, para evitar los daños internos, ya que las células se rompen y se forman manchas marrones que impiden su elaboración; los defectos internos tales como el corazón hueco o negro, resultan también indeseables. Uno de los problemas más importantes al que con frecuencia tiene que enfrentarse la industria es la mancha negra, que puede ocurrir por problemas de mala manipulación en la cosecha, transportación y el almacenamiento. Otros factores como la variedad, fertilización nitrogenada y potásica influyen en el grado de afectación. Las variedades que poseen altos contenidos de materia seca son más propensas a la mancha negra.

Para la producción de papas fritas, se prefiere un contenido de materia seca entre 20-24 %, para la producción de papa *chips* entre 22-24 %.

Otro de los factores son los azúcares reductores, que se determinan en gran parte por el color del producto frito: cuanto mayor sea el contenido de azúcares reductores, más oscuro será el color de la fritura; los valores permisibles son menores de 0.5 % del peso fresco.

Las condiciones climáticas, como la temperatura y duración del día, influyen marcadamente en la calidad y, según lo informado por la literatura, la temperatura óptima para la producción está entre 15-25°C durante el día y por debajo de 12°C por la noche. Otro factor importante es la maduración de los tubérculos; se necesitan tubérculos maduros para la industria, por lo que hay que tener cuidado en la selección de las variedades para las condiciones cubanas, evitando utilizar variedades tardías, ya que se cosecharían tubérculos inmaduros que no estarían aptos para la industria.

La fertilización es de suma importancia, ya que tanto el nitrógeno como el potasio tienden a reducir el contenido de materia seca cuando se aplican en grandes cantidades, y el nitrógeno en altas dosis afecta adversamente el color y ennegrecimiento no enzimático.

El agua es esencial; durante el crecimiento del tubérculo una disponibilidad controlada evita que se produzca un descenso de la calidad, debido a la aparición de grietas, deformidad y vidriosidad del tubérculo.

En el momento de la cosecha, el cultivo debe tener buena maduración y evitar daños al tubérculo al igual que en la transportación y el almacenamiento.

En Cuba solo se cuenta a escala de producción con las variedades Santana y Desirée, con algunas cualidades para la industria: la Santana de procedencia holandesa, que hace solo tres años que se planta en el país y la Desirée que es de mayor estabilidad y que sí se ha estudiado durante muchos años.

En la Tabla 2 aparecen las características del rendimiento, contenido de materia seca y azúcares reductores de las variedades en condiciones cubanas, apreciándose que en el caso de la Santana, los valores están en los rangos establecidos y en la Desirée, el contenido de materia seca es más bajo; además, de acuerdo con los estudios realizados por Hernández (2000), ambas variedades se comportan muy bien en almacenamiento a 10 ± 1 °C, durante seis meses.

Tabla 2. Variedades actuales para la industria

Variedad	Procedencia	Materia seca (%)	Azúcares reductores (% de peso fresco)	Rendimiento ($t.ha^{-1}$)
Santana	Holanda	17-23	0.3	35-40
Desirée	Holanda	17-19	0.5	30-35

En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícola (INCA), se desarrolla un programa para la selección y obtención de variedades para la industria; en la Tabla 3 se presenta el porcentaje de materia seca y el rendimiento ($t.ha^{-1}$) de un grupo de variedades foráneas.

Tabla 3. Variedades estudiadas en Cuba

Variedad	Procedencia	Materia seca (%)	Rendimiento ($t.ha^{-1}$)
Santé	Holanda	19-20	30-35
Frisia	Holanda	18-20	35-40
Disco	Holanda	18-20	18-20
Red Star	Holanda	16-17	19-20
Baraka	Holanda	17-19	> 30
Ajiba	Holanda	17-20	22-28
Bintje	Holanda	17-18	23-26
Amorosa	Holanda	18-20	31-33
Arnova	Holanda	14-22	38-40
Kennebec	Canadá	17	-
Lady Rosetta	Canadá	16-20	20-25
Russet Burbank	Canada	-	-
Lutetia	Holanda	16-20	30
Shepody	Canadá	20-22	13-35
Symfonia	Holanda	17-20	> 30
Oscar	Holanda	> 20	> 30
Rarita	Holanda	20-23	15-20
Atlantic	Canadá	20-23	35-40
Fontenot	Canadá	20-23	35-40
Krantz	Canadá	21-22	25-30
Remarka	Holanda	20-22	25-30
Vivaldi	Holanda	18-20	30-32

Como se refleja en la tabla hay un grupo de variedades que presentan porcentajes de materia seca aceptables para la industria y rendimientos entre 25 y 40 $t.ha^{-1}$. No obstante, se cuenta con clones cubanos que tienen muy buenas posibilidades y se trabaja en la obtención de marcadores moleculares que hagan más eficiente la selección de variedades para la industria.

En las tablas siguientes se muestran algunos clones cubanos: en la Tabla 4 se aprecia el comportamiento de clones cubanos de sexta generación, para el contenido de masa seca de los tubérculos. Durante cinco campañas se presentan los valores medio, en relación con las variedades control Desirée, Red Pontiac y Baraka; los clones 5-41-93, 1-481-93, 14-36-93, 6-82-93, 6-82-93, 6-84-93, 3-34-93, 2-66-93, 2-158-93 y 1-218-93, resultaron superiores a las variedades control y al resto de los clones, por lo que deben ser seleccionados, para profundizar en otras características, como el contenido de azucares, con fines de Industria.

Tabla 4. Porcentaje de masa seca de clones de papa de sexta generación

Clón	1997-1998	1998-1999	1999-2000	2000-2001	2001-2002
1-218-93*	18.3	20.0	19.8	20.0	19.1
14-68-93	17.8	18.6	17.4	18.6	17.7
1-541-93	19.3	18.1	18.1	18.5	17.9
1-88ª-93	16.6	17.6	18.0	17.8	17.4
2-110-93	18.5	17.7	18.2	19.2	18.0
2-158-93*	19.2	18.8	20.0	19.2	20.2
2-66-93*	19.0	20.0	19.7	18.6	19.5
2-67ª-93	15.1	16.2	15.6	15.4	15.6
2-87-93*	19.5	19.0	19.4	20.0	19.5
3-34-93*	19.2	20.1	20.0	18.8	20.5
3-52-93	17.0	17.1	16.4	17.0	16.9
3-70-93	16.1	16.0	15.2	15.4	16.3
4-8-93	19.0	18.7	18.1	19.2	18.3
5.32-93	18.1	20.3	19.2	18.6	17.6
6-31-93	18.2	18.1	18.7	18.1	17.1
6-82-93*	18.5	21.1	19.1	21.0	20.4
6-84.93*	19.0	19.2	19.5	19.5	19.6
9-32-93	16.0	17.0	17.5	17.0	12.4
10-40-93	18.0	17.3	17.25	18.8	17.1
1-401-93	16.3	16.1	15.4	16.0	15.5
14-36-93*	20.1	19.0	20.0	19.6	19.4
1-481-93*	19.8	20.0	19.6	19.0	19.5
1-94-93	18.0	17.4	17.5	18.1	17.0
2-14-93	18.3	18.7	18.0	18.1	17.0
2-71-93	16.8	17.9	18.3	17.8	18.0
3-25-93	15.3	15.5	16.6	17.1	16.7
6-60-93	19.0	18.5	19.3	19.0	18.9
4-6-93	18.1	17.3	17.7	17.4	17.6
5-113-93	15.3	15.2	14.9	15.0	14.7
5-14-93	16.9	16.3	17.0	16.8	16.6
5-22-93	16.8	17.5	16.6	17.0	16.4
5-41-93*	20.3	19.4	19.8	20.0	19.3
5-92-93	15.8	14.7	14.3	15.1	14.0
6-31-93	18.0	17.3	17.9	18.0	17.1
Desirée	18.3	17.6	18.0	18.5	17.8
Red Pontiac	15.5	14.9	15.7	16.6	14.8
Baraka	17.9	17.6	18.0	18.3	17.7

En la Tabla 5 se presentan los clones de quinta generación; en ella se aprecia que los valores de masa seca de los tubérculos variaron de 16.4 a 21.6 %. Los clones 7-79-94 y 10-25-94 resultaron los mejores, con valores superiores al control Baraka, debe destacarse el clon 7-79-94 que presentó en cuatro de los cinco años de evaluación, porcentaje de masa seca superior al 20 %, lo que la hace apta para la industria; deben evaluarse los contenidos de azúcares de este clon y de estar entre los parámetros establecidos, hay que acelerar su proceso de producción de semilla para extender en áreas de producción.

Tabla 5. Porcentaje de masa seca de clones de papa de quinta generación

Clón	1997-98	1998-99	1999-00	2000-01	2001-02
10-95-94	18.2	18.6	18.6	20.56	18.9
13-3-94	17.1	18.3	16.9	16.8	17.4
2-2-94	19.2	17.1	18.1	19.7	17.2
2-27-94	17.7	19.1	19.1	19.6	19.1
7-79-94*	21.4	19.4	20.0	20.1	21.6
8-116-94	19.5	18.7	17.8	17.8	18.2
8-68-94	19.0	20.5	19.6	20.0	19.2
9-62-94	17.7	17.5	17.0	17.3	16.5
9-75-94	17.2	17.7	17.4	17.0	16.4
10-25-94*	20.2	19.0	20.0	19.7	19.4
Baraka	19.1	19.0	19.2	18.9	19.9

En la Tabla 6 se aprecian cinco clones con porcentaje de materia seca superiores al 20 % y rendimiento por encima de 1 kg.planta^{-1}.

Tabla 6. Clones cubanos de quinta generación con altos contenidos de materia seca

Clones	Rendimiento (kg.planta^{-1})	Número de tubérculos por planta	Materia seca (%)	*Alternaria solani*	*Phytophthora infestans* (%)
10-95-94	1.017	14	**20.56**	5	50
10-25-94	1.008	14	19.70	4	50
9-31-94	1.025	7.8	18.70	5	50
2-2-94	1.062	13	17.00	4	25
9-20-94	1.111	7.7	16.40	4	50
8-68-94	1.125	9.8	**20.00**	7	50
8-8-94	1.200	7.5	**20.40**	5	50
7-79-94	1.217	6.0	**21.20**	4	75
4-66-94	1.285	6.4	18.70	5	50
9-65-94	1.400	9.8	**20.00**	4	25

En la Tabla 7 se presentan los clones de tercera generación, en los que sobresalen 1-69-96, 11-11-96 y 12-4-96.

Tabla 7. Porcentaje de masa seca de clones de papa de tercera generación

Clon	1999-2000	2000-2001	2001-2002
1-10-96	16.3	15.1	17.4
1-5-96	15.2	17.4	14.8
1-69-96 *	19.1	19.1	20.2
11-1-96	15.6	16.3	16.2
11-10-96	17.1	18.3	15.6
11.11-96 *	19.7	19.1	20.6
11-18-96	17.8	17.8	19.0
12-4-96 *	19.7	19.7	19.6
2-10-96	17.1	17.2	18.0
2-9-96	17.7	18.6	17.0
2-7-96	19.0	18.1	19.2
3-8-96	17.3	17.6	18.0
2-1b-96	17.5	17.5	17.1
Desirée	19.1	19.1	18.3

De forma general, en estos materiales genéticos se aprecian fuentes importantes de posibles variedades para la industria papera, cubana que está necesitada de variedades para este fin, por lo que en los próximos años se debe continuar la validación de estos clones en diferentes ambientes así como la generación de nuevos genotipos para este empeño.

PRINCIPALES RESULTADOS DEL PROGRAMA DE HIBRIDACIÓN

La necesidad de buscar e incorporar nuevas características de resistencia, adaptabilidad y rendimiento en los diferentes cultivos en el planeta, hace del mejoramiento un arma eficaz y necesaria para lograr la seguridad alimentaria a partir de los recursos genéticos vegetales (FAO, 1996).

De los métodos utilizados para incrementar el rendimiento de los cultivos, el mejoramiento genético ha sido sin dudas el de mayor contribución. Entre las razones fundamentales se encuentran los bajos costos, en comparación con los altos beneficios económicos que pueden obtenerse, ya que se incrementa el rendimiento por área con pocos gastos de insumos agrícolas adicionales (Rojas, 1996); por otra parte, la obtención de variedades más estables y con mejor comportamiento ante plagas y enfermedades, reduce el consumo de pesticidas y produce cosechas más seguras.

El mejoramiento tradicional es aún una fuente importante, para obtener progenies con variabilidad y seleccionar genotipos deseados, ya que permite obtener familias que tienen la capacidad de producir rendimientos relativamente buenos de tubérculos con una uniformidad adecuada. Sin embargo, para mejorar la calidad y cantidad de producción, es necesaria la utilización de especies silvestres y cultivadas, que son fuentes de resistencia a estrés bióticos y abióticos (Estévez *et al*, 1996; Bradshaw, 1998 e IPGRI, 1999). En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, se cuenta con un germoplasma de especies silvestres y cultivadas, que ha sido evaluado en época óptima y temprana, que sirve de base para el desarrollo del programa de mejoramiento.

Dada la necesidad de seleccionar combinaciones híbridas con buenos comportamientos en nuestras condiciones, para de esta forma poder seleccionar variedades con mayores atributos que las existentes, se desarrollaron diferentes cruzamientos para la obtención de semillas híbridas de papa, así como conocer la habilidad de cruzamiento entre genotipos de *Solanum*.

DESARROLLO

Durante los años 1998 al 2001, en el área central del INCA, se realizaron tres grupos de cruzamientos (Tabla 8), en condiciones de invernadero, donde se utilizaron como progenitores genotipos de especies cultivadas (*Solanum tuberosum* subespecie *tuberosum, S. stenotomum* y *S. phureja*) y las especies silvestres *Solanum chacoense*, *S. politrychon, S. leptophyes*, *S. verrucosum* y *S. tarijense*.

Para la realización de los cruzamientos se utilizó el método de decapitación. Los tallos con inflorescencia se cortaron en el campo en horas de la mañana y se trasladaron al invernadero, dejándoles de dos a tres hojas funcionales y colocándose en pomos con agua y sulfato de estreptomicina, con el objetivo de disminuir la incidencia de bacterias y hongos en el tallo. El material se dejó recuperar y posteriormente se eliminaron las flores abiertas y botones inmaduros, procediendo a la emasculación con la ayuda de pinzas y agujas. Inmediatamente se realizó la polinización, identificándose los cruzamientos mediante una tarjeta donde se refleja la combinación realizada, el número de flores cruzadas, el día y la hora en que se realizó el cruzamiento y el nombre de la persona que lo realizó.

Los frutos (bayas) se cosecharon entre 30 y 35 días después de la polinización y se realizó la extracción de las semillas, evaluándose para cada combinación el número de flores polinizadas, el número de frutos logrados, el porcentaje de fructificación, y el número de semillas total y por fruto. De algunas combinaciones híbridas se seleccionaron al azar 20 bayas (Tabla 8) y se les evaluaron el peso (g), largo (cm), ancho (cm) y número de semillas.

Se estimaron la media, la desviación estándar, el coeficiente de variación y los valores mínimos y máximos. Para los caracteres relacionados con el fruto, se hallaron las correlaciones lineales y los coeficientes de sendero, considerándose un esquema causal donde:

efecto: peso de la baya (Yo)
causas: largo de la baya (X1)
ancho de la baya (X2)
número de semillas por baya (X3).

RESULTADOS

En la Tabla 8 se presentan los resultados de los cruzamientos intra e interespecíficos de papa, realizados durante los años 1998 al 2001 y el resultado de sus polinizaciones, donde se utilizaron como progenitores 47 genotipos (19 variedades comerciales, 13 clones provenientes del CIP, ocho clones cubanos, dos especies cultivadas y cinco especies silvestres). Se cruzaron un total de 6 355 flores y se lograron 3 288 bayas para un total de 163 473 semillas.

El mayor número de cruces realizado fue intraespecífico, donde se utilizaron como progenitores variedades y clones de la *subespecie tuberosum*, las que se cruzaron entre sí y se obtuvieron 3 058 bayas con un 55.3 % de fructificación para un total de 162 955 semillas y un promedio de 43.1 semillas por fruto (Tablas 8 y 9).

El porcentaje de fructificación varió de 27.3 a 94.4 %, con un coeficiente de variación de 29.5 %; el número de semillas por fruto osciló entre 4.1 y 168.1 y un coeficiente de variación alto de 96.3 % (Tabla 9), lo que evidencia que este carácter fue más variable que el porcentaje de fructificación.

Tabla 8. Cruces realizados y resultado de sus polinizaciones

Cruces	Número de flores polinizadas	Número de bayas logrado	Fructificación (%)	Número de semillas totales	Número de semillas por baya
Subsp. tuberosum x *subsp. tuberosum*					
Atlantic x Kondor	168	123	73.2	7494	64.6
Desirée x CIP 23	88	70	79.5	6980	99.7
Desirée x CIP 115	125	118	94.4	12900	109.3
Desirée x Kondor	48	43	89.6	5150	119.8
Desirée x CIP 110	63	47	74.6	2700	57.4
CIP 114 x Desirée	91	70	76.9	2180	31.1
Desirée x CIP 38	3	1	33.3	27	27
CIP 114 x Chieftain	77	45	58.4	630	14
Red Pontiac x CIP 115	66	37	56.1	562	15.2
Desirée x CIP 29	81	30	37	515	17.2
Desirée x CIP 34	411	267	65	13147	49.1
CIP 1 x 1-14 -95	95	49	51.6	1625	33.2
Desirée x 1-11-96	99	52	52.5	1624	31.2
Desirée x 23-5-95	79	37	46.8	1288	34.8
CIP 1 x 1-14-95	60	33	55	1156	35
Desirée x Mezcla	84	61	72.6	5470	89.7
Desirée x CIP 115	166	148	89.2	12900	87.2
Desirée x CIP 23	59	36	61	2000	55.6
CIP 115 x Desirée	186	51	27.4	1000	19.6
Spunta x Desirée	299	106	35.4	884	8.3
Desirée x Ajiba	288	208	72.2	14561	70
Desirée x CIP 114	194	143	73.7	5492	38.4
Desirée x Carlita	102	55	53.9	9244	168.1
Desirée x Santana	166	91	54.8	1454	16
Krantz x Carlita	158	85	53.8	13449	158.2
Chieftain x Desirée	183	71	38.8	1168	16.4
Krantz x Fontenot	92	60	65.2	7484	124.7
Santana x Carlita	28	14	50	730	52.1
Carlita x Fontenot	45	28	62.2	4282	152.9
Desirée x Fontenot	55	35	63.6	4760	136
Desirée x CIP 8	38	23	60.5	463	20.1
Krantz x CIP 34	52	26	50	1175	45.2
Rose Gold x Santana	41	18	43.9	322	17.9
Desirée x Krantz	37	20	54.1	400	20
Santana x Ajiba	51	34	66.7	882	25.9
Carlita x Desirée	260	89	34.2	2008	22.6
CIP 4 x Ajiba	44	22	50	792	36
Santana x CIP 34	22	13	59.1	284	21.8
Ajiba x 14-2-95	38	23	60.1	222	9.6
S. Gold x Chieftain	84	23	27.4	94	4.1
Ajiba x Desiréé	82	32	39	520	16.2
Carlita x Chieftain	57	24	42.1	441	18.4
Fontenot x Carlita	43	22	51.2	3641	120
Desirée x 7-128-95	96	24	25.0	600	25
R. Pontiac x Desirée	45	25	55.6	310	12.4
Ajiba x Desirée	42	26	61.1	838	32.2
1-88-93 x Chieftain	50	20	40.0	140	7
Santana x Desirée	170	57	33.5	632	11.1
Fontenot x Santana	35	21	60.0	720	34.3
Carlita x CIP 1	55	20	36.4	354	17.7
Desirée x Mezcla	52	40	76.9	1183	29.6
Diamant x Desirée	136	74	54.4	1088	14.7
13-48-93 x Ajiba	63	21	33.3	388	18.4
Desirée x Chieftain	38	28	73.4	734	26.2
Desirée x CIP 127	27	17	62.9	692	40.7
Krantz x CIP 107	28	19	67.8	226	11.9
Krantz x 14-52-93	15	8	53.3	96	12
Krantz x CIP 27	27	15	55.6	383	25.5
Krantz x 6-463-85	53	40	75.5	1240	31
Atlantic x CIP 1	24	10	41.7	100	10
Desirée x CIP 129	11	3	27.3	26	8.7
Desirée x CIP 1	4	2	50	62	31

Desirée x CIP 110	12	5	41.7	43	8.6
Total	5491	3058	.	162955	.
Subsp. tuberosum x especies cultivadas					
Aninca x *S. stenotomun*	38	25	65.8	45	1.8
Jorinca x *S. stenotomun*	48	24	50.0	147	6.1
Krantz x *S. phureja*	15	4	26.6	5	1.2
Aninca x *S. phureja*	54	35	64.8	56	1.6
Jorinca x *S. phureja*	61	17	27.9	23	1.4
Total	216	105	.	276	.
Subsp. tuberosum x especies silvestres					
Desirée x *S. politrychon*	130	3	10.0	4	1.3
Desirée x *S. leptophyes*	67	7	10.4	7	1
Desirée x *S. verrucosum*	82	14	17.1	20	1.4
Desirée x *S. chacoense*	127	11	8.7	40	3.6
Spunta x *S. chacoense*	27	13	48.2	10	0.8
Krantz x *S. chacoense*	49	16	32.6	32	2.0
Jorinca x *S. chacoense*	86	22	25.6	51	2.3
Aninca x *S. chacoense*	28	20	71.4	48	2.4
Frisia x *S. tarijense*	62	19	30.6	30	1.6
Total	658	125	-	242	-
Total general	6355	3288		163473	

Tabla 9. Estadígrafos fundamentales de cruces de *Solanum* sp

	Fructificación (%)			Número de semillas por baya		
	txt	txc	txs	txt	txc	txs
Media	55.3	48.6	19.0	43.1	2.6	1.9
DE	16.3	19.0	0.9	41.5	2.1	20.8
CV (%)	29.5	40.6	47.4	96.3	85.5	73.4
Mínimo	27.3	27.9	8.7	4.1	1.2	0.8
Máximo	94.4	65.8	71.4	168.1	6.1	3.6

t: *subsp tuberosum* c: especies cultivadas s: especies silvestres

Se aprecian cruces con pocas semillas por baya, lo cual pudo estar dado por problemas genéticos o las condiciones ambientales adversas, las cuales pueden causar la no funcionalidad polínica (Estévez *et al*., 1999; Bamberg, 1995; Huamán, 1995; Trognitz, 1995; Maine, 1998; Pandey y Gupta, 1996), lo que está en dependencia del genotipo. También es bloqueada la diferenciación y el crecimiento del esporofito es reducido. De los cruzamientos realizados, diez de ellos alcanzaron números de semillas por baya superiores a 80, destacándose Desirée x CIP 115, Desirée x Kondor, Desirée x Carlita, Krantz x Carlita, Krantz x Fontenot, Carlita x Fontenot, Desirée x Fontenot y Fontenot x Carlita con valores muy superiores a 100. Se realizaron cinco cruzamientos entre especies cultivadas, donde se utilizaron como progenitores femeninos tres variedades de *S. tuberosum ssp*. *tuberosum* y dos especies cultivadas. Se logró un total de 276 semillas con un porcentaje de fructificación de 48.6, con valores que oscilaron entre 27.9 y 65.8 % y un coeficiente de

variación de 40.6 %. Sin embargo, el número de semillas por fruto alcanzado fue bajo (2.6), oscilando entre 1.2 y 6.1 y un coeficiente de variación alto de 85.5 % (Tabla 9), lo cual pudo ser debido a diferencias en el número de ploidías (4X x 2X).

Se realizaron nueve cruzamientos interespecíficos, donde se utilizaron tres variedades como progenitores femeninos y como masculinos cinco especies silvestres con altos porcentajes de viabilidad y germinación del polen. Se cruzaron 658 flores y se recogieron 125 bayas para un total de 242 semillas, evidenciándose que las variedades de la *subespecie tuberosum* de nivel tetraploide pueden cruzarse con especies silvestres diploides y tetraploides (*S. politrychon*). Sin embargo, para todas las combinaciones híbridas, el número de semillas por fruto presentó valores bajos, siendo el valor más alto alcanzado de 3.6 semillas por fruto, en la combinación Spunta x *S. chacoense*. La diferencia entre niveles de ploidía es considerada como una barrera para los cruzamientos, así como la incompatibilidad entre los progenitores. Hay barreras estilares que impiden la fertilización por detener o crecer muy lentamente el tubo polínico; hay esterilidad masculina genético-citoplasmática, así como barreras del endospermo que impiden que ocurra el normal desarrollo de la semilla (Estévez *et at*., 2002).

El porcentaje de fructificación tuvo una media de 19 %, destacándose las combinaciones Aninca por *S. chacoense* con el valor máximo de 71.4 %, seguido de Spunta x *S. chacoense* con 48.2 %; este carácter presentó un coeficiente de variación alto de 73.4 %.

El resultado de las evaluaciones para características del fruto de los tres grupos de cruzamientos realizados, entre genotipos de la *subespecie tuberosum, subespecie tuberosum* x especies cultivadas y *subespecie tuberosum* x especie silvestre, para el largo, ancho, peso y número de semillas por baya, se presentan en la Tabla 10. Se alcanzó el mayor largo de la baya en el cruce Desirée x Ajiba, así como los mayores anchos en Desirée x Ajiba, Desirée x Carlita, Krantz x Carlita, Krantz x Fontenot y Santana x CIP-34.

Con respecto al peso de la baya, los mayores valores se encontraron en las combinaciones híbridas Desirée x Ajiba, Krantz x Fontenot, Desirée x CIP 115 y Fontenot x Carlita.

Presentaron número de semillas por baya superiores a 100, los cruzamientos Desirée x CIP 115, Desirée x Carlita, Carlita x Fontenot, Krantz x Carlita, Desirée x Fontenot, Krantz x Fontenot y Fontenot x Carlita, destacándose las combinaciones híbridas Desirée x CIP 115 y

Desirée x Carlita con valores de 174 y 168.3 respectivamente. Según lo señalado por Chujow *et al*. (1996), González (1998) y Estrada (2000), a través de cruces entre parentales tetraploides se puede obtener variabilidad por locus y seleccionar progenies con buenas características.

Tabla 10. Características del fruto en cruces de *Solanum* sp

Cruces	Largo de la baya (cm)	Ancho de la baya (cm)	Peso de la baya (g)	Número de semillas por baya
Sp. tuberosum x *sp. tuberosum*				
Carlita x Fontenot	1.5	1.7	3.2	144.1
Fontenot x Carlita	1.7	1.8	4.0	127.2
Chieftain x Desirée	1.5	1.7	2.9	20.2
Desirée x Chieftain	1.6	1.8	3.7	28.4
Desirée x Carlita	1.7	2.0	3.8	168.3
Carlita x Desirée	1.3	1.5	2.2	47.7
Santana x Desirée	1.2	1.3	1.8	18.4
Desirée x Santana	1.5	1.8	3.2	23.3
Desirée x Ajiba	2.0	2.3	6.3	70.3
Ajiba x Desirée	1.3	1.4	2.1	16.0
Carlita x CIP 1	1.0	1.3	1.5	16.6
Carlita x Chieftain	1.4	1.5	2.7	27.5
Krantz x Carlita	1.6	2.0	3.8	142.7
Krantz x Fontenot	1.6	2.0	4.6	135.7
Krantz x CIP 34	1.1	1.4	1.9	40.7
Santana x CIP 34	1.6	2.0	3.9	26.0
Santana x Ajiba	1.4	1.6	3.3	36.8
Santana x Carlita	1.4	1.7	2.9	56.0
Spunta x Desirée	1.3	1.4	1.6	10.3
Fontenot x Santana	1.1	1.3	1.3	30.6
Desirée x Fontenot	1.5	1.8	3.8	140.7
Desirée x Krantz	1.3	1.5	2.3	19.6
Desirée x CIP 23	1.3	1.6	2.9	107.8
Desirée x CIP 115	1.6	1.9	4.3	174.0
Red Pontiac x Desirée	1.2	1.5	1.9	8.2
Ajiba x 4-12-95	1.2	1.4	1.8	13.3
CIP 115 x Desirée	1.0	1.3	1.4	7.8
1-88-93 x Chieftain	1.1	0.9	0.9	6.2
13-48-93 x Ajiba	1.0	1.3	1.6	11.3
Desirée x 1-11-96	1.5	1.6	3.5	25.0
CIP 4 x Ajiba	1.3	1.6	2.4	38.3
Saginaw Gold x Chieftain	1.3	1.6	2.0	2.3
CIP 114 x Chieftain	1.0	1.3	1.4	14.2
Subsp.tuberosum x cultivadas				
Aninca x *Solanum stenotomum*	1.2	1.4	1.0	1.7
Aninca x *Solanum phureja*	1.2	1.2	0.7	1.2
Jorinca x *Solanum stenotomum*	1.5	1.6	1.5	6.2
Subsp.tuberosum x silvestre				
Jorinca x *Solanum chacoense*	1.4	1.6	1.5	2.2
Aninca x *Solanum chacoense*	1.4	1.6	1.5	2.2

Entre los cruces directos y recíprocos efectuados, se alcanzaron los mejores resultados cuando se utilizó la variedad Desirée como progenitor femenino, evidenciándose esto de forma más marcada cuando se utilizaron como progenitores las variedades Desirée y Carlita. En estudios realizados por Almekinders (1995), Chujow *et al*. (1996) y González (1998), en familias híbridas de papa entre diferentes genotipos de la *subespecie tuberosum*, se han encontrado los mejores comportamientos, donde se utilizó la variedad Desirée como progenitor femenino. Estas diferencias podrían ser debido a efectos citoplasmáticos y/o interacciones génico-citoplasmáticas.

En los cruzamientos entre las *subespecies tuberosum* (2n=4x=48) y *Phureja* (2n=2x=24) se alcanzaron valores bajos para el número de semillas por baya. La combinación Jorinca x *Solanum stenotomum* alcanzó los mayores valores, con 6.2 semillas por baya. En cruces entre las *subespecies tuberosum* y la *andigena* (Almekinders y Chilver, 1996), hallaron divergencia genética entre ellas y un posible efecto heterótico.

Las combinaciones híbridas realizadas entre la *subespecie tuberosum* y la especie silvestre *Solanum chacoense* mostraron valores bajos y muy similares, a pesar de que las bayas presentaron tamaños similares en los tres grupos de cruzamientos, lo cual es lógico pues las especies silvestres y cultivadas de papa tienen barreras de cruzamientos con sistema de incompatibilidad gametofítico (Osaka y Hanneman, 1998), lo que en la mayoría de los casos es gobernada por un locus con una serie de alelos S (Hutten, 1995).

En estudios realizados por Magahes y Pereira (1996), se ha demostrado que en cruces de tetraploides con diploides se obtienen progenies tetraploides con una gran variabilidad, incrementándose la diversidad alélica y obteniéndose una máxima heterocigocidad (Golmirzaie y Ortiz, 1988).

Los estadígrafos fundamentales de los caracteres evaluados al fruto (Tabla 11), evidenciaron una media similar para el largo y ancho de los frutos en los tres grupos de cruzamiento.

Sin embargo, para el peso de la baya y número de semillas por baya, los valores encontrados para los cruces entre la *subespecie tuberosum* fueron superiores. Se pudo observar la existencia de variabilidad en todos los caracteres del fruto, destacándose el número de semillas por fruto, con coeficientes de variación de 98, 90.8 y 31.4 % respectivamente, lo que indica que hay una segregación para los caracteres en las progenies (Golmirzaie *et al*.,1991). Estos resultados son similares a los

encontrados por Kumar (1994), quien informó la existencia de variabilidad en poblaciones híbridas de papa; según este mismo autor, la variabilidad genética es un aspecto esencial en cualquier programa de mejoramiento genético clásico.

Tabla 11. Estadígrafos fundamentales de cruces de *Solanum* sp

	Largo baya (cm)			Ancho baya (cm)			Peso baya (g)			Número de semillas/ baya		
	txt	txc	txs	txt	txc	txs	txt	txc	txs	txt	txc	txs
Media	1.4	1.3	1.4	1.6	1.4	1.6	2.9	1.1	1.5	56.1	3	1.4
DE	0.2	0.2	0	0.3	0.2	0	1.2	0.4	0	54.9	2.7	0.6
CV (%)	17.4	13.3	0	17.9	14.3	0	24.1	37.9	0	98	90.8	41.4
Valor mínimo	1	1.2	1.4	0.9	1.2	1.6	0.9	0.7	1.5	2.3	1.2	1.4
Valor máximo	2	1.5	1.5	2.3	1.6	1.6	6.3	1.5	1.5	174	6.2	2.2

t: *subsp tuberosum* c: especie cultivada s: especie silvestre

Las correlaciones lineales entre caracteres relacionados con el fruto de los tres grupos de cruzamientos (Tabla 12) ponen de manifiesto la existencia de asociación positiva y altamente significativa entre el peso, largo y ancho de la baya. Para el número de semillas por fruto, solo se presentó asociación para los cruces entre la *subespecie tuberosum*, aunque con valores medio.

Correlaciones positivas y significativas en un grupo de cruzamientos entre parentales tetraploides fueron encontradas por Almekinders (1995).

Tabla 12. Correlaciones entre caracteres relacionados con el fruto de *Solanum* sp

Caracteres		Peso baya	Largo baya	Ancho baya
Largo de la baya	txt	0.939**		
	txc	0.923**		
	txs	0.931**		
Ancho de la baya	txt	0.945**	0.921**	
	txc	0.937**	0.867**	
	txs	0.982**	0.958**	
Número de semillas por baya	txt	0.596**	0.571**	0.616**
	txc	0.350	0.375	0.312
	txs	0.577	0.337	0.453

t: *subsp. tuberosum* c: especie cultivada s: especie silvestre

Los resultados de los análisis de coeficientes de sendero de los tres grupos de cruzamientos (Tabla 13), evidenciaron que fue el carácter ancho de la baya el que presentó una mayor contribución al peso de la baya, tanto de forma directa como indirecta a través de los restantes

caracteres, lo que pone de manifiesto que las correlaciones encontradas para el largo y número de semillas con el peso de la baya fueron debido a la contribución indirecta a través del ancho de la baya.

Tabla 13. Coeficientes de sendero de caracteres relacionados con el fruto en cruces de *Solanum* sp

		Largo de la baya	Ancho de la baya	Número de semilla por baya	Correlación con el peso de la baya
Largo baya	txt	0.453	0.473	0.013	0.939**
	txc	0.440	0.478	0.005	0.923**
	txs	0.091	0.780	0.060	0.931**
Ancho baya	txt	0.418	0.515	0.012	0.945**
	txc	0.382	0.551	0.004	0.937**
	txs	0.087	0.815	0.090	0.982**
Semillas por baya	txt	0.258	0.315	0.019	0.596*
	txc	0.165	0.172	0.013	0.350
	txs	0.031	0.369	0.177	0.577

t: *subsp. tuberosum* c: especie cultivada s: especie silvestre
Efecto residual (txt)=0.274 Efecto residual (txc)=0.260 Efecto residual (txs)=0.114

CONCLUSIONES

Según los resultados encontrados, se pudo constatar que en Cuba es posible obtener suficiente semillas híbridas para el Programa de Mejoramiento.

El número de semillas por fruto fue el carácter que presentó una mayor variabilidad.

Los mayores números de semillas por baya se presentaron en las combinaciones Desirée x CIP 115, Desirée x Kondor, Desirée x Carlita, Krantz x Carlita, Krantz x Fontenot, Carlita x Fontenot, Desirée x Fontenot y Fontenot x Carlita, con valores superiores a 100.

Se puso de manifiesto que cuando la variedad Desirée se utiliza como progenitor femenino, los valores obtenidos, para los caracteres estudiados, fueron superiores.

Se encontraron coeficientes de correlación positivos y altamente significativos entre la masa y el largo y ancho del fruto, y entre estos dos últimos caracteres.

Se evidenció que el ancho de la baya es el carácter que presentó una mayor influencia directa en el peso del fruto.

BIBLIOGRAFÍA

Almekinders, C. J. M. On flowering and botanical seed production in potato (*Solanum tuberosum* L.). Tesis de Doctorado. Wageningen, Netherlands, 1995, 133 h.

Almekinders, C. J. M. y Chilver, A.S. Current status of the TPS technology in the world. *Potato Research*, 1996, vol. 2, no. 1, p 289-293.

Arwin, J. y Caligari, P. D. Screening for salinity tolerance *in vitro* potatoes. En: Abst 11th Trienn. Conf. EAPR, Edinburgh, 1991, p. 355-356.

Abdalla, M. M. y Hermsen, J. C. An evolution of *S. verrucosum* for its possible use in potato breeding. *Euphytica*, 1993, 22: 19-27.

Austin, S.; Pohlman J. D.; Brown C. R.; Mojtohedi, H.; Santo, G.. S.; Douches, D. S. y Helgeson, J. P. Interspecific somatic hybridization between *S. tuberosum* and *S. bulbocastanum* as a means of transferring nematode resistance. *Am. Pot. Journal*, 1993, 70(6): 485-495.

Alvarez, N. Biodiversidad agrícola cultivando para el futuro. *Hoja de Maela*, 1994, 6: 25-27.

Brown, C.R. Modern evolution of the cultivated potato gene pool. *Biotechnology in Agriculture*. 1990, 3: 41-48.

Baker, R. J. Tests for crossover genotype environmental interactions. *Canadian Journal of Plant Science*, 1988, 68: 405-410.

Bamberg, J. B. y Hanneman, R.E. Characterization of a new gibberelin related dwarfing locus in potato. *Am. Pot. Journal*, 1991b, 68 (1): 45-52.

Bamberg, J. B. Screening potato (Solanum) species for male fertility under stress. *Am. Pot. Journa*l. 1995, 72(1): 23-33.

Bonierbale, M. W.; Plaisted, R. L. y Tanksley, S. D. RFLP maps based on common set of clones reveal modes of chromosomal evolution in potato and tomato. *Genetics*, 1988, 120: 1095-1103.

Bradshaw, J. E. y MacKay, G. R. Breeding strategies for clonally propagated potatoes. En: Potato Genetics. Wallingford, CAB International, 1994, p. 467-498.

Bradshaw, J. E. /*et al*./. Applied Potato Genetics Breeding: potato improvement by multitrait genotypic recurrent selection. Scottish Crop Research Institute. *Annual Report*, 1998/99, p. 92-96.

Brown, C. R.; Yang, C. P.; Mojtahedi, H. y Santo, G.. S. Mapping of resistance to columbia root-knot nematode to a *Solanum bulbocastanum* chromosome. *Am. Pot. Journal*, 1994, 7(10): 664.

Brush, S. B.; Taylor, J. E. y Bellon, H. R. Biological diversity and technology adoption in Andean potato agriculture. *Journal of Development Economics*, 1992, 39: 365-387.

Bukasov, S. M. Cytogenetic basis of the evolution of potato species of the genus *Solanum* L. section *Tuberarium* (Dunk) Buk. *Soviet Genetics*, 1973, 6: 463-471.

Cabello, R. y Patricio, P. Efecto del ANA, BA y AG en la floración en plantas de papa en condiciones de clima caliente. XVI. En: Reunión de la Asociación Latinoamericana de la Papa.Compendios (16: Santo Domingo). 1993, p. 70.

Caligari, P. O. Breeding new varieties. En: Harris P. ed. The Potato Crop. 2nd ed. London, Chapman and Hall. London, 1992, p. 344-372.

Camadro, E. L. y Peloquin, S. J. Cross-incompatibility between two sympatic polyploid *Solanum* species. *Theor. Appl. Genetic*, 1981, 60: 65-70.

Carrasco, E.; Estrada, N.; Gabriel, J. y García, W. Desarrollo y selección de clones de papa con resistencia horizontal al tizón (*P. infestans*). En: Cuarta Reunión Nacional de Papa: Compendios de exposiciones (4 oct. 8-11: 1994, Cochabamba).

Castillo, J. G..; Estévez, A.; González, M. E.; Moré, O.; Ortiz, E. y Ortiz, U. Selección de progenitores para el mejoramiento de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cultivos Tropicales*, 2000, 21(2): 49-54.

CIP. Informe anual del CIP. Lima, 1995a, 55 p.

CIP. Producción sostenible y Protección de los recursos naturales. *CIP Circular*. Lima, 1995b, 21(1): 20.

CIP y FAO. La papa en la década de1990. Situación y perspectiva de la economía de la papa a nivel mundial. 1995, 50 p.

Chujow, S. A.; MCNicoll, J. y Bradshaw, J. E. Producing commercially attractive, uniform true potato seed progenies. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 90(3-4):519-525.

Cipar, M. S. Self compatibility in hybrids between phureja and haploid andigena clones of *Solanum tuberosum* L. *Eur. Potato Journal*, 1965, 7: 152-160.

Cordero, M.; Rodríguez, I.; Rodríguez, J. M.; Estévez, A.; González, M.E.; Cruz, M.; García, D.; Hernández, R. M. y Fernández, M. Estudio del comportamiento de híbridos de papa promisorios frente PLRV. En: Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (10: 1996: La Habana). p. 148.

Cubillos, A. G. Biotecnología e ingeniería genética y sus aplicaciones en papa. En: Avances en el mejoramiento genético de la papa en los países del cono sur. Lima, CIP, 1990, p. 223-237.

Dale, M. B.; Phillips, M. S. Genotype by environment interaction in the assessment of tolerance of partially resistant potato clones to potato cyst nematodes, *Annals of Applied Biology*, 1989, 119: 67-75.

Dodds, J. H. y Watanabe, K. Biotechnical tools for plant genetic resources management. *Diversity*, 1990, 6: 26-28.

Douches, D. S. y Jostrzebski, K. Potato. En: Kalloo G.; Bergh. D.O. eds. Genetic improvement of vegetable. Crops. OxFord, Pergamon Press, 1993, p. 605-644.

Eberhart, S. A.; Russell, W. A. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci*, 1966, 6: 36-40.

Estévez, A. Estudio de la interacción genotipo ambiente y métodos de estabilidad en experimentos de variedades de papa (*Solanum tuberosum*, L.). Tesis de grado (Dr. en Ciencias Agrícolas), 1981, INCA.

Estévez, A. Obtención de variedades de papa tolerantes a estrés bióticos y abióticos. Informe final de Proyecto (PNCT), 2002, La Habana.

Estévez, A.; González, M.E.; Cordero, M. Primeras variedades de papa cubanas. *Cultivos Tropicales*, 1994, 15(2): 74-79.

Estévez, A.; González, M.E.; Simón, E. Divergencia genética del rendimiento y sus componentes en variedades de papa. *Cultivos Tropicales*, 1994, 15(1): 73-76.

Estévez, A.; Esquivel, M.; González, M. E. y Varela, M. Study and utilization of potato genetic resources in Cuba. *Plant Genetic Resources*. Newsletter, 1994a, 9: 29-33.

Estévez, A. El mejoramiento genético de la papa. En: Curso internacional de refrescamiento en el cultivo de la papa para Lationamérica, IAC-Holanda y MINAGRI-Cuba. (1: marzo 19-11 abril, 1996: La Habana).

Estévez, A.; González, M. E.; Nimubona, N. y Castillo, J. Obtención y evaluación de progenies de semilla sexual de papa. Parte I. *Cultivos Tropicales*, 1996, 17(1): 60-64.

Estévez, A. /*et al*./. Creación de variabilidad en papa, mediante cruzamiento de progenitores seleccionados por resistencia y calidad de los tubérculos. En: Compendio de exposiciones del III Taller Nacional de Producción de Papa en los Trópicos (29-30 de junio de l998), pág. 54-57.

Estévez, A.; González, M. E.; Zamora, N. y Castillo, J. G. Mejoramiento genético de la papa en Cuba. En: Compendios de exposiciones, XVII Reunión de la Asociación Latinoamericana de la Papa (9-13 de febrero de 1998), 1998, pág. 45-46.

Estévez, A.; González, M. E.; Castillo, J. G. y Ortiz, E. Estudio de genotipos de papa procedentes del germoplasma foráneo. En: Compendio de exposiciones del III Taller Nacional de Producción de Papas en los Trópicos. 1999, pp. 57-58.

Estévez, A. /*et al*./. Evaluación y selección de clones cubanos de papa de diferentes generaciones. En: Compendio de exposiciones del III Taller Nacional de Producción de papas en los Trópicos (29-30 de Junio del l999), pág. 54-57.

Estévez, A. /*et.al*./. Memorias de la XXIV Reunión y Evaluación del PRECODEPA. 23 al 26 de febrero del 2000, pág. 17 y 18, C. Habana, Cuba.

Estévez, A. /*et.al*./. Estudio de la interacción genotipo ambiente en papa (*Solanum tuberosum*, L). *Cultivos Tropicales*, 2000, 4(2):59-63.

Estévez, A. Curso intensivo de la papa. 1990.

Esquinas-Alcazar, J. Farmers' Rights. En: Symposium on the Economic of Valuation and Conservation of Genetic Resources for Agriculture. Roma, Universita de Roma "*Tor Vergata*", 1996.

Esquivel, M. Estudio de los recursos fitogenéticos y su documentación mediante un sistema de documentación computarizado: el género *Arachis* L. en Cuba. Tesis de grado (Dr. en Ciencias Agrícolas, INIFAT), 1992.

Evenson, R. E. Valuing resources for plant breeding. Hedonid trait value, and breeding function methods. En: Symposium on the Economics of Valuation and Conservation of Genetic Resources for Agriculture, Roma. Universita de Roma «Tor Vergata»,1996.

Equise, H.; Carrasco, E. y Estrada, N. Evaluación de clones avanzados con resistencia a *P. infestans*. En: Cuarta Reunión Nacional de Papa: Compendios de exposiciones (4 oct. 8-11: 1994, Cochabamba).

Estévez, A.; González, M. E; Hernández, M. M.; Torres, W.; Jerez, J.; Hernández, A.; Moreno, I. y Sam, O. Principales resultados obtenidos en el desarrollo de la papa en condiciones de estrés de calor y humedad en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 1994b, 15 (2): 90-98.

Estrada, N. R. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. Editores: Bill Ardí y Emma Martínez. CIP, IPGRI, PRACIPA, IBTA, PROINPA, COSUDE, CID, 2000, 372p.

Finlay, K. W. y Wilkinson, C. N. The analysis of adaptation in Plant Breeding Program. Aust. *J. Agric. Res*., 1963, 14: 742-754.

FAO. Draft report on the state of the world's. *Plant Genetic Resources*. Roma, FAO, 1996, 35p.

Gálvez, G. Parámetros estadísticos en genética cuantitativa. En: Genética vegetal y fitomejoramiento. Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1980, p. 208-267.

García, E. Obtención de clones de papa resistentes a heladas, mediante *Agrobacterium rhizogenes*. En: XV Reunión Latinoamericana de la Papa (15 sep 8-14, 1991: Lima). p. 77.

Gauch, H. G. Model selection and validation for yield trials with interaction. *Biometrics*, 1988, 44: 705-715.

Gebhardt, G.. E.; Ritter, T.; Debenur, U. y Salamani, F. RFLP-Analysis and linkage mapping in *S. tuberosum*. *Theor. Appl. Genetics*, 1989, 78:65-75.

Golmirzaie, A. M. y Ortiz, R. Aspectos relacionados con la genética y el mejoramiento cuando se utiliza semilla (sexual) de papa. Lima, CIP. 1988, 26p.

Golmirzaie, A. M.; Tenorio, J. y Serquen, F. Evaluación de progenies provenientes de esquemas de apareamiento 4x-4x y 4x-2x. En: XV Reunión de la Asociación Latinoamericana de la Papa (15 sep 8-14. 1991: Lima) p. 71.

González, M. E. Mejoramiento por hibridación de la papa en Cuba. Tesis de grado (Dr. en Ciencias Agrícolas); INCA, 1998, 71p.

Gopal, J.; Gaur, P. C. y Rona, M. S. Early generation selection for agronomic characters in a potato breeding program. *Theor. Appl. Genetics*, 1992, 84: 709-713.

Grun, P. The evolution of cultivated potatoes. *Economic Botany*, 1990, 44(3): 39-55.

Guerra, J. P. y Rodríguez, Y. La papa. Elementos de su historia. El cultivo de la papa en Cuba, 1990, Tomo I 1-9.

Hanneman, R. E. The potato germplasm resource. *Am. Pot. Journal*, 1989, 66(10): 655-667.

Hawkes, J. G.. A revision of the tuber-bearing *Solanum* 2ed. Rep. Scott Plant Breed 5t Rec., 1963, 181p.

Hawkes, J. G..; Jackson, M. T. Taxonomic and evolution of cultivated potato with electrophoresis. I. Groups tuberosum, andigena, phureja and stenotomun. *Theor. Appl. Genetics*, 1992, 52: 187-190.

Hawkes, J. G. Original potatoes and species relationship. En: Potato Genetics. Wallingford, CAB International, 1994, p. 3-42.

Helgeson, J. P.; Haberloch, G.. T.; Ehlenfeldt, M. K.; Hunt, G..; Pohlman, G.. D. y Austin, S. Sexual progeny of somatic hybrids between potato and *S. brevidens*: Potential for use in breeding programs. *Am. Pot. Journal*, 1993, 70(6): 437-452.

Helgeson, J. P.; James, R. y Stevenson, R. Analysis of early blight resistance from somatic hybrids. *Am. Pot. Journal*, 1994, 71(10): 677.

Henrik, B.; Paz, G.. y Miño, C. Dinamarca y Ecuador colaboran en la capacitación sobre recursos fitogenéticos para beneficio mutuo. *Diversity*, 1991, 7(1): 32-34.

Horsfall, J. G.. y Barrat, R. W. An improvement system for measuring plant diseases. *Phytopathology*, 1945, 35: 655.

Hosaka, H. y Hanneman, R. E. Genetics of self-compatibility in a self-incompatible wild diploid potato species *Solanum chacoense*. 1. Detection of an S locus inhibitor (Sli) gene. *Euphytica*, 1998, 99: 191-197.

Howard, H. W. Genetics of the potato (*Solanum tuberosum* L.). London, Lagos Press. 1970, 324 p.

Huamán, Z. Botánica sistemática y morfología de la papa. CIP. *Boletin de información técnica*, 1986, 6, 22.

Huamán, Z. y Schimiediche, P. La importancia de la conservación *ex situ* de recursos genéticos de la papa. *Diversity*, 1991, 7(1): 74-45.

Huamán, Z. Conservación *ex situ* de papa. Recursos genéticos en el CIP. *CIP Circular*. Lima, 1994, 20(3): 13.

Huamán, Z. Técnicas citológicas para determinar el número cromosómico y la fertilidad de las papas. *Guía de investigación. CIP Circular*, 1995, 10: 30.

Hutten, R. C. B. /*et al.*/. Comparative performance of diploid and tetraploid progenies from 2x x 2x crosses in potato. *Euphytica*, 1995, 81(2): 187-192..

IPGRI. The new strategy of the International Plant Genetic Resources Institute. Diversity for Development, 1999, 87p.

Iwanaga, M.; Freyre, R. y Watanabe, K. Breeding the crossability barriers between disomic tetrasomic *Solanum acaule* and tetrasomic tetraploid *S. tuberosum*. *Euphytica*, 1991, 52(3): 183-191.

Jarret, R. L. y Florkowski, W. J. *In vitro* active field genebank maintenance of seed potato germplasm; major costs and considerations. *Hort. Science*, 1990, 25: 141-146.

Jellis, G.. J. Multiple resistance to disease and pest in potatoes. *Euphytica*, 1992, 63: 51-58.

Karp, A.; Foulger, F. y Bright, R. Variability in potato tissue culture. *Am. Pot. Journal*, 1989, 66 (10): 669.

Kumar, A. Somaclonal variation. En: Potato Genetics. Wallingford, CAB International, 1994, p. 197-212.

Kidame-Marian, H. M.; Arndt, G. G.; Macaso, A. C.; Waja, K. H. y Peloquin, S. J. Comparison between 4x-2x hybrids and OP true potato seed families. *Potato Research*, 1985, 28: 35-42.

Lleras, E. Conservación de recursos genéticos *in situ*. *Diversity*, 1991, 7(1): 78-79.

López, L. E. Las papas silvestres de Colombia. *Revista Papa*. 1993, 7: 4-13.

Lefort-Buson, M.; Hebert, Y. y Damerval, C. Les outils d' evaluation de la diversité génetique et phenotype. *Agronomie*, 1988, 8: 173-178.

Magahes, M. y Pereira, P. Selection for yield tuber specific gravity and high 2n pollen production in potato hybrids between *Solanum tuberosum* L. and wild species *Solanum chacoense* Bill. *Brazilian Journal of Genetics*, 1996, 9(3): 459-463.

Maine, M. J. The male fertility of primary and further generation dihaploids of *Solanum tuberosum*. *Potato Research*, 1998, 40 (1), p. 59-68.

Malagamba, P. y Cabello, R. Pretratamiento de tubérculos con luz para inducir floración en papa. En: XVI Reunión Lationoamericana de la Papa. Compendios (16: Santo Domingo). 1993, p. 38.

Mollers, C. y Wenzel, G. Somatic hybridization of dihaploid potato protoplasts as a tool for potato breeding. *Acta Botánica*, 1992, 105: 133-139.

Neele, A. E.; Nab, H. J. y Louwes, K. M. Components of visual selection in early clones of a potato breeding program. *Plant Breeding*, 1991, 106: 89-98.

Ochoa, C. M. The potatoes of South America. Cambridge, *University Press*, 1990, 503 p.

Pallais, N. y Hanneman, R. E. Genetics of self-incompatible wild diploid potato species *Solanum chacoense*. 1. Detection of S. locus inhibitor (Sli)gene. *Euphytica*, 1998, 99, p. 191- 197.

Pandey, S. K. y Gupta, P. K. Studies on character association for selection on TPS populations. *Jour. Indian Pot. Assoc*, 1996. 23 (1, 2): 15-19.

Pehu, E.; Thomas, M.; Poutala, T; Karp, A. y Jones, M. G. Species-Sspecific sequences in the genus solanum. Identification, characterization and application to study somatic hybrids of *S. brebidens* and *S. tuberosum*. *Theor. Appl. Genetics*, 1990, 80(5): 693-698.

Peloquin, S. J. y Hougas, R. W. Haploidy in *Solanum tuberosum* and the subspecies *Andigena*. *Am. Pot. Journal*, 1959, 36: 302.

Pérez, A.; Florido, R.; Estévez, A. y González, M. E. Sistema de información y documentación del germoplasma de papa. *Cultivos tropicales*, 1999, 19(1): 67-69.

Rajnchapel-Messai, J. La Pomme de Terre fait peau Neuve. Biofutur, 1987, 60: 25-38.

Roca, W. Biotecnología moderna, plantas transgénicas y agrobiodiversidad: oportunidades y desafíos. Conferencia, 9 pág. XX Congreso de la Asociación Latinoamericana de Papa. Quito Ecuador, 2002.

Rojas, E. Función de las áreas diferenciales en el abastecimiento de la papa de semilla en la Argentina. En: III Jornada técnica de la semilla de papa para Latinoamérica (3 feb14-16, 1996: Mendoza). p. 35.

Rokka, V. M.; Valkonen, P. T. y Pehu, E. Production and characterization of haploid derived from somatic hybrids between *S. brevidens* and *S. tuberosum* through anther culture. *Plant Science*, 1995, 112: 85-95.

Schilde-Rentschler, L.; Schmiediche, P.E. Tissue culture, present and future. *CIP Circular*, 1984, 12(1): 1-6.

Sasson, A. La alimentación del hombre del mañana. Madrid, Ed. UNESCO, Madrid, 1993, 807p.

Serraf, I.; Sihachakr, D.; Ducreux, G..; Brown, S. C.; Allot, M.; Borghi, N.; Rossizanol, L. Interspecific somatic hybridization in potato by protoplast electrofusion. *Plant Science*, 1991, 76: 115-126.

Singsit, C.; Hanneman, R. E. Haploid induction in Mexican polyploid species and colchicine-doubled derivates. *Am. Pot. Journal*, 1991, 68(8): 551-556.

Sprange, C.P. Quantitative genetics in plant improvement in plant breeding. En: A Symposium at IOWA Univ. The IOWA State University Press, 1966, p. 315-344.

Spooner, D. M. y Clausen, M. A. Wild potato (*Solanum* Sect. Petota) germplasm collecting expedition to Argentina in 1990, and status of *Argentinian* potato germplasm resources. *Potato Research*, 1993, 36(1): 3-12.

Spooner, D. R.; Vandenberg, R. G..; García, W. y Ugarte, M.L. Bolivia potato germplasm collecting expeditions 1993, 1994: Taxonomy and new germplasm resources. *Euphytica*, 1994, 79: 137-148.

Sarkar, D. y Prakash, S. N. Use of computer databases to manage an *in vitro* collection of potato germplasm. *Plant Genetic Resources. Newsletter*, 1996, 106: 20-25.

Stephen, B. Conservación de los cultivos del nuevo continente realizada por el agricultor: El caso de las papas andinas. *Diversity*, 1991, 7(1): 82-86.

Tai, G.. C. C. Genetic stability of light potato varieties tested INNA. Series of the Trials. *Am. Pot. Journal*, 1972, 49: 138-150.

Talbot, M. Yield variability of crop varieties in the U.K. *Indian Journal of Agriculture Science*, 1984, 102: 315-321.

Tarn, T. R.; Tai, G.. C. C.; De Jong, H.; Murphy, A. M.; Seabrook, J. E. A. Breeding potatoes for long-day temperature climates. En: Janick, J ed. Plant Breeding Reviews 9. New York, Wiley and Sons, 1992, p. 217-332.

Thach, N. Q. y Frei, U.; Wenzel, G. Somatic fusion for combining virus resistance in *S. tuberosum*. *Ther. Appl. Genetics*, 1993, 85: 863-867.

Trognitz, B. R. Female fertility of potato dihaploids. *Euphytica*, 1995, 81(1): 27-33.

Trognitz, B. R.; Ghislain, M.; Crissman, C. y Hardy, B. Mejoramiento de papa para resistencia duradera al tizón tardío usando nuevas fuentes de resistencia y métodos de selección no convencionales. CIP Circular, 1996, 22(1): 6-9.

Ugent, D. The Potato: What is the origin of this important crop plant, and how did it first become domesticated?. *Science*, 1970, 170: 1161-1166.

Van Marrewijk, G. A. Flowering biology and hybrid varieties. Hybrid varieties. En: International Course on Applied Plant Breeding. The Netherlands, IAC, 1993, 80p.

Veilleux, R. E. y Paz, M. M. Performance of complex 4x-2x hybrids under heat stress in Virginia. *Am. Pot. Journal*, 1994, 71(10): 708.

Vermeer, H. Optimizing potato breeding. The genotype, environmental and genotype-enviroment coefficients of variation for tuber yield and other traits in potato under different experimental conditions. *Euphytica*, 1990, 49: 229- 236.

Vayda, M. E. Environmental stress and its impact on potato yield.- En: Potato Genetics. Wallingford, CAB International. 1994, p. 3-42.

Watanabe, K. M.; Orrillo, M.; Vega S.; Valkonen, J. P. T; Pehu, E.; Hurtado, E. y Tanksley, S. D. Overcoming crossing barriers between nontuberbearing and tuberbearing *Solanum* species: towards potato germplasm enhancement with a broad spectrum of solanaceaus genetic resources. *Genome*, 1995, 38: 27-35.

Warden, S. Alternative analysis of the diallel cross. *Heredity*, 1964, 19: 669-680.

Xu, Y. S.; Pehu, S. y Jones, M. G.. K. Plant regeneration from protoplasts of wild Solanum species. European Association for Potato Research. *Abstracts*, 1990, 440p.

Withers, L. A.; Wheelans, S. K. y Willians, J. T. *In vitro* conservation of crop germplasm and the IBPGR databases. *Euphytica*, 1990, 45: 9-22.

Zamora, N.; Carrasco, A.; Estévez, A.; González, M. E. y Sánchez, H. Interacción genotipo-ambiente y estabilidad de doce variedades de papa. Análisis del rendimiento. En: Reunión Latinoamericana de la Papa. Compendios (15 sept 8-14, 1993: Santo Domingo).

Zamora, N.; Estévez, A.; Sánchez, H.; Cordero, M.; Salomón, L.; González, M. E.; Iglesias, I. y Peeten, H. Estudio y selección de variedades foráneas de papa (*Solanum tuberosum* Lin) En: Reunión Latinoamericana de la Papa Compendio (9-13 Febrero, 1998: Cochabamba, Bolivia).

ANEXOS

Campo de papa de clones cubanos

Variedad Marinca

Campo de mejoramiento de la papa

Variedad Aninca en campo

Muestras de papa frita a la chips de la variedad 6-340-85 comparada con los testigos

Muestras de papa frita a la chips de la variedad Aninca comparada con los testigos

Muestras de papa frita a la chips de la variedad Cubanita comparada con los testigos

Variedad Aninca

Variedad Marinca

Mejoradora realizando cruzamiento en papa

Flor de la papa
en condiciones óptimas

Hibridación por método
de decapitación

Etapa de plántula desarrollada
en invernadero

Colección de especies silvestres

Variedad cubana Maruca

Variedad cubana Maelena

Variedad cubana Grettel

Variedad cubana Anita

Resistencia del clon 6-463-85 (Anita) comparado con la varidad control

CAPÍTULO VII

OBTENCIÓN Y USO DE SEMILLA SEXUAL

J. L. Salomón

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la producción comercial de papa (*Solanum tuberosum*, L.) en el mundo está casi completamente basada en la propagación vegetativa (tubérculos-semilla). Se plantan los tubérculos y estos producen nuevas plantas y tubérculos con el genotipo idéntico al de la planta madre.

Este cultivo pertenece a la familia Solanácea. Algunos de los bien conocidos cultivos como el tomate, la berenjena, el tabaco, el pimiento, etc, también pertenecen a esta familia. Pero, a diferencia de ellos, la papa es cultivada comercialmente a través de tubérculos. Sin embargo, esta puede ser propagada sexualmente mediante semilla sexual (SSP) o botánica (Almekinders, 1995).

El uso de SSP para la producción de papa no es una nueva tecnología, se cree estar originada en los Andes, probablemente desde que los agricultores comenzaron a domesticar las papas (Malagamba y Monares, 1988 y Almekinders, 1995). Su uso fue estimulado por los cultivares locales que mostraron una profusa floración y producción de bayas. Productores durante los siglos XVII, XIX y XX, en Europa, Norte América y Asia, también usaron SSP para reemplazar el material degenerado, o producir material de plantación cuando los tubérculos no estaban disponibles (Burton, 1989). Cuando la epidemia en 1845 del tizón tardío, muchos cultivos de papa en Holanda fueron destruidos y la SSP fue importada (Haan, 1953).

Desde 1977, el Centro Internacional de la Papa (CIP) tiene un excelente programa de investigación para explotar el potencial de la SSP en países en desarrollo. El CIP investiga, en colaboración con más de 40 países tropicales y subtropicales, este importante proyecto (Malagamba, 1988). También algunos países de climas templados como Italia tienen evaluada la tecnología de SSP (Carputo *et al*. 1994, 1996).

Las perspectivas para lograr una mayor producción a partir de SSP y de la Biotecnología, son difíciles de evaluar, dado su período prolongado de gestación. En el caso de la SSP, por ejemplo, parece existir un potencial real, puesto que la semilla es libre de los principales virus (la

purificación o el saneamiento de la SSP resulta más sencillo que en los tubérculos para su uso como semilla) y tiene una mayor resistencia a las principales enfermedades, lo que podría resultar un aumento en los niveles de productividad. En un estudio reciente sobre el caso particular de la India, se proyectó que el área cultivada con SSP alcanzará las 250 000 ha para el 2015 (Kathana *et al*., 1996). De manera similar, aunque no en términos tan formales, existen cifras estimadas para Bangladesh, Egipto y Filipinas (FAO, 1995; Almekinders *et al*., 1996 y Struik y Wiersema, 1999).

La SSP puede superar los problemas de almacenamiento, semilla, transporte y enfermedades asociados con los tubérculos-semilla, lo que la hace ser una vía más para incrementar la producción del material de siembra y disminuir importaciones (Tabla1).

Tabla 1. Comparación de producción de papa con semilla sexual y tubérculos

Semilla sexual	Tubérculos- semilla
50-100 g.ha^{-1} de SSP según el sistema de siembra	2000-2500 kg.ha^{-1} según el tamaño del tubérculo
Libre de patógenos del suelo y de la mayoría de virus	Infestado por la mayoría de patógenos del suelo y virus
Requiere de mayor labor en su etapa inicial	Requiere menos labores en su etapa inicial
Más vulnerable a las enfermedades bióticas y abióticas por su crecimiento inicial lento y débil	Menos vulnerables a las enfermedades bióticas y abióticas por su crecimiento inicial rápido y vigoroso
Período vegetativo más largo (2-3 semanas más)	Período vegetativo más corto
Mayor porcentaje de tubérculos pequeños	Menor porcentaje de tubérculos pequeños
Costo de almacenamiento y transporte mínimo	Costo de almacenamiento y transporte alto
Costo de producción menor	Costo de producción mayor

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA SEMILLA SEXUAL EN LA PRODUCCIÓN DE PAPA

Ventajas

1. Se eliminan todas las enfermedades del suelo que se trasmiten por tubérculos-semilla
2. Se reduce al mínimo la transmisión de enfermedades virosas, que causan los daños mayores en la producción de papa. Solo se ha demostrado que se trasmiten por la semilla sexual el PSTV y PVT, que pueden ser diagnosticados y evitados con relativa facilidad

3. Es fácil de almacenar, por el volumen mínimo que se requiere para la siembra de grandes extensiones y se puede conservar en forma conveniente y barata de una campaña a otra o por varios años sin riesgo de perderse
4. Puede ser transportada a grandes distancias sin mayor costo por su poco volumen
5. Puede ser introducida con facilidad en los sistemas agrícolas existentes, porque el tiempo de siembra no depende de la fase de brotación o disponibilidad de tubérculos-semillas
6. Se puede expandir el cultivo de la papa a regiones nuevas, como son las zonas montañosas, tropicales, cálidas y húmedas, donde no es posible conseguir tubérculos-semilla de calidad y tampoco es posible su almacenamiento
7. Se reducen los costos de producción en forma considerable; en zonas donde los tubérculos-semilla de calidad son escasos y caros, con el uso de la semilla sexual se pueden reducir los costos entre el 30-60 %
8. El índice de conversión de la SSP se incrementa notablemente en relación con otros sistemas de producción
9. Los tubérculos-semilla de primera generación ocupan menos volumen de frigorífico por su reducido tamaño.

Desventajas

1. El cultivo es más laborioso, especialmente en su etapa inicial
2. El período vegetativo es más largo comparado con el tubérculo-semilla

Tipos de semilla sexual de papa

La semilla sexual o botánica de papa se forma con el inicio de la fertilización de la flor, ya sea por el polen de la misma planta o de otras, lo cual puede ocurrir de forma natural o controlada por el hombre, dando lugar a la producción del fruto botánico, que es una baya en cuyo interior se pueden encontrar aproximadamente de 50 a 200 semillas (FAO, 1995).

Según Malagamba y Cabello (1996), hay cuatro tipos de semilla sexual:

De polinización libre. Son las semillas producidas en forma natural en un campo de cultivo de papa. La mayor proporción de esta semilla es el resultado de la autopolinización y otra parte es producto de la polinización cruzada por insectos. En este tipo de semilla solamente se conoce al progenitor femenino y su calidad no es buena.

Híbrida. Es la semilla producida mediante una polinización controlada por el hombre. En este caso, ambos progenitores son conocidos y la calidad de la semilla así como las caráacterísticas de las progenies son superiores comparadas con la semilla y las progenies de polinización libre.
Sintética. Es el producto de la polinización libre realizada básicamente por insectos, pero de un grupo conocido de parentales. Para esto, se plantan en un campo aislado los progenitores masculinos y femeninos previamente seleccionados por sus características favorables y se deja que las flores sean polinizadas por los insectos. Luego las bayas son cosechadas y procesadas. La semilla así obtenida puede ser igual o superior a la híbrida en cuanto a la calidad, y su costo de producción es menor.
Cíbridos. Son semillas obtenidas también como producto de la polinización hecha básicamente por insectos, pero en este caso, se aprovechan los factores relacionados con la esterilidad masculina. Se plantan en forma intercalada tanto los progenitores femeninos como los masculinos, y al momento de la cosecha solo se recogen las bayas de las plantas seleccionadas para hembras. La semilla producida es híbrida, pero su costo de producción es mucho menor.

La semilla da origen a un material genético obtenido independientemente del tipo de semilla, llamado en su conjunto progenie de semilla sexual; esta es una población grande de individuos genéticamente diferentes unos de otros, pero con suficiente uniformidad fenotípica en las plántulas y los tubérculos originados por la reproducción sexual.

ASPECTOS MORFOLÓGICOS Y FISIOLÓGICOS DE LA PLANTA RELACIONADOS CON LA PRODUCCIÓN DE SSP

Descripción de la estructura del plantón y de la floración. Una planta de papa desarrollada de un tubérculo consiste en una parte aérea, que es el follaje con hojas y tallos llamado plantón. Cada plantón es un sistema de uno o varios tallos individuales y tiene, potencialmente, hábito de crecimiento indeterminado. Sin embargo, el hábito de crecimiento de cada tallo individual es determinado; este produce hojas y completa su desarrollo con la formación de una inflorescencia terminal (Almekinders y Struik, 1994 y Almekinders, 1995).

Un tallo principal es el primer tallo de un sistema de plantón que forma el primer nivel de crecimiento. Aquí están dos tipos de tallos principales: tallo principal verdadero desarrollado directamente del tubérculo y otro desarrollado de las yemas inferiores del tallo principal verdadero. Después el tallo principal completa su desarrollo con la producción de una inflorescencia primaria y de este también se puede desarrollar un tallo lateral. Todas las yemas laterales superiores del tallo principal tienen el potencial de desarrollar tallos secundarios; ambos tallos forman el segundo nivel de crecimiento. Estos tallos completan su desarrollo con la formación de una inflorescencia terminal llamada inflorescencia secundaria. La continuación del crecimiento de las yemas laterales dan lugar al tercero, cuarto y siguientes niveles de crecimiento con sus correspondientes inflorescencias (Figura 1). La posición de un tallo en un sistema de plantón está definida por el nivel de crecimiento del cual este forma parte. Usualmente, los tallos de altos niveles de crecimiento producen pocas hojas antes de iniciar una inflorescencia en relación con los niveles bajos (Almekinders y Struik, 1994, y Struik y Wiersema, 1999).

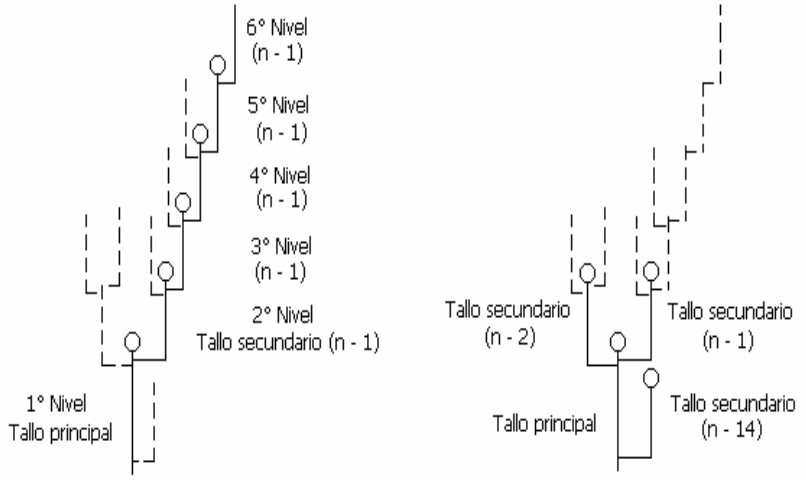


Figura 1. (A) Simpodio compuesto de tallo principal y tallos laterales de diferentes niveles de crecimiento, desarrollados sucesivamente de los nudos n-1 . (B) Tallo principal y tallos secundarios desarrollados de los nudos n-1, n-2 y n-4 (tomado de Almekinders, 1995; Struik y Wiersema, 1999)

Las inflorescencias de la papa son racimos simples o compuestos y el número de flores por inflorescencia y racimo dependen del genotipo, el ambiente y la posición de la inflorescencia en el sistema del plantón. Las inflorescencias en altas posiciones producen menos flores que las de bajas posiciones (Almekinders y Wiersema, 1991, Almekinders y Struik, 1994, Struik y Wiersema, 1999).

Morfología de la planta. El tallo principal de un plantón de papa termina en una inflorescencia, llamada inflorescencia primaria, y el crecimiento del plantón continúa con ramas laterales (Figura 2). Dependiendo del cultivar y el ambiente, un plantón puede desarrollar diversos niveles de ramas, terminando cada una en una inflorescencia del correspondiente nivel. Los tallos laterales pueden emerger de las yemas inferiores del tallo principal y también formar inflorescencias. El rendimiento y la calidad de la SSP puede variar con la posición de las inflorescencias, aunque las flores y semillas de cada posición son formadas en diferentes etapas de desarrollo de la planta. El efecto de la posición de la inflorescencia en la producción de frutos y semillas ha sido informado para otros cultivos, como la lechuga, la zanahoria, los cereales y el tomate (Gray y Stoked, 1985). Según Almekinders y Wiersema (1991), el número de flores y bayas por inflorescencia, peso de las semillas y número de semillas por baya, fueron menos favorables con las inflorescencias que fueron formadas más tardíamente o con las posiciones más altas, concluyendo que una mejor producción de SSP es lograda en las inflorescencias primarias y secundarias.

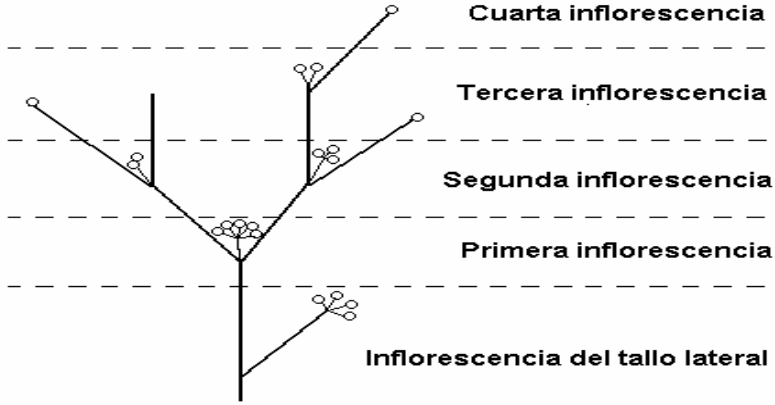


Figura 2. Diagrama de un tallo de papa florecido, mostrando los sucesivos niveles de ramas y flores (Tomado de Almekinders, 1995; Struik y Wiersema, 1999)

En relación con la posición de las flores dentro de la inflorescencia (Figura 3), para la producción de frutos y semillas en algunos cultivos como el tomate, la berenjena y otras solanáceas, los mayores frutos son producidos en las flores proximales (Bangerth y Ho, 1984), y hay una positiva relación entre el tamaño de la baya y el número de semillas; según Pallais *et al.* (1991), estas flores probablemente producen más semillas. Sin embargo, esto no está claro para el peso de 100 semillas (Randhawa y Bhargava, 1994); relacionando el peso de 100 semillas con el número de semillas por baya, así como con el peso de las bayas en tomate y papa se encontraron diferentes resultados: negativo, positivo o ausente (Randhawa y Bhargava, 1994). Almekinders (1995) encontró que las bayas más grandes fueron producidas en flores proximales y una correlación positiva entre el peso de la baya y el número de semillas por baya; además, plantea que el peso de 100 semillas y el número de semillas correlacionan según el cultivar, concluyendo que las flores proximales fueron más productivas que las distales, ya que producen más semillas y en algunos cultivares semillas más pesadas, lo que significa que las bayas cosechadas de las posiciones proximales aumentarán el peso promedio de 100 semillas.

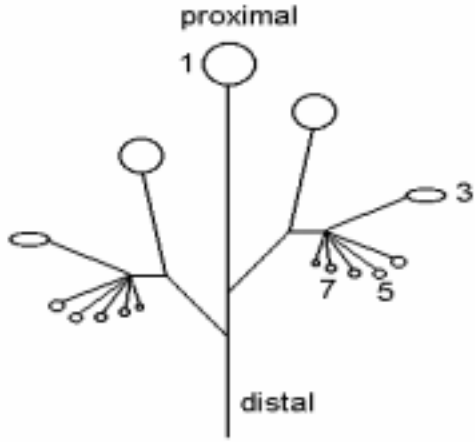


Figura 3. Diagrama de una inflorescencia de papa, mostrando las diferentes posiciones de las flores (Tomado de Almekinders, 1995; Struik y Wiersema, 1999)

Número de flores por inflorescencia. Las inflorescencias en los nudos más bajos de los tallos y en niveles más altos de crecimiento usualmente producen pocas flores (Almekinders y Wiersema, 1991, y Almekinders

y Struik, 1994). Estos efectos están en función del inicio y la realización de los primordios florales. Sin embargo, la información sobre estos dos efectos y sus interacciones con la posición de la inflorescencia es escasa (Almekinders, 1995).

Almekinders y Struick (1994) informaron menos flores en las inflorescencias secundarias que en las primarias. Menos primordios florales por tallo en altos niveles de crecimiento están en correspondencia con la menor cantidad de hojas en estos tallos. El efecto del nivel de crecimiento sobre el número de hojas y primordios florales puede estar asociado a la incrementada tasa de desarrollo, como la edad de la planta o de los ápices o cimas más pequeñas.

También la posición de la flor en la inflorescencia afecta la supervivencia de los primordios florales. Las flores de la última posición (distal) en una inflorescencia muestran menor supervivencia de los primordios que en otras posiciones proximales. Si no han abortado ante la antesis, los primordios florales en estas posiciones desarrollan flores pequeñas, las cuales producen pocas y pequeñas semillas, debido al término de pequeña cantidad de asimilatos envueltos, lo que es concebible por el efecto de la posición de la flor dentro de una inflorescencia que es regulada hormonalmente y provocada por las diferencias de edades de los primordios (Almekinders, 1995).

En plantas de papa que tienen más de un vástago, el número de las flores de las inflorescencias depende también de la madurez del vástago. Los vástagos luego de emergidos presentan las inflorescencias con menos flores, como resultado de la disminución de la intercepción de la luz (Almekinders *et al*., 1995).

GENÉTICA Y MEJORAMIENTO DE SEMILLA SEXUAL DE PAPA

La papa cultivada es un tetraploide complejo, el cual exhibe una herencia tetrasómica (Beukema y Van Der Zaag, 1990; Bradshaw y Mackay, 1994 y Trognitz *et al*., 1996). La teoría de consanguinidad y endogamia en tetraploides es más complicada que en diploides; por ejemplo, las interacciones pueden ocurrir entre más de dos alelos en un locus y los gametos pueden contener dos alelos, los cuales son idénticos por su origen. Estas diferencias tienen consecuencias para las estrategias del mejoramiento, con el objetivo de explotar la heterosis, particularmente cuando la reproducción sexual más que la asexual está siendo usada (Golmirzaie *et al*., 1994).

Depresión consanguínea. Puede definirse como la reducción en la medida fenotípica del carácter analizado (Sigarroa, 1985).

Con la consanguinidad se reduce la frecuencia de genotipos heterocigóticos, alcanzándose una mayor uniformidad gamética; sin embargo, el resultado final será diferente al alcanzado en maíz (Golmirzaie y Mendoza, 1988; Mendiburo y Camadro, 1990 y Golmirzaie *et al*., 1994). La frecuencia de genotipos tetralélicos declina rápidamente bajo autofecundación, siendo multiplicada por 1/6 en cada generación en ausencia de doble reducción. La frecuencia de genotipos trialélicos también declina rápidamente (Bennett, 1976).

Austin *et al*. (1993) sugieren que, cuando hay una alta frecuencia de loci conteniendo tres o cuatro alelos diferentes, puede ocurrir una rápida pérdida de vigor con autopolinización. En sus modelos genéticos, el valor genotípico de un locus llevando cuatros alelos es la suma de valores de los genes aditivos más 11 valores de interacciones, particularmente seis posibles interacciones de dos genes (primer orden), cuatro interacciones de tres genes (segundo orden) y una interacción de cuatro genes (tercer orden). El valor de genotipos monoalélicos es simplemente la suma de valores de cuatro genes aditivos idénticos. En una generación de autopolinización (F=0.167), aproximadamente 83 % de las interacciones son de tercer orden, 67 % de segundo orden y 47 % de las interacciones de primer orden, que pueden perderse en un loci tetralélico, sin algún incremento en homocigosis (Golmirzaie *et al*., 1994). Esto se debe a que el efecto de la consanguinidad de los progenitores permanece parcialmente en las progenies y no desaparece como en maíz, en el cual el coeficiente F será cero (Golmirzaie y Mendoza, 1988). Por consiguiente, aunque la consanguinidad da mayor nivel de uniformidad y homogeneidad gamética, produce progenies completamente uniformes, también causa reducción fuerte en el rendimiento y disminuye la estabilidad del comportamiento (Golmirzaie y Mendoza, 1988 y Golmirzaie *et al*., 1994).

Atlin (1985) y Golmirzaie *et al*. (1991) estudiaron el efecto de la consanguinidad sobre el rendimiento y los caracteres agronómicos en diferentes generaciones de semilla sexual de papa. Las familias individuales expresaron depresión endogámica en diferentes grados y la cantidad de depresión varió entre los caracteres medidos. Los resultados mostraron que es posible seleccionar familias tetraploides para diferentes caracteres agronómicos que son deprimidos por efecto de la consanguinidad.

Según Jackson *et al*. (1984) la explicación más común de la depresión consanguínea es debido a la fijación de genes recesivos desfavorables y deletéreos, algunos de los cuales parecen homogéneos para estos recesivos deletéreos. Jinks y Lawrence (1983) plantean que es debido al hecho de que los caracteres de interés están determinados por genes con efectos no aditivos, incluida la epistasia, y que estos genes con efectos deletéreos son solamente un *subset* que segrega con la consanguinidad. La asociación entre depresión consanguínea y homocigosis es explicada por dos hipótesis: parcial o completa dominancia y sobredominancia (Krebs y Hanckock, 1990). En la primera hipótesis, la depresión consanguínea resulta por fijación de alelos recesivos o alelos parcialmente recesivos deletéreos en loci codificando el rasgo de interés (carga mutacional). La hipótesis de sobredominancia atribuye la depresión consanguínea a la pérdida de interacciones alélicas en estos loci (carga segregacional o balanceada).

Resultados experimentales en papa y en otros cultivos han mostrado depresión en el rendimiento y la fertilidad a través de diferentes generaciones de consanguinidad (Atlin, 1985; Mendoza y Marca, 1986). Sin embargo, diferentes investigadores han informado diferencias en las respuestas en líneas endocriadas o consanguíneas (Jackson *et al*., 1984). Aparentemente, algunas líneas endocriadas pueden resistir al efecto de consanguinidad, ofreciendo así la posibilidad de usarlas en los programas de semilla sexual de papa, con resultados alentadores (Golmirzaie y Mendoza, 1988; Golmirzaie *et al*., 1994 y Estévez *et al.*, 1996).

Heterosis. La heterosis o vigor híbrido es lo contrario de la depresión consanguínea, el concepto general fue desarrollado primeramente para especies diploides (Jinks, 1983). Dos hipótesis han sido propuestas para explicar este fenómeno: la epistasia de dominancia o complementaria y la hipótesis de sobredominancia. Mendoza y Haynes (1979) analizaron las bases genéticas entre la heterosis y el rendimiento; ellos sugieren que el modelo de sobredominancia implica una fuerte correlación para estos atributos, pero este fenómeno lo explican mejor Mendiburu y Camadro (1990), los que trabajaron con poblaciones de diferentes niveles de heterogeneidad y encontraron mayores niveles heteróticos en los materiales más heterogéneos. Además, propusieron el uso de cuatro diploides divergentes (incluidos dihaploides de *S. tuberosum* grupo *Andigena* y del grupo *Tuberosum*) para crear un tetraploide con genoma de los cuatros parentales diferentes, maximizando el número tetralélico en el loci. En el esquema propuesto, los gametos 2n formados por la

restitución de la primera división (RPD) en la meiosis, juega un rol importante porque la RPD resulta un 83 % del potencial heterocigótico trasmitido al híbrido. Sin embargo, Sanford y Hanneman (1992) sugirieron la existencia de un umbral heterótico; ellos sintetizaron complejos híbridos conteniendo genomas de tres grupos de *S. tuberosum* (tres formas híbridas), utilizaron gametos 2n en cruces 4x-2x, comparándolos con la segunda y primera formas de familias híbridas. Las terceras formas híbridas nunca fueron superiores a las anteriores para el vigor, rendimiento y tipo de tubérculos. Ellos concluyeron que una segunda hibridación simple y directa puede ser óptima. Cruzando material genético no relacionado, se podría explotar la heterosis en un programa de semilla sexual de papa, ofreciendo perspectivas promisorias para un rápido progreso.

La teoría de la heterosis (línea pura por endocría o autofecundación en varias generaciones) aplicada al maíz se trató de aplicar en papa (Krantz, 1924, citado por Estrada, 2000); sin embargo, la papa no responde como las plantas diploides porque es tetraploide, por una parte, y debido a que es casi imposible obtener líneas homocigóticas, porque el procedimiento le ocasiona una gran depresión genética y esterilidad, más aún con la técnica de monohaploides n=12 obtenidos de cultivos de anteras en papa diploides, que fueron duplicadas a 24 y 48 cromosomas con colchicina, no se obtuvieron los resultados esperados (Ross, 1986).

Mendoza y Haynes (1979) y Werner y Peloquin (1991) indican que la heterosis para el rendimiento en poliploides, como *Solanum tuberosum* (2n=4x=48), es principalmente basada en las interacciones dentro y entre locus. Entonces la máxima heterosis expresada con heterocigocidad máxima y efectos epistáticos por caracteres poligénicos equivalen al rendimiento total de los tubérculos.

Estrategias de mejoramiento genético para la producción de SSP. El principal objetivo de un programa de mejoramiento para su reproducción mediante semilla sexual, es obtener progenies uniformes para los caracteres agronómicos, el rendimiento y la resistencia a las principales enfermedades (Golmirzaie y Mendoza, 1988 y Golmirzaie *et al.*, 1994). Diferentes métodos pueden ser usados para alcanzar estas metas: consanguinidad, líneas parentales diploides que produzcan gametos 2n y líneas parentales tetraploides (Mendoza y Marca, 1986), pero también hay presente ciertas variaciones fenotípicas, aunque ya existen progenies con gran uniformidad (Bejo, 2001).

Varios métodos para la reducción de la variación en progenies de SSP han sido propuestos: uso de parentales endocriados y cruces entre ploidía (4X x 2X), donde el parental diploide produce gametos no reducidos por la primera división de restitución (Jackson *et al*., 1984, Peloquín *et al*., 1984). Pero el método más usado es empleando parentales tetraploides que expresan la máxima heterosis (Golmirzaie *et al*., 1994). *Uso de líneas parentales diploides*. Peloquín *et al*. (1984) han encontrado en papas diploides mutantes que representan fallas durante el proceso meiótico, produciendo gametos con número cromosómico somático 2n, producto de la primera división de restitución, que transmitirá el 83 % del arreglo genético de los progenitores diploides en forma intacta a sus progenies tetraploides. Los mecanismos para la producción de estos gametos han sido identificados y son más uniformes genéticamente que los gametos de restitución de la segunda división (RSD).

La importancia de los gametos 2n para el mejoramiento reside no solo en el logro de una heterogeneidad máxima en las progenies de apareamiento 4x - 2x, sino también en la producción de una adecuada homogeneidad en las progenies, como resultado de los progenitores tetraploides (Golmirzaie y Mendoza, 1988, y Golmirzaie *et al*., 1994). El polen 2n ha sido bien establecido (Watanabe *et al*., 1995). En papas diploides los gametos 2n son producidos por una meiosis modificada, genéticamente equivalente a la RPD o a la RSD (Iwanaga *et al*., 1991).

Mendoza y Marca (1986), Upadhya (1994) y Golmirzaie *et al.* (1994) presentaron algunos esquemas de mejoramiento para producir SSP. Uno de estos esquemas involucra progenies 4x de cruces 4x -2x en RPD, utilizando híbridos 2x seleccionados (con buenos caracteres agronómicos y reproductivos) del apareamiento entre dihaploides (2n=2x=24) de cultivares tetraploides o avanzados seleccionados (fertilidad y gametos 2n) o introducciones de cultivares o especies silvestres con 24 cromosomas (para gametos 2n y caracteres deseados como resistencia a enfermedades). Estos híbridos 2x son cruzados con cultivares que poseen buena adaptación y no estén genéticamente relacionados a los dihaploides involucrados en el híbrido 2x.

Los híbridos 4x de los cruces 4x-2x obtenidos poseen adaptación, caracteres deseados y variación alélica de especies híbridas dihaploides, constituyendo un mecanismo apropiado para obtener uniformidad y vigor, dos características necesarias para el uso de la SSP. Rendimientos superiores de progenies 4x-2x han sido informados (Upadhya y Thakur, 1990; Jong y Tai, 1991; Golmirzaie *et al*., 1991 y Gaur y Pandey, 1993). Este método muestra superioridad sobre el uso del sistema de consan-

guinidad. En el uso de diploides existen, sin embargo, algunas limitaciones que necesitan ser mejoradas y caracteres reproductivos, que necesitan atención en el mejoramiento de clones diploides, antes que estos puedan ser considerados como líneas parentales. El mejor uso de estos clones es transferir resistencia y otros atributos específicos, encontrados a menudo solo en especie diploide, a especies tetraploides (Golmirzaie y Mendoza, 1988, y Golmirzaie *et al.,* 1994).

Uso de líneas parentales tetraploides. El uso de material parental tetraploide es el método más común para producir SSP. Aunque el proceso meiótico produce gametos heterogéneos que resultarán en progenies heterogéneas, existen progenies tetraploides provenientes de cruzamientos 4x- 4x con aceptable uniformidad y alto rendimiento, especialmente si las líneas parentales tienen amplia base genética (Golmirzaie y Mendoza, 1988, y Golmirzaie *et al*., 1994).

Las investigaciones para la utilización de progenitores tetraploides llevadas a cabo en algunos países incluyen: 1) los mejores cultivares del material disponible para el mejoramiento; 2) la evaluación de diferentes clones para la selección de líneas parentales; y 3) el desarrollo de diferentes tipos de cultivares para el uso por parte de los agricultores como híbridos, líneas sintéticas y material para polinización libre (pl). Además, se está explorando la producción de cíbridos (híbridos citoplasmáticos o heteroplastos) para la utilización de la esterilidad masculina (Golmirzaie y Mendoza, 1988; Gaur y Pandey, 1993 y Golmirzaie *et al.*,1994).

Tecnologías de la semilla sexual

Producir papa a partir de semilla sexual es factible en las siguientes condiciones:

- En áreas donde las condiciones climáticas permiten la producción de papa por lo menos tres o cuatro meses al año
- En áreas donde el costo de los tubérculos-semilla representa una alta proporción de los costos de producción
- En lugares donde la mano de obra calificada en prácticas de horticultura es disponible
- En lugares donde los rendimientos son bajos debido a la baja calidad de los tubérculos-semilla.

La presencia de estos cuatro factores básicos incrementará el uso potencial de la semilla sexual y deben ser considerados antes de empezar cualquier actividad con esta tecnología.

Además de los factores antes mencionados, es importante considerar: condiciones ambientales, disponibilidad de tubérculos-semilla de calidad, mano de obra, organización de la agricultura y preferencias de consumo.

Producción y uso de la semilla sexual. La disponibilidad de SSP de buena calidad es uno de los factores limitantes para la expansión de esta forma de cultivo de papa, en muchos países donde existe el potencial para su adopción. La producción de semilla sexual requiere de cierta especialización y es favorecida por determinadas condiciones climáticas, caracteres reproductivos (intensidad de floración y fructificación de la planta) y la tecnología empleada (Gaur y Pandey, 1993, y Malagamba y Cabello, 1996).

En este proceso productivo se deben tener en cuenta los siguientes factores: lugar de plantación, material genético, época de plantación, edad fisiológica de los tubéculos-semilla, sistema de plantación de los parentales, fertilización nitrogenada, uso de reguladores del crecimiento y uso de luz artificial.

Ya establecidos los factores antes mencionados en la producción de SSP, también se debe tener presente en dicho proceso: el manejo agronómico de los parentales, el manejo de la flor y el polen, el momento de polinización, la edad de la flor, la frecuencia de polinización y el uso de sombra, el momento de cosecha de las bayas, extracción, lavado, desinfección, secado y conservación de la semilla.

Producción de tubérculos-semilla a partir de SSP. Con la semilla botánica se pueden lograr cosechas de papa por:

- Siembra directa de la semilla en el campo
- Trasplante de plántulas al campo
- Plantación de tubérculos-semilla producidos a partir de semilla botánica.

Plantación de tubérculos-semilla producidos a partir de semilla botánica. Este método de producción combina las ventajas de la semilla botánica con las de plantar tubérculos-semilla. Los tubérculos pueden ser producidos en almácigos con alta densidad de siembra, que cuando se manejan apropiadamente pueden producir por metro cuadrado hasta 800 tubérculos provenientes de plántulas, dependiendo de las condiciones ambientales.

Los tubérculos provenientes de plántulas pueden ser usados para incrementar el suministro de tubérculos-semilla o multiplicados para producir papa para consumo.

Las papas producidas de semilla sexual son llamadas tuberculillos, los que pueden ser producidos por diferentes métodos de siembra y transplante (Figura 4). La SSP puede ser sembrada directamente en el campo o en canteros y las plántulas pueden ser cultivadas en esos lugares o transplantadas (Malagamba, 1992; CIP, 1994; FAO, 1995; Struik y Wiersema, 1999 y Bejo, 2001).

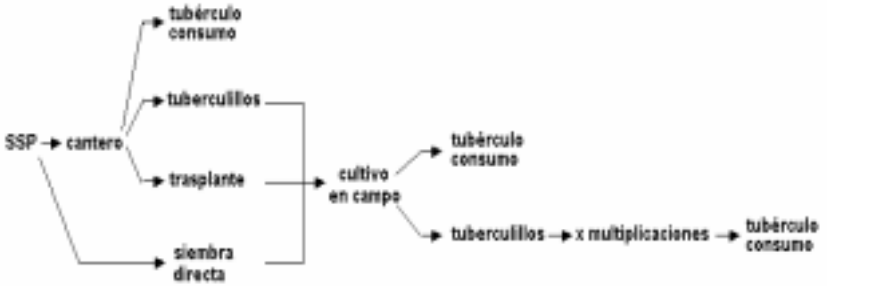


Figura 4. Esquema de posibles sistemas de utilización de la SSP (Almekinders, 1995)

Los tuberculillos pueden ser utilizados para consumo o como tubérculos-semilla. Estas diferentes prácticas en combinación con posibles variaciones en la fecha de plantación y número de multiplicaciones, hacen a la tecnología flexible y adaptable en condiciones locales específicas (condiciones agroecológicas, costos de labores e insumos, precio en el mercado, etc.). Esta puede ser una excelente base para un sistema de suministro de tubérculos-semilla de papa (Almekinders, 1995).

La tecnología más usada en el presente es la producción de tuberculillos en canteros. Cuando la SSP es utilizada en canteros, son menos los requerimientos para una buena germinación y crecimiento de las plántulas. Además, la producción de tuberculillos no requiere altos insumos para transplante, las plantas no sufren estrés y el manejo es mejor controlado en pequeñas áreas protegidas que en el campo (Almekinders, 1995, Struik y Wiersema, 1999 y Bejo, 2001).

Sistemas y distribución de los tubérculos-semillas derivados de la SSP. Los sistemas de suministro de semilla también pueden basarse en la semilla sexual de papa, como material de comienzo para futuras multiplicaciones. La SSP es libre de las enfermedades más peligrosas portadas por tubérculos y además puede ser considerada como material prebásico (Wiersema *et al.*, 1998 y Struik y Wiersema, 1999). Estos mismos autores proporcionan tres sistemas alternativos de producción y distribución de tubérculos-semillas derivados de SSP.

- ⇨ Producción completamente descentralizada: en este sistema los agricultores producen sus propios tuberculillos de la SSP. Estos tuberculillos por una o dos veces son multiplicados en su propia granja y seguidamente usados para la producción de papa consumo.
- ⇨ Producción parcialmente descentralizada: agricultores especializados o granjas productoras (cooperativas) son responsables de producir los tuberculillos de la SSP y multiplicarlos una o dos veces para luego enviarlos a productores de papa consumo.
- ⇨ Producción centralizada: grandes instituciones como estaciones experimentales o granjas gubernamentales producen tuberculillos y son responsables de sus multiplicaciones. En este sistema, grandes cantidades de papas para semilla tienen que ser distribuidas a productores de papa para consumo. Este sistema es similar al programa convencional de tubérculos-semilla.

Los autores sugieren que los sistemas parcialmente descentralizados son los más promisorios; ellos plantean que los agricultores especializados y las cooperativas están en una mejor posición para producir semillas básicas con alta calidad. Además, la distribución de tubérculos-semilla es menos extensiva comparada con los sistemas completamente centralizados.

Sanidad vegetal

Insectos. El cultivo de la papa proveniente de SSP o tubérculos-semilla es afectado en sus diferentes fases fenológicas así como en diferentes órganos de la planta (tubérculos, tallos, hojas, flores y fruto botánico) por diversas plagas que incluyen fundamentalmente áfidos (*Myzus persicae* y *Aphis gossypii*), ácaros (*Polyphagotarsonemus latus*), dípteros (*Liriomyza trifolii*) y en los últimos años se adicionó una plaga de gran importancia económica en el área, el *Thrips palmi* Karny, que se ha convertido en la más importante del cultivo (Deroncelé *et al*., 2000).

Virus. Los tubérculos-semilla son portadores de más de 100 virus, los que pueden ocasionar pérdidas en el rendimiento y afectar la calidad de la cosecha; cuatro de ellos, PLRV, PVY, PVX y el viroide del tubérculo ahusado de la papa (PSTVd), son los más importantes.

Hongos. Las plántulas de papa que provienen de SSP son severamente atacadas por *Rhizoctonia solani* y *Phytium spp*. ocasionando el *Damping off*.

RESULTADOS EXPERIMENTALES EN CUBA

Obtención de frutos y semillas

En áreas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) se desarrollaron experimentos con semilla botánica o semilla sexual de papa, con el objetivo de estudiar los caracteres agronómicos y la uniformidad fenotípica en diversas combinaciones híbridas como semilla para la producción comercial. Se comenzó evaluando los caracteres reproductivos de algunas variedades de papa que florecieron en nuestras condiciones. Posteriormente, se realizaron cruces con los genotipos seleccionados y se evaluaron las características de las flores, los frutos y las semillas y se realizaron correlaciones entre ellos. Se obtuvieron ocho combinaciones híbridas, a cuyas semillas y plántulas se les evaluó el porcentaje de germinación y vigor respectivamente, la uniformidad para el color y la forma del tubérculo, así como el rendimiento y número de tubérculos por planta.

De manera general, se puede concluir que se evidenció un mayor porcentaje de viabilidad y germinación del polen en los progenitores provenientes del Centro Internacional de la Papa. Se encontraron porcentajes de fructificación superiores al 70 %, así como correlaciones positivas y altamente significativas entre la germinación del polen y los demás caracteres excepto para el largo de la baya. Se alcanzaron en todos los cruces porcentajes de germinación de la semilla y supervivencia superiores al 50 %, destacándose las combinaciones Desirée x Kondor, Desirée x 390217-03 y Desirée x 391218-36 con los mayores valores. Se presentó un buen comportamiento para el vigor y la uniformidad. El cruce Desirée x Kondor fue el menos variable y el más uniforme para los caracteres evaluados.

En la Tabla 2 se presentan los caracteres evaluados de las diferentes combinaciones híbridas. Todos los caracteres mostraron diferencias altamente significativas, con excepción del peso de 100 semillas. Para el porcentaje de fructificación, las combinaciones Desirée x Fontenot, Raja x Fontenot y Desirée x Kondor no tuvieron diferencias significativas entre sí, las que alcanzaron mayores porcentajes de fructificación con 64, 57, 55 % respectivamente. Estos valores pudieron ser debido a la incompatibilidad de las combinaciones realizadas, corroborando lo planteado por González *et al*. (1995), quienes estudiaron la fertilidad y viabilidad del polen en variedades comerciales y silvestres de papa en condiciones de Cuba. Thakur *et al.* (1994) en la India también estudiaron

esta problemática en variedades obtenidas y foráneas. Los cruzamientos Atlantic x Carlita y Desirée x Century Russet no tuvieron diferencias significativas con Raja x Fontenot y Desirée x Kondor. Las combinaciones Fontenot x Kondor y Century Russet x Desirée fueron las que alcanzaron los más bajos porcentajes (32 y 31).

Tabla 2. Comportamiento de combinaciones híbridas para caracteres reproductivos

Combinaciones híbridas	Número de flores polinizadas	Número de flores logradas	Fructificación (%)	Número de semillas por fruto	Peso 100 semillas (g)
Desirée x Century Russet	38	16	48 bc (0.03)	79.60 bc	0.0691
Desirée x Kondor	61	34	55 ab (0.03)	77.00 bc	0.0686
Desirée x Fontenot	50	32	64 a (0.04)	118.00 a	0.0724
Atlantic x Carlita	34	17	50 bc (0.03)	61.20 bc	0.0563
Fontenot x Desirée	56	26	46 c (0.04)	79.20 bc	0.0638
Fontenot x Kondor	50	16	32 d (0.03)	70.40 bc	0.0599
Raja x Fontenot	14	8	57 ab (0.06)	88.10 b	0.0709
Century Russet x Desirée	32	10	31 d (0.04)	58.00 c	0.0577
± ES X	-	-	-	8.63 **	0.00001NS

Porcentajes con letras comunes no difieren significativamente según prueba de Duncan $p<0.05$

** significativo para $P<0.01$ ( ) error estándar de la media

Para el número de semilla por fruto, se encontraron diferencias altamente significativas entre las combinaciones, siendo Desirée x Fontenot la que alcanzó el valor más alto (118 semillas) con diferencias significativas del resto; le siguió con 88 semillas la progenie Raja x Fontenot sin diferencia significativa con Desirée x Century Russet, Fontenot x Desirée, Desirée x Kondor y Atlantic x Carlita donde estas dos últimas no presentaron diferencias con Century Russet x Desirée, la que obtuvo el menor número de semillas por fruto con 58 semillas. Gaur y Pandey (1993) y Almekinders (1995) encontraron números de semillas por fruto que oscilaron entre 150 y 250, teniendo en cuenta el tamaño de las bayas, el ambiente y los progenitores.

El peso de 100 semillas no mostró diferencias significativas en las combinaciones híbridas, pero los mayores valores se observaron en las progenies híbridas Desirée x Fontenot y Raja x Fontenot. Este carácter es de gran importancia, ya que está directamente correlacionado con la emergencia y el vigor de las plántulas, aspectos planteados por Upadhya y Thakur (1990), Pallais *et al.* (1991) y Pallais (1994), al estudiar la relación física entre las bayas y sus semillas. Accatino y Malagamba (1982) encontraron pesos entre 0.0700 y 0.0800 g en 100 semillas.

Como se pudo observar en aquellas combinaciones donde Fontenot funcionó como progenitor masculino, se alcanzaron los mayores porcentajes de fructificación, número de semillas por fruto y peso de 100 semillas; sin embargo, se aprecia también que la variedad Desirée, a pesar de tener alta viabilidad de polen, alcanzó un bajo número de semillas por fruto y peso de 100 semillas, por ejemplo en Century Russet x Desirée (Tabla 2).

Se observan correlaciones positivas y altamente significativas entre las variables, excepto para el porcentaje de fructificación que fue significativo, presentándose la asociación más alta (0.779**) entre el número de semillas por fruto y el peso de 100 semillas. Diversos criterios relacionados con las correlaciones del peso de 100 semillas y el número de semillas por fruto se mencionan en la literatura; según Almekinders (1995), esto puede ser debido a las diferencias de genotipos, condiciones de cultivo y otros factores que ejercen su efecto sobre estas relaciones. Esta misma investigadora encontró correlación positiva y altamente significativa (0.99**) entre el peso de 100 semillas y el número de semillas por fruto en el cultivar R-128-6. Por otro lado, Upadhya *et al.* (1985) citados por Gaur y Pandey (1993) y Gupta (1996), encontraron correlación significativa entre el peso de 100 semillas y el número de semillas por fruto; además, estos mismos autores informaron variaciones genotípicas para el número de semillas por fruto y tamaño de las semillas; ellos sugieren hacer selecciones de progenitores identificando los materiales con los caracteres antes mencionados.

En la Tabla 3 se presentan los valores de los coeficientes de correlación lineal entre el porcentaje de viabilidad del polen, porcentaje de fructificación, número de semillas por fruto y peso de 100 semillas.

Prueba de progenies. Germinación de la semilla y comportamiento de las plántulas. En la Tabla 4 se presentan los resultados del estudio en el invernadero para la germinación de las semillas, el vigor y la uniformidad de las plántulas en las progenies obtenidas. Al evaluar el primer carácter (germinación), se encontró diferencia significativa entre los cruces, donde la progenie Fontenot x Desirée presentó el porcentaje más alto con 81.56 % difiriendo del resto. Por otro lado, no existió diferencia estadística entre las progenies Desirée x Fontenot, Desirée x Century Russet, Raja x Fontenot, Desirée x Kondor y Fontenot x Kondor, las cuales sobrepasaron el 60 % de germinación. Las progenies Atlantic x Carlita y Century Russet x Desirée mostraron los peores porcentajes de germinación.

Tabla 3. Correlaciones entre la viabilidad del polen (%) y los caracteres del fruto

Variables	Número de semillas/fruto	Peso de 100 semillas (g)	Porcentaje de fructificación	Porcentaje de viabilidad del polen
Número de semillas/fruto	1.000			
Peso de 100 semillas (gr)	0.779**	1.000		
Porcentaje de Fructificación	0.697**	0.700**	1.000	
Porcentaje de viab. polen	0.640**	0.677**	0.564*	1.000

*significativo para p<0.05 **significativo para p<0.01

Tabla 4. Comportamiento de la germinación, el vigor y la uniformidad de las plántulas

Combinaciones híbridas	Germinación (%)	Vigor**	Uniformidad (*)
Desirée x Century Russet	68.93 b	6.8	3.8
Desirée x Kondor	67.94 b	7.2	4.2
Desirée x Fontenot	69.07 b	7.6	4.5
Atlantic x Carlita	43.64 c	3.0	3.3
Fontenot x Desirée	81.56 a	7.2	4.4
Fontenot x Kondor	64.25 b	3.4	3.5
Raja x Fontenot	68.51 b	8.4	4.4
Century Russet x Desirée	51.00 c	2.8	3.4
Es X	2.824*	-	-

Letras comunes no difieren significativamente según prueba de Duncan para p<0.05
*Significativo para p<0.05 (*) 0=Muy bajo 9=Muy bueno
**0=Muy malo 5=Muy bueno

Gaur y Pandey (1993) plantearon que las diferencias en el porcentaje de germinación de la semilla pueden estar atribuidas fundamentalmente a los parentales involucrados en los cruces.

Pallais *et al.* (1991) y Pallais (1994) señalaron este elemento y también la influencia de otros factores fisiológicos, como el momento de cosecha de los frutos (madurez), la humedad de la semilla, el tiempo y la temperatura de almacenamiento. Estrada (2000) informa que el sistema S provoca la formación anormal del endospermo, que puede ser atribuida a un bloqueo poszigótico durante la formación de la semilla, que conlleva al aborto y la muerte del embrión.

En la Tabla 4 también se aprecia la evaluación del vigor y la uniformidad de las plántulas. Los mayores valores de vigor fueron alcanzados por Raja x Fontenot, Desirée x Fontenot, Desirée x Kondor y Fontenot x Desirée, el resto de las progenies tuvieron un comportamiento de regular a malo. Por los resultados mostrados, parece ser que los parentales Desirée y Fontenot le confieren por lo general cierto vigor a su descendencia. Los mayores valores de uniformidad se reflejaron en Desirée x Fontenot, Raja x Fontenot, Fontenot x Desirée y Desirée x Kondor.

El vigor y la uniformidad son elementos tenidos en cuenta por diversos investigadores (Pallais, 1991; Gaur y Pandey, 1993; Pandey y Gupta, 1996), los que le confieren gran importancia en el momento de la selección de parentales a los programas de mejoramiento genético de semilla sexual.

En el análisis de varianza para el rendimiento y número de tubérculos en la etapa de invernadero, no se encontró interacción entre cruces por año, pero sí entre los años y entre progenies.

En la Tabla 5 se observa que el rendimiento en el año 1 fue superior al año 2, lo que puede estar dado por las condiciones ambientales (diferentes temperaturas entre los años); además, hay que tener en cuenta que estas progenies no fueron estables y dado el tipo de herencia tetrasómica de la papa tetraploide, la segregación de genes es muy alta, lo que debe tenerse en consideración para la selección de las progenies.

Tabla 5. Medias de las progenies por año para el rendimiento y número de tubérculos

Años	Rendimiento (g/planta)	Número tubérculos/planta
1 (1997-1998)	26.37 a	5.05 a
2 (1998-1999)	23.11 b	3.23 b

En la Tabla 6 se presenta el comportamiento de las diferentes progenies; las que alcanzaron los mayores rendimientos fueron Fontenot x Kondor (40.97 g) y Desirée x Fontenot (37.98 g), sin diferencias significativas entre ellas; les siguieron la combinación Desirée x Kondor con 33.52 g por planta y la progenie Raja x Fontenot (26.32 g) con diferencias entre ambas. Las combinaciones Atlantic x Carlita y Century Russet x Desirée fueron las de más bajos rendimientos.

Tabla 6. Media del número de tubérculos y rendimiento por planta en las progenies

No.	Progenies híbridas	Número de tubérculos/planta	Rendimiento (g/planta)
1.	Desirée x Century Russet	5.26	17.27 de
2.	Desirée x Kondor	5.20	33.52 b
3.	Desirée x Fontenot	5.14	37.98 a
4.	Atlantic x Carlita	4.80	16.17 e
5.	Fontenot x Desirée	4.82	21.37 d
6.	Fontenot x Kondor	4.84	40.97 a
7.	Raja x Fontenot	4.79	26.32 c
8.	Century Russet x Desirée	5.06	17.43 de
± ES X		0.32 NS	1.52 ***

Letras comunes no difieren significativamente según prueba de Duncan para $p<0.05$
***Significativo para $p<0.001$

El comportamiento para el porcentaje de color de la piel, forma y profundidad de los ojos en los tubérculos de las combinaciones híbridas se muestra en las Figuras 5, 6 y 7.

Se alcanzó en casi todas las progenies variados colores de piel: amarillo, rosado, morado y rojo (Figura 5).

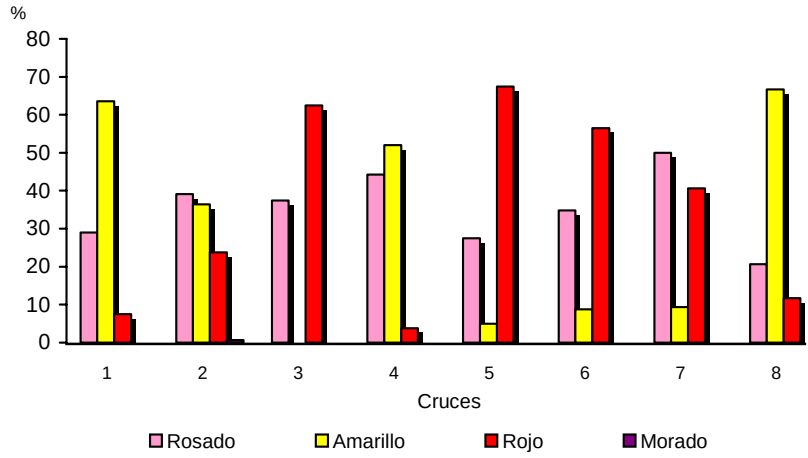


Figura 5. Representación gráfica del color de los tubérculos

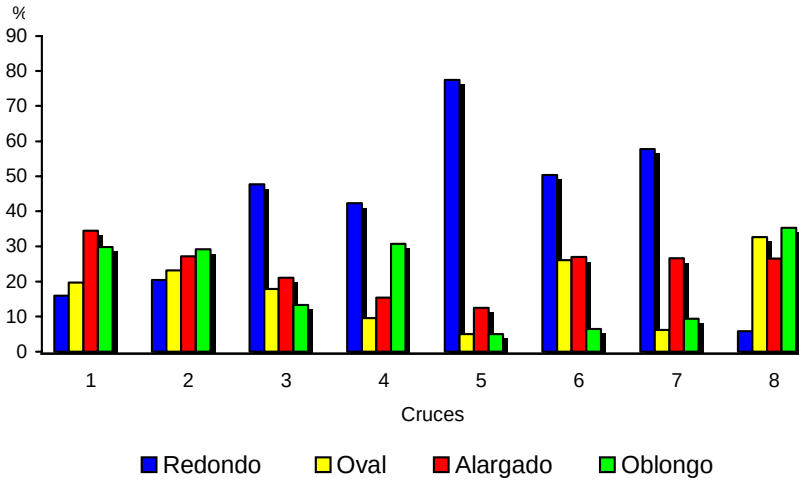


Figura 6. Representación gráfica de la forma del tubérculo

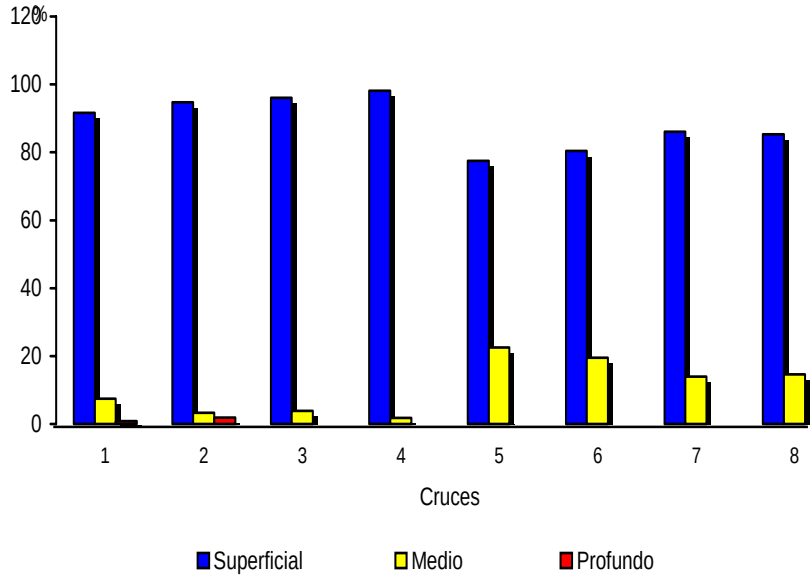


Figura 7. Representación gráfica de la profundidad de los ojos en el tubérculo

En aquellos cruces donde fue incluido un progenitor de color amarillo y otro rosado o rojo, en la descendencia dominó el color amarillo, y donde ambos progenitores tenían colores rojizos se observó también la presencia del amarillo, como son los casos de Desirée x Kondor (36.7 %), Fontenot x Kondor (8.7 %), Fontenot x Desirée (5.0 %) y Raja x Fontenot (9.4 %), excepto Desirée x Fontenot, donde la coloración de toda la descendencia fue roja (62.7 %) y rosada (37.3 %). Sin embargo, donde se cruzaron dos progenitores con tubérculos de color amarillo en la población, se encontraron tonalidades rojizas como es Atlantic x Carlita (3.8 % rojo y 44.2 % rosado), indicando también la dominancia de la coloración rojiza sobre el amarillo.

Las pigmentaciones rojizas en los tubérculos, tallos, brotes y flores se deben a la presencia de antocianinas, según Ortiz y Huamán (1994); este compuesto es controlado por los loci P y R responsables de la pigmentación rojiza, según Jong y Tai (1991).

Existen diversos criterios con respecto a la dominancia en el color de la piel de los tubérculos; según Howard (1970), citado por Estevéz *et al.* (1996), el color amarillo es dominante sobre el rojo, pero Verma (1972)

planteó que los tubérculos rojizos son dominantes sobre los colores más claros. Jong y Tai (1991) plantearon que las coloraciones rojizas dominan sobre las amarillas y esto depende de la constitución genética de los progenitores.

Resultados obtenidos por Estévez *et al.* (1996) indicaron altos porcentajes de tubérculos de coloración amarilla, al estudiar la estabilidad de las descendencias cuando utilizaron variedades de tubérculos rojos. Estos resultados también concuerdan con González *et al*. (1996), cuando realizaron diversas combinaciones con progenitores de coloración rojiza y amarilla, encontrando un elevado porcentaje de tubérculos de piel amarilla dentro de sus poblaciones.

Castillo *et al*. (2000) estudiaron durante dos años, en condiciones de invernadero, seis cruzamientos intraespecíficos de papa entre tres variedades comerciales y cuatro clones provenientes del Centro Internacional de la Papa. Los estudios fueron realizados con el objetivo de evaluar su comportamiento en los cruzamientos y durante la etapa de semilla botánica, para su posible uso como progenitores en un programa de semilla sexual de papa. El cruce Desirée x Kondor presentó el mejor comportamiento para ser utilizado en un programa de semilla sexual.

La forma del tubérculo (Figura 6) varió desde redondo, oval, alargado hasta oblongo, con predominio de los redondos sobre los oblongos, alargados y ovales. La presencia de la forma redonda fue predominante, en aquellos cruces donde uno de los progenitores presentaba forma redonda, por ejemplo, Fontenot x Desirée, Atlantic x Carlita y Desirée x Fontenot, con excepción de Century Russet x Desirée.

Según Salaman (1926), citado por Ortiz y Huamán (1994), la forma alargada es dominante sobre la redonda y esta depende esencialmente de la presencia o no de un gén simple para el largo del tubérculo. Pero la mayoría de los autores coinciden que el carácter tiene una herencia simple; según Bartoch (1930) y Masson (1937), citados por Jong y Burns (1993), la forma del tubérculo es controlada por tres o cuatro genes y señalaron que la forma redonda domina sobre la alargada. Maris (1962), citada por Jong y Burns (1993) y Howard (1969), citado por Estévez *et al*. (1996), consideran que el carácter es gobernado por un gén mayor con efecto acumulativo y un número no conocido de genes menores.

En la profundidad de los ojos (Figura 7), se apreció que varió de superficial a media, con predominio de los superficiales, aunque se manifestaron en las progenies bajos porcentajes de ojos medios, así

como muy bajos porcentajes de ojos profundos (Desirée x Century Russet y Desirée x Kondor).

Existen diversos criterios sobre la herencia de este carácter: Rudorf y Baerecke (1974), citados por Estévez *et al*. (1996), plantearon que los ojos superficiales son dominantes sobre los profundos, otros plantean que el carácter profundidad de los ojos es recesivo y controlado por más de un factor. Algunos plantean que son necesarios dos genes complementarios para ojos superficiales; sin embargo, Ross (1986) y Howard (1978), citados por Estévez *et al*. (1996), indicaron que los profundos dominan sobre los superficiales. Lo cierto es que la herencia de este carácter no está definida (Estrada, 2000).

Progenies híbridas foráneas. En la Tabla 7 se aprecian los resultados del análisis de varianza para los caracteres número y rendimiento kg/m^2 en condiciones de campo durante dos campañas, donde se observó que la interacción progenie por año fue altamente significativa para los caracteres evaluados, lo que demuestra el efecto diferencial de las progenies en los años. Estévez (1981), Bradshaw y Mackay (1994), Clulow *et al*. (1995), González (1998) y Estévez *et al*. (2000), al estudiar variedades foráneas de papa en diferentes ambientes y años, llegaron a la conclusión de la gran influencia que ejerce el ambiente sobre el comportamiento diferencial de los genotipos. Se ha planteado que muchos caracteres de importancia económica en papa están controlados por sistemas poligénicos que reciben gran influencia del ambiente. En este estudio, parece ser que el comportamiento de las progenies híbridas también está influido por el ambiente.

Tabla 7. Análisis de varianza para el número y peso de los tubérculos durante dos campañas (1996-1997 y 1997-1998)

Fuente de variación	g.L	Cuadrados medio	
		Número de tubérculos/m^2	Rendimiento de tubérculos (kg/m^2)
Tratamientos	29	25027.23***	3.506798***
Progenies (A)	14	44416.65***	6.401263***
Años (B)	1	28125.5***	5.585449***
(A x B)	14	5416.5***	0.463854***
Error	58	1279.78	0.1025201
Total	89	-	-

En la Tabla 8 se muestra la comparación de medias en los caracteres número y rendimiento (kg.m^2), de las 15 progenies híbridas incluidos los dos controles (Serrana x T-7 y Atzimba x LT-7), destacándose en el

primer año HPS I/13 (317.30), Serrana x TS-5 (313.00), Atzimba x TS-5 (301.00), MFI x XY.13 (296.70), Serrana x XY.13 (293.70) y TS-6 x TPS-67 (292.00) con los mayores valores de número de tubérculos. En el segundo año, los valores más altos se manifestaron en las progenies TS-6 x TPS-67 (444.70), MFI x XY.13 (392.30), HPS I/13 (376.30), Atzimba x XY.4 (360.30), Serrana x XY.13 (349.00), Serrana x TS-5 (339.30) y el control Serrana x LT-7 (305.30).

Tabla 8. Medias de los caracteres evaluados en las progenies durante dos años

No.	Progenies	Número tubérculos/m^2		Rendimiento (kg/m^2)	
		Año 1	Año 2	Año 1	Año 2
1	Atzimba x LT-7 ©	191.70 ij	211.70 ij	2.50 l	2.70 jkl
2	Serrana x LT-7 ©	241.30 ghi	305.30 defg	3.50 fgh	3.80 defg
3	Serrana x XY.13	293.70 defgh	349.00 bcde	4.10 bcde	4.50 bc
4	Atzimba x XY.4	289.30 efgh	360.30 bcd	3.30 ghi	4.00 cdef
5	MFI x XY.13	296.70 defgh	392.30 ab	4.40 bcd	4.70 ab
6	Atzimba x TS-5	301.00 defg	309.30 defg	3.30 ghi	4.10 bcde
7	TS-6 x TPS-67	292.00 defgh	444.70 a	3.80 defg	4.20 bcde
8	Serrana x TS-5	313.00 cdef	339.30 bcde	4.20 bcde	5.10 a
9	HPS I/13	317.30 cdefg	376.30 bc	3.60 efgh	4.60 abc
10	TS-4 x TPS-113	152.00 jk	105.30 kl	1.30 op	2.20 lmn
11	Serrana x DTO-28	182.00 ij	114.70 kl	1.70 op	2.60 lm
12	HPS I/67	87.00 l	154.00 jk	0.86 p	2.30 lm
13	LT-8 x 104.12 LB	195.00 ij	249.30 fghi	2.80 ijkl	3.10 hijkl
14	LT-8 x LT-7	192. 30 ij	231.00 hi	2.40 lm	3.20 hij
15	LT9 x 104.12 LB	145.00 JKl	211.00 ij	1.90 mn	2.30 lm
	± Es X	20.6541***		0.1849***	

Letras en común no difieren significativamente según prueba de Duncan para $p<0.05$
*** Significativo para $p<0.001$ © control

Durante el primer año de evaluación con mayores valores en el carácter rendimiento, se encontraron los híbridos MFI x XY.13 (4.40), Serrana x TS-5 (4.20), Serrana x XY.13 (4.10). En el segundo año, los mayores valores se presentaron en Serrana x TS-5 (5.10), MFI x XY.13 (4.70), HPS I/13 (4.60), Serrana x XY.13 (4.50), TS-6 x TPS-67 (4.20), Atzimba x TS-5 (4.10) y Atzimba x XY.4 (4.00). Comparando estos resultados con ensayos de semillas híbridas en otros países, resultan muy comparables a los obtenidos en Bangladesh, Nicaragua, Vietnam y México entre 3 y 4 kg/m^2 (Torres y Olivas, 1993; CIP, 1994a; Ngo *et al.*, 1996; Nga *et al*., 1998; y Sarquis y López, 1999). Como puede verse, en dos de las mejores progenies, se encuentra TS-5 como progenitor masculino, al igual que XY.13; por otro lado, como progenitores femeninos se manifiestan MFI, Serrana y Atzimba, que están incluidas

en las progenies de mejores comportamientos también; pero en contraste, los progenitores femeninos MFI y Serrana se encuentran incluidos en las progenies con el número y peso de los tubérculos más bajos. Estos resultados indican la importancia relativa de los parentales, corroborando lo planteado por Sarquis y López (1999), de que no se puede afirmar nada sobre un progenitor masculino o femenino al margen del cruzamiento específico en cuestión. Se ha encontrado que una de las razones por las que una progenie puede no tener buenos rendimientos, es debido a los cruzamientos entre y dentro de grupos taxonómicos de papa; el grupo más heterocigótico es el de mayor rendimiento y el más estable (Mendoza y Haynes, 1979; Sherma *et al.*, 1988 y Golmirzaie *et al*., 1994); así cabe la posibilidad de que exista en estas progenies un porcentaje importante de cruces que no sean los más aptos.

La Tabla 9 representa la calidad externa de los tubérculos, donde se puede apreciar, para el carácter color de la piel, que las combinaciones HPS I/13, TS-6 x TPS-67 y MFI x XY.13 alcanzaron los valores más elevados de 8.3 para la primera y 8.0 para las dos restantes; también una adecuada uniformidad del color la presentaron aquellas progenies, con valores iguales o superiores de 7 en la escala, por lo que son consideradas como uniformes.

Tabla 9. Evaluación externa en tubérculos de SSP

No.	Progenies	Uniformidad del tubérculo	
		Color piel*	Forma*
1	Atzimba x LT-7 (control)	7.5	7.1
2	Serrana x LT-7 (control)	7.6	7.0
3	Serrana x XY.13	7.8	7.3
4	Atzimba x XY.4	7.9	7.2
5	MFI x XY.13	8.0	7.5
6	Atzimba x TS-5	7.8	7.3
7	TS-6 x TPS-67	8.0	7.6
8	Serrana x TS-5	7.6	7.5
9	HPS I/13	8.3	7.8
10	TS-4 x TPS-113	7.5	7.2
11	Serrana x DTO-28	7.4	6.8
12	HPS I/67	6.8	7.0
13	LT-8 x 104.12 LB	7.0	6.9
14	LT-8 x LT-7	6.9	7.5
15	LT9 x 104.12 LB	6.3	7.6

*****Escala de uniformidad de tubérculos: 1=Desuniforme, 9=Muy uniforme

Para el carácter forma del tubérculo, la combinación que logró el valor más alto de la escala fue HPS I/13 con 7.8; sin embargo, todas las progenies que alcanzaron valores iguales o superiores a 7 también son

clasificadas como uniformes. Resultados similares de uniformidad, tanto en el color como en la forma del tubérculo, encontraron Ngo *et al.* (1996 y 1998) y Sarquiz y López (1999) cuando evaluaron SSP en México y Vietnam respectivamente.

Por los resultados alcanzados, debe reconocerse que mucho se ha logrado en la uniformidad del tubérculo de papa a partir de semilla sexual y que aún se continúan realizando trabajos de mejoramiento genético para lograr mucha más uniformidad (Upadhya, 1994).

El comportamiento de las progenies ante las principales enfermedades evaluadas, se presenta en la Tabla 10. Ante *Alternaria solani*, las combinaciones Atzimba x XY.4 y Serrana x TS-5 alcanzaron un valor de 2 en la escala y fueron las menos afectadas en su follaje; a estas le siguieron con valor de tres las progenies MFI x XY.13 y TS-4 x TPS-113, por lo que pudieran presentar cierta tolerancia en campo ante esta enfermedad. El resto de los materiales evaluados alcanzaron un grado 4 con excepción de Serrana x DTO-28, LT-8 x LT-7 y LT-8 x 104.12 LB con grado 5, que fueron las de peor comportamiento.

Se presentaron en casi todas las progenies valores bajos (5 y 25 %) de afectación por *Phytophthora infestans*; estos valores apuntan a que estas progenies podrían clasificarse como tolerantes al patógeno en condiciones de campo. Algunas de las combinaciones incluyen genes de resistencia, como son LT-8 x 104.12 LB y LT-9 x 104.12 LB (CIP, 1994a). Las progenies HPS I/67 y Serrana x DTO-28 fueron las más afectadas en su follaje con 75 y 50 %.

Tabla 10. Comportamiento de las progenies ante las principales enfermedades

No.	Progenies	*Alternaria solani* *	*Phytophthora infestans* (%)
1	Atzimba x LT-7 (control)	4	5
2	Serrana x LT-7 (control)	4	25
3	Serrana x XY.13	4	25
4	Atzimba x XY.4	2	5
5	MFI x XY.13	3	25
6	Atzimba x TS-5	4	5
7	TS-6 x TPS-67	4	25
8	Serrana x TS-5	2	5
9	HPS I/13	4	5
10	TS-4 x TPS-113	3	5
11	Serrana x DTO-28	5	50
12	HPS I/67	4	75
13	LT-8 x 104.12 LB	5	5
14	LT-8 x LT-7	5	25
15	LT9 x 104.12 LB	4	5

*****Escala de 9 grados: 1= Sin señales, 9= Todas las hojas muertas

BIBLIOGRAFÍA

Almekinders, C. J. M. y Wiersema, S. G. Flowering and true seed production in potato (*Solanum tuberosum*, L.). Effects of inflorescence position, nitrogen treatment and harvest date of berries. *Potato Research*, 34, 1991: 365-377.

Almekinders, C. J. M. On flowering and true potato seed production (*Solanum tuberosum*, L.) PhD. Thesis. Wageningen Agricultural University. Wageningen, Netherlands, 1995, p. 133.

Almekinders, C. J. M.; Chilver, A. S. y Reina, H. M. Current status of the TPS technology in the world. *Potato Research*, 39, 1996, p. 289-303.

Asscheman, E. Potato Diseases. La Haya: NIVAA, 1996. 180 p.

Atlin, G.. Inbreeding in TPS progenies, implications for breeding and seed production strategy . En: Reports of the xxvi planning conference, 1985, p. 12-14.

Austin, S.; Pohlman, J. D.; Brown, C. R.; Mojtohedi, H.; Santo, G. S.; Douhes, D. S. y Helgesson, J. P. Interspecific somatic hybridization between *S. tuberosum* and *S. bulbocastanum* as a means of transferring nematode resistance. *Am. Pot. Journal*, 1993, 70(6):485-495.

Bangerth, F. y Ho, L. C. Fruit position and fruit set sequence in a trial for factors determining final size of tomato fruits. *Annals of Bottany*, 1984. 53:315-319.

Bejo Company. Introduction to potato hybrids. Potato Products International Lit. The Netherlands. Internet http/ www. bejo seeds com / potato, 2001.

Berekema, H. P.; Van Der Zaag, D. E. Introduction to potato production, 1990.

Bradshaw, J. E. y MacKay, G. R. Breeding strategies for clonally propagated potatoes. En: Potato Genetics. (eds) J. E. Bradshaw y G. R. Mackay. Wallingford CAB International, 1994, p. 467-498.

Burton, W. G.. The potato (3rd edition). Propagation by true seed (chpt.3). Longman, essex, Uk, 1989, pp. 68-83.

Cabello, R. Producción de semilla botánica de papa. En: Manual de producción con semilla botánica. UTC. CIP. Lima, Perú. 1994.

Castillo, J.; Estévez, A.; González, M.E.; Salomón, J. L.; Ortiz, E. y Ortiz, U. Comportamiento de cruces entre progenitores tetraploides de papa (*S. tuberosum*, L.) para su uso en un programa de semilla sexual en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 1998, 19(3): 39-43.

CIP Manual de producción de papa a partir de semilla sexual. Unidad de capacitación. Lima, Perú, 1997, p 109.

CIP. Circular. Volumen 20(1). Lima, Perú, 1994, 12p.

CIP. Semilla botánica, un método alterno en la producción de papa. Serie CIP de diapositivas didácticas, Lima, Perú, 1983, 12p.

Clulow, S. A.; Nicoll, J. Mc. y Bradshaw, J. E. Producing commercially attractive, uniform true potato seed progenies: The influence of breeding scheme parental genotype. *Theor. Appl. Gent*, 1995, 90: 519-525.

Cuba. MINAGRI.Normas Técnicas para el cultivo de la papa. La Habana, Ministerio de la Agricultura, 1990. 46 p.

Cuba. MINAGRI. Instituto de Suelos. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. La Habana; 1999. Agrinfor, 64 p.

Deroncelé, R.; Salomón, J. L.; Manso, F.; Linares, J. L. y Roque, R. Guía técnica para la producción de papa en Cuba. (Ed. Liliana), 2000. 42 p.

Estévez, A. El mejoramiento genético de la papa. En: Curso internacional de refrescamiento en el cultivo de la papa para Latinoamérica, IAC-Holanda y MINAGRI-Cuba. (1:marzo 19-11 abril, 1996: La Habana).

Estévez, A.; González, M. E.; Castillo, J. y Ortiz, Ú. Estudio de interacción genotipo-ambiente en clones de papa (*Solanum tuberosum*. L). *Cultivos Tropicales*, 2000, 21(2): 59-64.

Estévez, A.; González, M. E.; Castillo, J.; Ortiz, E. y Ortiz, Ú. Selección de clones cubanos de papa (*Solanum tuberosum*. L.) procedentes de familias híbridas obtenidas por el CIP. *Cultivos Tropicales*, 1998, 19 (3): 39-43.

Estrada, N. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. (ed) Bill Hardy y E. Martínez. Lima, CIP, 2000. 372 p.

FAO, CIP, INIA. Curso: Producción de papa a partir de semilla sexual. Oficina Regional FAO, Chile, 1994, 24p.

FAO. Producción de papa a partir de semilla sexual. Manual técnico. Red de cooperación técnica de cultivos alimenticios, 1995. 72 p.

Fernández, E. Informe de resultados de la implementación del manejo integrado de plagas a nivel tecnificado. En Taller Regional de PRECODEPA, 1995. 165 p.

Gaur, P. C. Manual for true potato seed (TPS) production and utilization. CPRI. Shimla, India, 1991. 13p.

Golmirzaie, A. y Mendoza, H. Estrategia de mejoramiento para la producción de semilla de sexual de papa . Circular C I P 1988, 16 (4):1- 8.

Golmirzaie, A. M.; Malagamba, P. y Pallais, N. Breeding in true potato seed. En: Potato genetics. Wallengford, CAB. International. !994, p. 499-513.

Golmirzaie, A. M.; Tenorio, J. y Serquen, F. Evalución de progenies provenientes de esquemas de apareamiento 4x-4x 4x-2x. En: XV Reunión de la asociación Latinoamericana de la papa. (1991, 15 sept. 8-14: Lima) p.71.

González, M. E. Mejoramiento por hibridación de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en Cuba. Tesis de Doctorado]. INCA, 1998, 71 p.

González, M. E.; Estévez, A. y Garcia, D. Métodos para la determinación de la fertilización del polen y su relación con los resultados de la polinización. *Cultivos Tropicales*, 1995, 16(2):84-88

González, M. E.; Estévez, A.; Ortiz, E.; y Castillo, J. Comportamiento de familias híbridas tetraploides de papa.*Cultivos Tropicales*, 1996, 17(3): 63-66.

Gray, D. y Steckel, J. R. A. Parsnip (*Pastinaca sativa*) seed production: effects of seed crop density, seed grading on embryo and seed size and seed performance. *Annals of Applied Biology*, 1985, 107: 559-570.

Haan, H. Potato breeding in Netherlands. *Euphytica*, 1953. 2: 113-121.

ICAR. Manual for true potato seed (TPS) production and utilization. Shimla, India. Extension bulletin, 1989. 30 (e).p 16.

ICAR. True potato seed for potato production in India. Shimla, India. Extension bulletin, 1990. 24.p 13.

Iwanaga, M.; Freyre, R. y Watanabe, K. Breeding the crossability barriers between disomic tetrasomic *Solanum acaule* and tetrasomic tetraploid *S. tuberosum*. *Euphytica*, 1991, 52 (3): 183-191.

Jackson, M. J.; Taylor, L. y Thompson, A. J. Inbreeding and true potato seed production. En:Report of planning conference on innovative methods for propagating potatoes. Lima. International Potato Center, 1984. P10-14.

Jinks, J. L. y Lawrance, M. J. The genetical basis of inbreeding depression and heterosis. Its implications for plants and animal breeding. PORIM Bulletin, 1983, p. 12.

Jong, H. y Tai, G.. C. C. Evaluation of potato hybrids obtained from tetraploid- diploid crosses in an incomplete mating design in parent-offspring relationships. *Plant Breeding*, 1991, 107: 177-182.

Jong, H. y Burns, V. J. Inheritance of tuber shape in cultivated diploid potatoes. *Am. Pot. Journal*, 1993, 70: 267-283.

Kathana, U. S.; Upadhaya, M. D.; Chilver, A.; y Crisssman, C. Economic impact of true potato seed production in India. En: Case of the economic impact of CIP- related technologies.T.S.Walker and C.Cissman (eds) . Lima International Potato Center , 1996, 10 p.

Krebs, S. L. y Hancock, J. F. Early-acting inbreeding depression and reproductive success in the highbush blueberry *Vaccinium corymbosum* L. *Thear. Appl. Genetics*. 1990, 79: 825-832.

Malagamba y Monares. True potato seed: past and present uses. CIP, Lima, Perú, 1988. 40 p.

Malagamba, P. y Cabello, R. Producción de semilla botánica en diferentes ambientes. Taller de semilla botánica de papa en Latinoamérica. Lima, Perú. 1992, p. 21-25.

Malagamba, P. y Cabello, R. Producción de semilla botánica de papa. En: Manual de producción de papa con semilla botánica. Lima, Centro Internacional de la Papa (CIP). 1996. p. 21-25.

Malagamba, P. Sistemas de uso de semilla botánica de papa para diferentes ambientes. Taller de semilla botánica de papa en Latinoamérica. Lima, Perú. 1992. p 3-9.

Mendiburu, A.O. y Camadro, E. L. Uso de haploides en el mejoramiento genético de la papa. En: Avances en el mejoramiento de la papa en los países del Cono Sur. Lima, CIP , 1990, 221 p.

Mendoza, H. A. y Haynes, F. L. Genetic relationship among potato cultivars grown in the United States. *Hort. Sciences*, 1979, 9(4):328- 330.

Mendoza, H. A. y Marca, J. L. Performance of selfed, open pollinated and hybrid progenies in a *Solanum tuberosum* ssp indigena population. *Am. Pol. Jour*, 1986, 63: 444.

Nga, D. B.; Liem, P. X. y Smidieche, P. Results of true potato seed progeny evaluation from 1991 to 1995 in Vietnam. Workshop on the progress of the ADB financed TPS project for Vietnam. Hanoi, 1998.

Ngo, D. N. Potato production and TPS utilization in Vietnam. En: Reports of participants. International Potato Course. (27:1998, Wageningen), 1996, p. 133-134 .

Ortiz, R. y Huamán, Z . Inheritance of morphological and tuber characteristics .En: Potato Genetics. Wallengford, C.A.B. International, 1994, p. 263-283.

Pallais, N.; Nelly, Y.; Rosario, M.; Falcón, M. y García, R. S. Improving seed vigor in sexual seeds of potato under high temperature. *Horticultural Science*, 1991, 26:296-299.

Pallais, N. True potato seed: a global perspective. Lima, Perú. CIP, 1994. Circular 20, (1). p. 1-3.

Pallais, N. y Cabello, R. Calidad de la semilla botánica y manejo post-cosecha. Taller de semilla botánica de papa en Latinoamérica. Lima, Perú, 1992, p 11-20.

Pandey, S. K. y Gupta, P. K. Studies in character association for selection on TPS populations. *Journal Indian Pot. Assoc*., 1996. 23 (1,2):15-19.

Randhawa, G. J. y Bhargava, R. Berry and true potato seed production in relation to nitrogen fertilization. *Crop Science*, 1994, 172 : 69- 72.

Ross, H. Potato breeding. Problems and Perspectives, Berlin, Verlag, 1986, 304 p.

Sanford, J. C. y Hanneman, T. L. Performance of populations derived by selecting for resistance to potato leaves in a 4x *Solanum tuberosum* x 2x *Solanum chacoense* cross. *Amer. Pot. Journal*, 1992, 69(6):391-400.

Santos, J. R. Avances en la producción de semilla botánica híbrida de papa (SB) en Chile. Taller de semilla botánica de papa en Latinoamérica. Lima, Perú, 1992, p 47-57.

Sarquiz, J. y López, F. Evaluación de características en planta, tubérculo y rendimiento para progenies de semilla sexual de papa (*Solanum tuberosum*, L.) en Valle Alto del centro de México. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 1999, 11 (1): 26-39.

Sherma, K. P.; Katoch, C. y Plos, S. K. Genetic analysis for combining ability in F, C, clonal generation in potato (*Solanum tuberosum*, L.). *Journal Indian Potato Assoc.*, 1998, 15: 21- 25.

Sigarroa, A. Estadistica y Diseño. Segunda parte. Ed. Pueblo y Educación, La Habana, 1985, p. 395-793.

Singh, J.; Sing, A.N. y Pandey, P. C. True potato seed for potato production in India. CPRI, Shimla, India, 1992, 16p.

Struik, P. y Wiersema, S. G. Seed potato technology. Wageningen Pers (Ed), Wageningen, The Netherlands, 1999, 383 p.

Thakur, K. C.; Upadhya, M.D.; Bhargva, S. N. y Bhargava, A. Bulk pollen extraction procedures and the potency of the extracted pollen. *Potato Research*, 1994, 37:245-248.

Torres, F. Semilla sexual de papa (SSP) en Piura, una nueva posibilidad de desarrollo. Central Peruana de Servicios (CEPESER), 1997. 48 p.

Torres, F. y Olivas, A. Producción de semilla botánica bajo las condiciones tropicales de Nicaragua. *Revista Latinoamericana de la Papa*. Lima Perú, 1993. p. 1-19.

Torres, F.; González, C. y Torres, H. Semilla sexual en la producción de papa en Nicaragua. Taller Semilla Sexual de Papa en Latinoamérica- CIP. Lima, Perú, 1992. 59-70 p.

Triong, V. H.; Dam, N. D. y Schmiediche, P. Results of true potato seed progeny evaluation from 1991 to 1995 in Viet Nam. En: Reports of participants. International Potato Course. IAC. Wageningen, The Netherlands, 1996, 133-143 p.

Troqnitz, B. R.; Ghislain, M.; Crissman, C. y Hardy, B. Mejoramiento de papa para resistencia duradera al tizón tardío usando nuevas fuentes de resistencia y métodos de selección no convencionales. CIP (Circular), 1996, 22(1):6-9.

Umaerus, M. True potato seed. CIP. Lima. Perú, 1989. 102 p.

Upadhya, M. D. True potato seed: Propagule for potato production in the 21st century. G.. S. Shekwat; S. M. P. Khurana; S. D.Pandey and U.K. Chandla (eds). En: Potato present and future. Indian Potato Association. Shimla, India, 1994, P. 5-11

Upadhya, M. D. y Thakur, K. C. Breeding strategy to develop parental lines for hybrid true potato seed production. En: Proceeding of seminar on current facets. *Potato Research*, 1990, 39, p. 289-303

Watanabe, K. M.; Orillo, M.; Vega, S.; Valckomen, J. P.; Pehu, E.; Hurtado, E. y Tanksley, S. D. Overcoming crossing barriers between nontuberbearing and tuberbearing *Solanum* species: towards potato germplasm enhancement with a broad spectrum of *Solanaceus* genetics resources. *Genome*, 1995, 38: 27-35.

Werner, J. E. y Peloquin, S. J. Significance of allelic diversity and 2n gametes for approaching maximun heterozygosity in 4x potatoes. *Euphytica*, 1991, 58: 21-29

Wiersema, S. G. The production and utilization of seed tubers derived from true potato seed. Tesis de doctorado. University of Reading, 1988, 229 p.

Wiersema, S. G. A method of producing seed tubers from true potato seed . *Potato Research*, 1986. 29 : 225-237.

CAPÍTULO VIII

APLICACIÓN DE TÉCNICAS BIOTECNOLÓGICAS PARA EL MEJORAMIENTO EN CUBA

María M. Hernández, Olivia Moré, R. Hidrovo, E. Ortiz y Ramona Márquez

INTRODUCCIÓN

La variabilidad genética es un componente esencial de algunos programas de mejoramiento, creados para mejorar las características de los cultivos vegetales. Por esto, buscar nuevos métodos para la producción de variabilidad genética en las plantas es de gran importancia. En años recientes, un gran interés ha sido dedicado a la variación somaclonal, definida como la variación generada o recuperada por el cultivo *in vitro* de órganos, tejidos y células, las cuales son heredables por la progenie de las plantas regeneradas. Por observaciones realizadas, se indica que esta variación, que se recupera en las plantas, resulta tanto de las diferencias genéticas que preexisten en las células somáticas del explante, como de efectos inducidos por los componentes del medio de cultivo. Por consiguiente, la variación somaclonal puede usarse con mucha frecuencia, para recuperar la variación genética natural de una especie (Roca, 1991).

La variación somaclonal es superior también al mejoramiento por mutaciones inducidas, puesto que en las plantas regeneradas que derivan de células individuales, la ocurrencia de mosaicos es mínima. En la mayor parte de los casos, por tanto, los somaclones pueden estabilizarse en una generación; las mutaciones, en cambio, requieren varias generaciones y retrocruces (Villalobos, 1990).

Uno de los mayores beneficios de la variación somaclonal es la obtención de variabilidad genética en cultivares agroeconómicamente útiles, la cual se ha obtenido tradicionalmente recurriendo a la hibridación.

Los somaclones (mutantes) pueden enriquecerse o modificarse durante el cultivo *in vitro* con las siguientes características: resistencia a enfermedades y herbicidas, así como tolerancia a estrés químico o ambiental. La variación somaclonal es muy útil para incorporar nuevas características a una variedad o modificar las que esta tiene; en efecto, la variabilidad genética inherente al somacultivo, permite mejorar el valor agronómico de una especie cultivada (Tabares, 1991).

La producción y selección de híbridos somáticos resistentes a diversos factores bióticos y abióticos, es una práctica común en numerosos laboratorios en el mundo; por lo tanto, se han desarrollado métodos eficientes para lograr ambos eventos en cultivos de interés, entre los que se encuentra la papa.

Las mayores posibilidades de las técnicas biotecnológicas están dadas en la mejora de la resistencia a patógenos que se puedan cultivar *in vitro* y produzcan toxinas, y que el sistema de recuperación a nivel celular esté desarrollado (Pérez, 1996).

La selección *in vitro* se ha incrementado por el avance en los estudios, tanto de los procesos de la planta y la biología de los patógenos como del entendimiento de la interacción planta-patógeno. El empleo de filtrados y toxinas de hongos e incluso cultivos duales para este proceso es algo prometedor.

La suposición fundamental del uso de las fitotoxinas como agente selectivo, es que las plantas resistentes a toxinas obtenidas después de la regeneración, a partir de células de tejido seleccionado *in vitro*, podrían incrementar la resistencia al patógeno también (Van der Bulk, 1991). Las toxinas hospedero-específicas han sido usadas exitosamente en experimentos de selección.

Los metabolitos tóxicos producidos por agentes patógenos son usados frecuentemente como agente selectivo *in vitro*. Experimentos de este tipo, con cultivos filtrados de *Xanthomonas campestris pv. pruni, Alternaria solani, Verticillium spp*. y *Pseudomona syringae pv. phaseolicola* han mostrado que la respuesta de células cultivadas al cultivo filtrado del patógeno *in vitro* se correlaciona con la reacción de la enfermedad en la variedad hospedero (Daub, 1986). En esos casos, el uso del cultivo filtrado puede llevar a la selección de resistencia a enfermedades.

Esta parece ser, por tanto, una forma potencialmente apropiada para la selección *in vitro* de callos y la posterior producción de plantas con mayor resistencia cuantitativa a patógenos fúngicos (Ammirato *et al*, 1994).

EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA Y SELECCIÓN *In Vitro* DE CLONES RESISTENTES A *P. infestans* (Mont) DE BARY

Estudios relacionados con medios de cultivo y tipos de explante son apropiados para la callogénesis y embriogénesis somática.

Como es de todos conocido, el medio de cultivo, el tipo y las características del explante empleado en los diferentes procesos que se lle-

van a cabo en condiciones *in vitro*, son decisivos para el éxito de los objetivos propuestos y su elección desacertada conduce a enormes fracasos, no siempre bien comprendidos. Por esta razón, se realizaron una serie de experimentos, con el objetivo de determinar el medio de cultivo y tipo de explante adecuado para la obtención de callos embriogénicos en papa (*S. tuberosum*, L.).

Las fuentes de explantes empleadas fueron vitroplantas de las variedades Desirée y Baraka de 35 días de edad.

Se tomaron peciolos y entrenudos, los cuales fueron colocados en número de 40 en dos medios de cultivo, en frascos conteniendo 30 mL de medio y fueron colocados bajo un fotoperíodo de 16 h de iluminación y 8 h de oscuridad a una temperatura de 25 ± 2^0C.

Las evaluaciones realizadas en este experimento fueron:

- días hasta la aparición del callo de cicatrización
- coloración de los callos: verde oscuro (VO); verde claro (VC); cremoso (CR) y carmelita claro (CC)
- consistencia de los callos: compacto (C); semifriable (SF); friable (F) y esponjoso (E)
- peso fresco del callo (semanalmente hasta la sexta semana).

Con los datos del peso fresco del callo, se confeccionaron las curvas de crecimiento para cada tratamiento, realizándose además un ANOVA factorial con estos. Para esta última evaluación, se tomaron tres callos por tratamiento en cada muestreo.

En la Tabla 1 se refleja el resultado del análisis factorial realizado, teniendo en cuenta la variedad, el medio de cultivo y tipo de explante; en ella se observa que solamente se detectaron diferencias significativas para el tipo de explante, no así para los otros factores ni las interacciones.

Tabla 1. Resultados del análisis factorial

Fuente de variación	Valor de la media (x)	CM	ESx
Variedad (A)	0.50 N.S.	0.009350	0.030
Medio (B)	0.48 N.S.	0.008870	0.026
Tipo de explante	0.90 ***	4.10237	0.153
(A x B)	0.49 N.S.	0.011805	0.043
(B x C)	0.57 N.S.	0.006540	0.046
(A x B x C)	0.55 N.S.	0.008304	0.045

Estos resultados pusieron en evidencia la importancia del tipo de explante, para lograr el crecimiento adecuado de los callos en el cultivo de la papa.

En la Tabla 2, se refleja el peso de los callos a los 36 días, momento en el cual se manifestaron las diferencias entre los tipos de explante; como se aprecia, el peso de los callos obtenidos de los entrenudos fue superior para ambas variedades y en ambos medios, resultando significativamente superiores en peso a los provenientes del peciolo.

Tabla 2. Peso de los callos a los 36 días de la siembra

Variedad	Desirée (M1)	Baraka (M1)	Desirée (M2)	Baraka (M2)
Peciolo	0.091 b (C.C)	0.091b (C.C)	0.103 b (CR.C)	0.090 b (C.C)
Entrenudo	0.880 a (CR.F)	0.890 a (C.C)	1.033 a (CR.F)	0.880 a (C.SF)

Es bueno destacar que los explantes de hoja habían sido anteriormente probados para la obtención de callos en papa, var. Desirée y estos no difirieron significativamente de los obtenidos de entrenudos, resultando, sin embargo, más difícil su manipulación, por lo que no se incluyeron en este estudio.

A partir de estos resultados, el explante empleado para los restantes experimentos fueron entrenudos de aproximadamente 5 mm de longitud.

Como se observa en la tabla, el peso de los callos provenientes de entrenudos fue significativamente superior para ambas variedades y medios, llegando a alcanzar 1.03 g en la var. Desirée cuando se empleó el medio M2, aunque sin diferencias significativas con el resto de los tratamientos en los que se usó el entrenudo como fuente de explante.

Como se aprecia, si bien no se encontraron diferencias significativas para el peso de los callos entre las variedades, las características del callo (color y consistencia) fueron diferentes, mostrando la variedad Desirée una mejor aptitud para la formación de callos morfogenéticos, de color y consistencia adecuada; sin embargo, la variedad Baraka produjo callos más compactos y de una coloración carmelita, los cuales no resultaron morfogenéticos.

El tiempo transcurrido desde la siembra hasta la aparición del callo de cicatrización fue de 9 a 10 días para ambas variedades y medios.

En la Figura 1, se observa la dinámica de crecimiento de los callos de papa, cultivados *in vitro* en medio sólido y evaluados desde el momento de efectuada la siembra de los explantes provenientes de vitroplantas hasta los 105 días.

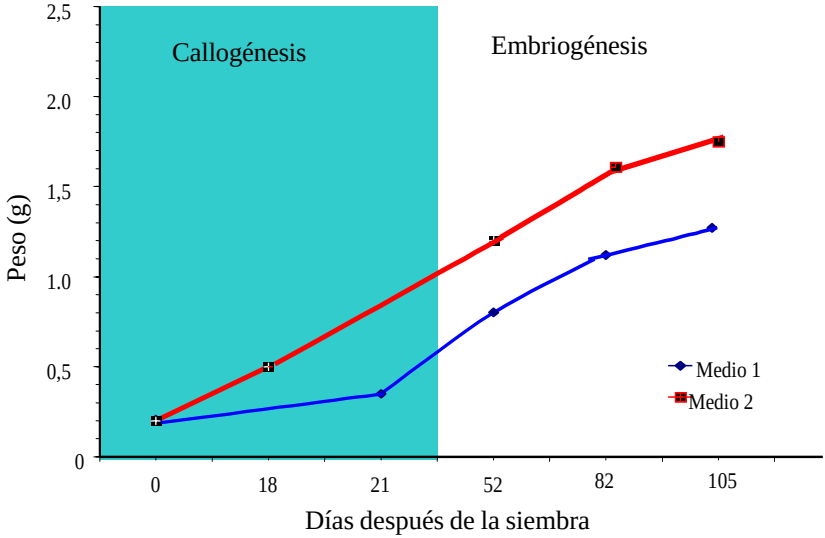


Figura 1. Dinámica de crecimiento de los callos cultivados en dos medios sólidos para callogénesis y embriogénesis somática (área sombreada corresponde a callogénesis)

Se pudo observar que el período inicial de latencia o "lag" tuvo una duración de 21 días en el medio 1 (M_1) y de 18 días en el medio 2 (M_2). Esta etapa se caracterizó por un crecimiento celular lento, debido a que los explantes se encuentran en un proceso de adaptación a las nuevas condiciones de cultivo, ratificándose además la poca influencia que ejercen los componentes de los medios de cultivo utilizados en este ensayo durante este período. Desde los 21 días y hasta los 52, se puso de manifiesto la fase de crecimiento exponencial en el medio 1 y, en el medio 2, desde los 18 hasta los 52 días; en esta fase se presentó un crecimiento celular muy intenso, con una elevada división celular, lo cual condujo a un aumento considerable del peso y volumen de la masa callogénica.

A partir de los 52 y hasta los 80 días en el medio 1 y desde los 52 hasta los 82 días en el 2, se presentó una fase de crecimiento final, con cambios moderados en el peso promedio de los callos. Después de los 80 días en el medio 1 (M_1) y de los 82 días en el medio 2 (M_2), y hasta los 105 días, se observó poca variación del peso de los callos, correspondiendo esta con la fase estacionaria.

En la Figura 2(a), se observa el explante inicial, a partir del cual se formará la masa callogénica, descrita así mismo en papa por Fontenot (1991).

Durante los primeros cinco días de haber sido sembrados los explantes (Figura 2b), estos atraviesan la fase de inducción del callo, la cual es considerada como preparatoria; en ella ocurre una alteración metabólica celular. La cicatrización de los explantes se observó a los 10 días en ambos medios de cultivo, la cual se caracterizó por la presencia de un tejido abultado de color blanquecino por los dos extremos del explante (Figura 2c, $2c_1$, $2c_2$), debido a que el origen del callo es a partir de células perivasculares, en las que existe una división y proliferación de células meristemáticas hacia las zonas basal y apical del explante, tomándose un callo endógeno, en el cual las células se encuentran limitadas por las dos epidermis. Esto ha sido argumentado de la misma manera por Lakshmi-Sita (1989) trabajando en papa.

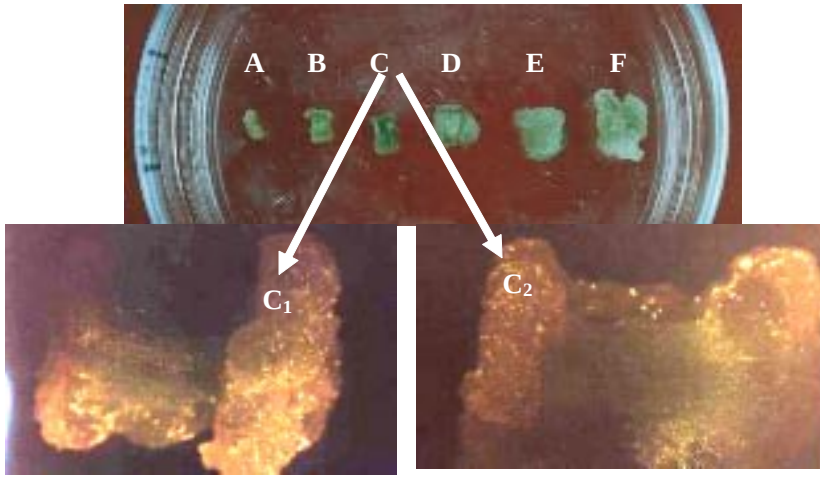


Figura 2. Desarrollo de la callogénesis en el medio 2 (M2): explante inicial (a); primera proliferación a los cinco días (b); presencia de una masa callogénica en los extremos del callo a los 10 días (c, c_1, c_2) –tejido de cicatrización-; callos a los 15 días (d, e y f)

En cuanto a la formación de tejidos de cicatrización en diferentes explantes, los medios y las variedades son analizados por Bajaj *et al*. (1995a), quienes informaron resultados similares al estudiar la embriogénesis somática, el origen y la evolución de los callos producidos en papa.

El comportamiento de la coloración y consistencia de los callos no fue similar en los dos medios, puesto que al final del proceso los callos que se obtuvieron en el medio de papa, tomaron una coloración menos carmelita que aquellos obtenidos en el medio de café, que tenían un color de carmelita intenso a marrón, informado de igual forma por Seabrook (1995) en papa.

La coloración inicial del explante fue verde oscuro y brillante; en todos los casos, como se puede observar en la Figura 2 (d, e y f), esta tuvo una tendencia a disminuir su intensidad a partir de los 12 días.

Una semana después, continuó disminuyendo la intensidad del color, observándose proliferación del callo, el cual tuvo una coloración cremosa (Figura 3 a y b) a los 18 días. Resultados similares se observaron por Dodds (1997) trabajando en papa.

A los 20 días de cultivo, se localizó la proliferación del callo hacia la parte central del explante; este poseía una coloración más clara que los anteriores callos, se les ve casi transparentes y con una consistencia poco compacta, se puede aún observar al explante de color verde brillante (Figura 3c y d). Callos de similar color fueron presentados por Freire *et al.* (1994), trabajando en papa.

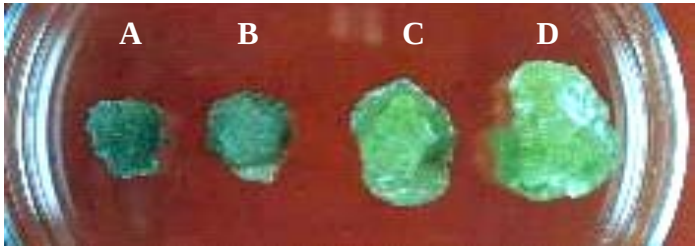


Figura 3. Desarrollo de la callogénesis en el medio 2 (M2): callos a los 18 días (a y b); callos a los 20 días (c y d)

A los 30 días de cultivo, la masa callogénica cubrió todo el explante inicial; estos callos se caracterizaron por tener una coloración blanco-cremosa a marrón y consistencia compacta (Figura 4a, b); aquí el explante tomó una coloración verde pálido (Figura 4 a_1). Los callos de esta misma coloración y consistencia fueron obtenidos por Freire (1994) en papa.

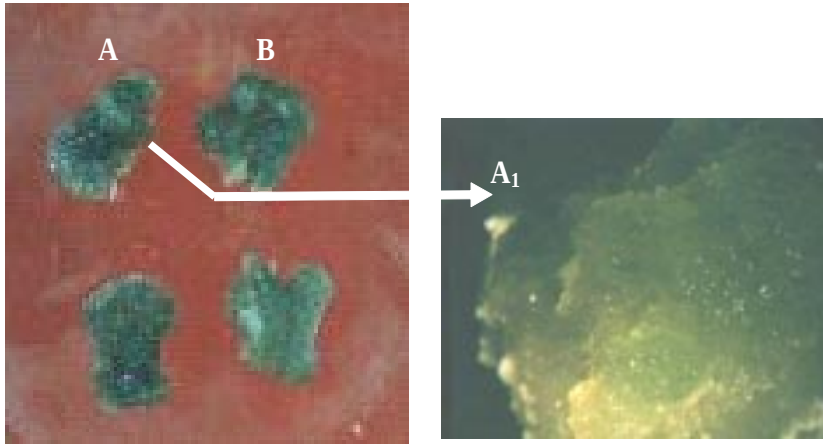


Figura 4. Desarrollo de la callogénesis en el medio 2 (M2): callos a los 30 días (a, a1,b,)

Transcurridos 35 días, los callos expresaron un alto índice de crecimiento por todas las zonas del explante; la coloración que tuvieron en este instante fue de blanco-marrón (Figura 5a, b, c y d), consistencia semi-friable; esto pudo deberse fundamentalmente al efecto del 2,4-D, el cual favorece la formación de los callos friables y con capacidad embriogénica. Lakshmi Sita (1989) informó similares características de los callos *Solanum tuberosum*, L. en presencia de esta auxina.

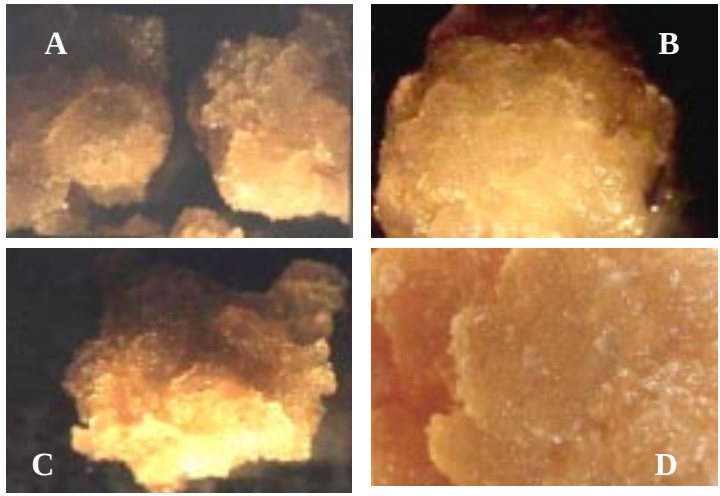


Figura 5. Desarrollo de la callogénesis en el medio 2 (M2): callos a los 35 días con una coloración blanco-marrón (a, b, c y d)

A los 45 días, los callos se oscurecieron, mostrándose en estos momentos un poco menos transparentes que los anteriores; poseen zonas blanquecinas y en su mayoría predomina el marrón (Figura 6a).

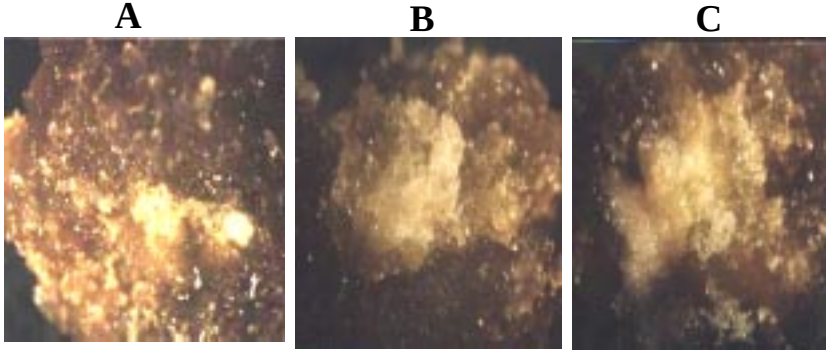


Figura 6. Desarrollo de la callogénesis a mayor aumento en el medio 2 (M2) (a, b y c)

A los 60 días los callos adquirieron una coloración más intensa hacia el exterior y con la parte central totalmente blanca, muy diferenciada de otras zonas aledañas; se muestran también opacos y friables (Figura 7 a y b).

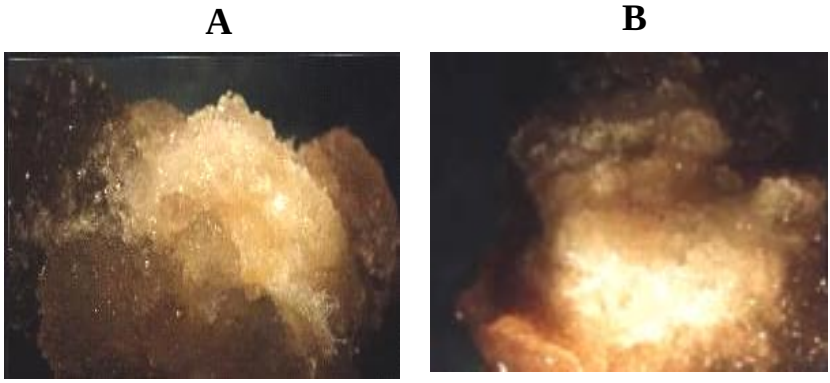


Figura 7. Desarrollo de la callogénesis en el medio embriogénico a los 60 días (a y b)

A los 75 días, la zona blanca fue disminuyendo en cuanto a extensión, aunque su intensidad aumentó y, al parecer, se estaba separando del resto del callo (Figura 8); esta zona será posteriormente el sitio donde broten los embriones somáticos.

Figura 8. Desarrollo de la callogénesis en el medio 2 (M2) a los 75 días, se observa bien delimitada la zona blanca

A los 90 días, los callos alcanzaron casi su máximo crecimiento y adquirieron una coloración carmelita claro (Figura 9), con una consistencia totalmente friable; el callo cubrió totalmente al explante. Rivas (1993) señaló que la coloración carmelita claro de los callos tiene una relación directa con la textura friable, por la formación de estructuras celulares que crecen en forma de primordios e independientes, expresado de similar forma en papa por García *et al*. (1995).

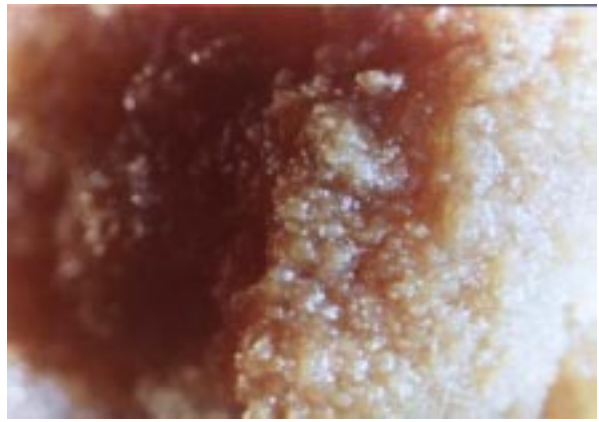


Figura 9. Desarrollo de la callogénesis en el medio 2 (M2) a los 90 días

En la Figura 10 (a), se observaron los callos a los 105 días, los que se caracterizaron por presentar una coloración carmelita oscuro (marrón), de consistencia friable, con presencia de espacios intercelulares en la masa callogénica; además, en la superficie de estos callos se observaron pequeñas abultaciones que sobresalían al exterior y que poste-

riormente formarían los embriones. Estos resultados coinciden con los presentados por García *et al*. en 1995, trabajando con papa var. Desirée.

En la Figura 10 (b y c), se pueden observar los callos sobre los cuales aparecieron los embriones somáticos, que son de naturaleza bipolar, más blancos que el resto del callo, redondeados e independientes de la masa callogénica, determinado así mismo por Freire en 1994, trabajando en papa. En la Figura 10 (d), se observa un embrión somático con mayor aumento, el cual presenta características definidas y anteriormente descritas.

Figura 10. Desarrollo de los embriones en medio embriogénico ME2 a los 105 días (a), embrión somático en la superficie del callo, redondeados e independiente, embriones somáticos cubriendo toda la superficie del callo (b); la misma vista a mayor aumento (c); embrión somático independiente del callo (d)

Es importante señalar que los cambios de coloración expresados por los callos, van de blanco claro, blanco cremoso, carmelita claro, carmelita oscuro y marrón, correspondiendo el mayor crecimiento del callo con el color carmelita claro, aspectos que se ven favorecidos por la influencia de la oscuridad en la que se encuentran estos durante todo el período del cultivo (Dodds, 1997). El efecto de la oscuridad sobre el crecimiento y desarrollo del callo en papa, ha sido estudiado por numerosos

autores. Jiménez (1996), al describir los resultados en la embriogénesis somática en papa, enfatizó la necesidad de incubar los explantes en la oscuridad para lograr una adecuada formación del callo; por otro lado, Rivas *et al*. (1993) indicaron que la iniciación y el crecimiento del callo resultan notablemente favorecidos por la ausencia de luz, mientras que la transferencia de estos a la luz promovió el desarrollo de cloroplastos y, por consiguiente, callos de color verde, lo cual según estos estudios, no son favorables para la formación de embriones somáticos de papa.

ESTUDIOS BIOQUÍMICOS DEL PROCESO DE EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA

Con el fin de caracterizar algunos cambios bioquímicos que se producen en el callo, relacionados con el proceso de embriogénesis somática, de forma que pudieran servir como indicadores de selección temprana de estos, se realizó el estudio de algunos sistemas isoenzimáticos en diferentes momentos de su crecimiento, según la siguiente metodología propuesta por García *et al*. (1995) y Arias (1997):

Se tomaron muestras de tres callos por cada medio embriogénico (ME_1), (ME_2) (Anexos 6 y 7), a partir del momento de ser sembrados en un medio sólido embriogénico, muestreados semanalmente, según el calendario ya descrito para la callogénesis; estos fueron procesados de la siguiente manera:

a- Se tomó 0.5 g de tejido fresco proveniente sobre todo de la superficie del callo y tomando en cuenta las zonas más diferenciadas, con apariencia de friabilidad, de un color blanquecino, este se homogenizó en un mortero añadiendo 1 mL de buffer (Tris –HCL 0.05 M a pH 7.2; sacarosa al 10 % y 14 mM de BME en frío).
   - el extracto fue sometido a centrifugación a 13 000 rpm durante 15 min a 0ºC
   - el sobrenadante obtenido fue incluido en geles de Poliacrilamida al 10 % con un buffer (Tris-HCL 0.375 M a pH 8.9) y buffer (Tris-glicina 0.025 M a pH 8.3), en los compartimentos

b- para la separación de proteínas se utilizó un sistema *SDS-page* discontinuo (Laemli, 1970) citado por Iglesias (1986), con concentraciones del 12 % para gel separador y 4 % para gel concentrador. Se utilizó un patrón de bajo peso molecular para la ubicación de las posibles nuevas bandas.

- en todos los casos se utilizó una intensidad de corriente constante de 25 mA para las isoenzimas y 35 mA para las proteínas totales, en una cámara de electroforesis vertical (SE-260 minivertical)

c- después de realizada la separación electroforética, se procedió a hacer las tinciones específicas para los sistemas isoenzimáticos: Peroxidasas, Polifenolxidasas, así como para las proteínas totales, según los métodos a continuación descritos (Tabla 3).

Tabla 3. Métodos de tinción empleados para los sistemas isoenzimáticos

Óxido reductasas	(Polifenol oxidasas) (PPO)	Iglesias, 1986
	(Peroxidasa) (PrX)	Iglesias, 1986
	Proteínas totales (PT)	(Laemli, 1970, citado por Iglesias, 1986)

d- Los fenotipos proteicos e isoenzimáticos de cada individuo en estudio, fueron establecidos sobre la base del número, la posición e intensidad relativa de las bandas.

Según la metodología propuesta por Shanon (1991) y Triest (1992) sobre variación isoenzimática y proteica, se definió la posición, intensidad y el número relativo de cada banda y las regiones, sobre la base de la distancia media de migración obtenida, dividida entre la distancia de migración del azul de bromofenol. Se realizó el análisis cualitativo por presencia o ausencia de bandas por región y se determinaron los fenotipos por sistemas enzimáticos, para identificar la viabilidad de los tejidos y formar embriones somáticos.

La determinó el contenido de proteínas totales y las muestras se leyeron a 595 nm en un fotocolímetro Spekoll 11 en cubetas de vidrio de 1 cm de ancho. La curva patrón se hizo con BSA fracción V (1 $mg.mL^{-1}$) y la concentración de proteínas totales se determinó mediante la siguiente expresión:

$$\text{Proteínas} = \frac{\text{DO x Cot x FD}}{(\text{V. ensayo}) \text{ x } (\text{P. muestra})}$$

donde:

[Prot]: contenido de proteínas en $mg.g^{-1}$ de callo (bmf)

DO: densidad óptica leída

FD: factor de difusión

V. ensayo: volumen de ensayo en mL

P. muestra: peso de la muestra en gramos

Con estos valores de proteínas totales (promedio de tres determinaciones) se realizó una curva, donde se ploteó la concentración de proteínas en $mg.g^{-1}$ de tejido (bmf), contra los días después de la siembra.

El resultado del estudio de proteínas totales en las diferentes muestras de callos, se puede observar en la Figura 11; el comportamiento expresado en los dos medios fue similar. Desde el momento del cultivo de los callos en el medio embriogénico y hasta los primeros 15 días, se apreció una disminución del contenido de proteínas, debido a que los callos se encuentran en una fase de adaptación a este nuevo medio embriogénico, el cual contiene diferentes componentes nutritivos y, por lo tanto, es posible que estos callos consuman proteínas citoplasmáticas para completar su metabolismo, , fundamentalmente, lo cual condujo a una pequeña disminución de 0.05 $mg.g^{-1}$ de tejido (bmf) en los dos medios. Los callos inicialmente tuvieron un promedio de proteínas totales en el momento de cambio al medio embriogénico de 0.50 $mg.g^{-1}$ de tejido (bmf) en el caso del medio 1 (ME_1) y 0.65 $mg.g^{-1}$ de tejido (bmf) en el medio 2 (ME_2). Durante esta fase, el aumento en el contenido de proteína no es tan notable y se comporta de esta forma hasta finales de los 30 días, momento en el cual los callos alcanzan un contenido de proteínas de 1 $mg.g^{-1}$ de tejido (bmf) en el caso del medio 1 (ME_1) y de 1.20 $mg.g^{-1}$ de tejido (bmf) en el caso del medio 2 (ME_2), correspondiéndose este comportamiento con la dinámica de crecimiento de los callos, demostrado así por Vienne (1998), trabajando en papa (*Solanum tuberosum*, L*).*

A partir de los 30 y hasta los 43 días, los contenidos de proteína aumentaron considerablemente; esta característica expresada es lógica, ya que el callo se encuentra en una fase de crecimiento exponencial, en donde se realiza una adecuada multiplicación y división celular, para la cual es necesaria la síntesis constante de proteínas y de esta forma asegurar al mantenimiento y ensamblaje de las estructuras celulares. Estudios similares sobre todo este aspecto los realizaron Radovic *et al*. (1994), trabajando en varias especies de tubérculos. El contenido de proteínas a los 43 días alcanzó valores de 2.15 $mg.g^{-1}$ de tejido (bmf) en el caso del medio 1 (ME_1) y de 2.89 $mg.g^{-1}$ de tejido (bmf) en el medio 2 (ME_2); la influencia de los componentes del medio de cultivo tuvo también un marcado efecto sobre la síntesis de proteína, ya que esta se incrementa durante la acumulación del amonio y los nitratos, los cuales se encuentran en el medio de cultivo (MS) en cantidades superiores a 1 600 $mg.L^{-1}$.

Filijeski *et al*. (1994) encontraron que el contenido de proteínas en células de papa (*Solanum tuberosum*, L), cultivadas en medios con niveles de NO_3^- de 20 a 28 mML^{-1}, a los 20 días, variaban de 0.9-1.5 mg de proteína.g^{-1} de tejido (bmf); a partir de los 20 y hasta los 35 días, estos niveles de proteína llegaron a valores de 2.0–2.5 mg de proteína.g^{-1} de tejido (bmf). Estos mismos autores llegaron a la conclusión de que el NH_4^+ tiene una elevada influencia sobre el contenido de proteínas celulares en comparación con el NO_3^-.

Después de los 43 y hasta los 70 días de ser cultivados estos callos, en este medio embriogénico, el contenido de proteínas totales disminuyó grandemente, llegando a valores de 0.42 mg.g^{-1} de tejido (bmf) en el medio 1 (ME_1) y de 0.48 mg.g^{-1} de tejido (bmf) en el medio 2 (ME_2). Esta disminución del contenido de proteínas pudo deberse fundamentalmente a los cambios estructurales experimentados por el callo y sobre todo el alto contenido de agua en su interior; tales afirmaciones fueron corroboradas por Leumg en 1992 en papa (*Solanum tuberosum*, L).

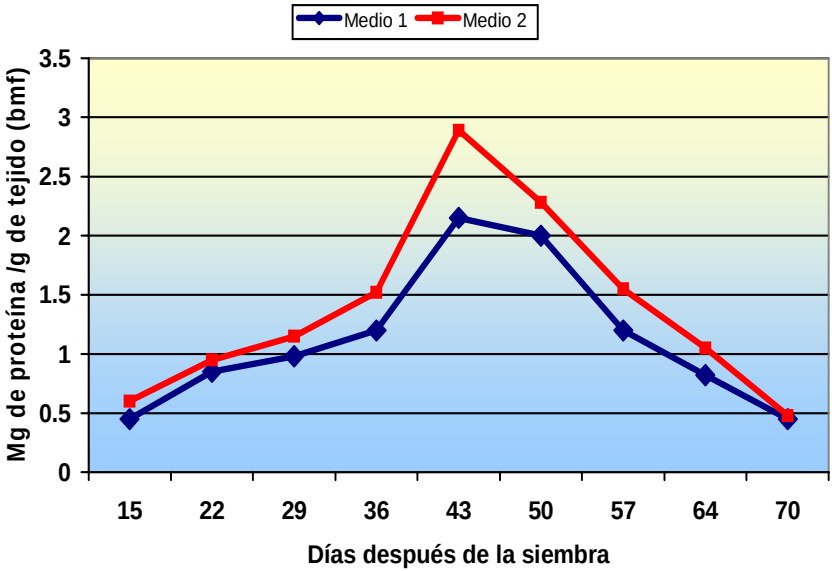


Figura 11. Concentración de proteínas totales presentes en las muestras de callos embriogénicos

Los resultados de los análisis electroforéticos de las proteínas presentes en las muestras de callos, se observan en la Figura 12 para el medio 1 (ME_1). Todas las muestras correspondieron a callos de tipo embriogénico en diferentes tiempos de muestreo, los cuales empezaron

a partir del cambio al medio de inducción, hasta los 70 días, que fue el momento de aparición de los embriones somáticos en la superficie de los callos. Se observó la presencia de cinco bandas distintas en los callos, que corresponden a polipéptidos que poseen valores de 20 a 44 kDa de 57 y 64 días, en los cuales estas son más intensas y que, además, están en correspondencia con los anteriores valores de proteínas totales; en los callos de 70 días, la intensidad de las bandas disminuye, aunque debemos tomar en cuenta que este callo posee mayor número de bandas.

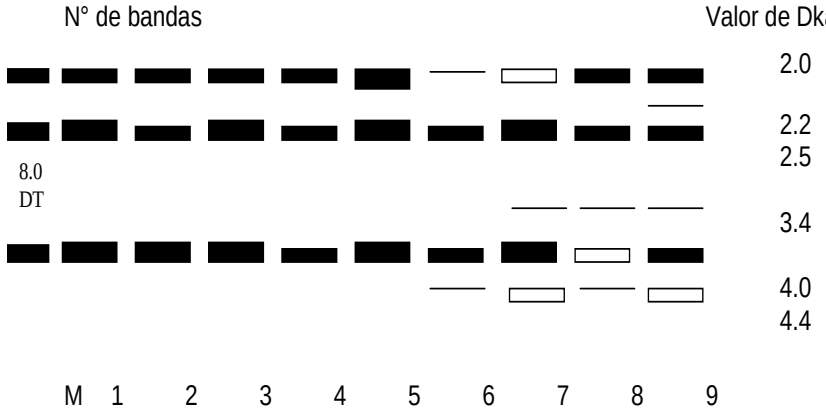


Figura 12. Zimograma de proteínas del medio 1 (Me1) en diferentes tiempos de muestreo. Marcador de bajo peso molecular (M); (1) 15 días; (2) 22 días; (3) 29 días; (4) 36 días; (5) 43 días; (6) 50 días; (7) 57 días; (8) 64 días; (9) 70 días

Aquí se detectaron seis polipéptidos de 20 a 44 kda de peso molecular, pero con diferente intensidad. En este momento se puede apreciar la aparición de una banda de 22 kda y que no está presente en las demás muestras. Maheswaran *et al*. (1992) obtuvieron resultados similares trabajando en papa (*Solanum tuberosum,* Lin). Los polipéptidos de estas tres últimas muestras corresponden a una proteína que está relacionada con los primeros estadios embrionarios (pre-globular), pues es conocido el efecto del 2,4-D en la maduración de las células embriogénicas, hasta la formación de embriones globulares. En ensayos realizados por Yousif (1996), trabajando en papa, se señala la presencia de siete polipéptidos distintos que poseen un rango de 22 a 35 kda, en las muestras de los callos embriogénicos en los últimos momentos de muestreo,

de los cuales cinco están probablemente relacionados con la acumulación de polipéptidos en los embriones cigóticos y en las semillas. Así mismo, se encuentran cuatro polipéptidos presentes en las muestras de los callos no embriogénicos.

A los 50 días, se localizan cuatro polipéptidos con bandas de diferentes intensidades; en esta muestra, que posee un peso molecular que va desde los 20 hasta los 44 kDa, no aparecen las bandas de 22 kDa ni las de 34 kDa.

A los 43 días, se pudo observar la presencia de tres polipéptidos de gran intensidad, que corresponden a los 20, 25 y 40 kDa. Desde los 15 hasta los 36 días, conocimos la presencia de tres bandas invariablemente en todas las muestras de la misma intensidad y peso molecular, correspondiéndose esto además con el patrón electroforético de bajo peso molecular utilizado para esta corrida, denotando así mismo la ausencia de polimorfismo, características estas de callos no embriogénicos; estudios sobre este respecto fueron informados por Vienne en 1998, utilizando a la papa como modelo experimental.

En la Figura 13 se presenta el zimograma correspondiente a las muestras de los callos en el medio 2 (Me2); aquí podemos observar que a partir de los 57 días el número de bandas fue mayor que en el medio anterior. A los 57 y 64 días, se presentan siete polipéptidos de poca intensidad en su mayoría y que van desde los 4 hasta los 70 días, y aumenta el número de polipéptidos a 9, que corresponden a 12 kDa; y 26 kDa, estos tres últimos muestreos correspondieron a los callos embriogénicos. Resultados similares obtuvo Baudin en 1992.

Desde el momento del cambio de medio y hasta los 60 días, no se observaron cambios en las muestras de callos no-embriogénicos; aquí se observaron seis polipéptidos, tres menos que a los 70 días, que son de 12 y 26 kDa y a 47 kDa, y uno menos que a los 57 y 64 (47 kDa) (Filijecki *et al*., 1994). Esto correspondió con el patrón utilizado para la corrida, y que puede estar relacionado con la presencia de genes altamente conservados aún en genotipos diferentes. De igual manera, Sánchez (1996) obtuvo polipéptidos del mismo peso molecular en callos embriogénicos de papa (*Solanum tuberosum*, L.), pudiendo esto constituir marcadores para determinar el potencial embriogénico de los callos en diferentes medios de cultivo.

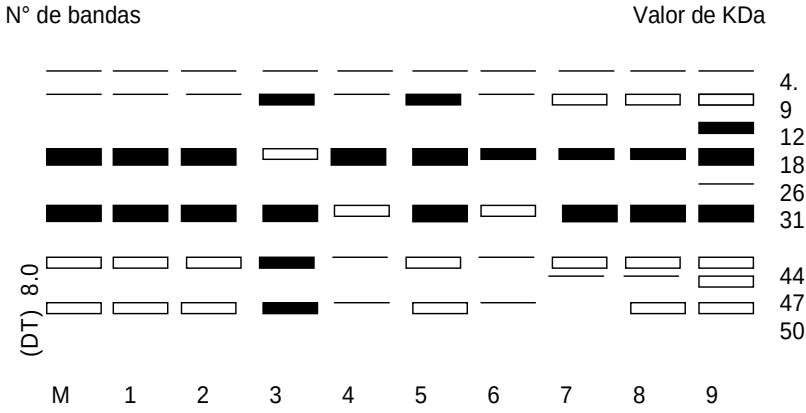


Figura 13. Zimograma de proteínas del medio 2 (Me2) en diferentes tiempos de muestreo. Marcador de bajo peso molecular (M); (1) 15 días; (2) 22 días; (3) 29 días; (4) 36 días; (5) 43 días; (6) 50 días; (7) 57 días; (8) 64 días; (9) 70 días

Como puede observarse en las Figuras 14 y 15, el sistema peroxidasas en los callos resultó marcadamente polimórfico, apreciándose en el zimograma tres zonas bien definidas de actividad con un patrón de bandas distintivo en cada una de ellas.

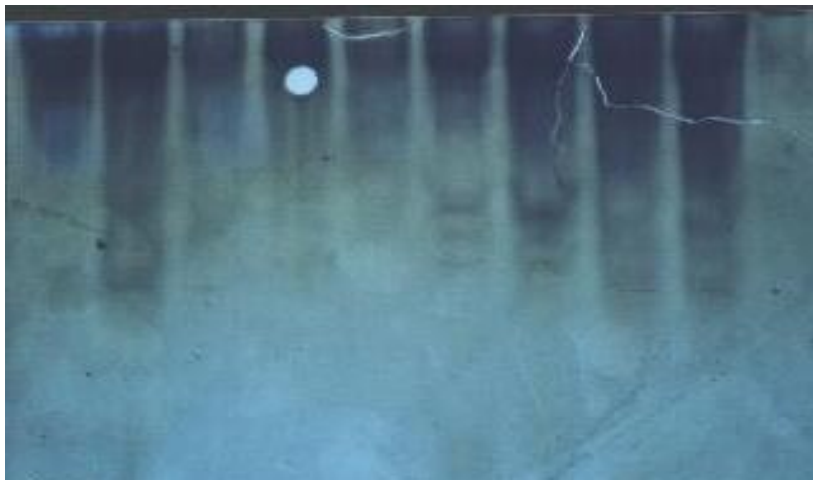


Figura 14. Gel de poliacrilamida caracterizando el sistema isoenzimático de peroxidasas

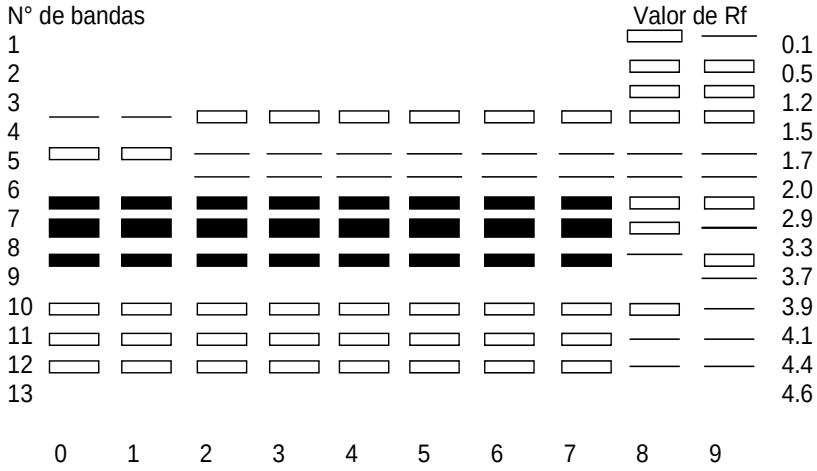


Figura 15. Zimograma de isoenzimas peroxidasas (Px) donde se observa un alto polimorfismo sobre todo en las dos últimas muestras (DT: 8.0)

A partir de los 22 días de colocado el callo en el medio embriogénico, se evidenció una nueva banda con un Rf en la zona Py, que se mantuvo hasta los 70 días; sin embargo, la mayor variación en el patrón de bandas se produjo a partir de los 64 días, momento en el cual se produjo una disminución en la intensidad de tinción de las bandas en la zona Px_2, conjuntamente con la aparición de tres nuevas bandas en la zona Px_1, las cuales están representadas por las bandas 1, 2 y 3; de igual forma, a los 70 días apareció una nueva banda (10), que no estuvo presente en los muestreos anteriores. En este momento, se manifestó la presencia de 13 bandas en el zimograma obtenido. Resultados similares fueron presentados por García (1998), quien informó variación en los patrones de bandas relacionados con cambios morfológicos en callos embriogénicos de Kawahara y Komamine (1997).

En relación con la determinación de isoenzimas polifenoloxidasas (Figuras 16 y 17), se observó que este sistema resultó menos polimórfico que el anterior, apareciendo un total de cuatro bandas situadas en una zona media en el zimograma; en este sistema, los cambios comenzaron a manifestarse a partir de los 64 días de transferido el callo al medio embriogénico, apareciendo en este momento una banda 4 que se mantiene hasta el final del experimento, así como a los 70 días (último muestreo), se manifestó un aumento en la intensidad de tinción de la

banda 3, siendo este momento en el que se observó una mayor actividad de estas enzimas. Resultados similares fueron informados por Pasteur *et al*. (1987) y Ramírez *et al*. (1991).

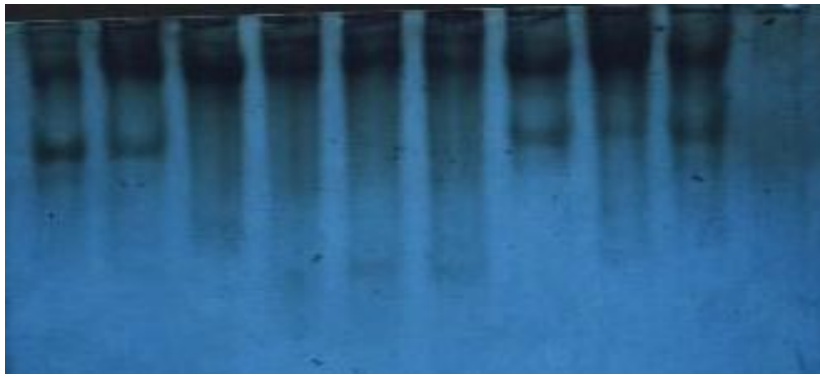


Figura 16. Gel de poliacrilamida caracterizando el sistema isoenzimático de polifenoloxidasas

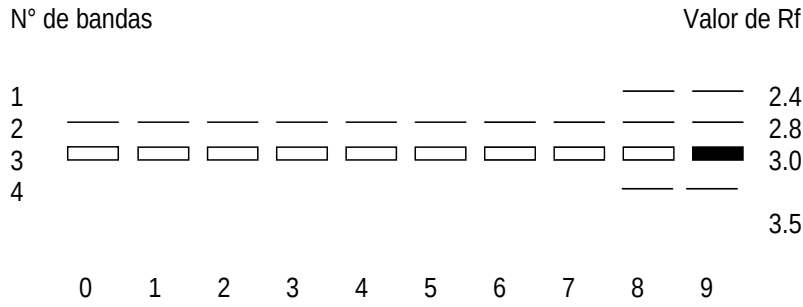


Figura 17. Zimograma de izoenzimas polifenoloxidasas (POX)

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE ALGUNOS COMPUESTOS BIOACTIVOS SOBRE LOS PROCESOS DE CALLOGÉNESIS Y EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA

Los brasinoesteroides representan una nueva clase de productos naturales, reconocidos en la actualidad como hormonas vegetales, capaces de influir en diferentes procesos fisiológicos de las plantas a muy bajas concentraciones. Con el objetivo de probar si algunos análogos sintetizados en Cuba, podían sustituir o complementar las hormonas tradicionalmente empleadas en los procesos *in vitro* en la papa, se realizaron algunos experimentos, que describimos a continuación.

Formación de callos embriogénicos

Se emplearon como material vegetal los entrenudos de vitroplántulas de papa (var. Desirée) con una edad de 35-40 días, colocados en tubos de cultivo que contenían 10 mL de medio, con un total de 40 observaciones por tratamiento, llevados a un cuarto de crecimiento en la oscuridad a una temperatura de 25±1ºC.

Se utilizaron diferentes concentraciones del análogo de brasinoesteroide MH5, como posible sustituto de la auxina o la citoquinina en el proceso de callogénesis en papa. Se empleó como control el medio que contenía la composición hormonal siguiente:

Control: 2,4D ——— 3 mg.L^{-1}
Kinetina— 0.84 mg.L-1

Combinaciones empleadas:

2,4D —— 3	MH5	Kinetina ——— 0.84	
(M2) ———————	0.25	(M21) ————	0.25
(M3) ———————	0.1	(M31) ————	0.1
(M4) ———————	0.01	(M41) ————	0.01
(M5) ———————	0.001	(M51) ————	0.001
(M6) ———————	1.5 2,4D + 0.01	(M61) ————	0.42 kinetina + 0.01

(Las concentraciones están dadas en mg.L^{-1})

Se realizaron evaluaciones visuales de la evolución del callo atendiendo a su coloración, el crecimiento y la consistencia, hasta los 36 días, momento en que se tomó su masa fresca. Los datos fueron procesados estadísticamente, construyéndose el gráfico correspondiente, así como realizándose un ANOVA con las medias por tratamiento, docimándose estos en caso de diferir, según Duncan, con un 0.01 % de probabilidad.

La escala utilizada para la valoración cualitativa del callo fue la siguiente:

Coloración	Simbología
Verde	A
Verde claro	B
Crema claro	C
Crema	D
Más acentuado	*
Translúcido	1
Zonas claras y blanco brillante	2
Apariencia	
Compacta	Co
Friable	F
Muy friable	MF

En general, se pudo apreciar el efecto favorable del MH5 como sustituto de la kinetina en la apariencia y coloración de los callos para las dosis utilizadas (Tabla 3).

Tabla 3. Aspecto general de los callos en los diferentes momentos de la evaluación

Días	M1©	M2	M3	M4	M5	M6
6	Co-A2	F-B1	F-B1	F-B1	F-B1	F-B1
9	Co-B2	F-BC1	F-BC1	F-BC1	F-BC1	F-BC1
18	Co-C2	F-C1	MF-D	F-C1	F-C1	F-C1
36	Co-C2*	F-C1	MF-D*	F-C1	F-C1	F-C1

Durante el período de inducción y cicatrización del callo a los seis y nueve días respectivamente, no existieron diferencias de color y apariencia entre las variantes utilizadas (M2, M3, M4, M5 y M6), pero sí con el control. A partir de los 18 días, se observó un cambio en el color de la masa callogénica en las diferentes variantes y el control, destacándose el tratamiento M3.

Se encontró a los 36 días, que la mejor concentración fue la de 0.1 mg.L^{-1} de MH5 (M3), con callos muy friables de color crema, mostrando diferencias con el control, el cual presentaba una masa callogénica de color crema claro con zonas blanco brillante que la cubrían.

En la Figura 18, se refleja la masa alcanzada por los callos a los 36 días y se pudo apreciar que la concentración de 0.001 mg.L^{-1} de MH5 (M5) tuvo el mayor valor, difiriendo significativamente del resto de los tratamientos.

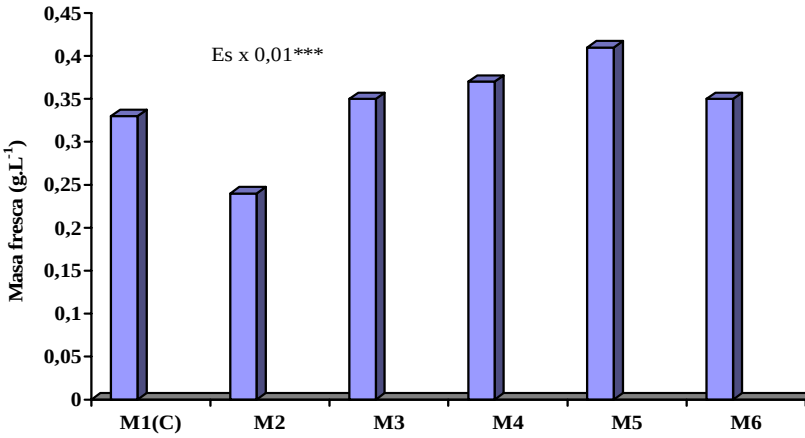


Figura 18. Comportamiento de la masa fresca de los callos con la utilización del MH5 como sustituto de la Kinetina

Aunque la variante M3 presentó mejor calidad del callo, no alcanzó el mayor peso, mostrando un comportamiento intermedio, sin diferir significativamente de M4, M6, y M1. El medio M2 tuvo el menor peso del callo, difiriendo significativamente de las demás dosis.

En el tratamiento M6, donde se utilizó la mitad del 2,4D (1,5 $mg.L^{-1}$) + 0.01 $mg.L^{-1}$ de MH5, se notó la presencia de un 52 % de los callos diferenciados en raíces; parece ser que la reducción de la auxina y la concentración de MH5 empleada conllevó a un balance hormonal que favoreció la aparición de estas.

Al ser utilizado el análogo como sustituto de la auxina, se pudo observar que el explante no manisfestó respuesta al proceso callogénico. Solamente el tratamiento M31, con la dosis de 0.1 $mg.L^{-1}$ de MH5, presentó una ligera inducción del callo a los nueve días, la cual se mantuvo hasta los 36 días. En el resto de las variantes, se observó en los bordes del explante una coloración carmelita, como muestra de la fenolización del tejido, el cual no produjo callo.

Los resultados del presente trabajo corroboran el papel de los brasinoesteroides en el cultivo de células vegetales, demostrado por varios autores, entre ellos Sakurai, Fujioka y Saimoto (1991) e Ikekawa (1991), quienes enfatizaron en la mayor efectividad del brasinoesteroide combinado con la auxina en el crecimiento de callos, resultado que coincide con el encontrado en el presente experimento.

En condiciones de cultivo similares al experimento anterior, se realizó un bioensayo utilizando diferentes concentraciones de los análogos de brasinoesteroides MH5 y Biobras-6 (DAA-6), como posibles sustitutos de la auxina y citoquinina en el proceso callogénico en papa, empleando como control el medio M2, descrito por Santana (1993), con las siguientes variantes:

Control (C):
2,4-D ———— 0,5 $mg.L^{-1}$
Kinetina ———— 2,0 $mg.L^{-1}$

2,4-D 0,5 $mg.L^{-1}$	2 $mg.L^{-1}$ Kinetina
(T1) MH5 _____ 0,1	(T9)MH5 _____ 0,1
(T2) DAA-6	(T10)DAA-6
(T3) MH5 _____ 0,01	(T11)MH5 _____ 0,01
(T4)DAA-6	(T12) DAA-6
(T5)MH5 _____ 0,001	(T13)MH5 _____ 0,001
(T6)DAA-6	(T14)DAA-6
(T7)MH5 _____ 0,001	(T15)MH5 _____ 0,0001
(T8)DDA-6	(T16)DDA-6

En la Tabla 4 se presenta la valoración cualitativa de los callos en diferentes momentos (días), con la utilización del MH5 y DAA-6 como sustitutos de la kinetina; se encontró que la combinación 0,5 mg.L^{-1} de 2,4-D y 0,01 mg.L^{-1} de MH5 (T5) fue la mejor, mostrando un callo embriogénico de mejor calidad en comparación con el resto de las variantes y el control, pues, a pesar de que el tratamiento T3 presentó las mismas características con un callo nodular, consistencia muy friable, de color crema con zonas crema oscuro, este lo superó en desarrollo. Desde los primeros días de la siembra, se observó un favorecimiento en el crecimiento callogénico en aquellas combinaciones donde se utilizaron los análogos como sustitutos de la kinetina, destacándose el MH5 con una mayor inducción del callo. Ya a partir de los nueve días, aparecieron diferencias en cuanto a la consistencia y coloración entre los tratamientos y el control hasta los 36 días, donde se apreció un callo completamente desarrollado.

Tabla 4. Características del callo en los diferentes momentos de evaluación

Días	Control	0,1		0,01		0,001		0,0001	
		MT1	DT2	MT3	DT4	MT5	DT6	MT7	DT8
6	1	3	3	3	3	3	3	3	3
9	1	3	4	4	3	4	4	3	4
18	2	5	6	7	5	7	8	5	8
36	2	5	6	7	5	7*	8	5	8

MT - Tratamientos con MH5 DT - Tratamientos con DAA-6 (Biobras-6)

No hubo respuesta del explante al ser utilizados los análogos como sustitutos del 2,4-D, apareciendo un tejido necrosado a lo largo del cultivo. Esto podría ser debido a que la actividad biológica de los brasinoesteroides estuviera relacionada con la elongación y no con la división celular, y su presencia no sustituye al 2,4-D como estimulador de este último proceso, debido a que estos compuestos por sí solos no pueden inducir los niveles de auxinas endógenas necesarias (Bellicampi y Marpugo, 1991), manifestando su influencia tipo citoquinina, como ha sido señalado por Moré *et al*. (1998).

Cabe señalar que la variante T6, con 0.001 de DAA-6, estimuló la aparición de raíces en un 33 %. Así mismo, la concentración de 0,0001 mg.L^{-1} de DAA-6 (T8) favoreció la formación de brotes y tuberculillos en un 20 %. Al parecer, estas dosis provocaron la ocurrencia de un balance hormonal endógeno que propició el desarrollo de estas estructuras, aspecto

desfavorable en el cultivo de células. Sin dudas, el manejo de los reguladores del crecimiento constituye un factor fundamental en los sistemas *in vitro*, por lo que el estudio de los niveles hormonales, resultan necesarios para una adecuada multiplicación celular y morfogénesis.

Estos resultados coinciden con los planteados por Kripach *et al*. (1991) y García (1998), respecto a que los brasinoesteroides actúan a muy bajas concentraciones en los procesos metabólicos.

Para la evaluación cualitativa de los callos, se elaboró una escala con los siguientes valores:

Callo tipo	Características
1	Consistencia compacta de color verde con zonas blancas brillantes
2	Consistencia semi-compacta de color crema con zonas blancas brillantes
3	Consistencia friable de color verde claro con zonas cremas translúcidas
4	Consistencia muy friable de color verde claro con zonas cremas
5	Callo homogéneo, consistencia muy friable, apariencia gelatinosa de color crema claro translúcido
6	Callo homogéneo de consistencia muy friable, de color crema
7	Callo nodular, consistencia muy friable de color crema con zonas crema-oscuro
8	Callo nodular, consistencia muy friable de color crema claro translúcido.

A continuación se refleja el resultado de las evaluaciones realizadas en cada momento, según la escala propuesta.

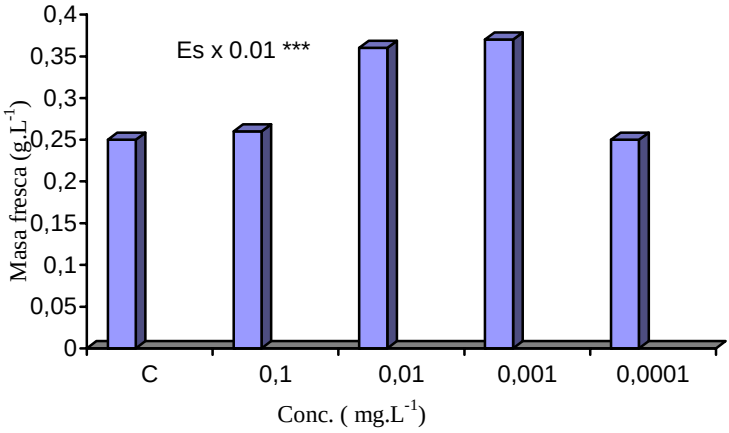


Figura 19. Comportamiento de la masa fresca (g.L^{-1}) de los callos al ser utilizado el DAA-6 como sustituto de la kinetina

En la Figura 19 se aprecia que existieron diferencias entre los tratamientos, destacándose el T8 (0,001mg.L^{-1}) con el mayor valor, sin diferencias significativas con T4 (0,01 mg.L^{-1}). El tratamiento T16 (0,0001 mg.L^{-1}) y el control alcanzaron los valores más bajos.

Gaudinova *et al*. (1995) señalaron que estos compuestos provocan cambios en el metabolismo de las citoquininas y una disminución en la masa fresca del callo puede ser provocada por la acumulación de citoquininas endógenas.

De forma general, el MH5 permitió obtener los mayores valores de masa fresca con 0,42; 0,41 y 0,39 g en comparación con el DAA-6 y el control, lo que pudiera ser explicado tomando en cuenta, que a pesar de que el MH5 y DAA-6 tienen estructuras químicas similares, el MH5 pudo ser capaz de promover un mayor estímulo de los niveles endógenos de citoquinina a partir de su influencia sobre las auxinas.

La actividad biológica de los brasinoesteroides como promotores del crecimiento ha sido probada en numerosos ensayos propuestos para auxinas, citoquininas y giberelinas, señalando que en varios sistemas interactúan directamente de forma sinérgica con las auxinas (Núñez, 1996).

Para estudiar la posible influencia del MH5 y DAA-6 en el proceso de formación de brotes, los callos provenientes del experimento 2, se transfirieron a un medio de regeneración de plantas que contenía 0.1 mg.L^{-1} de AIA; 3 mg.L^{-1} de kinetina y 1 mg.L^{-1} de ácido giberélico. Se realizaron evaluaciones diarias del comportamiento del callo, calculando el tiempo en días de la aparición de los primeros brotes por tratamiento.

La regeneración de brotes se vio favorecida en los callos desarrollados con 0,001 mg.L^{-1} de MH5, observándose a los 30 días la aparición de puntos vegetativos de color verde intenso indicativo de una organogénesis, que 10 días más tarde se convirtieron en pequeños brotes. El control los presentó 40 días después, junto con el resto de las variantes.

Se emplearon dos análogos de brasinoesteroides (BB-16 y BB-6) en la propagación de plántulas de papa; la dosis empleada fue de 1 mg.L^{-1} de medio y se basó en el resultado de ensayos anteriores, empleando varias dosis de los compuestos referidos. Se tomaron nudos de plantas crecidas *in vitro* de 30 días de edad de la var. Desirée, los cuales fueron colocados en tubos de cultivos conteniendo el medio de propagación empleado en papa (MS), suplementado con 1 mg.L^{-1} de los compuestos a evaluar. El total de tubos sembrados fue de 40 por cada tratamiento y

un control. La siembra de los microesquejes se realizó bajo cámara de flujo laminar y los tubos una vez sembrados fueron colocados en el cuarto de crecimiento a una temperatura de 25 ± 1ºC y un fotoperíodo de 16 h de iluminación.

Semanalmente se realizaron las evaluaciones siguientes:

- largo de la plántula (cm)
- número de entrenudos
- número de raíces

Para evaluar el vigor y la coloración de las plántulas, se emplearon las siguientes escalas:

Vigor	Color
0- Débiles	0- Pálidas
1- Medias	1- Verde claro
2- Vigorosas	2- Verde intenso

Los datos fueron procesados estadísticamente, realizándose un ANOVA en el caso de las variables cuantitativas y docimándose las medias según Duncan, en caso de significación al 0.01 %. Las variables cualitativas fueron sometidas a un análisis de frecuencia y se construyeron los histogramas respectivos según el resultado de ellos.

En la Tabla 5 aparece reflejado el resultado del crecimiento de las plántulas bajo los diferentes tratamientos empleados; en ella se observa que hubo diferencia significativa entre las medias desde la primera semana de haberse establecido el experimento, resultando el compuesto BB-6 superior al BB-16 desde el inicio, no difiriendo este último del medio control sin hormonas. Este resultado indicó una acción positiva sobre el crecimiento de las plantas del compuesto BB-6, ya que este se aceleró significativamente desde el inicio del experimento, lo cual demuestra además la acción rápida de estos cuando se emplean *in vitro*, corroborando lo planteado por Yokota en 1997, de que los brasinoesteroides son un grupo de reguladores que elicitan una respuesta destacada en el crecimiento de las plantas.

Tabla 5. Altura de las plantas (cm)

Tratamiento	1ra. semana	2da. semana	3ra. semana.
Control	3.70 b	7.35 b	9.95 b
BB-16	3.27 b	8.50 b	10.85 b
BB-6	4.75 a	9.99 a	12.50 a
Es x	0.26 **	0.47 **	0.52 **

Medias con letras iguales no difieren significativamente, según Duncan al 0.01 %

En la Tabla 6 se muestran los valores del número de entrenudos de las plántulas bajo los distintos tratamientos; en ella se aprecia que a la semana de haberse iniciado el experimento, no existieron diferencias significativas entre ellos, aunque el valor correspondiente al BB-6 fue ligeramente superior; sin embargo, a partir de la segunda semana, la diferencia a favor de este compuesto se hizo altamente significativo, mostrando un valor superior en un entrenudo al tratamiento con BB-16 en la tercera semana. Este último compuesto difirió significativamente del medio control. Estos resultados concuerdan con lo planteado por Takahashi *et al*. (1995), de que el desarrollo normal de la planta depende de las concentraciones de brasinoesteroides como requerimiento esencial.

Tabla 6. Número de entrenudos

Tratamiento	1ra. semana	2da. semana	3ra. semana
Control	2.22	3.30 b	4.35 b
BB-16	2.17	3.57 b	4.70 b
BB-6	2.50	4.63 a	5.70 a
Es x	0.142 N.S	0.20 **	0.24**

Medias con letras iguales no difieren significativamente, según Duncan al 0.01 %

Si tenemos en cuenta que el entrenudo es el órgano empleado para la multiplicación *in vitro* de la papa y considerando que los niveles de plántulas que se llevan al campo para la obtención de semilla básica son de cientos de miles, llegamos a la conclusión de que este incremento en un entrenudo por planta como media es de gran importancia para los fines prácticos que se persiguen.

El número de raíces es una variable de gran interés, por cuanto tiene que ver con la futura adaptabilidad de las plántulas a las condiciones *ex vitro*. La Tabla 7 refleja el resultado de la acción de los análogos de brasinoesteroides empleados sobre la emisión de raíces; como se observa, desde el inicio del experimento (primera semana), hubo una influencia marcada y significativamente superior del BB-6 sobre esta variable, la cual se mantuvo hasta el final del experimento; por su parte, el BB-16 no presentó diferencias significativas con el control.

La Figura 20 muestra cómo se distribuyeron los individuos en las diferentes clases de la escala de vigor. Como se observa, en el control hubo un 5 % de plantas débiles, un 15 % de plantas de vigor medio y un 80 % de plantas vigorosas, mientras que en el tratamiento con BB-16 no hubo plantas débiles y el 95 % fueron vigorosas, quedando solamente un 5 % de vigor medio. El tratamiento con BB-6 resultó superior, presentando el 100 % de las plántulas un aspecto vigoroso.

Tabla 7. Número de raíces

Tratamiento	1ra. semana	2da. semana	3ra. semana
Control	4.02 b	5.80 b	9.45 b
BB-16	3.20 b	6.63 b	11.20 b
BB-6	7.55 a	13.13 a	14.80 a
E.S x^{-}	0.60 **	0.94**	0.97**

Medias con letras iguales no difieren significativamente, según Duncan al 0.01 %

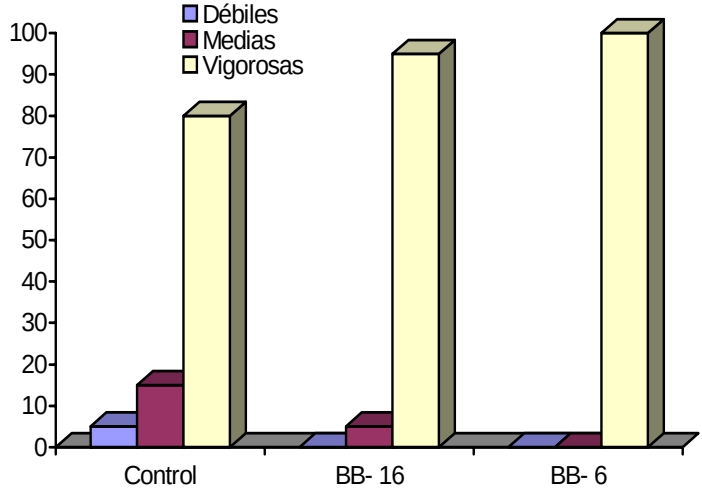


Figura 20. Distribución de los individuos según el vigor

El vigor de las plantas es una variable de interés, al igual que el desarrollo y la calidad del sistema radical para la adaptación de las plántulas a las condiciones *ex vitro,* ya que las plantas débiles generalmente no sobreviven al trasplante; por tanto, el aumento del 20 % de plantas vigorosas en el tratamiento con BB-6 en relación con el control, es un elemento a tener en cuenta, para elevar la eficiencia del proceso de propagación en la papa.

En cuanto al color de las plántulas, la Figura 21 refleja que no se produjeron plántulas con deficiencias clorofílicas en ningún tratamiento, mientras que la intensidad del color fue mayor en el control, con un 85 % de plantas verde intensas y solo un 15 % verde claras, mientras que en los tratamientos con BB-16 y BB-6 hubo un 45 % de plantas verde claras y un 55 % verde intensas.

Este resultado pudiera estar determinado por la mayor dilución de los pigmentos, al ser las plantas más altas en los tratamientos con los análogos de brasinoesteroides.

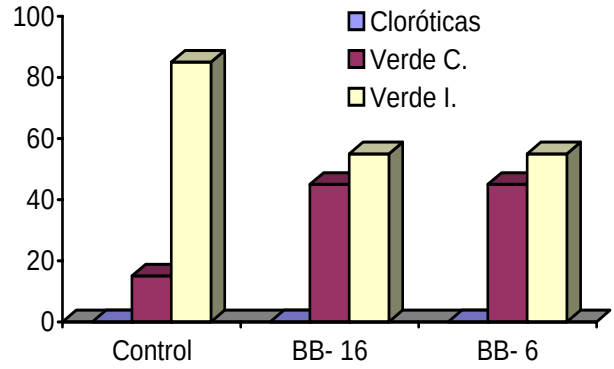


Figura 21. Color de las plantas en los diferentes tratamientos

En la Figura 22, se observan los valores de las medias de los tratamientos al inicio y al final del experimento con los callos. Como puede apreciarse para la variedad Atlantic, el incremento en masa de los callos en los medios contentivos de los brasinoesteroides fue superior al control con kinetina, siendo superior en el medio con BB-6 (1.75 g), mientras que en el medio con BB-16 fue de 1.68 y en el medio control fue de 1.39.

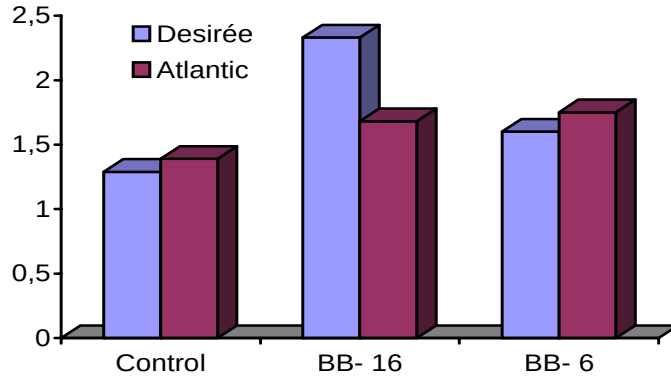


Figura 22. Incremento de la masa del callo en los diferentes tratamientos

En cuanto a la variedad Desirée, el incremento de la masa de los callos fue muy superior en el medio con BB-16 (2.33 g), mientras que en el medio con BB-6 el callo creció más lentamente, siendo el incremento de 1.60 y 1.29 g respectivamente. García (1998) informó una potente actividad biológica para la formación de callos en *C. canephora*

del análogo de brasinoesteroide MH5, el cual produjo un aumento de la masa fresca en condiciones extremas de desbalance hormonal.

La apariencia de los callos fue variando a partir de los 10 días de sub-cultivados en los medios 3 y 4, los cuales se hicieron más friables, observándose que las zonas de nuevo crecimiento presentaban una apariencia translúcida más acentuada en la variedad Atlantic, mientras que en la Desirée los callos permanecieron más compactos, pero con la aparición de zonas de coloración verde indicativas de alguna actividad organogénica. Los callos que permanecieron en el medio con kinetina se mantuvieron compactos y al final del experimento presentaban una coloración pardo oscura. No se produjo regeneración en ninguno de los tratamientos.

Los resultados de este experimento demuestran la influencia del genotipo en la respuesta a las sustancias reguladoras del crecimiento, aspecto a tener en cuenta a la hora de recomendar el empleo de una u otra, ya que muchos de los procesos que hoy en día se modifican con el uso de reguladores del crecimiento, aún no están explicados completamente a nivel celular y están en función del balance hormonal endógeno.

ESTABLECIMIENTO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA SELECCIÓN *In Vitro* DE CLONES TOLERANTES A *Phytophthora infestans*

Los metabolitos tóxicos producidos por agentes patógenos son usados frecuentemente como agente selectivo *in vitro*. Experimentos de este tipo, con cultivos filtrados de *Xanthomonas campestris* pv. pruni, *Alternaria solani*, *Verticillium* spp. y *Pseudomona syringae* pv. phaseolicola han mostrado que la respuesta de células cultivadas en los filtrados se correlaciona con la reacción a la enfermedad del hospedero (Daub,1986). Teniendo en cuenta lo anteriormente planteado, se realizaron experimentos tendientes a esclarecer el rol de los metabolitos presentes en filtrados crudos de *P. infestans* en la patogénesis, así como probar su empleo en la selección de formas tolerantes al patógeno, resultados que se exponen a continuación.

A partir de colonias de *P. infestans*, provenientes de cultivos monospóricos correspondientes al aislado A1 del patógeno (Urrea, 1999), se obtuvieron los filtrados crudos en el medio empleado por el mismo autor. La incubación se realizó en oscuridad a 25±2ºC durante 21 días.

Se realizaron bioensayos en hojas desprendidas provenientes de plantas de 30 días de las variedades Desirée (medianamente resistente) y

Red Pontiac (altamente susceptible), así como en foliolos separados de ambas variedades. Se empleó el método de inmersión del peciolo de las hojas en el filtrado contenido en tubos de cultivo y, en el caso de los foliolos, estos se asperjaron con el filtrado y se colocaron en una cámara húmeda, evaluándose el estado de estos a las 24 y 48 horas posteriores.

A fin de establecer una metodología de *screening* a nivel celular, se empleó el polen de tres especies silvestres del género *Solanum* y dos clones provenientes del CIP. Los granos de polen fueron colocados en el medio para la germinación, recomendado por González (1998) y la tinción se realizó a las 24 horas con la metodología propuesta por este mismo autor. Se evaluaron 200 granos por tratamiento, empleándose un medio compuesto por una parte de filtrado crudo y una parte de medio de germinación, y un control con medio de germinación solamente. Se emplearon cuatro repeticiones por tratamiento.

A las 24 horas de haberse sometido las hojas a la acción del filtrado, se apreciaron síntomas de marchitez y clorosis en ellas, siendo estos más marcados en la variedad Red Pontiac; este efecto pudo apreciarse más claramente a las 48 horas, en que las hojas de dicha variedad estaban casi completamente destruidas, mostrando síntomas muy semejantes a los ocasionados por el patógeno sobre plantas en el campo, mientras que Desirée, informada como medianamente resistente, presentó menor intensidad de daño sobre el follaje. El bioensayo realizado con los foliolos separados no mostró resultados marcados en cuanto a diferencia varietal o nivel de daños presentados, lo que pudiera estar determinado por la técnica empleada en este caso. El resultado de las pruebas con el polen aparece en la Tabla 8.

Tabla 8. Afectación producida por el filtrado sobre la germinación del polen en especies y variedades de papa

Especie o variedad	Germinación del polen (%)	
	Medio normal	Medio tóxico
S. chacoense	70.5	39
S. saltense	42.8	2.3
S. simplicifolium	17.6	0
Clón 1-88-95	15.0	3.3
Clón CIP-143	12.3	0

Como puede observarse, hubo una respuesta diferenciada de los genotipos ante la acción del filtrado y aún cuando los porcentajes de germinación en algunos casos fueron bajos, se aprecian niveles de afectación diferentes. Como era de esperar, la especie *S. chacoense* presen-

tó los menores niveles de afectación, siendo esta la única presentada como resistente al patógeno, mientras que *S. simplicifolium* (muy susceptible) y el clón CIP-143, que presentó uno de los peores comportamientos en cuanto a resistencia en el campo, sufrieron la mayor afectación en la germinación.

El resultado del trabajo realizado demostró que el filtrado de *P. infestans* puede ser empleado en pruebas de resistencia al patógeno en el género *Solanum*.

Estudios relacionados con el empleo de los metabolitos producidos por *P. infestans*, para la diferenciación de genotipos de papa con diferente grado de resistencia al patógeno, han sido desarrollados por Urrea (1998), quien los empleó en plántulas obtenidas *in vitro* y en somaclones a partir de callos cultivados en medio tóxico, encontrando una respuesta diferenciada de estos con el empleo de una concentración de filtrado de 1:1.2.

Gómez (1996) encontró igualmente, al evaluar diferentes clones de caña de azúcar frente a los filtrados de *U. scitamínea*, que estos producían en las plántulas síntomas semejantes a los causados por el patógeno.

Numerosos autores han empleado metabolitos producidos por *P. infestans*, para la evaluación de la tolerancia en especies vegetales; así, Lai *et al*. (1988) evaluaron la afectación en el crecimiento de raíces sobre semillas de tomate; Crino *et al*. (1989) los empleó sobre el crecimiento de yemas de nudos de papa y Galal *et al*. (1991) estudiaron el daño producido por estos sobre la pared celular de raíces de papa.

Martínez y Sinclair (1994), y Veitía y Dita (1995), emplearon filtrados de *A. solani* y *A. alternata* en vitroplantas de papa, logrando diferenciar niveles de tolerancia en ellos.

Los clones fueron evaluados al igual que el resto del germoplasma de papa y especialmente se evaluó la incidencia de *A. solani* y *P. infestans*.

Estas variables se evaluaron a los 65 días de la plantación y fueron:

- altura de la planta (cm)
- número de tallos
- número de entrenudos

Estas variables se evaluaron en el momento de la cosecha:

- número de tubérculos
- peso de los tubérculos por planta (g)
- color de los tubérculos

La incidencia de *Alternaria solani* se realizó a los 65 días de la plantación, según escala de nueve grados propuesta por Horsfall y Barrat (1945) y el *P. infestans* se evaluó en el momento de la aparición de los síntomas.

La clasificación de los clones atendiendo a la resistencia se realizó según el siguiente criterio:

Alternaria solani:

Valor de la escala	Clasificación
1	Inmune
2 y 3	Muy resistente
4 y 5	Resistente
6 y 7	Susceptible
8 y 9	Muy susceptible

Phytophthora infestans:

Valor en %	Clasificación
0	Inmune
0,1 a 1	Muy resistente
2 a 25	Resistente
26 a 50	Susceptible
51 a 100	Muy susceptible

Los clones se plantaron en parcelas al azar con el testigo intercalado. Los datos fueron procesados estadísticamente según ANOVA de clasificación simple desbalanceado y las medias se docimaron según prueba de rangos múltiples de Duncan en caso de significación.

Como se observa en la Tabla 9, se detectaron diferencias significativas para todos los caracteres evaluados, lo cual evidencia la variabilidad creada por la técnica empleada en la obtención de los clones; en relación con las variables del rendimiento, se destacaron los clones 12, 9, 13 y 1, los cuales resultaron superiores al resto, con diferencias altamente significativas con el testigo, presentando los clones 12 y 9 un promedio de siete tubérculos por planta, sin diferencia con los clones 13 y 1 que presentaron seis y 5,6 tubérculos por planta respectivamente.

El resto de los clones no difirieron significativamente del testigo para este carácter, aunque este presentó la menor media (1,67).

El clón 6 presentó un número de tubérculos por planta bastante elevado (5,5); sin embargo, los tubérculos fueron muy pequeños, con un peso promedio de 10 g aproximadamente.

En cuanto al peso de los tubérculos por planta, los clones mencionados mantuvieron la superioridad, presentando valores entre 500 y 330 g, siendo el 13 y 12 los mejores clones en cuanto a este carácter, con valores de 500 y 460 g respectivamente, sin diferencia significativa con los clones 9 y 1.

La variedad testigo (Desirée) presentó una media para este carácter de 20 g, quedando entre los últimos lugares, estando solamente los clones 2, 4 y 3 por debajo de ella, aunque sin diferir significativamente.

Tabla 9. Resultados de los análisis realizados a las variables evaluadas

Clon	Altura (cm)	Número de tallos	Número de entrenudos	Número de tubérculos	Peso de tubérculos (g)
11	38.0 a	3.0 a	6.0 bcd	3.0 cd	100 cde
10	37.0 a	2.0 abc	8.0 abc	3.0 cd	100 cde
8	30.0 ab	2.0 abc	8.0 abc	3.0 cd	200 bc
5	29.0 abc	2.0 abc	9.0 ab	4.0 bcd	200 bc
1	28.0 bc	2.3 abc	11.0 a	5.67 abc	330 ab
12	25.67 bcd	2.33 abc	6. 0 bcd	7.0 a	460 a
7	24.0 bcd	1.0 bc	8.0 abc	4.0 bcd	100 cde
9	20.0 bcde	3.0 a	9.0 ab	7.0 a	350 ab
16	15.5 cdef	1.0 bc	4.5 cd	3.5 bcd	150 bcde
3	15.0 def	1.0 c	9.0 ab	3.0 cd	10 de
Desirée	10.3 ef	1.3 bc	5.0 cd	1.6 d	20 cde
4	10.0 ef	1.0 c	4.0 d	4.0 bcd	10 de
13	9.0 ef	3.0 a	5.0 cd	6.0 ab	500 a
6	9.0 ef	3.0 a	5.0 cd	5.5 abc	60 cde
2	4.5 f	2.5 ab	4.0 d	2.0 d	10 de
Esx	0.98**	0.30 **	0.58 **	0.48 **	3.60**

Resultados similares a los encontrados en el presente trabajo fueron informados por González (1998), al evaluar progenies de cruces intraespecíficos de papa, estando las medias de los caracteres evaluados en correspondencia con los obtenidos por nosotros.

En cuanto a la incidencia de las enfermedades evaluadas (Tabla 10), se apreció claramente la superioridad de los clones con respecto al donante, ya que en ambas este presentó las mayores medias, difiriendo significativamente del resto en el caso de *Phytophthora*, con una media de 90 % de afectación, mientras que para *Alternaria* (tizón temprano), también presentó el mayor valor de la escala conjuntamente con otros dos clones (7 y 10).

Tabla 10. Resultados de las evaluaciones de la incidencia de las enfermedades

Clón	*Alternaria solani*		*Phytophthora infestans*	
15 (testigo)	6 a	S	90 a	M S
1	4 bc	R	75 b	M S
4	5 ab	R	75 b	M S
5	3 bc	MR	75 b	M S
9	4 bc	R	75 b	M S
11	5 ab	R	75 b	M S
13	5 ab	R	75 b	M S
2	5 ab	R	50 c	S
3	5 ab	R	50 c	S
6	5 ab	R	50 c	S
7	6 a	S	50 c	S
10	6 a	S	50 c	S
16	4 bc	R	50 c	S
8	4 bc	R	25 d	R
12	4 bc	R	25 d	R

Como se puso de manifiesto en este trabajo, la técnica empleada permitió incrementar el nivel de tolerancia a ambas enfermedades, resultando los clones obtenidos con menos afectación por ambas enfermedades que el donante empleado (Desirée).

Es de destacar el comportamiento de los clones 1, 9, 16, 8 y 12 en relación con la resistencia mostrada ante *A. solani*, y especialmente el clón 5 que resultó muy resistente ante dicha enfermedad.

Los clones 8 y 12 resultaron también resistentes a *P. infestans*, con un valor de afectación de 25 %, por lo cual deben ser tomados en consideración para futuros trabajos de mejoramiento en este sentido.

Es importante señalar que el comportamiento de estos clones ante las enfermedades estudiadas debe continuar observándose, ya que este varía con los sucesivos ciclos de reproducción y en los diferentes años, por lo que estos resultados no deben tomarse como definitorios en este sentido.

CONCLUSIONES

- El tipo de explante resultó determinante para la obtención de callos con características organogénicas en papa.
- Los entrenudos provenientes de plántulas de papa de 30 días de edad resultaron apropiados para la obtención de callos con características favorables para la regeneración.

- Si bien no se detectaron diferencias significativas para el peso fresco de los callos entre las dos variedades estudiadas, sí hubo diferencias marcadas en cuanto a la calidad de los callos obtenidos, constatándose una influencia marcada del genotipo sobre sus características.
- El crecimiento del callo mostró un patrón semejante al experimentado por las células en suspensión, con una fase inicial de crecimiento nulo o muy lento, una fase intermedia con un crecimiento muy activo y una última fase donde este se mantiene estacionario.
- El empleo de kinetina (3 $mg.L^{-1}$), en sustitución de zeatina (2 $mg.L^{-1}$), permitió la regeneración de brotes en un 40 % de los callos, siendo el número de brotes por callo muy superior al obtenido en el medio con esta última citoquinina.
- Los estudios bioquímicos demostraron la frecuencia de un alto nivel de polimorfismo, lo que se refiere a proteínas totales en los dos medios de cultivos, así como en los sistemas isoenzimáticos de peroxidasa; sin embargo, el polimorfismo fue bajo en las isoenzimas polifenoloxidasas.
- Se detectó un incremento de la actividad peroxidasas y esterasas en callos de papa a los 30 días de haber sido colocados en el medio para la inducción de embriogénesis, lo cual pudiera ser indicativo de un cambio hacia la diferenciación de embriones somáticos en ellos.
- Se obtuvieron filtrados de *P. infestans* con probada acción fitotóxica, lo que permitió establecer métodos de "screening" a nivel de polen y hojas desprendidas, dado el carácter hospedero- específico de ellos.
- Se constató un efecto favorable del análogo MH5 como sustituto de la kinetina en los medios de cultivo para la obtención de callos en papa.
- No se apreció acción estimulante de los análogos probados en los medios de cultivo para la obtención de callos de papa cuando se emplearon en sustitución de la auxina (2,4-D).
- La dosis de 0,001 $mg.L^{-1}$ de MH5 con 0,5 $mg.L^{-1}$ de 2,4-D resultó apropiada para la obtención de callos embriogénicos en papa.
- El análogo DAA-6 estimuló la diferenciación de raíces en el 33 % de los callos cuando se empleó la dosis de 0,001 $mg.L^{-1}$ y la aparición de tuberculillos en un 20 % de estos cuando se adicionaron 0,0001 $mg.L^{-1}$.
- El análogo MH5 a una dosis de 0,001 $mg.L^{-1}$ favoreció la regeneración de brotes en callos de papa cuando se empleó en un medio que contenía 3 $mg.L^{-1}$ de kinetina.

- Se observó una acción muy marcada del análogo BB-6 sobre el crecimiento, vigor y número de raíces de plántulas de papa, cuando se empleó como suplemento del medio usado para la micropropagación a una dosis de 1 $mg.L^{-1}$.
- Se detectó variabilidad para todos los caracteres evaluados entre los somaclones probados en campo y el donante; especialmente en lo referente a la resistencia a *P. infestans* y *A. solani*, un gran número de estos resultaron superiores, así como en lo que respecta al rendimiento y sus componentes.

BIBLIOGRAFÍA

Amirato, A. /*et al*./ Induction, maintenance and manipulation of development in embryogenic cell suspension cultures and somatic cell. *Genetics of Plant*, 1994, 1, p. 139.

Arias, E. Estudios de segregación en la población híbrida *Cayena* Lisa Serrana y Española Roja. Centro de Bioplantas, ISACA, Cuba. 1997, 14 p.

Avila, A.; Pereyra, S. y Argüello, J. Potato micropropagation; growth of cultivars in solid and liquid media. *Potato Research*, 1996, 39:253-258.

Bajaj, Y. Somatic embryogenesis and its applications for crop improvement. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 1995a. 31:105-125.

Baudin, L. Utilisation des marqueurs moléculaires pour l'amélioration de palmier á huile. *Marqueurs Proteiques*, Oleagineux, 1992. 47(12):681-691.

Bellicampi, D. y Morpugo, G. Stimulation of growth induced by brassinosteroids and conditioning factors in plant cell culture. En: Brassinosteroids, Chemistry, Activity and Applications. Washington. *Am. Chem. Soc*., 1991.

Crino, P.; Peñuela, R.; Martino, L.; Sonino, A.; y Angora, C. *In vitro* reaction of potato micronodes to culture filtrates of *P. infestans*. NATO ASI Series. Vol.H 27 . Phytotoxins and Plant Pathogenesis . Edited by L.A. Callow. 1989. p 441-442.

Daub, M. E. Tissue culture and the selection of resistance to pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol*, 1986, 24: 159-186.

Dodds, J.; Lorin, R. Experiments in plant tissue culture, University of Cambridge, USA 1989, 224 p.

Dodds, J. y Tejada, M. Biotechnologies available for application to potato. Potato. CIP, Perú, 1997. p.273-286

Filijecki, M; Przybecki, Z. Marker proteins of somatic embryos in cucumber (*cucumis sativa*). *Journal of Theoretical and Applied Genetics*, 1994. 35(1-2):1-9

Fontenot, J. Widely adapted high yielding white skin in potato cultivar. *American Potato Journal*, 1991, 68(1): 13-18

Freire M.; Gómez, R.; García, L.; Cordeiro, M. Formación, multiplicación y regeneramiento de plantas a partir de callos de papa (*Solanum tuberosum* L.) Var. Desirée. *Biotecnología*. Instituto de Biotecnologìa de las Plantas UCLV, Cuba, 1994. p. 74.

Galal, A. A.; Barna, S. y Ersek, T. Use of toxic substances from *P. infestans* in screening for late blight resistance of potatoes. *Acta Phytopathologica et Entomologica*, 1991, 26: 3-4, 263-270.

García E.; Martínez, S. Embriogénesis somática en *Solanum tuberosum L*. var. Desirée, de secciones nodales del tallo. Universidad Central de Venezuela, Centro de Botánica Tropical. Los Chaguaramas, 1995, p.2-8

García, D. Actividad biológica de análogos de brasinoesteroides sobre la formación de callos embriogénicos en cafeto (*Coffea canephora*, Pierre). Tesis de Maestría. Fac. de Biología. UH, 1998, 74 p.

Gaudinova, A. /*et.al*./ Different effects in two brassinosteroids on growth auxin and cytokinin content on tobacco callus tissue. *Plant Growth Regul*, 1995, 17: 121-126.

Gómez, R. Selección *in vitro* a la enfermedad Carbón (*Ustilago scitamínea*, Syd) de la caña de azúcar. Tesis de Grado. Univ. Central. IBP, 1996, 95 p.

González, M. E. Mejoramiento por hibridación de papa (*S. tuberosum*,L.) en Cuba. Tesis de Grado. INCA, 1998, 71 p.

Horsfall, J. G. y Barrat, R.W. An improvement system for measuring plant diseases. *Phytopathology*, 1945, 35: 655.

Iglesias, L. Estudio de la variabilidad morfoagronómica y bioquímica en soya. Tesis de Doctorado. ISCAH, San José de las Lajas, 1986. 232 p.

Jiménez, E.; Rivero, A.; Silva, M. Embriogénesis somática en suspensiones celulares de papa (*Solanum tuberosusm* L). *Revista del MES*, 1996, 20(3):27-32.

Kawahara, R. y Komamine, A. Molecular basis of somatic embryogenesis. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 1997, 30:30-40

Kripach, V. A.; Zhabinskii, V. y Litvinovskaya, R. Synthesis and some practical aspects of brassinosteroids. En: Brassinosteroids, Synthesis, Chemistry and Applications. Washington. *Am. Chem. Soc.*, 1991.

Lai, A.; Crino, P. y Saccardo, F. *In vitro* selection of tomato regenerated plant resistant to culture filtrates of *P. infestans* (Mont.) de Bary. *Genet. Agraria*, 1988, 42: 78.

Lakshmi-Sita, G. Callus induction and differentiation in crops. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 1989, 1:1:23

Leumg, W. Biochemical studies using tissue cultures. En: Principles and practices of plant tissue culture, FAO. 1992, p. 95-101

Maheswaran, M. y Sree-Rangasamy, S. Changes in peroxidase activity, during shoot formation in *Oryza Sativa L. Journal of Genetics and Breeding*, 1992, 46 (1): 15-20

Martínez, P. R. y Sinclair, M. Selección *in vitro* de resistencia al tizón temprano (*A. solani*, Sorauer) en la papa criolla (*S. phureja*, Juz. et Buk). *Fitopatología Colombiana*, 1994, 18(2): 90-100.

Moré, O. La papa como cultivo. Genética y Mejoramiento. Revista del Departamento de Genética y Mejoramiento. INCA. San José de las Lajas, 1998, 35 p

Moré, O.; Hernández; M. M.; García, D. y Núñez, M. Efecto del análogo de brasinoesteroide MH5 en el proceso de callogénesis en papa (*S. tuberosum*, L). Ponencia. XII Fórum de Ciencia y Técnica. UNAH, 1997.

Núñez, M. Los brasinoesteroides y su actividad biológica. La Habana. INCA, 1996. 35 p.

Pasteur, N.; Pasteur, G..; Bonhomme, F. y Catalán, J. Interpretation Génètic des Zymogrames. En: Manuel technique de génètic par electrophorése des protéines, technique et documentation. Lavosier-Toulusse 1987, 28p.

Pérez, J. Mejoramiento genético de las plantas por biotecnología. IBP, 1998, 745 Pp.

Radovic, D.; Vapa y Radojevic, L. Electrophoresis. Faculty of Sciences. *Novisad*, 1994, 86:57-61.

Ramírez, H.; Calderón, A. y Roca, W. Técnicas moleculares para evaluar y mejorar el germoplasma vegetal. En: Cultivo de tejidos en la agricultura. *CIAT, Cal*, 1991. 36: 825-855.

Rivas, R. y Evans, P. Organogénesis en papa (*Solanum tuberosum* L.), a partir de explantes de entrenudos. En: I Congreso Nacional de cultivo de tejidos vegetales, San Salvador, 1993. p.18-24.

Roca, R. y Mroginski, L. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. En: Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Colombia, Cap. 6. Poste A. CIAT, 1991, pp 127-141.

Sakurai, A.; Fujioka, S. y Saimoto, H. Production of brassinosteroids on plant cell culture. En: Brassinosteroids, Chemistry, Bioactivity and Applications. Washington: Am. Chem. Soc, 1991.

Sánchez, L. Caracterización bioquímica de algunos cultivares de *Musa spp. Centro Agrícola*, 1996. p. 71-77.

Santana, N. Embriogénesis somática en el cultivo del cafeto (*Coffea*,sp). Tesis de Grado. INCA, 1993. 230 p.

Seabrook, J. Photoperiod *in vitro* affects subsequent yield of greenhouse grown potato tubers. Canadian University, 1995. p365-367.

Shanon, L. Plant isozymes. *Ann. Rev. Plant. Physiology*, 1981. 19:187-210.

Smith, R. Callus induction. En: Plant Tissue Culture: Techniques and experiments. Academic Press Inc. USA 1992. 170p.

Tabares, E.; Pachón, J. y Roca, W. Variación somaclonal y su aplicación al mejoramiento de los cultivos. Cultivo de tejidos en la Agricultura. Fundamentos y aplicación. CIAT. Cali. Colombia, 1991.

Triest, L. The role of isozymes. *Ann. Rev. Plant. Physiol*, 1992. 19:187-210.

Urrea, A. Estudio de parámetros para la selección *in vitro* en la mejora de resistencia a *P. infestans* (Mont) de Bary en papa (*S. tuberosum*, L.) var. Diacol Capiro. Tesis de Maestría. Univ. Central. IBP, 1999. 68 p.

Veitía, M. y Dita, M. A. Estudio de los metabolitos producidos por *A. alternata* (Fr.) Kreissler sobre vitroplantas y callos de papa (*S. tuberosum*, L.). Tesis de Diploma. Univ. Central. IBP, 1995. 61 p.

Vienne, D. Les Marqueurs Moleculaires en Génètic et Biotecnologie Végétables. *Biotecnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 1998, 2(3):215-220.

Villalobos, V. M. Historia del cultivo de vegetales. En: Fundamentos teorico-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. Roma. FAO, 1990, p.3-7.

Yokota, T. The structure, biosynthesis and function of brassinosteroids. *Trends. Plant. Sci*, 1997, 2: 137-143.

Yousif, F. Peroxidase as an indicator of the physiological age of potato seed tuber. Faculty of Agriculture Khartoum, Sudán, 1996, 60 p.

CAPÍTULO IX

CREACIÓN DE VARIABILIDAD Y SELECCIÓN *In Vitro* PARA RESISTENCIA A *A. solani* (ELLIS Y MARTÍN) JONES Y GROUT. DESARROLLO DE METODOLOGÍAS Y ESTUDIO DE SOMACLONES OBTENIDOS

N. Veitia, M. A. Dita, Lourdes García, Mayra Acosta, Idalmis Bermúdez, L. García, J. N. Pérez, J. Clavero, C. Romero, Niurka González, P. Orellana y Enny Padrón

INTRODUCCIÓN

El uso de la biotecnología en el cultivo de la papa conduce al adelanto y mejoramiento en cuanto a la producción y el rendimiento de esta planta, y aunque siempre hay algunas dificultades para la implementación de estas técnicas no convencionales, estas proveen nuevas herramientas, según Cardi (1996), para el estudio del control genético de caracteres agronómicos y la explotación de la diversidad genética aprovechable de especies nativas y origen diverso en el género *Solanum*.

Croegham y Croaghn (1994) establecieron que las técnicas biotecnológicas en general para el mejoramiento del cultivo de la papa, estaban referidas a todos los procedimientos típicamente conducidos en un laboratorio, que utilizan principios biológicos para estudiar y mejorar estas plantas por caminos beneficiosos.

El reto actual de los propagadores de plantas está en la disminución de costos y diversificación de las producciones, ampliando el rango de especies beneficiadas con esta tecnología, para lo cual es necesaria la explotación al máximo de las reservas que aún poseen los sistemas basados en la propagación vía organogénesis, la automatización y el desarrollo de métodos más eficientes de regeneración de plantas basados en la embriogénesis somática (Jiménez, 1998).

El cultivo de tejidos vegetales se ha convertido en el eje sobre el cual giran las nuevas tecnologías del mejoramiento genético de las plantas y un mejor conocimiento de los procesos genéticos y fisiológicos de estas (Mergeai *et al*., 1997).

En el cultivo de la papa, la técnica *in vitro* representa un método alternativo de propagación, que puede resolver los problemas causados por falta de semilla de calidad, enfermedades, bajos rendimientos, etc; aquí la organogénesis es el principal método, ya que este se ocupa de la inducción de brotes y raíces directa e indirectamente de un explante no meristemático (Rivas y Evans, 1993).

Para estudios genéticos clásicos, la papa presenta ciertas dificultades debido a su naturaleza tetraploide y su alta frecuencia de auto-esterilidad. Sin embargo, para propósitos de mejoramiento, su reproducción por propagación clonal provee algunas ventajas. Para la investigación en los aspectos fisiológicos del cultivo de células, la papa ocupa un lugar o posición favorable como cultivo fácilmente clonable.

Con el surgimiento de las técnicas biotecnológicas, que permiten manejar *in vitro* órganos, tejidos y células, surge una amplia perspectiva de estas técnicas, tanto para la producción de semillas como para el mejoramiento genético. Ambos objetivos tienen en contraposición que para la producción de semillas, se requiere la máxima estabilidad genética y en el caso del mejoramiento genético, este se basa solamente en los cambios que transforman al material hereditario (Pérez, 1998).

La variabilidad genética es un componente esencial de algunos programas de mejoramiento, creados para mejorar las características de los cultivos vegetales. Por esto, buscar nuevos métodos para la producción de variabilidad genética en plantas es de gran importancia. En años recientes, el gran interés que generó la variación somaclonal, se debe a que esta brinda una riqueza inmensa de variación genética entre las plantas regeneradas de células de explantes, tejidos y cultivos de órganos en condiciones *in vitro.*

La papa es un cultivo ideal para el mejoramiento vía variación somaclonal, porque es altamente adaptable a varias técnicas de cultivo de tejidos y normalmente propagada y establecida vegetativamente de tubérculos. La variación somaclonal generada durante los procesos de regeneración vegetal, puede ser un beneficio o una calamidad, en dependencia del tipo de método de manipulación, inicialmente utilizado en el mejoramiento de los cultivos. La producción de una línea mutante a través de la variación somaclonal en papa, la cual presente resistencia a enfermedades, pudiera ser altamente deseable (Kumar, 1994, citado por Punzalan, 1995).

Por todo lo anterior, se han dedicado esfuerzos y recursos para la investigación en la rama biotecnológica en el cultivo de la papa y en el

presente capítulo ofrecemos los resultados más importantes obtenidos en nuestro país, en relación con la aplicación de las técnicas biotecnológicas al mejoramiento y la micropropagación de esta especie. Esperamos que este sirva de guía o punto de partida para el desarrollo de investigaciones futuras en este sentido.

Los resultados que se exponen corresponden al trabajo de investigación desarrollado por el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y el Instituto de Biotecnología de las Plantas de la Universidad Central de las Villas (IBP), a lo largo de más de una década.

Estudio de tres tiempos de incubación del hongo *A. solani* para comprobar su efecto patogénico sobre vitroplantas de papa

Se estudió el efecto de los tiempos de incubación 12, 21 y 30 días respectivamente de una cepa de *A. solani*, aislada de lesiones naturales cultivadas sobre vitroplantas de la variedad Desirée y la especie *Solanum chacoense*. El hongo fue cultivado sobre medio de cultivo de Fries (Luke y Wheeler, 1955) incubado a 28±2ºC en oscuridad constante y cultivo estático durante 30 días. Al cabo de ese tiempo se separó el micelio y se filtró el caldo por papel de filtro Whatman Nº 4. Posteriormente, el filtrado se concentró seis veces por rotoevaporación al vacío a 40ºC. Los tratamientos establecidos fueron los siguientes: cultivo filtrado sin diluir, dilución 1:1 v/v, medio de Fries sin inocular y agua destilada estéril. Se evaluó a las 72 horas el porcentaje de plantas afectadas por tratamiento y variedad.

Las variedades estudiadas presentaron diferencias en la respuesta ante la aplicación del cultivo filtrado de *A. solani*, alcanzando porcentajes de afectación superiores la variedad Desirée (susceptible), mostrándose la acción patogénica del filtrado de *Alternaria solani* sobre las vitroplantas. Broggio y Ranucci (1992) señalaron que en una serie de trabajos realizados con los patógenos *A. solani* y *A. alternata*, se demostró su carácter hospedante específico en la enfermedad tizón temprano en papa y tomate. Este aspecto brinda la posibilidad de realizar selecciones *in vitro*, para la búsqueda de plantas resistentes a esta enfermedad, utilizando las toxinas o fracciones fitotóxicas o el cultivo filtrado del patógeno.

Al comparar los tres tiempos de incubación del hongo estudiados (12, 21 y 30 días), se comprobó que a los 12 días no se produjeron afectaciones sobre las vitroplantas de la variedad Desirée y la especie *Solanum chacoense*. Estos resultados pueden estar dados porque en este

tiempo es aún insuficiente la producción de metabolitos por el hongo. A los 21 y 30 días de incubación, se observó claramente la acción del cultivo filtrado y aunque no existieron diferencias significativas entre ambos tiempos, las mayores afectaciones se observaron en la variante de 30 días de incubación (Tabla 1). Lorenzo *et al.* (1992) obtuvieron elevados índices de afectación en vitroplantas y callos de papa al emplear 30 días de incubación del hongo.

Tabla 1. Porcentaje de vitroplantas de papa afectadas por variedad y tratamiento a los 21 y 30 días de incubación del hongo *A. solani* en medio de cultivo de "Fries"

Tratamientos	Tiempo de incubación	Desirée	*S. chacoense*
Cultivo filtrado	21 días	60 Aa	10 Ba
Filtrado sin diluir	30 días	80 Aa	20 Ba
Dilución 1:1	21 días	50 Aa	0 Ba
	30 días	60 Aa	10 Ba
Medio de cultivo de Fries	21 días	0 Aa	0 Aa
sin inocular	30 días	0 Aa	0 Aa
Agua destilada	21 días	0 Aa	0 Aa
Estéril	30 días	0 Aa	0 Aa

Letras mayúsculas iguales en una misma fila no difieren para $P< 0.05$.
Letras minúsculas iguales no difieren para $P>0.05$ dentro del mismo tratamiento y variedad

En los tratamientos utilizados como testigo (medio de cultivo de "Fries" sin inocular y agua destilada estéril), no se observaron afectaciones sobre las vitroplantas de la variedad Desirée y la especie *S. chacoense* ni para ninguno de los tiempos estudiados.

Métodos de aplicación del cultivo filtrado del hongo sobre vitroplantas de papa. Se establecieron dos métodos para determinar la aplicación del cultivo filtrado del hongo: inmersión de raíces y aspersión foliar. En el método de inmersión se colocaron las vitroplantas en frascos que contenían 20 mL del tratamiento y se sumergió todo el sistema radical en este. En la variante de aspersión foliar se extrajeron las vitroplantas, se asperjaron con el cultivo filtrado del hongo y se colocaron en frascos que contenían medio de cultivo de multiplicación compuesto por sales MS suplidas con tiamina 1 $mL.L^{-1}$, mioinositol 100 $mg.L^{-1}$ y sacarosa 30 $g.L^{-1}$. Para ambos métodos se emplearon cinco frascos por tratamiento. Los frascos fueron colocados en cámaras de crecimiento a temperatura de 18^0C y fotoperíodos de 18 horas

luz y 6 de oscuridad durante 72 horas. Para cada uno de los métodos se usaron las siguientes diluciones: 1:1, 1:3, 1:5, 1:10 v/v, filtrado sin diluir, agua destilada estéril y medio de cultivo de "Fries" sin inocular. Se evaluó el porcentaje de plantas afectadas.

De los métodos de aplicación del cultivo filtrado: inmersión de raíces y aspersión foliar, se observó que con el primero se alcanzaron valores significativamente superiores (99.3 %), además de ser un método más práctico y uniforme (Tabla 2). Sin embargo, con el método de aspersión foliar se alcanzaron valores de hasta un 80 % de afectación en la variedad Desirée, lo que evidencia que el filtrado también penetra en los tejidos. Broggio y Ranucci (1992), buscando un método de *screening* para el tizón temprano en papa, utilizaron y obtuvieron resultados prometedores.

Tabla 2. Porcentaje de vitroplantas de papa afectadas por tratamiento y variedad en los dos métodos de aplicación del cultivo filtrado del hongo *A. solani*

Tratamientos	Métodos de inoculación	Desirée	*S. chacoense*
Dilución 1:1	Inmersión	99.3Aa	33.3 Ba
	Aspersión	80.0Aa	0.6 Bb
Dilución 1:3	Inmersión	86.6Aa	33.3 Aa
	Aspersión	65.0Aa	0.5 Bb
Dilución 1:5	Inmersión	93.3Aa	26.6 Ba
	Aspersión	65.0Aa	10.0 Ba
Dilución 1:10	Inmersión	46.6Ba	13.6 Ba
	Aspersión	50.0Aa	2.5 Bb
Cultivo filtrado sin diluir	Inmersión	93.3Aa	33.3 Ba
	Aspersión	55.0Ab	45.0 Aa
Agua destilada Estéril	Inmersión	13.3Aa	6.6 Aa
	Aspersión	15.0Aa	10.0 Aa
Medio de cultivo Fries sin inocular	Inmersión	26.6Aa	20.0 Aa
	Aspersión	10.0Aa	2.5 Aa

Letras mayúsculas iguales en una misma fila no difieren para $P<0.05$. Letras minúsculas iguales no difieren para $P>0.05$ dentro del mismo tratamiento

De este experimento se concluye que el método de inmersión de raíces es el más práctico y uniforme. Además, alcanza valores de afectación más elevados que el de aspersión foliar, el cual presenta problemas con la uniformidad, pues al realizar la aspersión no todas las plantas reciben la misma cantidad del tratamiento.

Estudio de diferentes diluciones del cultivo filtrado de A. solani y su efecto sobre vitroplantas de papa. Se estudiaron diferentes diluciones del filtrado del patógeno, con el objetivo de buscar la que produjera un porcentaje de afectación por encima del 90 % para la variedad Desirée y que no afectara considerablemente el patrón resistente (*S. chacoense).* Se establecieron las siguientes diluciones: 1:3, 1:5, 1:7, 1:10; medio de cultivo de "Fries" sin inocular y agua destilada estéril. Las evaluaciones se realizaron a las 72 horas.

Además, se elaboró una escala basada en la sintomatología observada en los ensayos anteriores, con el objetivo de evaluar la intensidad de las afectaciones.

Se aplicó el método de inmersión de raíces y el cultivo filtrado se obtuvo de acuerdo a lo explicado anteriormente, concentrándolo 10 veces por rotoevaporación al vacío.

Al evaluar la efectividad biológica del cultivo filtrado del hongo en las diferentes diluciones, en la Tabla 3 se muestran los porcentajes de plantas afectadas que alcanzaron grados de afectación igual o superior a tres de acuerdo a la escala propuesta. Con la dilución 1:3 v/v, se observó 33.3 % de afectación para la variedad Desirée, presentando diferencias significativas al compararla con la especie *S. chacoense*, la cual no mostró valores de afectación en este rango. Los resultados indicaron que existe una relación directa entre la concentración del cultivo filtrado y la velocidad de aparición de los síntomas en las plántulas. También se pudo apreciar la acción del filtrado aún en bajas concentraciones. Resultados similares fueron obtenidos por Hernández *et al*. (1991).

Tabla 3. Porcentaje de vitroplantas de papa afectadas por el cultivo filtrado del hongo *A. solani* con grado de afectación mayor o igual a tres, según la escala propuesta

Variedades	Tratamientos					
	Dilución 1:3	Dilución 1:5	Dilución 1:7	Dilución 1:10	Medio de Fries sin inocular	Agua destilada estéril
Desirée	33.3 Aa	13.3ABa	13.3 ABa	0.0 Ba	0.0 Ba	0.0 Ba
Solanum chacoense	0.0 Ab	0.0 Ab	0.0 Ab	0.0 Ab	0.0 Ab	0.0 Ab

INDUCCIÓN DE VARIABILIDAD Y SELECCIÓN *In Vitro* E *In Vivo* A *A. solani.* COMPORTAMIENTO DE LAS PLANTAS PROVENIENTES DE CALLOS IRRADIADOS FRENTE AL CULTIVO FILTRADO DE *Alternaria solani* (SOR) *In Vitro*

Producción de mutantes: Se emplearon callos de la variedad Desirée, los cuales tenían tres subcultivos. Posteriormente se irradiaron con una fuente de cobalto 60 a razón de 10 Gray. Las plantas regeneradas fueron subcultivadas tres veces *in vitro* para tratar de eliminar o reducir las posibles quimeras.

La obtención del cultivo filtrado se realizó según la metodología propuesta por Dita (1998). La conservación del cultivo filtrado se realizó a una temperatura de -200ºC en una ultracongeladora Koxka modelo UCV-40560.

La selección *in vitro* se realizó de acuerdo al esquema desarrollado para la variedad Desirée propuesto por Veitía y Dita (1995).

Las vitroplantas cultivadas *in vitro* se colocaron en frascos de cultivo de 250 mL estériles con papel de filtro en el interior. Se colocaron tres vitroplantas por frasco, los cuales contenían 15 mL del cultivo filtrado. El método de aplicación del cultivo filtrado fue el de inmersión de raíces.

Los frascos fueron colocados en cámaras de crecimiento a una temperatura de 22±20ºC, con una intensidad de luz de 100 µE/m2 s^{-1} y un fotoperíodo de 16 horas luz.

Se evaluaron 30 vitroplantas por somaclón a las 72 horas, seleccionándose los que presentaron grados de afectación menor o igual a 3, de acuerdo con la escala propuesta por Veitía y Dita (1995), que se detalla a continuación (Tabla 4).

Tabla 4. Escala de grados para evaluar las afectaciones producidas por los metabolitos de *A. solani* en vitroplantas de papa

Grados	Caracterización
0	Plantas sin síntomas
1	Plantas con clorosis ligera en la zona basal
2	Plantas con clorosis avanzada en la zona basal
3	Plantas con la zona basal ligeramente necrosada y algunas hojas de la zona media con clorosis ligera
4	Plantas con necrosis acentuada en la zona basal y clorosis avanzada en la zona media
5	Plantas con hojas muertas en la zona basal, la zona media ligeramente necrosada y la zona apical con clorosis ligera
6	Plantas necrosadas hasta la zona media y la zona apical con clorosis avanzada
7	Plantas muertas, colapso total

A partir de la población obtenida de callos irradiados, se seleccionaron 45 somaclones frente al cultivo filtrado del hongo *Alternaria solani*, que presentaron grados de afectación menor o igual a tres, de acuerdo al criterio de selección fijado (Tabla 5).

La composición multitóxica del cultivo filtrado de *Alternaria solani* ofrece mayores posibilidades de contener la toxinas necesarias para la patogénesis y así actuar como un representante confiable del patógeno (Martínez *et al*., 1994). Resultados similares han sido descritos por varios investigadores (Broggio *et al*., 1990; Hernández *et al*., 1991; Martínez *et al*., 1994; Veitía *et al*., 2001), al señalar la factibilidad del empleo del cultivo filtrado de este patógeno en la búsqueda de plantas resistentes.

Tabla 5. Grados de afectación de somaclones seleccionados *in vitro*

Somaclones	Media del grado de afectación (%)	Somaclones	Media del grado de afectación (%)
IBP-1	3.00	IBP-158	2.60
IBP-4	2.20	IBP-164	2.30
IBP-12	3.07	IBP-175	3.10
IBP-14	3.00	IBP-188	2.50
IBP-16	3.00	IBP-220	3.00
IBP-18	2.50	IBP-313	1.50
IBP-23	2.20	IBP-362	3.07
IBP-25	3.10	IBP-412	3.00
IBP-27	3.00	IBP-436	2.20
IBP-30	2.60	IBP-446	3.00
IBP-32	3.00	IBP-465	2.90
IBP-38	2.80	IBP-501	3.10
IBP-54	3.00	IBP-510	3.00
IBP-74	3.10	IBP-525	2.85
IBP-93	1.80	IBP-724	3.00
IBP-101	3.00	IBP-747	2.80
IBP-102	3.10	IBP-762	3.00
IBP-107	3.00	IBP-782	3.00
IBP-112	2.10	IBP-943	2.50
IBP-114	2.80	IBP-962	3.10
IBP-121	3.00	IBP-980	2.0
IBP-134	3.12	T-Desirée	5.35
IBP-151	3.00	T-Chacoense	1.20
IBP-154	2.10		

COMPORTAMIENTO FRENTE A *Alternaria solani* DE SOMACLONES SELECCIONADOS *In Vitro* EN CONDICIONES DE INVERNADERO

Una vez realizada la selección *in vitro*, el material seleccionado fue micropropagado como se refiere en 2.2.1. Posteriormente, se plantaron en condiciones de invernadero durante la campaña 1997-1998. Se plantaron 60 plantas provenientes del cultivo *in vitro* por somaclón, empleándose como testigos plantas cultivadas *in vitro* de la variedad Desirée (susceptible) y la especie *Solanum chacoense* (resistente). Como fondo de inóculo secundario, se emplearon hojas de plantas enfermas provenientes de campos comerciales de papa.

Para la evaluación de las afectaciones provocadas por el patógeno, se empleó la escala que se detalla a continuación (Tabla 6).

Tabla 6. Escala propuesta por el Comité de Expertos de Sanidad Vegetal ampliada a la categoría de ataque (Mayea y Perdomo, 1990)

Grado de afectación (%)	Categoría de afectación
10	Manchas en hojas inferiores
20	Manchas en la mayoría de las hojas inferiores y algunas del centro
30	Manchas en todas las hojas inferiores y algunas del centro
40	Atizonamiento en hojas inferiores
50	Tizón en hojas inferiores y atizonamiento en hojas del centro
60	Tizón de hojas inferiores y en la mayoría del centro
70	Tizón en hojas inferiores y en todas las del centro
80	Tizón en hojas inferiores, todas las centro y atizonamiento superior
100	Tizón total (muerte de la planta)

Criterio de resistencia según grado de ataque de acuerdo a la escala propuesta por Mayea y Perdomo (1990)

- 0-9: Inmune
- 10-19: Resistente
- 20-39: Moderadamente resistente
- 40-59: Moderadamente susceptible
- 60-89 :Susceptible
- 90 ó más: Muy susceptible

Los resultados en condiciones de invernadero mostraron que los 45 somaclones seleccionados *in vitro* se situaron en tres grupos, de acuerdo a la similitud en el grado de afectación. El 13.3 % de los somaclones

presentaron grados de afectación inferiores, al compararlos con el testigo susceptible. De los restantes somaclones evaluados, el 37.7 % presentaron grados de afectación superiores y el 48,8 % similares a la variedad original.

Como puede notarse en la evaluación realizada en invernadero, se observaron diferencias significativas entre la variedad susceptible y el patrón resistente empleado. Los somaclones seleccionados presentaron un comportamiento variable en cuanto al grado de afectación. El somaclón IBP-27 presentó diferencias significativas respecto al somaclón IBP-93, el cual alcanzó los grados de afectación más bajos. Los restantes somaclones presentaron valores de afectación inferiores a la variedad original y no se observaron diferencias significativas entre ellos para este parámetro (Tabla 7).

Tabla 7. Niveles de afectación alcanzados por los somaclones seleccionados en invernadero

Somaclones	Invernadero	
	Grado de afectación (%)	Medias de rango
IBP-27	34.00	71.90 b
IBP-30	33.33	69.30 bc
IBP-38	29.33	53.86 bc
IBP-93	22.66	31.23 cd
IBP-101	32.66	66.76 bc
IBP-107	32.00	64.16 bc
T-Desirée	66.66	113.00 a
T-Chacoense	17.33	13.76 d

Medias de rango con letras no comunes difieren por prueba no paramétrica Kruskal Wallis para $p<0.05$.

Aunque no todos los somaclones seleccionados *in vitro*, mostraron resistencia en cantero, se observó una relación positiva en cuanto al comportamiento ante la enfermedad. Sin embargo, Martínez y Sinclair (1994) obtuvieron que la resistencia frente al cultivo filtrado de *A. solani* expresada *in vitro* se mantuvo en porcentajes muy altos (88 %) en el grupo de líneas derivadas de callos irradiados al evaluarlas en condiciones de invernadero. Otros autores argumentan que la respuesta en el laboratorio al nivel de plántula de papa puede ser difícilmente comparada con la respuesta de las plantas en el campo, debido a que la fisiología y la organización anato-morfológica de ambas no es la misma (Broggio y Ranucci, 1992).

Varios autores han realizado estudios para determinar la existencia de diferencias entre variedades o la correlación de la variedad hospedante a nivel celular e *in vivo*, empleando cultivo filtrado de varios patógenos como: *Xanthomonas campestri pv. pruni, Alternaria solani, Verticillium spp. Pseudomonas syringae pv. phaseolicola y Ustilago scitaminea* (Hamnerschlag, 1984; Hartman y Secor, 1985; Hartman *et al*., 1985; Martínez y Sinclair, 1994; Gómez, 1996). En todos los casos, el uso de los cultivos filtrados permitió la selección de líneas resistentes.

Estudio en condiciones de campo de plantas provenientes de tubérculos de los somaclon*es seleccionados frente al tizón temprano.* Este estudio se realizó con el objetivo de evaluar el comportamiento de los somaclones en cuanto a los grados de afectación de la enfermedad, en plantas provenientes de tubérculos en la campaña 1999-2000 en condiciones de campo.

Se plantaron manualmente 400 tubérculos con calibre de 21-35 mm por somaclón en la Estación Experimental "Pedro Lantigua". Se utilizó un diseño de bloque al azar de ocho tratamientos y cuatro repeticiones. La distancia de plantación fue 90 x 20 cm y todas las atenciones culturales se llevaron a cabo según el Instructivo técnico para la producción de semilla básica. No se realizó control químico contra el tizón temprano.

La evaluación de la enfermedad se realizó de forma similar a lo descrito. Se cosecharon a los 74 días y se evaluaron 16 plantas por tratamiento y réplica.

Al evaluar la dinámica de la enfermedad en plantas provenientes de tubérculos, se observó un aumento en las afectaciones provocadas por el patógeno; hasta los 55 días de edad de las plantas, se observó un incremento en las afectaciones en los somaclones y el testigo Desirée (Figura 1). Este comportamiento es típico de la variedad Desirée, la cual según Mayea y Hernández (1983) comienza con un desarrollo lento de la enfermedad y más tarde un aumento progresivo de su intensidad. Broggio y Ranucci (1992) plantearon que esta enfermedad está estrechamente asociada con el tiempo y la respuesta de la planta depende de la edad, siendo los tejidos viejos más susceptibles que los jóvenes. En la Figura 2 se aprecian las afectaciones en planta provocadas por *A. solani.*

Los resultados de este experimento mostraron que las plantas provenientes de tubérculos, presentaron un comportamiento similar al observado en plantas provenientes del cultivo *in vitro* ante la enfermedad (Tabla 8).

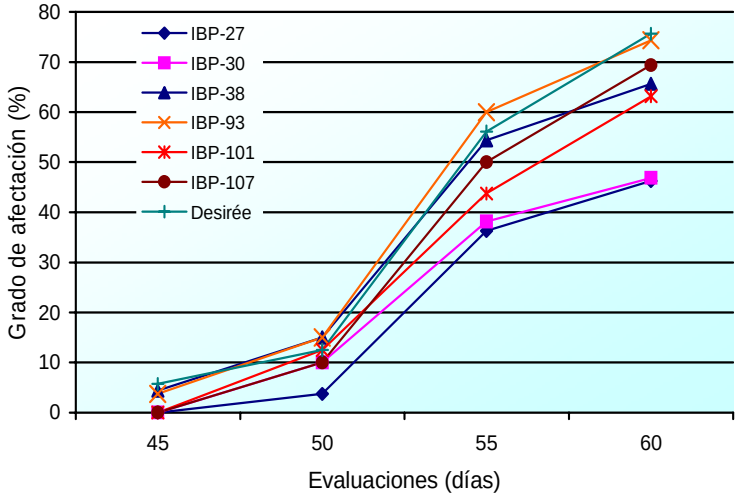


Figura 1. Dinámica de la enfermedad en los somaclones evaluados en condiciones de campo a partir de tubérculos

Figura 2. Afectaciones provocadas en el campo por el patógeno *A. solani* (a la izquierda somaclón IBP-27 y a la derecha variedad Desirée)

Tabla 8. Comportamiento ante la enfermedad en condiciones de campo a los 60 días de los somaclones evaluados provenientes de tubérculos

Somaclones	Vitroplantas	Plantas de tubérculos		
	Medias reales grados de afectación (%)	Medias de rango grados de afectación (%)	Medias reales grados de afectación (%)	Medias de rango grados de afectación (%)
IBP-27	43.75	18.65 c	40.00	32.25 cd
IBP-30	46.87	25.40 bc	48.12	48.65 bcd
IBP-38	65.00	75.56 a	64.37	84.34 ab
IBP-93	67.50	82.90 a	64.37	84.34 ab
IBP-101	61.25	65.31 a	56.87	67.93 abc
IBP-107	56.87	49.84 ab	66.25	90.31 a
T-Desirée	65.62	77.80 a	69.37	99.09 a

Medias de Rango con letras no comunes difieren por prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para $p<0.05$

Los somaclones IBP-27 e IBP-30 mostraron los valores de afectación más bajos, presentando diferencias significativas al compararlas con la variedad original, alcanzando valores de moderadamente resistente y moderadamente susceptible de acuerdo a la escala de evaluación, manifestándose la resistencia al presentar las plantas de ambos somaclones menor número de hojas sin manchas a los 60 días de edad (Figura 3).

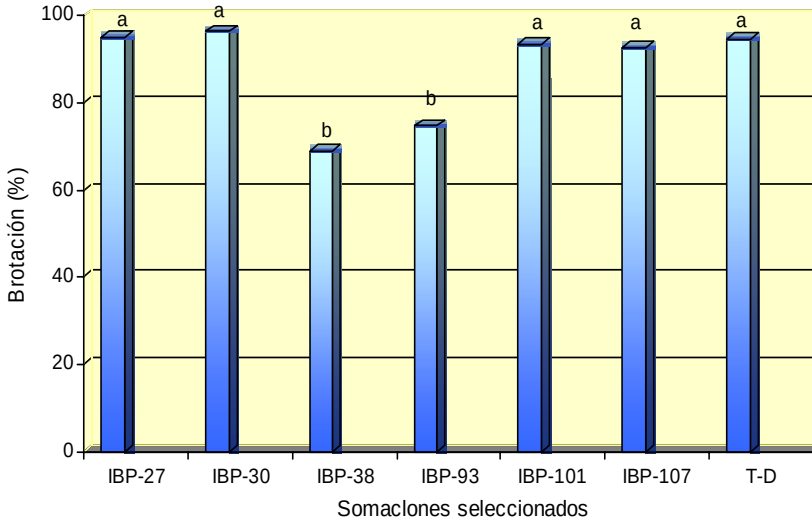


Figura 3. Comportamiento de los somaclones a los 15 días de plantados los tubérculos

Los restantes somaclones presentaron grados de afectación similares a la variedad original, característica esta que manifestaron en evaluaciones anteriores (Tabla 9).

Tabla 9. Comportamiento ante la enfermedad de los somaclones seleccionados en las dos primeras campañas evaluadas

Somaclones	Medias de reales grado de afectación (%)		Medias de rango grado de afectación	
	1996-1997	1997-1998	1996-1997	1997-1998
IBP-27	30.00	41.33	59.00 b	63.73 b
IBP-30	32.00	42.25	57.20 b	62.80 b
IBP-38	28.00	12.66	49.40 b	8.00 cd
IBP-93	24.00	32.66	32.90 bcd	39.26 bc
IBP-101	30.00	35.33	59.00 b	43.53 b
IBP-107	20.00	36.66	15.50 cd	51.66 b
T-Desirée	74.00	72.40	98.00 a	98.00 a
T-Chacoense	13.40	14.20	12.00 d	16.50 d

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren por prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para $p<.05$

La inestabilidad de la resistencia al tizón temprano, puede ser debido a la naturaleza epigenética de este carácter, en los somaclones que han presentado una disminución en los niveles de resistencia en los últimos ciclos de evaluación en campo, tanto a nivel de plantas provenientes del cultivo, como en plantas provenientes de tubérculos.

Resultados similares fueron descritos por Kowalski (1999), al evaluar somaclones mutantes por varios ciclos en el campo, los cuales presentaron inestabilidad de la resistencia en el tizón tardío.

EVALUACIÓN DE LAS PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS AGRONÓMICAS

Crecimiento, desarrollo y tuberización en plantas provenientes de tubérculos. Para la evaluación de los principales componentes del rendimiento, se realizaron cuatro evaluaciones a los 15, 30, 45 y 60 días de plantados en el campo los tubérculos de los seis somaclones seleccionados sobre un suelo Ferralítico Rojo. La distancia de plantación fue de 90 x 20 cm y todas las atenciones culturales se realizaron de acuerdo al Instructivo técnico para la producción de semilla básica. De cada tratamiento y réplica se evaluaron 15 plantas y los parámetros evaluados fueron los siguientes:

⇨ Altura de la planta
⇨ Número de entrenudos
⇨ Número de tallos
⇨ Número de tubérculos por planta
⇨ Peso de los tubérculos por planta ($kg.pta^{-1}$)
⇨ Rendimiento ($kg.ha^{-1}$)

Los tubérculos de los somaclones evaluados presentaron porcentajes de brotación, que no difieren significativamente de la variedad original, con excepción de los somaclones IBP-38 e IBP-93, que presentaron los valores más bajos.

Estos resultados en los somaclones IBP-38 e IBP-93 pueden estar dados por el tamaño del tubérculo, puesto que no se contaba con tubérculos de calibres grandes en la plantación de estos somaclones. Reestman (1959) calculó el número de tallos principales correlacionado con el área de la superficie del tubérculo. El desarrollo de los brotes es más rápido en una semilla más grande que en una pequeña.

Los somaclones evaluados presentaron un comportamiento variable en los parámetros altura, número de entrenudos, número de tallos, manifestándose de igual forma en las evaluaciones realizadas a los 15, 30 y 45 días.

Los valores más altos en la altura lo presentó el somaclón IBP-30, seguido del IBP-101, sin diferencias significativas entre ellos y la variedad original. El somaclón IBP-101 presentó un crecimiento vigoroso expresado en una buena capacidad de brotación, mayor altura, número de tallos por planta, seguida de IBP-30 e IBP-27; un comportamiento contrario se observó en el somaclón IBP-93 (Tabla 10).

Tabla 10. Comportamiento de los somaclones a los 60 días de brotados

Somaclones	Altura (cm)	Número de entrenudos/planta	Número de tallos/planta
IBP-27	45.25 bc	12.62 ab	3.31 ab
IBP-30	69.75 a	11.87 bc	3.43 ab
IBP-38	47.90 abc	12.25 abc	3.06 ab
IBP-93	30.87 c	11.18 c	2.18 b
IBP-101	55.00 ab	13.25 a	4.50 a
IBP-107	42.62 bc	11.75 bc	3.68 ab
T-D	46.37 abc	12.62 ab	3.56 ab
E.EST	±10.64*	±0.35	±0.56*

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan o Dunnett'C* para p<.05

Al evaluar el número de tubérculos por planta, se observó que el somaclón IBP-101 mostró los mejores resultados con diferencias significativas respecto al somaclón IBP-93. Ninguno presentó diferencias significativas al compararlos con la variedad original, al igual que los restantes somaclones evaluados. De igual modo, se comportó el peso de los tubérculos (Tabla 11). Estos resultados evidencian que los somaclones evaluados presentaron un comportamiento similar a la variedad original en cuanto al rendimiento, con excepción del somaclón IBP-93. Resultados similares fueron obtenidos por Kowalski (1999), al evaluar el rendimiento de somaclones irradiados, los cuales mostraron rendimientos comparables con la variedad control.

Tabla 11. Número y peso de los tubérculos de los somaclones evaluados

Somaclones seleccionados	Número tubérculos./planta	Peso tubérculos/planta (kg)	Rendimiento ($t.ha^{-1}$)
IBP-27	10.40 abc	0.43 b	23.65 b
IBP-30	11.66 ab	0.54 ab	29.70 ab
IBP-38	10.52 abc	0.39 bc	21.45 bc
IBP-93	8.66 bc	0.28 c	15.40 c
IBP-101	12.43 a	0.59 a	32.45 a
IBP-107	10.35 abc	0.43 b	23.65 b
T-D	10.10 abc	0.45 ab	24.75 ab
E.EST	±0.98	±0.048	±0.046

Letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan para $p<.05$

En la Tabla 12 se muestran las proporciones de los calibres de los tubérculos en los somaclones; en ella se observó que los somaclones IBP-27, IBP-30, IBP-101, IBP-107 y el testigo Desirée lograron tubérculos con calibres iguales o superiores de 35-45 mm. Los somaclones IBP-38 e IBP-93 lograron tubérculos con calibres inferiores o iguales en el rango de 35-45 mm. Del experimento se concluye que el factor que más influyó en el rendimiento de los somaclones fue el peso de los tubérculos.

Características morfológicas de los somaclones seleccionados. Para la evaluación de las variaciones morfológicas en el follaje de la planta, se emplearon hojas provenientes de plantas de 55 días de brotadas. Se utilizaron 30 plantas por línea, recolectándose la hoja compuesta (n-2). Para la evaluación del tamaño de las hojas, se midió el largo y ancho en centímetros de la primera hoja lateral derecha de la hoja compuesta.

Para la evaluación de la calidad de los tubérculos de los somaclones, se tomaron 20 tubérculos por somaclón provenientes de 20 plantas por réplica de cada somaclón seleccionado, así como de la variedad original.

Tabla 12. Proporción de los calibres de los tubérculos de los somaclones seleccionados

Somaclones	< 9 mm	9-20 mm	21-35 mm	35-45 mm	45-55 mm	>55 mm
IBP-27	0.016 c	0.0916b	0.183d	0.308	0.341a	0.058a
IBP-30	0.025 c	0.157b	0.271c	0.320	0.180	0.050a
IBP-38	0.058 b	0.147b	0.455a	0.272	0.051c	--
IBP-93	0.219a	0.252a	0.260c	0.235	--	--
IBP-101	0.067bc	0.166b	0.288cd	0.268	0.2096b	0.032a
IBP-107	0.110b	0.130b	0.432ab	0.276	0.050c	0.014a
T-D	0.019c	0.156b	0.333bc	0.320	0.143b	0.026a
Eep	*0.1839	*0.2569	*0.3309	*0.3190	*0.2080	* 0.132

Los parámetros evaluados fueron:

- color de la piel
- forma de los tubérculos
- tamaño de los tubérculos
- color de la pulpa
- tipo de piel
- número de ojos por tubérculo
- anormalidades de los tubérculos
- contenido de materia seca
- contenido de almidón.

Las variables altura (cm), número de entrenudos, componentes del rendimiento y contenidos de materia seca y almidón, se procesaron mediante análisis de varianza simple y posteriormente la aplicación de prueba de Duncan o Dunnett'C, en dependencia de la homogeneidad de varianza en las variables empleando el SPSS versión 9.0.

Para el procesamiento estadístico del grado de afectación frente a la enfermedad tizón temprano, se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, complementándose con una comparación múltiple no paramétrica de medias de rango. Para estos procesamientos se empleó el paquete estadístico de programas STATISTIX (versión 1.0) sobre Windows.

Al analizar las características evaluadas en las hojas de los somaclones seleccionados, se obtuvo que el IBP-107 se diferencia de la variedad Desirée original en el tamaño de sus hojas (Tabla 13), característica que se ha manifestado en el somaclón durante los años que se ha evaluado en condiciones de campo, tanto a nivel de plantas cultivadas *in vitro* como en las provenientes de tubérculos. Estos resultados coinciden con lo descrito por Sonino *et al*. (1986), quienes irradiaron

microesquejes de papa empleando rayos X y obtuvieron una amplia variación en el tamaño de las hojas, el color, la forma de las hojas y el color de los tallos.

Tabla 13. Características morfológicas de las hojas de los somaclones seleccionados

Somaclones	Longitud de las hojas (cm)	Ancho de las hojas (cm)
IBP-27	14.33 a	10.60 a
IBP-30	13.83 a	10.26 a
IBP-38	14.02 a	10.36 a
IBP-93	13.54 a	10.17 a
IBP-101	13.75 a	10.91 a
IBP-107	11.41 c	9.00 b
T-DESIREE	13.90 a	10.23 a
MG ±E. EST.	13.54±0.23	10.21±0.20

Medias con letras desiguales difieren por Duncan para $p<.05$

Al evaluar las características de los tubérculos de los somaclones seleccionados, se observaron variaciones en la forma y el tamaño de los tubérculos. En la Tabla 14, se describen las características presentadas por los tubérculos en cada uno de los somaclones evaluados.

Tabla 14. Caracterización de los tubérculos en los somaclones seleccionados

Soma-clones	Tipo de piel	Color de la piel	Forma del tubérculo	Tamaño del tubérculo	Color de la pulpa	Número de ojos.tubérculo^{-1}
IBP-27	Lisa	Rosada	Oval	Grande	Amarilla-pálida	Intermedio
IBP-30	Lisa	Rosada	Oval-Alargada	Grande	Amarilla-pálida	Intermedio
IBP-38	Lisa	Rosada	Oval-Alargada	Grande	Amarilla-pálida	Intermedio
IBP-93	Lisa	Rosada	Oval-Alargada	Mediano	Amarilla-pálida	Intermedio
IBP-101	Lisa	Rosada	Oval	Grande	Amarilla-pálida	Intermedio
IBP-107	Lisa	Rosada	Oval-Alargada	Grande	Amarilla-pálida	Intermedio
T-D	Lisa	Rosada	Oval-Alargada	Grande	Amarilla-pálida	Intermedio

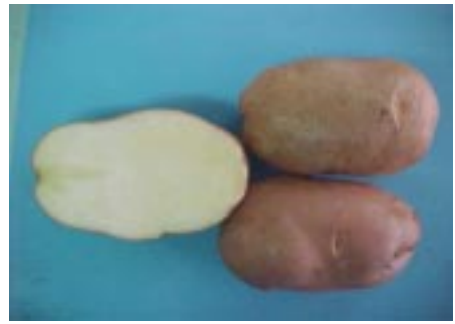
El somaclón IBP-27 presentó cambios en la forma del tubérculo de oval alargado a oval; similar variación presentó el somaclón IBP-101, el IBP-93 presentó tubérculos de tamaño mediano y el IBP-30 presentó características similares a la variedad Desirée (Figura 4).

Los contenidos de materia seca y almidón de los somaclones no se diferenciaron respecto a la variedad Desirée, alcanzando valores de 9.38 % y 18.14 % respectivamente. Sin embargo, Estévez (1994) obtuvo en un grupo de clones variabilidad para el contenido de materia seca. El por-

centaje de materia seca es un carácter que está muy influido por el ambiente; además, no se ha producido una variedad que tenga igual comportamiento de materia seca al cultivarse en diferentes medios (Estévez *et al*., 1987). Kowalski (1991), al evaluar un grupo de somaclones de la variedad Mariella, encontró tres somaclones con un contenido de almidón superior a la variedad original.

IBP-27

IBP-30



Testigo

Figura 4. Tubérculos de los somaclones

Los resultados expuestos anteriormente evidencian la posibilidad de encontrar resistencia a *A.solani*, mediante el empleo de la selección *in vitro* con el cultivo filtrado combinado con la mutagénesis *in vitro*, al seleccionarse dos somaclones que presentaron características superiores en cuanto a la enfermedad en condiciones de campo, así como un comportamiento agronómico estable.

CONCLUSIONES

- Se obtuvieron los metabolitos fitotóxicos de *A. solani* a partir de discos de micelio en medio de cultivo líquido "Fries modificado" (Luke y Wheeler, 1995), durante 30 días a 28 ± 2ºC en oscuridad constante y cultivo estático.
- Los metabolitos fitotóxicos liberados en el cultivo filtrado de *A. solani* permitieron la expresión diferencial de la resistencia entre la variedad resistente y susceptible con una dilución de 1:3 v/v en las vitroplantas.
- La metodología desarrollada para la selección *in vitro* permitió la detección de somaclones con incrementos en la tolerancia a *A. solani* con respecto al testigo susceptible, corroborándose este comportamiento en condiciones de campo en sucesivas evaluaciones, al presentar dos somaclones con valores de moderadamente resistente a moderadamente susceptible con respecto a la variedad "Desirée" susceptible.
- El tratamiento mutagénico aplicado permitió incrementar la variabilidad genética en los componentes del rendimiento agrícola, encontrándose somaclones con un comportamiento inferior a la variedad original (IBP-93 e IBP- 38) y somaclones que son significativamente similares (IBP-27, IBP-30, IBP-101 e IBP-107).
- Se obtuvieron variaciones en la forma y el tamaño del tubérculo en los somaclones evaluados con respecto a la variedad "Desirée"; el somaclón IBP-27 presentó forma oval al igual que el IBP-101 y el somaclón IBP-93 presentó tamaño mediano.

BIBLIOGRAFÍA

Arzuaga, J. e Izquierdo, F. Comportamiento de la resistencia a *Alternaria solani* (Ellis y Martin.) de nueve variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones controladas. *Cultivos Tropicales* 1983, 4(2): 303-311.

Broggio, M.; Ranucci, A. *In vitro* infection for potato early blight *Alternaria solani*. *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale* 1992: 355-366.

Espinosa, N.; Estrada, P.; Tovar, P.; Bryan, P. y Dodds. Tissue culture micropropagation, conservation and export of potato germoplasm. Especialized Technology Document 1, Centro Internacional de la Papa, Lima. Perú. 1992.

Estévez, A. y Alvarez, M. Uso de la interacción genotipo ambiente y cluster análisis para la clasificación de ambiente en papa. (S.T.L.). *Cultivos tropicales* 1987, 9 (2): 23-26.

Estévez, A.; González, M. E. y Cordero, M. Primeras variedades de papa cubanas. *Cultivos tropicales* 1994, 15 (2): 74-79.

Estévez, A. El mejoramiento genético de la papa. En: Curso Internacional de refrescamiento en el cultivo de la papa para Latinoamérica, IAC-Holanda y MINAGRI-Cuba. (1996, 1 de marzo, 19-11 abril: La Habana).

Gómez, K. R. Selección *in vitro* a la enfermedad carbón (*Ustilago scitaminea* Syd) de la caña de azúcar. Tesis de Doctorado. Universidad Central de las Villas: 1996, 95.

Hammerschlag, F. A. Optical evidence for effect of culture filtrates of *Xanthomonas campestri pv. pruni. J. Amer. Soc. Hort.* 1984, 115: 295-304.

Hartman, C. L.; Secor, G. A. Comparative response of potato leaves, tuber tissue and stem callus to culture filtrate of *Verticillum sp*. *Phytopathology* 1985 75: 1377 (Abstr.).

Hartman, C. L.; Secor, G.. A.; Venette, J. R. y Albaugh, A. Response of bean calli to filtrate from *Pseudomonas syringae pv phaseolicola* and comparison to whole plant disease reaction. *Phytopathology* 1985, 75 (11): 1377 (Abstr.).

Hernández, M.M.; Kowalski, B.; Lorenzo, P. y Ortiz, U. Efectividad del empleo de filtrados de *Alternaria solani* (Ellis y Martin) (J y G) en la selección *in vitro* de formas de resistencia. *Cultivos Tropicales*, 1991 12: 48-50.

Kowalski, B. La producción de somaclones de papa (*Solanum tuberosum* Lin.) y los primeros resultados de su evaluación bajo las condiciones de Cuba. Resumen de Tesis para optar por el grado de Doctor en Ciencias Agrícolas.La Habana. Cuba. 1991.

Kowalski, B. Mutation breeding for yield and *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary foliar resistance in potato (*Solanum tuberosum* Lin. Cv. Golden Wonder) using computarized image analysis in selection. *Potato Research*, 1999, 42: 121-130.

Lorenzo, P.; Ramos, M. y Hernández, M. M. Extracción de la toxina producida por el hongo *Alternaria alternata*. *Cultivos Tropicales*, 1992, 13 (1): 67-69.

Luke, H. y Wheeler, H.E. Toxin production by *Helmintosporium victoriae*. *Phytopathology*, 1955, 45:353-458.

Martínez, P. R. y Sinclair, M. *In vitro* selection of resistance to early blight *Alternaria solani* (Sor.) in the Andean potato (*Solanum phureja* Juz. et Buk). *Fitopatología Colombiana*, 1994, 8 (2): 90-99.

Mayea, S. y Perdomo, O. Sistema de lucha integrado contra el tizón temprano *Alternaria solani* (Sor.) en la papa (*Solanum tuberosum* Lin.). Trabajo de Diploma. Universidad Central de las Villas: 1990, 70.

Pérez, J. N. 2001. Comunicación personal.

Reestman, A. J. y de Wit, C. T. Yield and seed rate. *Netherlands Journal of Agriculture Science*, 1959.

Shepard, J. F. Protoplast as sources of disease resistance in plants. *Ann. Rev. Phytopathol*. 1981, 19:145-166.

Sonino, A.; Ancora, G..; Locardi, C. *In vitro* mutation breeding of potato En IAEA (Ed). Nuclear Techniques and *in vitro* culture for plant improvement. Proceed. International Atomic Energy Vienna: 1986, 386-394.

Veitía, N.R. y Dita, M. A. Metodología para la selección *in vitro* a la enfermedad tizón temprano (*Alternaria alternata*) en papa variedad Desirée. Tesis de Diploma. Universidad Central de Las Villas. Cuba. 1995.

Veitía, N.; Dita, M. A.; García, L.; Herrera, L.; Acosta, M.; Orellana, P.; Clavero, J.; Romero, C.; García, L. Empleo del cultivo de tejidos y la mutagénesis *in vitro* para la mejora de la resistencia a *Alternaria solani* en papa (*S. tuberosum* L.) var. Desirée. *Rev. Biotecnología Vegetal*, 2001, no. 1.

CAPÍTULO X

TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE VARIEDADES COMERCIALES

G. A. Enríquez, Natacha Soto, Vivian Doreste, L. Hernández, Marlene Pérez, R. Peral, J. Arrieta, A. Salazar, A. Fuentes, P. L. Ramos, Aleines Ferreira, Milagros Ponce, Kenia Tiel, D. Alfonso, C. Borroto, Ana Estévez, Marlene Cordero, J. G. Castillo y M. Pujol

INTRODUCCIÓN

La papa ocupa el cuarto lugar entre los diez cultivos de mayor importancia económica en el mundo. Su producción anual asciende a más de doscientos millones de toneladas, por lo cual repercute en la alimentación de gran parte de la población mundial. La tasa de crecimiento de la producción de papa, estimada por el Centro Internacional de la Papa (CIP) para el período 1993-2020, es de 2,02 % (Alvin, 2000).

Los esfuerzos en el orden técnico y científico se han orientado a mejorar los aspectos de mayor importancia agrícola de este cultivo, como son el rendimiento, la calidad, mecanización, resistencia a plagas y enfermedades y conservación e industrialización.

Sin embargo, la alta demanda para satisfacer las necesidades de alimentos y, en especial de este tubérculo, ha obligado a la agricultura moderna a combinar procedimientos clásicos como el cruzamiento, saneamiento de semillas, la micropropagación acelerada y mutagénesis al azar, con técnicas biotecnológicas más novedosas como la fusión de protoplastos y la ingeniería genética. Únicamente de ese modo se podrán alcanzar los volúmenes de producción que exige el mercado internacional. Características como la resistencia a herbicidas, a enfermedades fúngicas y a virus, figuran entre los rasgos que son necesario mejorar en las nuevas variedades que entren en fase de producción (Boletín de la papa, 2001).

Los programas de cruzamiento tradicional en este cultivo son complicados, debido a las características tetraploides de las variedades comerciales y al largo período de tiempo que se necesita para ellos. Teóricamente, mediante la transformación genética de variedades elites, es posible la introducción de caracteres de importancia agronómica y la

selección de las líneas de interés en un breve espacio de tiempo. Precisamente, la papa fue uno de los primeros cultivos comerciales, en la cual fue exitosa la regeneración de clones transgénicos (An *et al*. 1986, Shanin y Simpson, 1986).

La regeneración de plantas *in vitro* constituye uno de los elementos esenciales en la obtención de plantas transgénicas. Este aspecto es un paso crítico, en la extensión de metodologías de transformación genética en las variedades de papa con importancia económica. La ausencia de regeneración o la baja respuesta a los procedimientos de cultivo de tejidos descritos en la literatura, justifican el estudio y la estandarización de métodos de cultivo más eficientes. Otro elemento de mucha importancia para mejorar la frecuencia de transformación es el empleo de un sistema óptimo de selección. En este sentido, la transformación con genes de resistencia a herbicidas, que consiste en la expresión de esos genes en presencia del compuesto activo para el cual confieren resistencia, constituyen los marcadores de selección que permiten la identificación de las células transformadas. La expresión de esos genes está asociada a rasgos de importancia agrícola, ya que proporciona la resistencia a herbicidas totales, que a su vez controlan las malezas que afectan a los cultivos (D'Halluin *et al*., 1995).

La obtención de plantas transgénicas resistentes a diferentes enfermedades virales en el cultivo de la papa tuvo sus comienzos desde la década de los 80, cuando por primera vez Hemenway *et al*. (1988) publicaron que las plantas de papa transgénicas que expresaban la proteína de la cápsida o su ARN antisentido, podían inhibir los primeros eventos de la infección viral por un mecanismo de inhibición de la encapsidación del virus. Desde entonces hasta la fecha, se han obtenido numerosas plantas transgénicas resistentes a enfermedades. Nuevas teorías, como el silenciamiento de genes después del proceso transcripcional (PTGS), han dado a la luz nuevas explicaciones de los fenómenos de resistencia natural y han facilitado el entendimiento de fenómenos tales como la co-supresión y protección cruzada.

La papa es también vulnerable a enfermedades producidas por hongos, las cuales afectan el cultivo tanto en el momento de la plantación como durante la fase de conservación del tubérculo. Las principales infecciones son provocadas por el tizón temprano producido por *Alternaria solani* y el tizón tardío por *Phytophthora infestans*. Las estrategias empleadas para obtener plantas resistentes a hongos han estado encaminadas principalmente a la introducción de genes que codifi-

can proteínas con propiedades antimicrobianas. Entre estas se encuentran la β-1,3 glucanasa y la quitinasa tipo hidrolasas vacuolares clase1, las cuales son potentes inhibidores antifúngicos, ya que destruyen las paredes celulares de los hongos, inhibiendo su crecimiento. Otra proteína con conocida actividad antifúngica es una isoforma de osmotina llamada AP24, la cual produce permeabilidad en las membranas celulares, causando la lisis del esporangio y la inhibición del crecimiento de las hifas del hongo (King *et al*., 1986 y Singh *et al*., 1989).

Debido a la necesidad existente de lograr variedades de papa con los rasgos agronómicos mencionados, este trabajo tiene como objetivos lograr la estandarización de métodos de cultivo *in vitro*, y transformación genética y selección de plantas genéticamente modificadas de dos variedades comerciales de papa. Además, se expondrán brevemente las metodologías seguidas para la obtención de plantas trasgénicas de papa a herbicidas, virus y hongos, analizándose los aspectos regulatorios para la liberación al ambiente de estas líneas con caracteres agronómicos mejorados.

RESULTADOS DE LA BIOTECNOLOGÍA EN CUBA

Cultivo de tejidos. La papa ha sido uno de los cultivos donde se han obtenido sistemas de regeneración con mayor efectividad en prácticamente todos los tejidos de la planta. Así, por ejemplo, se ha logrado regenerar plantas de *Solanum tuberosum* L. a partir de discos de tubérculo, secciones de tallo, anteras y con mayor frecuencia a partir de hojas. En la actualidad, las aplicaciones de la biotecnología en este cultivo van desde el cultivo de tejido hasta la ingeniería genética, obteniéndose plantas con resistencia a diferentes enfermedades, herbicidas, entre otras aplicaciones de carácter industrial y biomédico.

En Cuba, la biotecnología de este cultivo ha estado enfocada hacia tres objetivos fundamentales:

i) producción de semillas libres de patógenos
ii) mejoramiento genético mediante variación somaclonal
iii) mejoramiento genético mediante técnicas de ingeniería genética

Precisamente, en este trabajo se propone exponer nuestros principales avances en la aplicación de la ingeniería genética en el cultivo de la papa.

El material vegetal que se utilizó en los experimentos de cultivo de tejidos fue tomado de plántulas *in vitro* de las variedades comerciales

de Desirée y Chieftain. Los medios de cultivo que sirvieron de base para los experimentos de regeneración-transformación aparecen detallados en la Tabla 1. Se incorporó en el medio de propagación (PP) un tratamiento con nitrato de plata (Perl *et al*., 1988) y carbón activado.

Tabla 1. Relación de los medios de cultivo empleados para la regeneración de brotes de papa transformados a partir de hojas y segmentos de tallos de plántulas *in vitro*

Medios de cultivo	Composición
Ms0	Sales MS, vitamina B1 0.4 mg.L^{-1}, myo-inositol 100 mg.L^{-1}, sacarosa 10 g.L^{-1}, nitrato de amonio 80 mg.L^{-1}, cloruro de calcio 147 mg.L^{-1}, BAP 10 mg.L^{-1}, ANA 10 mg.L^{-1} (Hulme *et al*., 1992)
MsC	Sales MS, vitamina B1 0.4 mg.L^{-1}, myo-inositol 100 mgL^{-1}, sacarosa 20 g.L^{-1}, manitol 4 g.L^{-1}, BAP 3.5 mg.L^{-1}, AIA 0.2 mg.L^{-1}, fitoagar 6 g.L^{-1}
MsB	Sales MS, vitamina B1 0.4 mg.L^{-1}, myo-inositol 100 mg.L^{-1}, sacarosa 20 g.L^{-1}, BAP 3.5 mg.L^{-1}, AG_3 3.5 mg.L^{-1}, fitoagar 6 g.L^{-1}
SC	Sales MS, vitamina B1 0.4 mg.L^{-1}, myo-inositol 100 mg.L^{-1}, sacarosa 20 g.L^{-1}, BAP 3.5 mg.L^{-1}, ANA 0.01 mg.L^{-1}, fitoagar 6 g.L^{-1}
SB	Sales MS, myo-inositol 100 mg.L^{-1}, sacarosa 20 g.L^{-1}, AG_3 3.5 mg.L^{-1}, fitoagar 6 g.L^{-1}
PP	Sales MS, vitamina B1 0.4 mg.L^{-1}, myo-inositol 100 mg.L^{-1}, pantotenato de calcio 2 mg.L^{-1}, sacarosa 30 g.L^{-1}, fitoagar 6 g.L^{-1}, carbón activado 5 g.L^{-1} y STS 1 mg.L^{-1} (nitrato de plata-tiosulfato de sodio)

Como se puede apreciar en la Figura 1, la regeneración de segmentos de tallo del cultivar Chieftain fue muy dependiente de la posición del explante con respecto a la planta *in vitro*. Los niveles 2 y 3 (N2 y N3) mostraron una mayor frecuencia de regeneración con 5 y 3.87 brotes por explante, respectivamente. Estos resultados fueron similares a los obtenidos para el caso de la variedad Desirée (resultados no mostrados). Tanto la parte más próxima al ápice como a la base, presentaron bajos niveles de formación de brotes. Esto se debe probablemente a que el contenido de auxinas endógenas varía a lo largo del tallo y, por tanto, es de esperar que haya una respuesta diferenciada de cada uno de sus segmentos dependiendo del balance presente en el momento del cultivo *in vitro*.

Transformación genética. Plásmidos y cepas bacterianas utilizadas. Para los experimentos de transformación se utilizaron los vectores binarios pCAMBIA2301 y pCAMBIA3301 (CAMBIA, Australia), que presentan los genes marcadores *npt*II y *bar* respectivamente, y el gen reportero *uid*A, todos bajo la señal de regulación del promotor 35S del CaMV y de terminación del tnos (Figura 2).

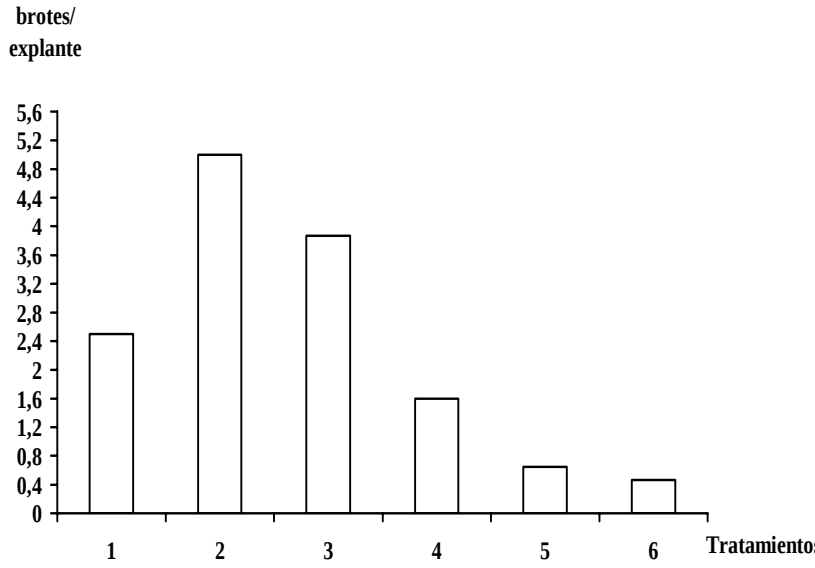
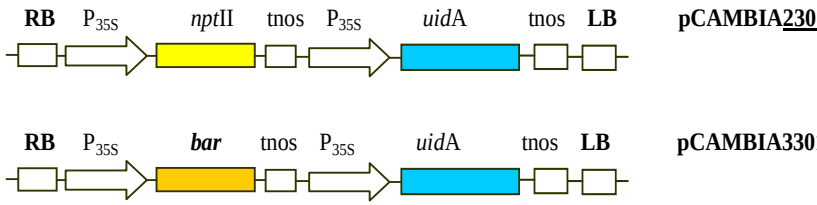


Figura 1. Influencia de la posición de los segmentos de tallos sobre la regeneración de brotes de papa (cultivar Chieftain)



RB: Borde derecho; P35S: Promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor; bar: gen que codifica para la fosfinotricina acetil transferasa; nptII: gén que codifica para la neomicina fosfotransferasa; tnos: Terminador de la nopalina sintetasa; uidA: gén que codifica para β-glucuronidasa; LB: borde izquierdo.

Figura 2. Casete de integración usado para el establecimiento de las condiciones de transformación genética en variedades de papa

Para el establecimiento de las condiciones de transformación, se utilizó la cepa de *Agrobacterium tumefaciens* At 2260. La bacteria se cultivó en medio YEB con extracto de levadura 1 $g.L^{-1}$, bacto-peptona 1 $g.L^{-1}$,

sacarosa 5 $g.L^{-1}$ y lab-lemco 5 $g.L^{-1}$, a 28ºC en la oscuridad hasta alcanzar una DO_{620} de 0.7-0.9.

Todos los explantes, tanto de hojas como de tallos, fueron cuidadosamente seleccionados como material de partida para los experimentos de transformación. Los discos de hojas fueron preincubados en un medio de cultivo con altas concentraciones de BAP y ANA (medio de choque) descrito por Hulme *et al*. (1992). Los segmentos de tallos se infectaron con *A. tumefaciens* inmediatamente después del corte o de pretratados con MS (Tabla 1).

Para la infección se utilizaron diluciones 1:20 del cultivo de *Agrobacterium*. A las 48 horas, los explantes fueron lavados con agua destilada estéril y pasados a placas con los medios de cada tipo de explante, para la formación de callos en presencia del agente selectivo y 500 $mg.L^{-1}$ de claforán. Cada vez que el explante se pasa a medio fresco, es invertida la cara del explante, facilitando el contacto con el sustrato, para garantizar que todos los tejidos accedan a los antibióticos presentes en el medio de cultivo. Por último, manteniendo el marcador de selección, estos explantes son colocados en otro medio para la formación y el crecimiento del brote. El diagrama de flujo de este experimento se explica más adelante en la Figura 3.

Se realizaron varios subcultivos en medios de selección, con el objetivo de descartar los posibles mosaicos que pudieran aparecer como consecuencia del proceso de selección. Los brotes de aproximadamente 1 cm, regenerados en presencia del antibiótico o el herbicida, se pasaron a un medio de enraizamiento (PP) manteniendo el agente de selección.

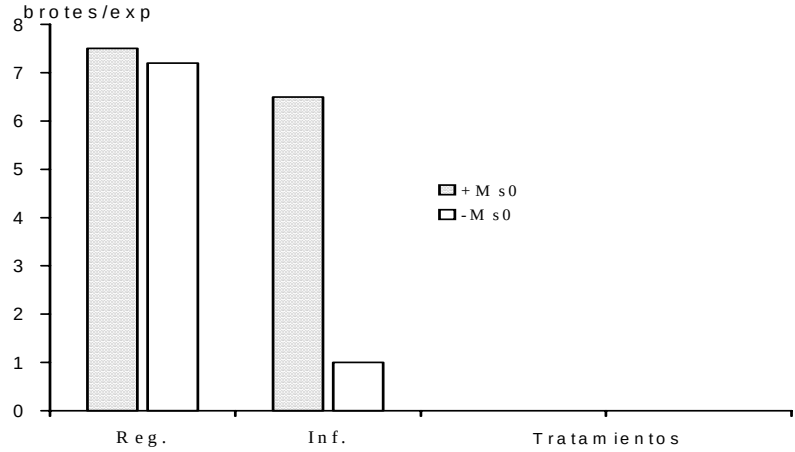
Los experimentos para la estandarización de una metodología de transformación genética en explantes de papa, se realizaron mediante la infección con *Agrobacterium tumefaciens* cepa At 2260 con los plásmidos pCAMBIA2301 (que porta el gén marcador para la resistencia a kanamicina) y pCAMBIA3301, el cual porta el gén marcador para la resistencia al herbicida comercial BASTA. Ambos plásmidos contienen además el gén reportero uidA, para los ensayos de actividad GUS.

En condiciones naturales, la rizobacteria *A. tumefaciens* tiene la capacidad de transferir e integrar un segmento de ADN (ADN-T) al genoma de un grupo de plantas, en las cuales se desarrolla una enfermedad conocida como agalla de la corona (Leemans *et al*., 1982). El ADN-T contiene genes que codifican enzimas para la producción de auxinas y

citoquininas, cuya expresión produce en el tejido vegetal una pérdida del control de la división celular, y enzimas para la producción de agropinas, que sirven de fuente de carbono y/o nitrógeno a *Agrobacterium*. Este sistema conlleva a una interacción coordinada entre la bacteria y el tejido vegetal, un grupo de factores tales como la temperatura, pH, etc, los cuales han sido intensamente estudiados. Sin embargo, una parte importante del éxito de la transformación está determinado por la eficiencia del sistema de selección.

Para la transformación con *Agrobacterium tumefaciens*, se aplicó como tratamiento un medio de cultivo con 10 $mg.L^{-1}$ de las fitohormonas ANA y BAP, para aumentar la capacidad de regeneración de explantes de hojas. Este medio fue informado por Hulme *et al*. (1992), con el objetivo de obtener un procedimiento de regeneración de plantas de papa independientemente de su genotipo. En nuestro caso, los resultados obtenidos con hojas *in vitro* de las variedades Chieftain y Desirée indican que en el procedimiento de regeneración no hubo diferencias con el uso de este medio de cultivo. Como se observa en la Figura 3, la frecuencia de formación de brotes fue similar, independientemente del tratamiento al que fueron sometidos los explantes de hojas, donde se obtuvo una eficiencia de 7.5 brotes por explante, cuando usamos el tratamiento con auxinas y 7.2 brotes por explante, cuando los explantes fueron incubados en un medio líquido MS sin hormonas.

Durante el proceso de regeneración de brotes resistentes al herbicida, se observó que el tratamiento con auxinas era necesario para aumentar la eficiencia de transformación de los explantes de hojas de las dos variedades evaluadas. La frecuencia de transformación fue significativamente incrementada en los explantes pretratados con las auxinas y posteriormente infectados con *Agrobacterium* (Figura 3). Se determinó que el tiempo óptimo de exposición de los explantes a este medio de cultivo, es de alrededor de las 12 horas en medio líquido. Cuando los explantes son incubados por un tiempo mayor del indicado, se aprecian severas afectaciones en los bordes de las hojas, hecho este que puede provocar la muerte de los tejidos. El número de brotes, resistentes al agente de selección, obtenidos del tratamiento con auxinas fue mayor que con el tratamiento donde los explantes fueron infectados directamente.



Reg. Evaluación en la regeneración
Inf. Evaluación de la regeneración de explantes infectados con *Agrobacterium*

Figura 3. Influencia del medio Ms0 (10 mg.L^{-1} de ANA y BAP) sobre la regeneración de hojas de papa

Con el objetivo de aumentar la eficiencia de transformación, se estudió el efecto de una mezcla de sustancias antinecróticas que habían demostrado un efecto estimulador de la transformación en células de plantas monocotiledóneas (Enríquez *et al*., 1997b). El comportamiento de los discos de hojas incubados en medio con ANA y BAP, y la mezcla de antioxidantes ácido ascórbico (15 mg.L^{-1}), cisteína (40 mg.L^{-1}) y nitrato de plata (2 mg.L^{-1}), durante 12 horas a la oscuridad, fue cualitativamente similar al observado en los explantes de hojas que fueron incubados solo en el medio de choque o en el MS. Esto significa que los explantes de hojas sometidos a esos tratamientos presentan al cabo de las 12 horas de cultivo un estado normal, por lo que se infiere que los explantes llegan en un estado adecuado al momento de la infección con la bacteria. En este caso, se observó un aumento de la eficiencia de transformación en explantes de hoja cultivados en presencia de los compuestos antioxidantes (datos no mostrados).

Paralelamente, se observó que en hojas de papa var. Desirée, infectadas con *Agrobacterium* (pCAMBIA3301) y cultivadas en un medio con nitrato de plata 10 mg.L^{-1}, se lograba eliminar el crecimiento de la bacteria (del mismo modo que con 500 mg.L^{-1} de claforán). Sin embargo, a los 15 días de cultivo reaparecían signos de crecimiento de la bacteria, generalmente acompañada por un notable deterioro de los

explantes. Estos resultados indican que este compuesto pudiera presentar una actividad bacteriostática contra *Agrobacterium tumefaciens*.

La transformación genética de papa a partir de explantes de tallo resultó exitosa, lo cual se comprobó mediante la selección con 2 $mg.L^{-1}$ de BASTA, en los explantes cultivados en el medio SC. Estos explantes transformados con *Agrobacterium* portando el plásmido pCAMBIA 3301 crecieron normalmente en presencia del herbicida, mientras que los explantes provenientes de plantas sin transformar no llegaron a desarrollar callos, observándose necrosis total a los 60 días de selección en el medio SC. La capacidad mostrada por este tipo de explante en cuanto a la regeneración en condiciones selectivas y la alta frecuencia de transformación, hace de los explantes de tallo el candidato más atractivo para la selección de plantas de papa transformadas con los genes de resistencia al herbicida comercial BASTA.

Los resultados demuestran que la selección con el herbicida BASTA es una alternativa viable para la obtención de plantas transgénicas de papa. No obstante, es muy importante considerar el momento de la selección en este tipo de explantes, para evitar el daño de los tejidos involucrados en la regeneración de brotes transformados. Con ese objetivo se realizaron experimentos para establecer un esquema de selección que permitiera una mayor eficiencia de transformación, utilizando para ello los ensayos de actividad GUS.

Establecimiento de las condiciones de selección. Se evaluó la sensibilidad de los explantes de papa a los antibióticos: kanamicina, higromicina y sulfadiacina, así como al herbicida BASTA. Los experimentos se realizaron a una concentración de 0-100 $mg.L^{-1}$ para los antibióticos y de 0-5 $mg.L^{-1}$ para el herbicida BASTA (PPT; SIGMA Chemical Corp., EE.UU). En este último caso, se probaron varios esquemas de selección en los que se combinó tanto la concentración como la etapa de regeneración-enraizamiento, en la que este compuesto estaba presente en el medio de cultivo.

Además, se tuvo en cuenta que los medios no presentaran aminoácidos, ya que estos interfieren en la selección con BASTA. La proliferación de callos y la sensibilidad al producto activo en los explantes fueron analizados visualmente a los siete días de cultivo. Se tomaron los resultados de dos experimentos independientes.

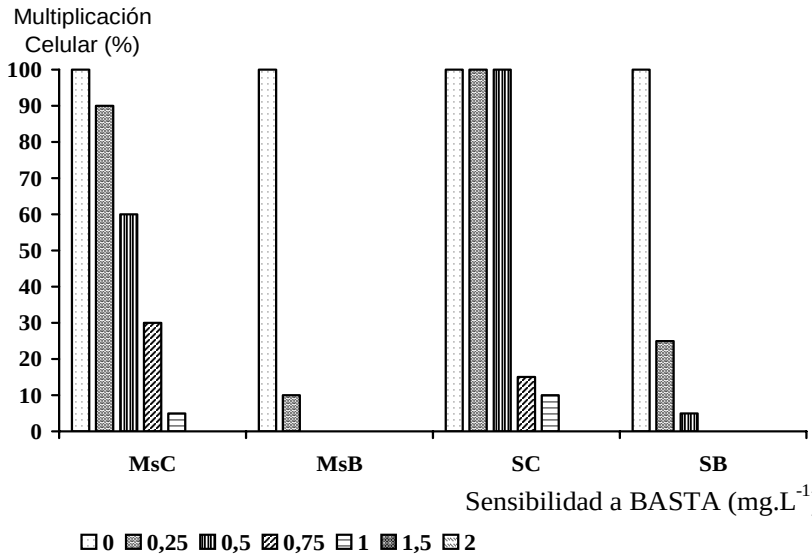
La utilización de un agente selectivo en los procedimientos de transformación es esencial para obtener plantas transgénicas y además evi-

tar la producción de quimeras. Por este motivo, nos propusimos determinar la efectividad de varios de los compuestos que presentan una reconocida actividad citotóxica en explantes de papa.

Se verificó la sensibilidad de los explantes de papa a los agentes de selección kanamicina, sulfadiacina, higromicina y fosfinotricina. Los resultados obtenidos en kanamicina confirman que una concentración de 100 $mg.L^{-1}$ es suficiente para inhibir el crecimiento de todos los tejidos *in vitro* de papa. Estos resultados coinciden con los informados en la literatura por distintos grupos (Wenzler *et al*., 1989). Del mismo modo, se realizaron gradientes con higromicina y sulfadiacina, determinándose la eficacia de estos productos como potenciales agentes selectivos en explantes de papa. Se determinó que los explantes de papas resultan sensibles a ambos agentes a una concentración de 30 $mg.L^{-1}$ (datos no mostrados).

Sin embargo, el uso de genes de resistencia a antibióticos para la obtención de plantas transgénicas, fundamentalmente los de uso humano como la kanamicina e higromicina, han tenido una fuerte oposición por determinados grupos "ecologistas" (*www.safe-food.org*). Este hecho determinó que en Europa se haya declarado una moratoria en el mercado para los productos transgénicos que presenten resistencia a este tipo de antibióticos. Lo anterior ha obligado a cambiar la estrategia de selección, por lo que se hace atractivo el empleo de genes de resistencia a herbicidas durante la selección *in vitro*. En nuestro caso hemos decidido utilizar la variante de selección con el herbicida BASTA.

En la Figura 4 aparecen los resultados de la evaluación de sensibilidad de explantes de hojas y segmentos de tallos de papa variedad Desirée a diferentes concentraciones del herbicida BASTA. Estos resultados indican que 2 $mg.L^{-1}$ del herbicida permite una selección efectiva de los explantes de papa. Los explantes bajo ese tratamiento no fueron capaces de dar lugar a callos ni a brotes. La presión selectiva ejercida sobre los explantes de papa produjo, en un lapso de siete días, una necrosis visible que condujo a la muerte de los tejidos. Los explantes de hoja resultaron mucho más sensibles a este herbicida, por lo que fue necesario retirar este agente en la última etapa del cultivo para que se produjeran los brotes. Con 1 $mg.L^{-1}$ de PPT, solo el 15 % de los explantes cultivados presentaron ligeras callosidades a lo largo de hojas colocadas en medio MsC. A esa misma concentración no se obtuvo regeneración de brotes en la subsiguiente fase de cultivo (medio MsB), observándose además rigidez y vitrificación del tejido.



MsC (crecimiento de callos) y MsB (formación de brotes) y segmentos de tallos SC (crecimiento de callos) y SB (formación de brotes) al herbicida BASTA (0 a 2 $mg.L^{-1}$)

Figura 4. Sensibilidad de los explantes de hojas

Actividad GUS. La expresión del gén uidA en los tejidos de hojas y segmentos de tallos de papa, infectados con *A. tumefaciens*, fue monitoreada a través del ensayo histoquímico de actividad ß-glucuronidasa. La actividad GUS transitoria se midió inmediatamente después del cocultivo en los explantes infectados colocando en una solución de X-Gluc (Jefferson, 1987).

El desarrollo de un sistema de transformación eficiente debe contemplar necesariamente la transferencia de genes que permitan su identificación y de las células transformadas. Entre los genes que comúnmente han sido empleados para estos propósitos están los llamados reporteros, que codifican enzimas cuya acción sobre un sustrato puede ser detectada; por ejemplo, un sustrato cromógeno, que al ser modificado produzca una coloración que permita la identificación en el tejido de la zona transformada, tal es el caso del gén uidA que codifica la enzima β-glucuronidasa.

Se midió la actividad GUS en explantes de hojas y tallos sometidos a diferentes condiciones de selección: en algunos explantes se aplicó la selección inmediatamente después del cocultivo; otro grupo de explantes se puso en contacto con el agente selectivo de tres a 10 días después del cocultivo y un tercer grupo se le aplicó la selección después de los 15 días. La actividad GUS en los explantes seleccionados inmediatamente después del cocultivo fue menor que la de aquellos que estuvieron de tres a 10 días de descanso antes de la selección. En los explantes en los que no se colocó presión selectiva en los primeros 15 días no se detectó actividad GUS, lo cual pudiera deberse a que las células no transformadas tuvieron mayores posibilidades de crecimiento en estas condiciones.

Teniendo en cuenta que la regeneración de la papa ocurre en un período relativamente corto (un mes), consideramos necesaria la incorporación de la selección con fosfinotricina lo más rápido posible después de la infección para evitar mosaicos y falsos positivos. Los explantes que se mantuvieron con PPT desde el principio exhibían poco crecimiento y algunos daños, pero todos los pequeños callos mostraron actividad histoquímica GUS. De estos resultados se deriva la importancia que tiene, para obtener una alta eficiencia de transformación, conocer el momento adecuado para el inicio de la selección con PPT.

Análisis por PCR. La presencia del gén bar en brotes resistentes a BASTA fue detectada mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las extracciones de ADN de las hojas *in vitro* (Dellaporta *et al*., 1983) y las reacciones de amplificación se llevaron a cabo según Klimyut *et al*. (1993). Como cebadores en las reacciones de amplificación, se utilizaron los oligonucleótidos sintéticos bar 6030 (5'CGAGACAAGCACGGTCAACTTC3'- cebador directo) y bar 6031 (5'AACCCACGTCATGCCAGTTC3'- cebador reverso). Los productos de PCR fueron analizados en un gel de agarosa a 0.8 %.

Los brotes de papa resistentes al agente de selección fueron sometidos al análisis por PCR. El ADN se extrajo a partir de hojas de plántulas *in vitro* de las variedades Chieftain y Desirée. La amplificación de los 402 pb correspondiente al gén *bar* indica que el evento de transformación fue efectivo en las muestras analizadas (datos no mostrados). Esto nos permite inferir que hubo una adecuada transferencia de los genes contenidos en el vector pCAMBIA 3301. En las plantas no transformadas, utilizadas como controles negativos, no se detectó reacción de amplificación con los oligonucléotidos del gén *bar*. Este ensayo y la resistencia a PPT, complementada con la adecuada eficiencia de rege-

neración, fueron los elementos que se consideraron para los estudios de optimización de los protocolos de regeneración discutidos en este trabajo (Figura 5).

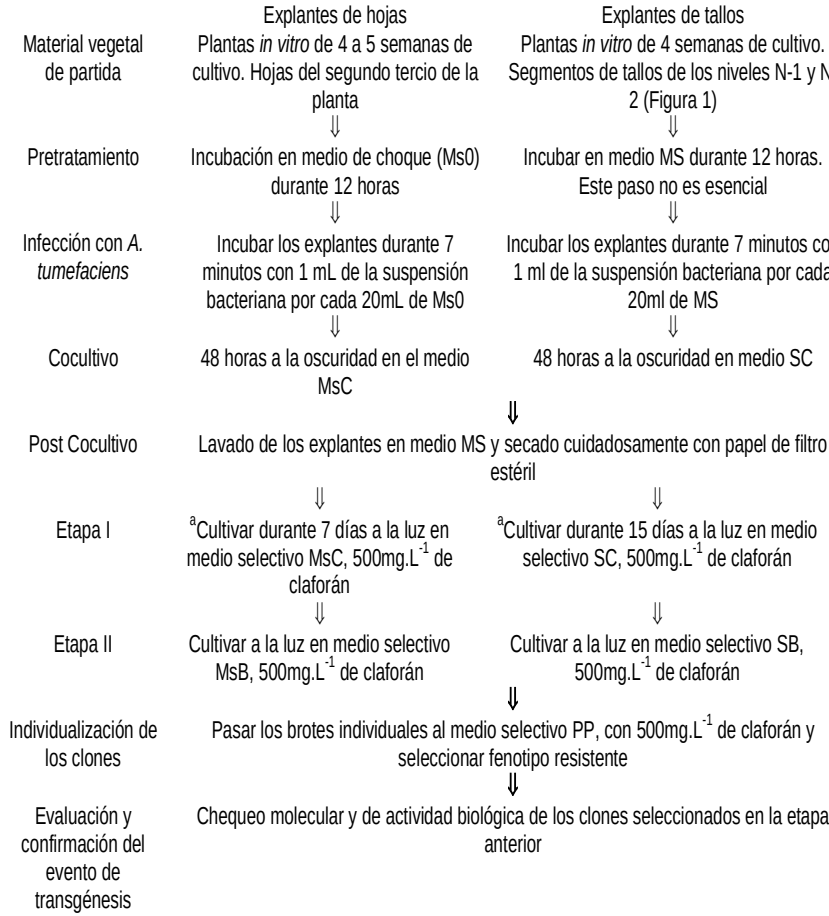


Figura 5. Protocolos para la transformación genética de explantes de hojas y segmentos de tallos de papa de los cultivares Désirée y Chieftain. El inicio y la concentración del agente selectivo dependen del tipo de selección y del explante

Plantas transgénicas de papa que expresan proteinas de interés agrícola. La tecnología de regeneración-transformación, discutida en este trabajo, ha servido de base para la obtención de las plantas transgénicas de papa que se desarrollan en el CIGB, en los proyectos relacionados con

la expresión de proteínas de interés agrícola. Se trabaja en la obtención de plantas transgénicas resistentes a herbicidas (en preparación), a patógenos fungosos y a enfermedades virales. En estos momentos, existen diferentes clones en fase de evaluación (experimentos de parcela en el INCA y en la IIHLD), por lo que ha sido necesaria la obtención de licencias del Centro Nacional de Seguridad Biológica (CNSB), para realizar los ensayos de liberación de las plantas transgénicas de papa en parcelas experimentales.

Clonaje de genes virales y antifúngicos en vectores de plantas. Se utilizó la misma estrategia para el clonaje de los genes virales de la proteína de la cápside (PC) en vectores de plantas de los virus X, Y y PLRV. Se partió de un clón cDNA que contenía el gén de la PC o de la replicasa (REP). Se introdujeron los sitios de restricción específicos mediante PCR, de manera que facilitara el clonaje de estos genes en el vector pBPFW8 de planta. Utilizando la batería de enzimas diseñadas para aislar los genes clonados en el vector pBPFW8, un fragmento de 2,5 Kb fue digerido desde el vector pBPFW-(PC) o (REP) y clonado en el sitio de restricción específico en el vector binario pDE1001, obteniéndose los clones pDE-PC y pDE-REP, los cuales contenían el gen de la neomicina fosfotransferasa (npt II) como marcador de selección.

La combinación de genes antifúngicos β-1,3 Glucanasa-AP 24 y β-1,3 Glucanasa-Quitinasa fueron clonados en el vector pDE 1001, rindiendo los plásmidos pHGA 37 y pHGC 39, respectivamente. Estos genes se extrajeron de las construcciones pHGL23, pHAP13 y pHCH5, respectivamente.

Para la transformación genética con las construcciones virales y antifúngicas, se infectaron con *Agrobacterium tumefaciens* explantes de hojas y tallos de plantas de papa var. Desirée.

Plantas transgénicas de papa resistentes a virus. Los virus PVX, PVY y PLRV están considerados entre las enfermedades que mayores afectaciones producen al cultivo de la papa. Se ha estimado hasta un 90 % de las pérdidas de las cosechas cuando existe mosaico o combinaciones de los tres virus en una misma planta. El desarrollo de la biología molecular e ingeniería genética ha brindado nuevos horizontes, para el conocimiento de diferentes técnicas que pueden ser aplicadas en la agricultura y así enfrentar las diferentes enfermedades producidas por virus en paralelo a las medidas fitosanitarias que se apliquen.

Los diferentes clones *in vitro* fueron sembrados en macetas individuales en condiciones de invernadero. Un total de 100 clones con tres réplicas cada uno fueron analizados; diez días después de sembrados los clones fueron inoculados con 10 $mg.mL^{-1}$ del virus puro. Para determinar si los clones eran resistentes, se colectaron dos discos de las hojas más jóvenes de cada planta para ser analizados por la técnica inmunoenzimática ELISA. Se tomaron como parámetro de resistencia aquellos valores de densidad óptica por debajo o igual al valor de densidad óptica de los controles sanos.

Teniendo en cuenta los valores de la media de la densidad óptica de cada uno de los clones obtenidos en invernadero, 16 clones fueron seleccionados como resistentes para ser evaluados en el experimento de campo. Sesenta plantas de cada clón y plantas no transformadas (Dessirée) fueron micropropagadas *in vitro* como réplicas. El campo fue dividido en 51 bloques al azar, con 20 plantas en cada bloque; tres semanas después de transplantadas se inocularon mecánicamente con 10 $mg.mL^{-1}$ del virus puro. Las muestras desde controles sanos e inoculados fueron analizadas para la acumulación de virus cada 15 días por ELISA. Estos 16 clones, según los resultados de densidad óptica obtenidos, fueron clasificados en dos grupos: resistentes (54, 60, 73 y 91 clones) y medianamente resistentes (el resto de los 12 clones). En los clones resistentes la acumulación de virus fue inhibida en las hojas sistémicas al cabo de los 15, 30, 45 y 60 días después de la inoculación. Los clones medianamente resistentes también redujeron la acumulación de virus, pero mostraron menores niveles de protección a la infección de PVX. En los clones resistentes, un ligero incremento en la acumulación del virus fue observado desde los 15 a los 60 días después de la infección. Un comportamiento similar pero en un grado significativamente mayor fue observado en plantas no transformadas, las cuales mostraron alta cantidad de acumulación de virus en los diferentes días después de la inoculación (Doreste *et al*., 2002).

Para obtener plantas de papa resistentes al virus PLRV, se clonaron en vectores de plantas pBP8 y pDE 1001 el gén de la proteína de la cápsida del virus, el gén de la proteína de la cápsida modificada y el gén de la replicasa viral. La infección de cada una de las plantas se realizó colocando cinco áfidos en las hojas más jóvenes, previamente infestados con plantas de papa enfermas con el virus PLRV. Al cabo de siete días después de la infección, se eliminó la población de áfidos para evitar la muerte de las plantas. Cada 15 días se tomaron muestras

de las hojas más apicales de cada clón y se analizaron los valores de densidad óptica obtenidos por ELISA. Aquellos clones cuyos valores de densidad óptica eran igual o por debajo de los valores de densidad óptica de los controles sanos, fueron seleccionados como resistentes a la infección.

Alrededor de 10 tubérculos de cada uno de los 118 clones fueron llevados a experimentos de campo, los cuales resultaron tener valores de densidad óptica menores o igual a la media de la densidad óptica de los controles sanos. El experimento en campo se encuentra en curso, resultados parciales nos han permitido identificar los clones que mantienen bajos niveles de infección en comparación con clones que tienen un comportamiento similar al de los controles enfermos.

Plantas transgénicas de papa resistentes a hongos. Los hongos se encuentran entre los microorganismos que provocan las mayores pérdidas en la agricultura. Del mismo modo que para el tema de virus e insectos, la ingeniería genética vegetal ha encontrado vías para abordar la resistencia a enfermedades producidas por hongos.

Se clonaron en el vector pDB1001, los genes de quitinasa de *Phaseolus vulgaris*, β-1,3-glucanasa, *Nicotiana tabacum* y AP24, de *Nicotiana tabacum*, para la expresión constitutiva en líneas transgénicas de papa var. Desirée. Se obtuvieron más de 100 clones de cada combinación, los cuales fueron adaptados en condiciones de casas verdes y posteriormente transferidos a campo. Los experimentos de campo están en fase de evaluación.

Detección de la expresión por ELISA. Para la determinación de la expresión de los genes virales en las plantas de papa transgénicas se tomaron discos de hojas terminales bien desarrolladas de cada una de las plantas (Ramos *et al*., 1995). Los discos de hojas fueron homogenizados en PBS-T-PVP (0,15 M NaCl, 1,5 mM KH_2PO_4, 8 mM $Na_2HPO_4.7H_2O$, 2,7 mM KCl, 0,05 % [v/v] Tween 20, 1 % [p/v] Polivinilpirrolidona).

Estos extractos fueron aplicados en los pocillos de microplacas, los cuales habían sido tamizados con anticuerpos IgG anti-PVX, anti-PVY y anti-PLRV, para cada uno de los casos. Las microplacas fueron incubadas durante 2 h a 37°C y lavadas con PBS-T-PVP. La unión a los antígenos virales fue detectada con IgG anti-PVX, -PVY o -PLRV conjugado con fosfatasa alcalina y 4-nitrofenilfosfato. La formación de color se midió a 405 nm con un lector de microplacas SUMA (Tecnosuma, Habana, Cuba). Las muestras en que la lectura de la densidad óptica fue dos veces mayor que la de las plantas sanas se consideraron susceptibles a la infección viral.

Análisis de las plantas transgénicas mediante northern-blot. Se purificaron ácidos nucleicos totales de hojas sanas jóvenes y se precipitó el ARN total con LiCl (Majeau y Coleman, 1991). El ARN fue separado mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % con 2.2 M de formaldehido y transferidas a una membrana de nylon Hybond-N. Las condiciones de prehibridación, hibridación, y lavados son las descritas por Sambrook *et al*. (1989). La sonda fue preparada por marcaje de cebadores al azar (Feinburg y Vogelstein, 1983). El filme fue expuesto durante 48 h.

Liberación de las plantas transgénicas. La evaluación de la actividad biológica en las plantas transgénicas resistentes a enfermedades es compleja, ya que es necesario garantizar un grupo de condiciones que en ocasiones es imposible controlar. Sin embargo, este esfuerzo se simplifica cuando se trata de evaluar caracteres como la resistencia a herbicidas. Los herbicidas tienen la ventaja adicional de que su actividad puede comenzar desde el mismo inicio de la transformación, cuando el producto es utilizado como agente selectivo. Esta es la razón por la cual la resistencia a herbicidas tiene una alta contribución, desde el punto de vista metodológico, a los estudios de liberación que se realizan en otros proyectos de papa que se llevan a cabo en nuestras instituciones.

El potencial de intercambio genético con otros organismos no relacionados es prácticamente nulo. La papa no dispone de mecanismos especializados para el intercambio genético con otros organismos y las probabilidades de intercambio a través de virus o mediante transformación natural de bacterias con ADN liberado por la planta son bajas, prácticamente nulas, según ha sido demostrado por Alvin (2000).

La explotación extensiva de las plantas transgénicas ha estado limitada, debido a grupos que rechazan esta tecnología. Sin embargo, existe una gran expectativa por los productos obtenidos de las plantas transgénicas, esperándose que, en un futuro cercano, su comercialización rebase los niveles que actualmente ocupan los productos no transgénicos en el mercado mundial.

La cosecha de la papa en Cuba, la cual está controlada por el Ministerio de la Agricultura, se basa en la implementación del cultivo intensivo. La ingeniería genética proporciona las herramientas para elevar los rendimientos de las cosechas, pero su completa extensión ha presentado serias afectaciones, debido a las voces de grupos fundamentalistas que frenan la comercialización de los productos obtenidos mediante esta tecnología. Este hecho ha obligado a las institucio-

nes responsables del desarrollo de la Biotecnología a elaborar propuestas alternativas para la inserción en el mercado de productos de plantas transgénicas. La incorporación de la papa transgénica en el mercado, según el razonamiento anterior, presentaría una situación relativamente favorable, ya que el tubérculo solo puede ser consumido luego de ser sometido a procesos industriales o cocinado y no como células vivas. En una propuesta realizada al CNSB, se considera que para la seguridad alimentaria se combinen el uso de los productos transgénicos y no transgénicos, para lograr rendimientos elevados y reducir los elementos tóxicos de las cosechas.

AGRADECIMIENTOS

A Roberto Pérez, por su valiosa ayuda en el mantenimiento de los experimentos en casas verdes y parcela experimental.

BIBLIOGRAFÍA

Alvin, C. Cultivos y alimentos genéticamente modificados. Disponible en http://www.agbioworld.org/biotech_info/articles/resumen.html. Accedido en el 2002.

An, G..; Watson, B. D. y Chiang, C. C. Transformation of tobacco, tomato, potato and *Arabidopsis thaliana* using a binary Ti vector system. *Plant Physiology,* 1986, 81: 301-305.

Boletín de la Papa, vol. 2, no. 23, Disponible en: http://redepapa.org/boletinveintinueve.html accedido en 2002.

D'Halluin, K.; De Block, M.; Denecke, J.; Janssens, J.; Leemans, J.; Reynaerts, A. y Botterman, J. The bar gen as selectable and screenable marker in plant engineering. Methods In Enzymology. Recombinant DNA Methodology. Edited by Ray Wu. Academic Press, Inc. 1995. p. 157-168.

De Block, M. Genotype-independent leaf disc transformation of potato (*Solanum tuberosum* L.) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Theor. Appl. Genet*. 1988, 76:767-774.

Dellaporta, S.; Wood, J.; Hicks, B. A plant minipreparation: Version II. *Plant Mol. Biol*. 1983. Rep. 4: 19-21.

Doreste, V.; Ramos, P. L.; Enríquez, G.. A.; Rodríguez, R.; Peral, R.; Pujol, M. Transgenic potato plants expressing the potato virus X (PVX) coat protein gene developed resistance to the viral infection. *Phytoparasitica*, 2002, 30 (1).

Enríquez, G. A.; Fuentes, A.; Selman-Housein, G..; Téllez, P.; Soto, N.; Pérez, M. y Oramas, P. Effect of different culture methods on *in vitro* regeneration of potato (*Solanum tuberosum* L.) c.v. Chieftain. *Biotecnología Aplicada* 1997a, 14 (3): 181-184.

Enríquez, G.. A.; Vázquez, R.; Prieto, D.; Pérez, M. y Selman-Housein, G. Genetic transformation of sugarcane by *Agrobacterium tumefaciens* using antioxidant compounds. *Biotecnología Aplicada* 14 1997b, (3): 169-174.

Feinburg, A. P. y Vogelstein, B. A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Analyt. Biochem*. 1983. 132:6-13.

Hemenway, C.; Fang, R.; Kaniewski, W.; Chua, N. y Tumer, N. Analysis of the mechanism of protection in transgenic plants expressing the potato virus X coat protein or its antisense RNA. *EMBO* J., 1988, 7:1273-80.

Herrera-Estrella, L. Transfer and expression of foreign genes in plants. PhD thesis. Laboratory of Genetics, Gent University, Belgium, 1983.

Hiei, Y.; Ohta, S.; Komari T. y Kumashiro, T. Efficient transformation of rice (*Oryza sativa*) mediated by Agrobacterium and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. *The Plant Journal*, 1994. 6(2):271-282. http://www.sica.gov.ec/cadenas/papa/docs/mundial.html

Hulme, J. S.; Higgins, E. S. y Shields, R. An efficient genotype independent method for regeneration of potato plants from leaf tissue. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1992, 31:161-167.

Jefferson, R. A. Assaying chimeric genes in plants: the gen fusion system. *Plant Mol. Bio*l. Rep. 1987, 5: 387-405.

King, G.. J.; Hussey; C. E. y Turner, V. A. A protein induced by NaCl in suspension cultures of *Nicotiana tabacum* accumulates in whole plant roots. *Plant Mol. Biol*. (1986), 7:441-449.

Klimyut, I.; Bernard, J. C.; Colwin, M.T. y Jones, D. J. Alkali treatment for rapid preparation of plant material for reliable PCR analysis. *Plant Journal* ,1993, 3(3): 493-494.

Leemans, J.; Deblaere, R.; Willmitzer, L.; De Greve, H.; Hernalsteens, J.; Van Montagu, M.; Schell, J. Genetic identification of functions of TL-DNA transcripts in octopine crown galls. *EMBO J*, 1982, 1:147-152.

Majeau, N.; Coleman, J. R. Isolation and characterization of the cDNA coding for pea chloroplastic carbonic anhydrase. *Plant Physiol*. 1991, 95:264-268.

Murashige, T.; Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Plant Physiol*, 1962, 15:473-479.

Newell, C. A.; Rozman, R.; Hinchee, M. A.; Lawson, E. C.; Haley, L.; Sanders, P.; Kaniewski, W.; Tumer, N. E.; Horsch, R.B. y Fraley, R.T. Agrobacterium-mediated transformation of *Solanum tuberosum* L. cv. 'Russet Burbank. *Plant Cell Reports*, 1991, 10:30-34.

Perl, I. A.; Aviv, D. y Galun, E. Ethylene and *in vitro* culture of potato: suppression of ethylene generation vastly improves protoplast yield, planting efficiency and transient expression of an alien gene. *Plant Cell Reports*, 1988, 7:403-406.

Ramos, P. L.; Doreste, V.; Ramírez, N.; López, M. y Oramas, P. Detección de PVX en plantas de papa por Micro-ELISA usando anticuerpos monoclonales *Revista Centro Agrícola*, 1995, 1:70-75.

Sambroook, J.; Fritsch, E. F.; Maniatis, T. Molecular cloning: A laboratory manual 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY. 1989.

Shahin, E. A. y Simpson, R. B. Gene transfer system for potato. *Hort. Science*, 1986, 21: 1199-1201.

Sheerman, S. y Bevan, M. W. A rapid transformation method for *Solanum tuberosum* using binary *Agrobacterium tumefaciens* vectors. *Plant Cell Reports*, 1988, 7: 13-16.

Singh, N. K.; Nelson, D. E.; Kuhn, D.; Hasema, P. M. y Bresson, R. A. Molecular cloning of osmotic and regulation of its expression by ABA and adaptation to low water potential. *Plant Physiol*, 1989, 90:1096-1101.

Wenzler, H.; Mignery, G.; May, G.. y Park, W. A rapid and efficient transformation method for the production of large numbers of transgenic potato plants. *Plant Sci*, 1989, 63:79-85. www.safe-food.org. Accedido en 2002.

CAPÍTULO XI

ALGUNAS APLICACIONES DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN EL ESTUDIO DEL GERMOPLASMA CUBANO

J. G. Castillo, Dania Vargas y María M. Hernández

INTRODUCCIÓN

Las bases fundamentales de la genética poblacional han sido bien establecidas hace ya bastante tiempo; sin embargo, poco se ha hecho en cuanto a la caracterización de las colecciones de germoplasma, si lo comparamos con los extraordinarios avances alcanzados por la biología molecular de las últimas décadas. La información cualitativa y cuantitativa sobre la diversidad es un aspecto esencial de muchos campos en la Biología, tanto fundamental como aplicada y en especial en el mejoramiento genético y la conservación de los recursos fitogenéticos (Edwards, 1998).

Existen muchas técnicas de marcadores moleculares que ofrecen información sobre la diversidad. Estas técnicas constituyen una caja de herramientas, a partir de la cual se pueden seleccionar los implementos para resolver problemas en algunos de los campos antes mencionados. Las técnicas moleculares se clasifican en dos categorías fundamentales, según la técnica en que se basen: marcadores detectados por hibridación, dentro de los cuales se encuentran los RFLP, VNTR y los ADN chips (*Oligonucleotide arrays*) y los marcadores basados en el PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Estos a su vez se dividen en marcadores de PCR con cebadores de secuencia arbitraria, dentro de los cuales están los RAPD, DAF, ASAP, MAAP, ASOF; los marcadores de PCR con cebadores de secuencia semiarbitraria como AFLP, PCR con micosatélites (SSR, MP-PCR, ISA, RAMP y SAMPL) y los marcadores de PCR con cebadores específicos como los CAPS (PCR-RFLP) los SCAR y los SNP (Cornide *et al*., 2002).

La introducción de la reacción en cadena de la polimerasa, basada en el ADN *fingerprinter*, ofrece una técnica novedosa para la identificación de cultivares, que tiene como ventaja su sensibilidad, simplicidad, rapidez y bajo costo. Una de las técnicas más usadas y basadas en este principio anteriormente explicado, es la del polimorfismo de la

longitud de los fragmentos amplificados (AFLP), la cual permite generar una gran cantidad de información sobre la diversidad genética y relaciones filogenéticas del germoplasma utilizado por el mejorador (Vos *et al*., 1995).

La técnica del polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados representa una de las metodologías más importantes para los estudios del germoplasma, puesto que se pueden detectar decenas de marcadores polimórficos, lo que hace posible la construcción de un mapa genético con 200-300 marcadores con solo seis o siete geles de alta resolución; en segundo lugar, porque se requiere conocimiento previo del genoma en estudio, lo cual hace a la técnica muy adecuada para estudios de evaluación de germoplasma, biodiversidad y estudios de relaciones genéticas y, en tercer lugar, por su alta repetibilidad comparada con otras técnicas como RASD y RFLP (Del Río *et al*., 2001).

La técnica de AFLP ha permitido detectar un polimorfismo elevado entre las diferentes especies de plantas, la cual fue originalmente concebida para la construcción de mapas de marcadores de ADN de alta densidad para investigaciones de genómica. Es igualmente adecuada en las aplicaciones de análisis genéticos, lo cual requiere mayor densidad de ADN. En el cultivo de la papa ha sido utilizada exitosamente, entre otras, en la caracterización del germoplasma (Bryan, *et al*., 2000), en estudios sobre la conservación *in vitro* del germoplasma (Ford-Lloyd, 2019) y en estudios de relaciones filogenéticas (Straadt y Rasmussen, 2003).

En este capítulo se presentan algunos de los resultados de la aplicación de los marcadores AFLP en los estudios del germoplasma de papa, dirigidos básicamente a estudios de estimación de la variabilidad genética, determinación de muestras duplicadas y estabilidad genética de especies conservadas *in vitro* por largos períodos de tiempo.

Secuencia general del proceso. El ADN se extrae a partir de hojas de plantas provenientes del cultivo en cuestión, utilizando un kit de purificación de ADN genómico de Promega (*Wizard ADN Genomic Purification Kit*) o se puede utilizar el método de Dellaporta *et al*. (1993).

La digestión del ADN genómico se realiza a partir de 0.5 µg, con dos enzimas de restricción, una de corte raro AseI (6 pb) y otra de corte frecuente TaqI (4 pb).

La ligazón de los adaptadores de doble cadena (ds) a los extremos de los fragmentos de restricción, se hace en presencia de la T4 ligasa incubándose a 16ºC toda la noche; posteriormente, se realiza la preamplificación de un subgrupo de fragmentos de restricción, usando dos

cebadores complementarios a cada una de las secuencias de los adaptadores y al sitio de restricción; aquí se produce la extensión de los extremos 3 con un nucleótido selectivo. Se realiza una segunda amplificación utilizando otros dos cebadores con tres nucleótidos selectivos y cinco combinaciones de estos; los patrones de banda generados son separados mediante la electroforesis en geles de poliacrilamida (6.5 % buffer de corrida TBE 0.5 %, con 2000 voltios y 30 watt de potencia) en condiciones desnaturalizadas de los productos amplificados de los fragmentos de ADN se realiza por medio de la tinción con nitrato de plata utilizando el *kit Silver sequence* ^{TM} *DNA Sequencing* (PROMEGA, 2002). Por último el gel fue secado a 80 grados durante una hora y escaneado (Figura 1).

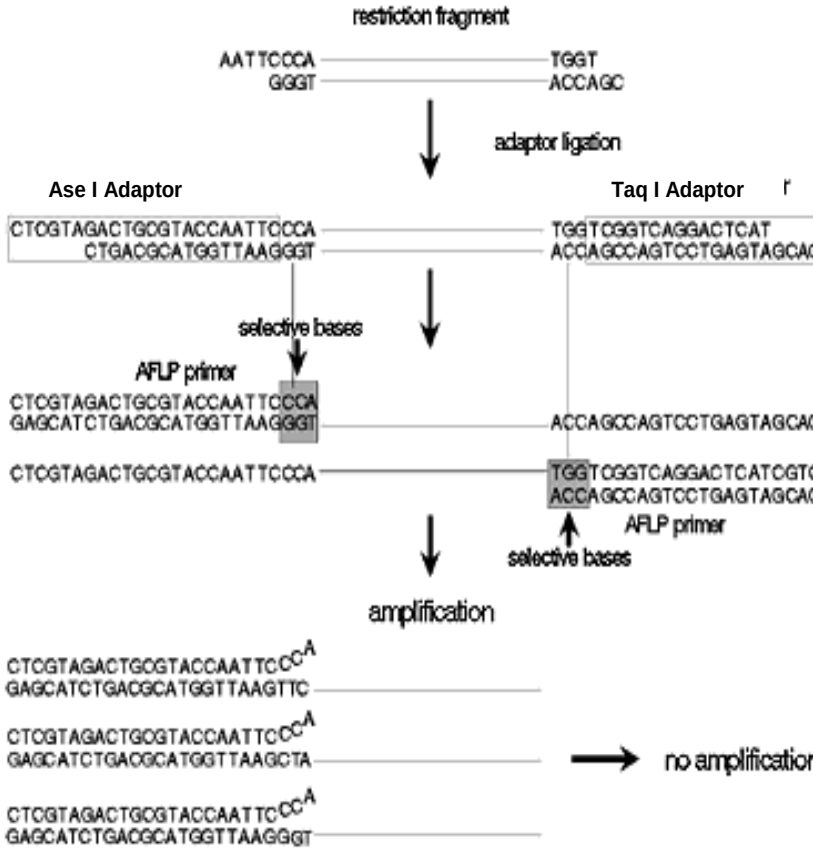


Figura 1. Secuencia general de la técnica AFLP

Estimación de la variabilidad genética en el germoplasma de papa mediante el empleo de AFLP. El objetivo de la conservación de los recursos fitogenéticos de las plantas, es conservar tanto como sea posible la amplia base genética de plantas, con la expectativa de que se maximicen los cambios en el uso potencial de los genes (Del Río *et al*., 2001, Bamberg y Del Río, 2003). Los métodos clásicos para estimar la diversidad genética entre los grupos de plantas, han estado basados fundamentalmente en los caracteres morfoagronómicos; sin embargo, estos pueden estar influidos en alta medida por los factores ambientales (Zhut *et al*., 1998).

Los marcadores moleculares evitan muchas de estas complicaciones, pues permiten distinguir los materiales genéticos a nivel de ADN. Estos representan, por lo tanto, un método eficiente y rápido para caracterizar la diversidad de las colecciones *in situ* y *ex situ* (Ford-Lloyd, 2001). Teniendo en cuenta los elementos antes mencionados, se llevó a cabo este estudio, con el objetivo de estimar la variabilidad genética presente en el germoplasma de papa cubano con el uso de los marcadores AFLP.

Para desarrollar este trabajo se estudiaron 28 accesiones de papa (*Solanum tuberosum*, L.) de la colección base del banco de germoplasma del INCA en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (Tabla 1).

Tabla 1. Especies estudiadas, número de accesiones y procedencia de cada una de ellas

No.	Especies	No. de accesiones	Procedencia
1	*S. brachycarpum* Corr.	1	Rusia
2	*S. flenderi* Gray	1	Rusia
3	*S. politrichon* Rydb	2	Rusia
4	*S. stoloniferum* Schelchtd	1	Rusia
5	*S. coriacetifoliolatum* Lechn	1	Rusia
6	*S. jamesii* Torr	1	Rusia
7	*S. pinnatisectum* Dum	1	Rusia
8	*S. schuteri* Buk	1	Rusia
9	*S. brbicaule* Bitt	1	Rusia
10	*S. sparsipilim* Bitt	1	Rusia
11	*S. commersonii* Dun	2	Rusia
12	*S. parodii* Yuz et Buk	1	Rusia
13	*S. dolichostigma* Buk	1	Rusia
14	*S. chacoense* Bitt	1	Rusia
15	*S. urumbambae* Yuz	1	Rusia
16	*S. setulosistilum* Bitt	1	Rusia
17	*S. tuberosum* Lin	4	Holanda
18	*S. tuberosum* Lin	6	Cuba

Las muestras se tomaron de plantas provenientes del campo y en el momento en que estas presentaban su máximo desarrollo. A estas se les extrajo el ADN genómico total, según el método descrito por Dellaporta *et al*. (1993), comprobándose su calidad por el chequeo electroforético en geles de agarosa 0.8 % para posteriormente realizar el análisis de AFLP, según la metodología descrita por Vos *et al*. (1995), utilizando primers y adaptadores obtenidos en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB).

Los patrones de bandas se caracterizaron por un valor numérico de 0 (ausencia de banda) y 1 (presencia de la banda). Los patrones AFLP de cada genotipo se utilizaron para el cálculo de las relaciones genéticas, utilizando para ello el sistema de programas SPSS versión 10.0, donde a partir de la matriz de la combinación más polimórfica utilizada se hizo análisis de agrupamiento, según el coeficiente de similitud de Jaccard y se estimó la variación genética, como el coeficiente de distancia genética (DG) entre los genotipos. Este fue calculado como el complemento del coeficiente de *simple matching* (apareamiento simple): entre el número de loci con bandas comunes y el número total de loci obtenidos (Del Rio *et al*., 2001).

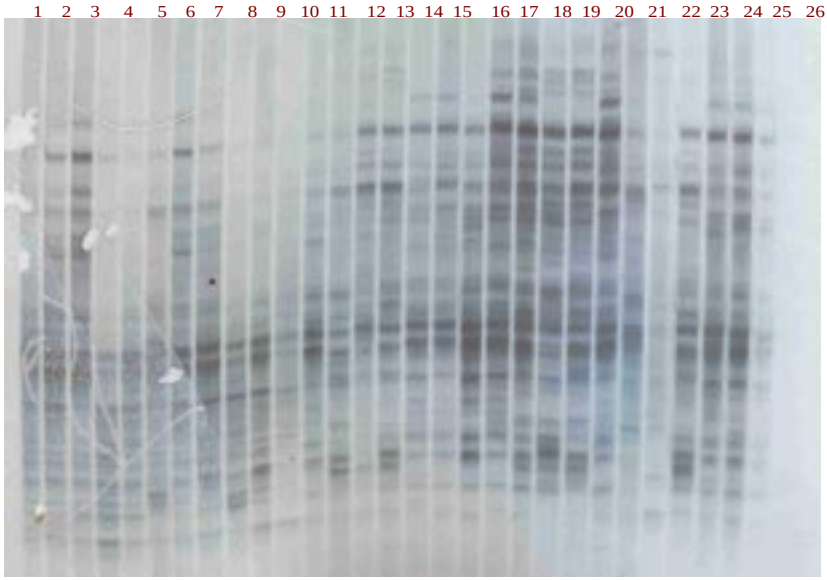
En la Tabla 2 se presenta el resultado del polimorfismo molecular de las 28 accesiones de papa en estudio, con las tres combinaciones de *primers* AFLP utilizadas. Se visualizaron un total de 94 bandas consistentes, de la cuales el 62.76 % (59 bandas) resultaron polimórficas. El índice de polimorfismo fue superior al 50 % para las combinaciones Taq I CT-Ase I CC y Taq I AC- ASE I GC con 56 y 51 % respectivamente; sin embargo, este fue muy superior en la combinación Taq I GA-Ase I AC con un 77.14 %.

Tabla 2. Número de bandas y porcentaje de polimorfismo en las diferentes combinaciones utilizadas

	Combinaciones	Total de bandas	No. de bandas polimórficas	Polimorfismo (%)
1	Taq I CT–Ase I CC	30	17	56.00
2	Taq I GA–Ase I AC	35	27	77.14
3	Taq I CT–Ase I GC	29	15	51.72
	Total	94	59	62.76

Es necesario puntualizar que el número relativo de bandas polimórficas presentes en las tres combinaciones de *primers* y que fue más marcada en la combinación Taq I GA–Ase I AC, se manifestó de igual forma en todas las accesiones; aunque fue más marcada en las

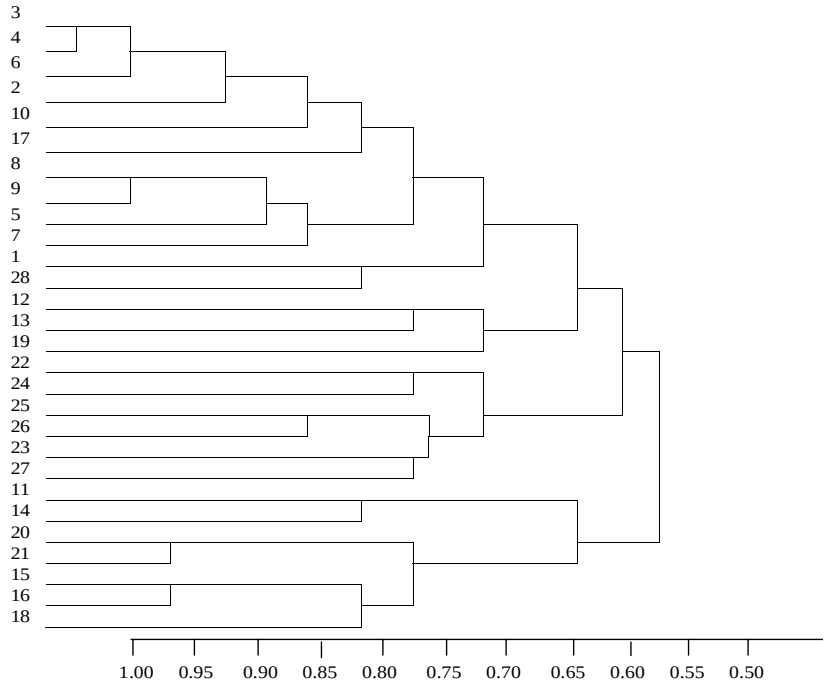
accesiones de las especies silvestres (Figura 2). Este resultado es lógico, pues en estas especies es donde se concentra el mayor *pool* de genes en este cultivo. Por otra parte, vemos el gran polimorfismo que se manifiesta incluso en las accesiones cultivadas y que demuestra la gran variabilidad presente en nuestro germoplasma.



(1) 2-5-85; (2) *S. brachycarpum* Corr; (3) *S. flenderi* Gray; (4) *S. politrichon* Rydb; (5) *S. stoloniferum* Schlechtd; (6) *S. coriaceifoliolatum* Lechn; (7) *S. jamesii*; (8) *S. pinnatisectum* Dum; (9) *S. schuteri* Buk (10) *S. brevicaule* Bitt; (11) *S. sparsipilum* (Bitt) Yuz et Buk; (12) *S. setulosistilum* Bitt; (13) *S. urumbambae* Yuz; (14) *S. chacoense* Bitt; (15) *S. dolichostigma* Buk; (16) *S. parodii* Yuz et Bul; (17) *S. commersonii* Dun Pi 275264; (18) *S. commersonii* Pi 320269; (19) Desirée; (20) *S. poliitichion* Rydb; (21) Candidat (22) P6-10; (23) Bryza; (24) 3-5-85; (25) 6-432-85; (26) 6-341-85; (27) 3-92-85; (28) 3-92-85.

Figura 2. Electroforesis en Gel de Poliacrilamida 6.5 % de los productos amplificados de AFLP de 28 accesiones de papa del banco de germoplasma del INCA

Estos resultados se evidencian en el análisis de agrupamiento efectuado, utilizando el índice de similitud de Jaccard a la matriz resultante de la combinación 2 (Taq I GA–Ase I AC), que fue la más polimórfica de todas las combinaciones evaluadas (Figura 3).



(3) *S. flenderi* Gray; (4) *S. politrichon* Rydb; (6) *S. coriaceifoliolatum* Lechn; (2) *S. brachycarpum* Corr; 10) *S. brevicaule* Bitt; (17) *S. commersoni*i Dun; (8) *S. pinnatisectum* Dum; (9) *S. schuteri* Buk; (5) *S. stoloniferum* Schlechtd; (7) *S. jamesii*, (1) 2-5; Pi 275264; (28) 3-92, (12) *S. setulosistilum* Bitt; (13) *S. urumbambae* Yuz; (19) Desirée; (22) P6-10; (24) 3-5-85; (25) 6-432-85, (26) 6-341; (23) Bryza; (27) 3-92-85; (11) *S. sparsipilum* (Bitt) Yuz et Buk; (14) *S. chacoense* Bitt; (20) *S. poliitichicon* Rydb; (21) Candidat; (15) *S. dolichostigma* Buk; (16) *S. parodii* Yuz et Bul; (18) *S. commersonii* Pi 320269

Figura 3. Dendrograma de la combinación 2, generado con el programa SPSS 10.0, usando análisis de agrupamiento según índice de similitud de Jaccard

En ella se muestra que las especies *S. flenderi* Gray (3) y *S. politrichon* Rydb (4) tienen el índice de similitud muy cercano a uno (98 %); le siguen las especies *S. pinnatisectum* Dum (8) y *S. schuter*i Buk (9), con índices de similitud del 93 % y muy cercanos a estas especies *S. dolichostigma* Buk (15) y *S. parodii* Yuz et Buk (16) con un 90 % de similitud entre ellas. Para el resto de las accesiones, el índice de similitud estuvo por debajo del 85 %.

Es necesario precisar cómo las accesiones pertenecientes a la especie *Solanum tuberosum*, donde se ubican los clones avanzados del programa de mejoramiento y las variedades cultivadas, se agrupan indistintamente con las especies silvestres y poseen la mayoría de ellas un coeficiente de similitud que está entre el 65 y el 80 % semejante a muchas de ellas, lo que manifiesta que los genotipos de papa de la misma especie difieren marcadamente en cuanto a su composición genética. Se ha encontrado similitud muy marcada entre los cultivares de papa y las accesiones de especies silvestres utilizando microsatélites, lo cual evidenció una alta variabilidad genética en los cultivares europeos (Bryan *et al*., 2000).

Se ha manifestado igualmente un marcado polimorfismo entre 22 especies nativas de papa, al caracterizarlas molecularmente, donde la especie *Solanum tuberosum* subsp andina fue la más distante de todas las hibridaciones del ADN (Glishlain *et al*., 2000). Debemos tener en cuenta, no obstante lo planteado, que la efectividad de esta técnica para este tipo de análisis depende de varios factores y en estudios de diversidad genética se pueden obtener resultados contrastantes y en algunos casos contradictorios, cuando utilizamos técnicas diferentes de marcadores moleculares (Pearsons *et al*., 1997; Del Rio *et al*., 1997 y Virk *et al*., 2000).

En la Tabla 3 se presentan las distancias genéticas (DG) entre los genotipos calculados a partir del coeficiente de *simple matching*. Un total de 406 pares de comparaciones se realizaron a partir de las 28 bandas polimórficas obtenidas en la combinación 2. La distancia media general entre todos los genotipos fue de 0.242. La menor distancia obtenida entre dos genotipos fue de 0.004 y la más alta de 0.542. Estos resultados corroboran los obtenidos anteriormente, donde los genotipos más cercanos genéticamente presentan los mayores índices de similitud y viceversa.

Resultados similares a estos fueron encontrados al estudiar dos poblaciones de especies silvestres de papa de diferente procedencia utilizando marcadores RAPD (Del Río *et al*., 2001). Los resultados evidencian una gran variabilidad genética de este cultivo a nivel molecular, lo cual se corresponde con lo planteado por varios autores (Huamán *et al*., 1997; Milbourne 1998, Ghiclain *et al*., 1999 y Huamán *et al*., 2000), quienes siempre han informado la presencia en este cultivo de un elevado polimorfismo al trabajar con diferentes técnicas incluida la usada en este estudio.

Tabla 3. Distancias genéticas entre los genotipos, calculadas a partir del coeficiente de *Simple Matching*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1	0.00																											
2	0.11	0.00																										
3	0.11	0.05	0.00																									
4	0.11	0.05	**0.00**	0.00																								
5	0.14	0.20	0.20	0.20	0.00																							
6	0.14	0.08	0.02	0.02	0.22	0.00																						
7	0.22	0.17	0.11	0.11	0.14	0.08	0.00																					
8	0.17	0.17	0.17	0.17	0.08	0.20	0.11	0.00																				
9	0.14	0.14	0.14	0.14	0.11	0.17	0.14	**0.00**	0.00																			
10	0.14	0.14	0.08	0.08	0.22	0.05	0.14	0.25	0.22	0.00																		
11	0.25	0.37	0.37	0.37	0.34	0.34	0.37	0.31	0.34	0.28	0.00																	
12	0.25	0.25	0.25	0.25	0.34	0.22	0.25	0.31	0.34	0.28	0.22	0.00																
13	0.17	0.17	0.22	0.22	0.31	0.25	0.34	0.28	0.25	0.31	0.31	0.25	0.00															
14	0.28	0.28	0.34	0.34	0.31	0.31	0.34	0.28	0.31	0.31	0.14	0.31	0.28	0.00														
15	0.28	0.34	0.40	0.40	0.25	0.42	0.40	0.28	0.31	0.42	0.25	0.42	0.28	0.22	0.00													
16	0.28	0.34	0.40	0.40	0.25	0.37	0.34	0.28	0.31	0.37	0.25	0.37	0.28	0.22	**0.00**	0.00												
17	0.20	0.31	0.31	0.31	0.22	0.34	0.31	0.25	0.28	0.34	0.28	0.28	0.31	0.31	0.37	0.37	0.00											
18	0.34	0.34	0.324	0.34	0.31	0.31	0.34	0.34	0.31	0.37	0.37	0.25	0.28	0.34	0.45	0.02	0.25	0.00										
19	0.25	0.31	0.37	0.37	0.22	0.40	0.37	0.31	0.34	0.40	0.28	0.28	0.31	0.31	0.14	0.20	0.34	0.42	0.00									
20	0.42	0.42	0.48	0.48	0.34	0.45	0.42	0.37	0.40	0.40	0.28	0.51	0.42	0.25	0.14	0.14	0.45	0.42	0.28	0.00								
21	0.48	0.48	0.54	0.54	0.34	0.51	0.42	0.37	0.40	0.45	0.34	0.51	0.48	0.31	0.20	0.20	0.45	0.37	0.28	0.05	0.00							
22	0.31	0.37	0.37	0.37	0.28	0.34	0.31	0.25	0.28	0.28	0.34	0.40	0.48	0.31	0.48	0.42	0.28	0.37	0.45	0.34	0.28	0.00						
23	0.34	0.00	0.34	0.34	0.31	0.31	0.28	0.28	0.31	0.25	0.31	0.37	0.45	0.28	0.45	0.45	0.37	0.34	0.42	0.37	0.31	0.14	0.0.					
24	0.22	0.28	0.22	0.22	0.20	0.20	0.17	0.22	0.25	0.14	0.31	0.37	0.40	0.34	0.45	0.00	0.25	0.34	0.42	0.31	0.31	0.14	0.17	0.00				
25	0.31	0.31	0.25	0.25	0.28	0.22	0.20	0.31	0.34	0.17	0.28	0.34	0.48	0.31	0.48	0.48	0.34	0.42	0.40	0.40	0.40	0.22	0.14	0.14	0.00			
26	0.28	0.28	0.22	0.22	0.25	0.20	0.17	0.22	0.25	0.14	0.25	0.37	0.45	0.28	0.40	0.40	0.31	0.40	0.42	0.31	0.31	0.20	0.11	0.11	0.08	0.00		
27	0.31	0.37	0.31	0.31	0.28	0.28	0.25	0.25	0.28	0.28	0.28	0.40	0.42	0.20	0.37	0.37	0.22	0.37	0.40	0.34	0.34	0.17	0.14	0.20	0.17	0.17	0.00	
28	0.14	0.25	0.20	0.20	0.17	0.22	0.20	0.20	0.22	0.22	0.28	0.34	0.31	0.31	0.31	0.37	0.17	0.37	0.28	0.40	0.40	0.28	0.20	0.14	0.17	0.14	0.17	0.00
X	0.33	0.25	0.25	0.27	0.24	0.27	0.27	0.26	0.29	0.28	0.27	0.34	0.35	0.27	0.31	0.32	0.29	0.35	0.34	0.28	0.29	0.16	0.12	0.12	0.10	0.09	0.08	0.00
Media general: 0.24																												

No obstante lo planteado, se estima que ni el 1 % de esta gran variabilidad ha sido explotada en los programas de mejoramiento (González *et al*., 1998, Castillo *et al*., 2001), por lo tanto, debemos seguir trabajando por incorporar nuevos genes de especies nativas y domesticadas a nuestras variedades, apoyados en el uso de las nuevas técnicas moleculares que los hacen más eficientes.

De forma general, se evidenció que existe en el germoplasma cubano de papa una amplia base genética que se manifestó a nivel molecular. La técnica AFLP mostró un elevado polimorfismo para este tipo de estudio, reflejando una gran variabilidad genética que se manifestó de igual forma en especies silvestres y variedades cultivadas.

Determinación de muestras duplicadas en el germoplasma cubano de papa mediante el empleo de AFLP. La conservación de las plantas propagadas vegetativamente, como es el caso de la papa, presentan problemas especialmente en su conservación y sobre todo en mantener la identidad varietal. Un banco de genes de este tipo de planta es costoso y

difícil, ya que aumenta los costos en operaciones y manejo de material en los laboratorios, más aún si en este están presentes muestras redundantes (Zhang *et al*., 1996). Las accesiones duplicadas pueden ser mantenidas en campo mediante semilla tubérculo o a través de semilla botánica donde es menos costoso su mantenimiento. La identificación de materiales duplicados es también el primer paso en el desarrollo de las colecciones núcleos, que representan la variabilidad genética disponible en el banco de germoplasma y que lo hacen más accesible para su uso (Ortiz, 2002).

Existen tres criterios esenciales para identificar muestras duplicadas por cualquier método. Primero, que el método debe generar la máxima variación intravarietal, para asegurar la discriminación entre cultivares. Segundo, debe detectar la mínima variación intravarietal, de manera que los clones del mismo cultivar tengan una identidad altamente homogénea y tercero, debe tener una buena estabilidad ambiental y mínimos errores técnicos (Zhang *et al*., 1996).

Teniendo en cuenta que la técnica AFLP cumple con la mayoría de los criterios anteriormente señalados, se realizó este trabajo, con el objetivo de identificar muestras duplicadas en el germoplasma de papa conservado *in vitro* mediante esta técnica, de manera de hacer más eficiente este tipo de conservación.

La técnica se le aplicó a 40 accesiones de papa (*Solanum tuberosum*, L.) de la colección base del banco de germoplasma del INCA, en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Las muestras se tomaron de plantas provenientes de vitroplántulas conservadas en el laboratorio y adaptadas a campo, y cuando estas alcanzaron su máximo desarrollo. Fueron seleccionadas porque existía similitud entre ellas, desde el punto de vista morfoagronómico. A estas se les extrajo el ADN genómico total, según el método descrito por Dellaporta *et al*. (1993), comprobándose su calidad por chequeo electroforético en geles de agarosa 0.8 % (Sambrook *et al*., 1989), para posteriormente realizar el análisis de AFLP según la metodología descrita por Vos *et al*. (1995), utilizando *primers* y adaptadores obtenidos en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB).

Los patrones de bandas se caracterizaron por un valor numérico de 0 (ausencia de la banda) y 1 (presencia de la banda). Los patrones AFLP de cada genotipo se utilizaron para el cálculo de las relaciones genéticas, empleando para ello el sistema de programas SPSS versión 10.0, donde a partir de la matriz de la combinación más polimórfica utilizada, se hizo un análisis de agrupamiento según el coeficiente de Jaccard.

Con las cinco combinaciones de *primers* de RFLP, se visualizaron un total de 154 bandas, de las cuales 92 fueron polimórficas, según los resultados que se presentan en la Tabla 4. Solamente con la utilización de tres combinaciones de *primers*, fue suficiente para identificar las muestras que se presentaron como duplicadas. La combinación Taq I CT-Ase I CC fue la que presentó el polimorfismo más elevado con un 70.96 % y la que se utilizó para identificar las muestras que se presentan como duplicadas (Tabla 4).

Tabla 4. Número de bandas y porcentaje de polimorfismo en las diferentes combinaciones evaluadas

Combinaciones	Total de bandas	No. de bandas polimórficas	Porcentaje de polimorfismo
1- Taq I CT–Ase I CC	31	22	70.96
2- Taq I GA–Ase I AC	32	20	62.50
3- Taq I AC–Ase I GC	30	19	63.33
4- Taq I GC–Ase I AC	33	16	48.48
5- Taq I GG–Ase I CT	28	15	53.57
Total	154	62	29.74

El la Figura 3 se observa el gel obtenido del AFLP *fingerprinting*, donde en la combinación 1 se detectaron seis muestras con patrones de bandas idénticos y que se presumen sean duplicadas y donde el valor del índice de similitud entre ellas fue de 1.0. Estas muestras son la *S. fleneri* Gray (3) y la *S. politrichon* Rydb (4), dos especies silvestres que poseen un origen común y esto puede determinar su similitud o que en realidad sean muestras repetidas. Las muestras 11 (*S. sparsipilum* BIT) y 12 (*S. setilosistilum* BIT) con el mismo origen y por último las accesiones 24 (3-2-85) y 25 (6-432-85), dos clones cuya similitud pudiera estar determinada por la relación genética tan estrecha entre ellas, por provenir de la misma madre genéticamente o simplemente porque esta técnica no revela variación a esos niveles de filiación genética.

La designación como duplicadas se basa solamente en el índice de similitud estimado y de acuerdo con la matriz realizada sobre la base del polimorfismo detectado. Por esta razón, no se eliminan las accesiones duplicadas sino se plantarán nuevamente y se les realizará un estudio más completo, desde los puntos de vista morfoagronómico y molecular, incluyendo nada más a las accesiones detectadas como duplicadas en este estudio. Según Zhang *et al*. (1996), en este tipo de estudio se debe realizar siempre un análisis morfoagronómico bien profundo, antes de agrupar a las posibles muestras duplicadas.

Los resultados de este estudio coinciden con los alcanzados por Hinirichen *et al*. (1998), donde se utilizó la técnica de AFLP para estimar las relaciones filogenéticas entre estos genotipos de papa y donde con un solo par de combinaciones de *primers*, se logró obtener una cantidad de bandas de ADN polimórficas (143), que diferenciaron a todos los genotipos estudiados y que tenían diverso origen. Ellos basaron su información al igual que en nuestro estudio en el grado de similitud estimado sobre la base del índice de Jaccard.

Así mismo, Zhang *et al*. (1996) utilizaron marcadores RAPD para estudiar muestras duplicadas en batata y donde tres combinaciones de *primers* fueron suficientes para determinar muestras duplicadas en el germoplasma.

Debemos tener en cuenta que el experimento se realizó sobre la base de la posibilidad de que se produzcan errores en el manejo de laboratorio, que permitan que una muestra sea duplicada en el proceso de conservación y que sea multiplicada y regenerada como una accesión más.

De forma general, se encontró que la combinación Taq I AT – Ase I CC permitió identificar tres accesiones con patrones de bandas iguales, al presentar el mayor polimorfismno con 70.96 % y la técnica AFLP es adecuada para identificar muestras duplicadas presentes en el germoplasma de papa cultivado *in vitro*. No obstante, se recomienda realizar un estudio más profundo, desde el punto de vista morfoagronómico, a las posibles muestras duplicadas provenientes de cultivo *in vitro*, de forma de hacer más económico este tipo de análisis. *Empleo de AFLP para la detección de la estabilidad genética en especies de papa* (*Solanum tuberosum*, L.) *conservadas in vitro*. Hoy en día, existe una mayor necesidad de conservar los bancos de germoplasma fuera de su hábitat natural para su utilización y explotación. Esto puede realizarse a través de las colecciones *in vitro*, que tienen la ventaja sobre el método de conservación tradicional de reducir el riesgo de la erosión genética, debido a desastres naturales, plagas y enfermedades (Harding, 1999).

El cultivo de la papa se lleva a cabo mediante la propagación vegetativa, por lo cual se ve afectada seriamente por el ataque de patógenos externos. El establecimiento, mantenimiento y la conservación de los bancos de germoplasma en este cultivo es de gran importancia para los trabajos de mejoramiento genético, pues son el punto de partida para la obtención de nuevas variedades mejoradas, aunque durante este proceso pueden producirse cambios en los materiales genéticos

conservados. Debido a esto, es necesario conocer la estabilidad genética del material regenerado, que ha sido conservado *in vitro* por largos períodos de tiempo, con respecto a las plantas que están creciendo en el campo.

La técnica de AFLP ha sido efectiva para este tipo de estudio en otros cultivos (Angel *et al*., 1996; Rout *et al*., 1998; Homero *et al*., 2001); es por todo ello que este trabajo estuvo encaminado a evaluar la estabilidad genética de las accesiones de papa regeneradas a partir de la conservación *in vitro* usando este tipo de técnica.

Se estudiaron cuatro especies conservadas *in vitro* por más de 10 años en medio de crecimiento mínimo, realizándose dos subcultivos cada año. Las vitroplántulas procedentes del laboratorio fueron plantadas en bolsas en condiciones semicontroladas en invernadero. Los tubérculos obtenidos conjuntamente con los tubérculos originales de la colección base fueron conservados en frío y plantados en macetas en condiciones controladas. Las muestras se tomaron cuando las plantas alcanzaron su máxima madurez fisiológica, para lo cual se tomaron cuatro muestras por especie y procedencia.

Las especies de papa conservadas *in vitro* (MS + Manitol) y cultivadas en el campo fueron las siguientes:

1- *Solanum tuberosum*, L.
2- *Solanum schruteri* Buck
3- *Solanum dolichostigma* Buck
4- *Solanum jamessi* Jorr

El ADN fue extraído a partir de hojas de plantas provenientes de cultivo *in vitro* adaptadas a campo y plantas de las colecciones base, utilizando un kit de purificación de ADN genómico de Promega (*Wizard DNA Genomic Purification Kit*). Se tomaron de 3 a 5 mg de hojas frescas y se maceraron en nitrógeno líquido. Se utilizaron cinco combinaciones de *primers* y adaptadores obtenidos en el CIGB.

Se observó que en las cinco combinaciones de cebadores usados (Taq I GC/Ase I AC, Taq IGG/Ase I CT, Taq I GA/Ase I AC, Taq I GA/Ase I GC, Taq I CT/Ase I CC), se produjeron entre 20 y 30 bandas en los perfiles obtenidos, para un máximo de 960 bandas de las 32 muestras procesadas. Los perfiles AFLP de las plantas mantenidas *in vitro* mostraron diferencias en cuanto a la cantidad e intensidad de los fragmentos amplificados, con respecto a los patrones de bandas de las plantas cultivadas en el campo. Las diferencias encontradas en los patrones de bandas se apreciaron más en la parte superior de los geles, teniendo

un mayor número de fragmentos aquellas muestras provenientes del campo. En la parte más baja del gel se vio que hay más homogeneidad en los patrones de bandas de ambos tipos de plantas.

En las Figuras 4 y 5, donde se muestran dos de las cinco combinaciones de *primers*, se observa claramente cómo en las muestras provenientes del campo, se manifestaron patrones de bandas polimórficas que no aparecieron en las de laboratorio. En la Figura 4, vemos cómo la especie *Solanum schruteri* Buk es la que presentó el mayor número de bandas polimórficas en relación con la proveniente del laboratorio con tres.

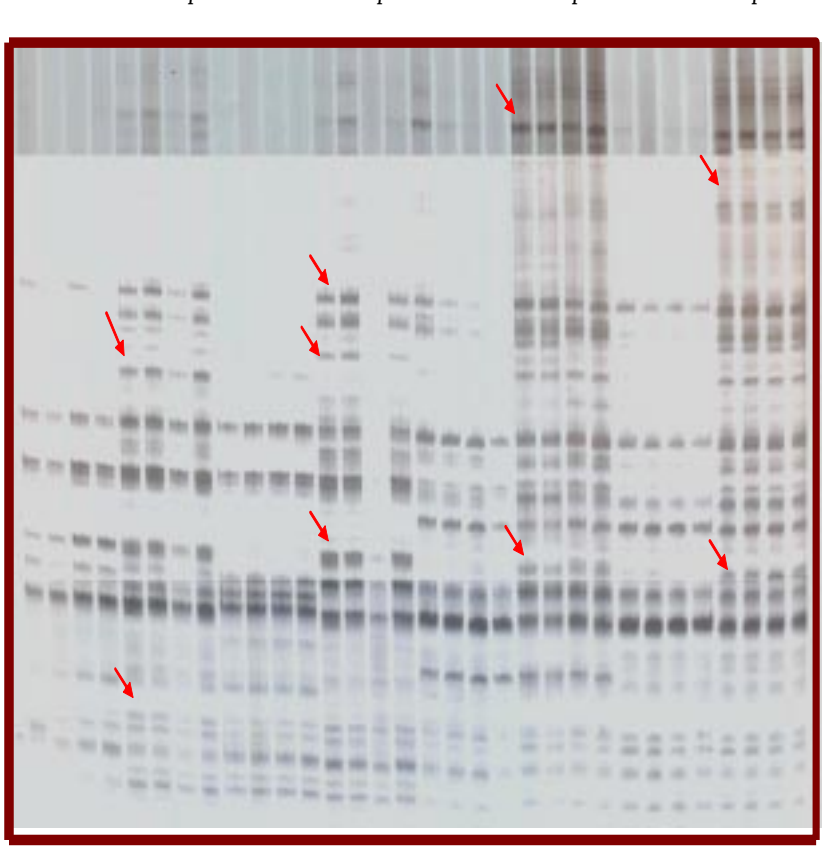


Figura 4. Perfil de AFLP de papa con la combinación I (TaqI GC/ AseI AC). Las flechas indican las bandas polimórficas entre las muestras de laboratorio y de campo para cada una de las variedades

Sin embargo, en la Figura 5, el mayor número de bandas diferentes lo presentó la especie *Solanum dolichostigma* Buk con cuatro.

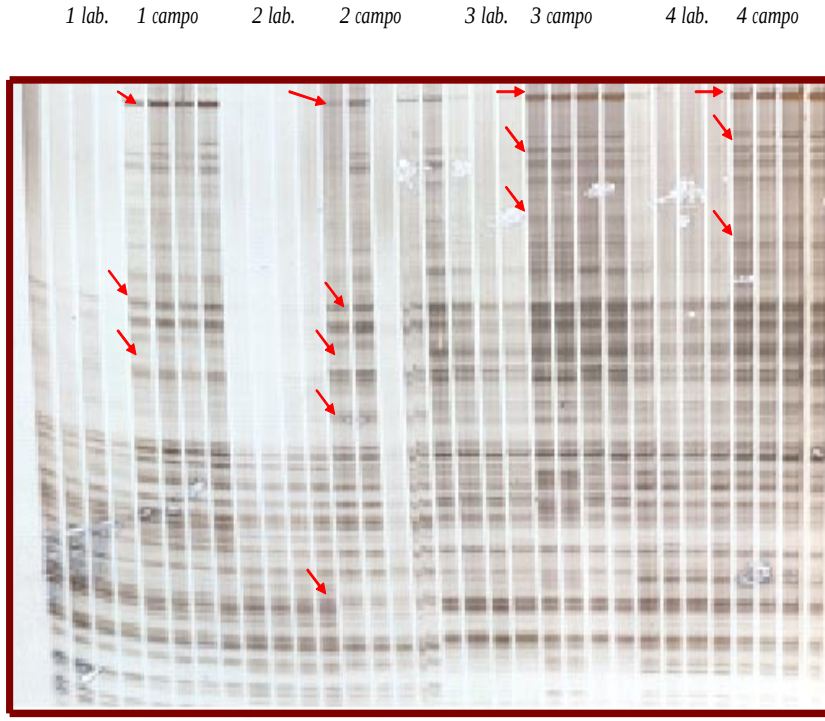


Figura 5. Perfil de AFLP de papa con la combinacion II (TaqI GG/ AseI CT). Las flechas indican las bandas polimórficas entre las muestras de laboratorio y de campo para cada una de las variedades

Las diferencias observadas en los patrones de bandas de las muestras evaluadas, pudieran ser debido a que las plántulas fueron conservadas en medio de crecimiento mínimo, que contenía sustancias retardadoras del crecimiento (Manitol), como parte de los componentes del medio de cultivo. Se ha comprobado que el uso de retardadores del crecimiento, en especial el Manitol, puede producir cambios morfológicos, provocar la formación de callo, vitrificación o generar mutaciones en las plantas conservadas, lo cual atenta contra su estabilidad (Golmirzaie y Toledo, 1998). No obstante estos resultados, este tipo de conservación de la papa es ampliamente utilizado en el CIP con muy buenos resultados, pero utilizando el Sorbitol 4 % como retardador

del crecimiento en vez de Manitol, a temperaturas entre 6 y 8°C y una intensidad de luz de 1000 lux.

Muchos autores han observado variación somaclonal usando RAPD o RFLP en diferentes especies de plantas (Shenoy y Vasil, 1992; Bouman *et al*., 1992; Isabel *et al*., 1993; Valles *et al*., 1993; Chawdhdry, Vasil y Vasil 1994; Bouman y Kuijpers 1994; Rani *et al*., 1995). Por otra parte, Harding (1999) no encontró diferencias entre las plantas provenientes del campo, crioconservadas y cultivadas *in vitro*, cuando analizó la estabilidad genética de dos cultivares de papa usando microsatélites; así mismo, Rout *et al*. (1998) y Angel *et al*. (1996) tampoco encontraron variación de los patrones de banda en plantas de Ginger y Cassava respectivamente, usando marcadores RAPD. Ellos basan su estabilidad en lo informado por Shenoy y Vasil (1992), que plantean que la micropropagación a través del cultivo de meristemos está asociada a bajos riesgos de inestabilidad genética, debido a que los tejidos meristemáticos son generalmente más resistentes a los cambios que ocurren durante la división celular o la diferenciación en las condiciones *in vitro*.

De forma general, se demostró mediante la técnica empleada, que la conservación *in vitro* en el género *Solanum*, puede causar variaciones detectables en las especies estudiadas. Se puntualizó que la técnica AFLP es muy sensible, en cuanto a la detección del más pequeño polimorfismo entre las especies evaluadas, por lo que se demuestra en nuestras condiciones que esta es eficiente para este análisis.

De los resultados obtenidos se recomienda que se deben probar otras sustancias retardadoras del crecimiento para la conservación de especies del género Solanum, y estudiar su acción sobre la estabilidad de las plantas a fin de encontrar un medio adecuado para ello sin riesgo de cambios en el material conservado.

BIBLIOGRAFÍA

Angel, F.; Barney, V. E.; Tohme, J. y Roca, W. M. Stability of cassava plants at the ADN level after retrieval from 10 years of *in vitro* storage. *Euphytica*, 1996, 90: 307-313.

Bamberg J. B. y Del Río, A. H. Vulnerability of alleles in the US potato genebank extrapolate from RAPD´s. *Amer. Journal of Potato Research*, 2003, vol. 80, p. 79-85

Bouman, H. y Kuijpers, A. M. RAPD-patterns and somaclonal variation in *Begonia*. *In* Abst. 4th Int. Congv. Plant Mol. Biol., Amsterdam, 1994, 37 p.

Bouman, H.; Kuijpers, A. M. y deKlerk, G.. J. The influence of tissue culture methods on somaclonal variation in *Begonia*. *Physiol. Plant*, 1992. 85: A45.

Bousquet, J.; Simon, L. y Lalonde, M. ADN amplification from vegetative and sexual tissues of trees using polymerase chain reaction. *Can. J. For. Res*, 1990, 20: 254-457.

Bryan, G.. /*et al*./ Potato genomics: A general strategy for the molecular genetic characterization of *Solanum* germplasm. *En: Breeding and Genetics*, 2000, p. 101-104.

Castillo, J. /*et al*./ Intraspecific variability in tetraploid of potato (4) (*Solanum tuberosum*, L.) *Cultivos Tropicales*, 2001, vol. 21, no. 2, p. 49-55.

Catálogo Promega. (2002)

Cornide, M. /*et al*./ Principales tipos de marcadores de polimorfismos de los ácidos nucleicos. Técnicas analíticas. En: Marcadores moleculares, nuevos horizontes en la genética y la selección de las plantas. Ed. Félix Varela, La Habana, 2002, p. 13-35

Chawdhury, M. K. U.; Vasil, V. y Vasil, I. K. Molecular analysis of plants regenerated from embryogenic cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet*. 1994, 87: 821-828.

Del Río, A. H.; Bamberg, J. B. y Huaman, Z. Assessing changes in the genetic diversity of potato gene banks. Effect of seed increase. *Theor. Appl. Genet*. 1997, vol. 95, p. 191-198.

Del Río, A. H. /*et a*/./ Association of ecogeographical variables and RAPD markers variation in wild potato populations of the USA, *Crop Science*, 2001, vol. 41, no. 3, p. 870-878.

Dellaporta, S. L.; Wood, J.; Hicks, J. B. A plant ADN micropropagation: version II. *Plant Mol. Biol*., 1993, Rep. 1:19-21

Dellaporta, S. L.; Wood, J; Hicks, J.B. A plant ADN micropreparation version II. *Plant Mol. Biol*., 1993, Rep. Vol. 19-21.

Edwards, K. J. Randomly amplified polymorfic ADNs (RAPDs). En: Molecular tools for screening biodiversity. A. Karp, P.G, Isacc y D. Ingra, (eds) Chapmam and Hall, 1998. 9.1: 171 175

Ford-Lloyd, B.V. Genoptyping in plant genetic resources. En: Plant genotyping: the ADN firgerprinting of plants. CAB International, 2001, p. 58-81.

Ghislain, M. /*et al.*/ Establishment of microsatelite assays for potato genetic identification. CIP Program Report. CIP. Lima, Perú, 2000, 167-174 p.

Ghislain, M. /*et al.*/ Marker-assisted sampling of the cultivated Andean potato *Solanum phureja* collection using RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1999, 46 (6):547–555.

Golmirzaie, A. y Toledo, J. *In Vitro* conservation of potato and sweepotato germplasm. *CIP Program Report*, 1998, 351-356 p.

González, M. E. /*et al.*/ Cruzamientos entre diferentes especies de papa y asociación entre caracteres relacionados con el fruto botánico. *Cultivos Tropicales*, 2001, vol. 22, no.1, p. 31-35.

Harding, K. Stability assessment in conserved plan germplasm En: Plant Conservation Biotechnology, E. E. Benson (ed), Chapter 7, 1999, p. 97-107, Taylor and Francis, London.

Hinirichsen, P.; Alvarado, R.; Kalazich, J. y Aguirre, C. *Fingerprinter* basado en AFLP de las variedades de papa y arroz más comunes en Chile. INIA CRI La Platina, Quilamapu y Remehue. McKnight Foundation, 1998, 22 p.

Hornero, J. /*et al.*/. Early cheking of genetic stability of cork oak somatic embryos by AFLP analysis. *International Journal of Plant Sciences*, 2001, vol. 162, no. 4, p. 827-834.

Huamán, Z.; Golmirzaie, A. y Amoros, W. The potato. En: Fuccillo, D., L. Sears, and P. Stapleton (eds.). Biodiversity in trust. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1997, p. 1-28.

Huamán, Z. /*et al.*/. Osozyme analysis of entire and core collections of *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* potato cultivars. *Crop Science*, 2000, vol. 40, p. 273-276.

Isabel, N.; Tremblay, L.; Michaud, M.; Tremblay, F. M. y Bousquet, J. RAPDs as an aid to evaluate the genetic integrity of somatic embryogenesis-derived populations of *Picea mariana* (Mill.) B.S.P. *Theor. Appl. Genet*, 1993, 86: 81-87.

Milbourne, D. /*et al.*/. Isolation, characterization and mapping of simple sequence repeat loci in potato. *Molecular Genetics*, 1998, 259:233-245.

Ortiz, R. Germplasm enhancement to sustain genetic gains in crop improvement. En: Engels, J.M.M., V. Ramanatha Rao, A.H.D. Brown & M. Jackson (eds) Managing Plant Genetic Diversity. IPGRI, Rome, Italy & CAB International, Wallingford. 2002, pp. 275-290.

Parsons, B. J. /*et al*./. Contrasting genetic diversity relationships are revealed in rice (*Oryza sativa* L.) using different marker types. *Molecular Breeding*, 1997, 3, 115-125 p.

Rani, V.; Parida, A. y Raina, S. N. Random amplified polymorphic ADN (RAPD) markers for genetic analysis in micropropagated plants of *Populus deltoides* Marsh. *Plant Cell Rep*. 1995, 14: 459-462.

Rout, G. R.; Das, P.; Goel, S. y Raina, S.N. Determination of genetic stability of micropropagated plants of ginger using RAPDs markers. *Bot. Bull. Acad. Sind*. 1998, 39:23-27.

Rout, G.. R.; Palai, S. K. y Das, P. *In vitro* micropropagation of ginger (Zingiber officinales Rosc): Interaction of growth regulators and culture conditions. *Indian J. Herbs Spices*, 1997.

Sambrook, J.; Fritsch, E.F.; Maniatis, T. Molecular cloning. A laboratory manual. E.F. Fritsch, T. Maniatis eds. Cold Spring Harber Laboratory Press, 1989.

Shenoy, V. B. y Vasil, I. K. Biochemical and molecular analysis of plants derived from embryogenic tissue cultures of napiergrass (*Pannisetum purpureum* K. Schum). *Theor. Appl. Genet*., 1992, 83: 947-955.

Straadt, I. K. y Rasmussen, O. S. AFLP analysis of *Solanum phureja* ADN introgressed into potato dihaploids. *Plant Breeding*, 2003, vol. 122, No. 4, pp. 352

Valles, M. P.; Wang, Z.Y.; Montavon, P.;Potrykus, I. y Spangenberg, G. Analysis of genetic stability of plants regenerated from suspension cultures and protoplasts of Meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds). *Plant Cell Rep*., 1993, 12: 101-106.

Virk, P. S. /*et al*./. Effectiveness of different class of molecular markers for classifying and revealing variation in rice (*Oriza sativa* L.) germplasm. *Euphytica*, 2000, 112, 275-284 p.

Vos, P. y Kuiper, M. ADN markers, protocols, applications and overviews. Keygene N. V. Wageningen, The Netherlands, 1998.

Vos, P. /*et al*./ AFLP: A new technique for ADN fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 1995, 23(21): 4407-4414

Zhang, D. P.; Ghislain, M.; Huamán, Z. Rodríguez, F. y Cervantes, J. C. identifying Dduplicates in sweet potato germplasm using RAPD. CIP, Programa Report. 1996.

Zhut, J. /*et al*./. AFLP´s markers for the study of rice biodiversity. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, vol. 96, p. 602-611.

CAPÍTULO XII

ENFERMEDADES VIRALES EN CUBA

Marlene Cordero

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades virales en la papa pueden llegar a ser, a mediano y largo plazos, una de las principales amenazas para el cultivo, porque son las causantes de la degeneración en las variedades, lo que ocasiona por lo general, la disminución de los rendimientos, ya que pueden mantenerse indefinidamente en esta solanácea por su propagación vegetativa. La mayoría de estas enfermedades no presentan un cuadro sintomatológico espectacular, razón por la que el agricultor papero descuida este aspecto (Vega, 1991).

En las zonas templadas sobre los 25º de latitud norte o sur, los virus son un factor crucial y los rendimientos disminuyen en casi 20 % en cada generación sucesiva, si no se renueva la semilla. Lo mismo ocurre en las zonas tropicales por debajo de los 2500 m (Estrada, 1999).

La importancia relativa de cada virus en la papa está determinada por su prevalencia y el efecto económico que produce. El virus del enrollamiento de la hoja de papa (PLRV) y el virus Y de la papa (PVY) son los más importantes, seguidos por el virus X de la papa (PVX), virus M de la papa (PVM) y virus A de la papa (PVA) (Salazar, 1995).

En Cuba, desde 1971, Spire *et al*. informaron la presencia de PLRV, PVY, PVX y virus S de la papa (PVS); en 1972, Jotoff y Lago plantearon que el virus de mayor propagación en Cuba era el PLRV, seguido por el PVY y que en las plantaciones de papa también se encontraban presentes el PVX, el virus del mosaico aucuba de la papa (PAMV), PVS, PVM y una enfermedad ocasionada por fitoplasmas denominada punta morada. En 1978, García *et al*. corroboraron los resultados obtenidos en 1972 y plantearon que el PLRV ocasionaba pérdidas en los rendimientos entre 45 y 65 % y el PVY entre 25 y 88 % en Cuba. En 1989, Pérez planteó que el PLRV podía ocasionar pérdidas de hasta 51 % en esta solanácea.

Durante 1990, en las plantaciones de verano del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), se comprobó la presencia del virus del mosaico del pepino (CMV) en distintas especies silvestres de papa y en

1991 la del virus del grabado del tabaco (TEV) (Cordero 1990, 1991 y Cordero *et al*., 1994). En el 2000, Cordero *et al*. informaron la presencia del *Taino Tomato Mottle Virus* (*TToMoV*) en esta solanácea.

DESCRIPCIÓN DE LOS VIRUS PRESENTADOS HASTA EL PRESENTE EN CUBA

1. Virus del enrollamiento de la hoja de papa (potato leaf roll virus, PLRV). El PLRV es un Luteovirus del género Polerovirus y está compuesto por partículas isométricas de c. 24 nm de diámetro. Su genoma está constituido por una cadena simple de ARN de polaridad positiva con una longitud aproximada de 5.5-5.9 kb (Singh y Khurana, 1993; Oramas, 1999).

El enrollamiento de las hojas ocasionado por este virus fue la primera enfermedad viral estudiada en este cultivo (Asscheman *et al*., 1996); su agente causal se encuentra presente en cualquier parte donde esta solanácea se cultive (Mihovilovich, 1996 y Singh *et al*. 1996) y principalmente en países de clima tropical y subtropical (Rizvi, 1980) como Cuba (Pérez y Robert, 1984). Las plantas de papa afectadas por esta enfermedad pueden mostrar dos tipos de síntomas: primarios y secundarios (Figura 1).

Figura 1. Síntomas ocasionados por PLRV en plantas de papa. A la izquierda síntomas primarios (foto cortesía de Clark, 2000), a la derecha síntomas secundarios (foto cortesía de REDEPAPA, 2000)

Los síntomas primarios aparecen cuando la planta ha sido infectada durante el desarrollo del cultivo, fundamentalmente en las hojas jóvenes de la porción apical, las que se tornan erectas, y toman una coloración pálida, amarillenta, que en algunos materiales también pueden alcanzar tonalidades púrpura a rojiza y llegar además a enrollarse hacia arriba.

Si este tipo de infección ocurre al final de la estación de cultivo, la planta no manifiesta aparentemente ningún tipo de afectación; sin embargo, su progenie podría estar parcialmente infectada.

Los síntomas secundarios se hacen evidentes en el momento en que la planta brota a partir de un tubérculo infectado. Los foliolos inferiores se muestran enrollados y las hojas superiores tienen un color más claro. En general, las hojas se ponen rígidas y coriáceas, se secan y cuando se estrujan producen un sonido crocante como de papel. En algunas variedades las hojas viejas tienen una pigmentación rosada y/o muestran necrosis severa especialmente en los márgenes. Las plantas se quedan a menudo enanas, con hábito de crecimiento erecto. Los síntomas son menos pronunciados en el ápice de las plantas con infección secundaria que en las que han sufrido infección primaria, la secundaria es más dañina que la primaria (Cordero, 1998; Davis, 2000a).

Algunos cultivares de *Solanum tuberosum* ssp. andígena y otras especies silvestres no muestran enrollamiento en las hojas pero sí detención del crecimiento y clorosis severa (Salazar, 1995).

En ciertas variedades como Green Mountain, Russet Burbank y Norgold Russet, podemos encontrar tubérculos con una necrosis interna reticulada. Estos síntomas no siempre se manifiestan de la misma forma en determinado material, ya que esto depende de una interrelación entre el genotipo, la cepa de virus presente y las condiciones ambientales en que se está desarrollando la plantación (Asscheman *et al*., 1996).

Se han presentado tres (o cuatro) razas: muy suave, suave, moderada y severa (Singh *et al*., 1982).

En Cuba se determinó la presencia de la raza severa de este virus (Cordero, 1998) y se comprobó en un aislado cubano que la proteína de la cápside tenía un 99 % de homología en sus aminoácidos con un aislado de Canadá; 98.5 % con uno alemán, 97.5 % con uno australiano y 98.1% con uno procedente de Holanda, lo que denota un grado de homología muy alto del cubano con los de los distintos países (López *et al*., 1994).

El virus se ha podido trasmitir por inoculación mecánica en plantas de *Nicotiana clevelandii*, cuando el inóculo también contiene un Umbravirus como el *Pea Enation Mosaic Virus-2* (PEMV-2), por áfidos, injerto y tubérculos infectados. En los áfidos la trasmisión se realiza de forma persistente, siendo *Myzus persicae* su vector principal, también puede trasmitirlo el *Aphis gossypii*, *Aulacorthum solani*, *Aphis nasturtii*, *Neomyzus circumflexus* y *Macrosiphum euphorbiae*. Este virus puede

ser diseminado largas distancias por los áfidos alados y tener un corto desplazamiento al ser trasmitido por ápteros. Las plantas indicadoras más utilizadas para el PLRV son *Physalis floridana* y *Datura stramonium*. Puede estar presente en *otras plantas como Amaranthus caudatus, Amaranthus graecizans, Amaranthus* retroflexus, *Celosia argentea* y *Gomphrena globosa*, *Nolana lanceolata*, *Capsella bursa-pastoris* y *Montia perfoliata*, *Solanum dulcamara*, *Solanum villosum* y *Lycopersicon esculentum* (Peralta 1982; Harrison, 1984; Singh y Khurana, 1993; Ryabov *et al*., 2001).

Su presencia puede ser detectada mediante el test inmunoenzimático ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), el uso de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa por Transcripción Inversa (RT-PCR) y la hibridación de ácidos nucleicos (Peralta, 1982; López *et al*., 1994; Ramos *et al*., 1998; Souza-Días *et al*., 1999).

Ramos *et al*. (1998) produjeron un hibridoma de ratón estable que segregaba un anticuerpo monoclonal (Mab) específico para un aislamiento cubano de PLRV mediante hibridación de células somáticas. Utilizando este anticuerpo para la realización del DAS-ELISA, pudo detectarse este virus hasta una concentración por muestra de 300 pg, en savia de hojas altamente diluida y en *Myzus persicae*.

Tipos de resistencia:

★ a la infección: los cultivares con este tipo de resistencia no se infectan fácilmente, puede ser de dos clases:

★ directa: cuando los mecanismos de resistencia del genotipo actuan directamente sobre el virus

★ indirecta: cuando la resistencia es contra su vector.

Este tipo de resistencia está presente en *Solanum demissum, Solanum etuberosum, Solanum brevidens, Solanum acaule,* e híbridos *tuberosum-andigena.* Se ha observado alta resistencia en retrocruzamientos de híbridos de *Solanum acaule* x subsp. *tuberosum,* a las razas W de Müller y a los cultivares originados de la familia MPI 44335, que proviene del clón MPI 19268, ancestro de muchos cultivares holandeses resistentes.

⇨ a la multiplicación: se encuentra en genotipos que después de la infección mantienen una concentración viral baja, como resultado de una diseminación incompleta del virus dentro de la planta. Los clones que tienen esta característica no muestran síntomas en condiciones de campo, se comportan como tolerantes y son pobres fuentes de virus. Como ejemplo tenemos: *Solanum brevidens, Solanum acaule*

y Solanum etuberosum (Swiezynski, 1994, Jayasinghe y Salazar, 1998, Estrada, 1999).

- ⇨ asociada con hipersensibilidad: la hipersensibilidad está controlada por un solo gén dominante Nl. La expresión de la hipersensibilidad depende de genes modificadores y de las condiciones externas. Un nivel elevado de resistencia asociada con la reacción de hipersensibilidad se observa en las variedades Apta, Carla, Ida, Monza y Sedira de Alemania y en Kama de Polonia. Si la variedad también expresa resistencia a la infección, puede permanecer completamente sana.
- ⇨ a la translocación: cuando un virus infecta una hoja de papa, primero se multiplica en la célula infectada y posteriormente cuando su concentración alcanza cierto nivel, es que comienza a moverse a las células vecinas por los plasmodesmos y posteriormente a los tejidos más distantes por translocación a través del tejido vascular de la planta. La velocidad a la cual el virus se transloca depende inicialmente de la rapidez con que el virus penetra al floema, por lo que en los genotipos que muestran resistencia a la multiplicación, la translocación del virus se hace más lenta. Como ejemplos de fuentes de resistencia tenemos *Solanum acaule, Solanum canasense, Solanum polyadenium, Solanum stoloniferum, Solanum chomatophilum, Solanum bukasovii*,*Solanum huancabambense, Solanum multiinterruptum, Solanum pampasense y Solanum sparsipilum* (Jayasinghe, 1989; Dubbels, 1995; Ochoa, 1999; Struik y Wiersema, 1999).

Antibiosis y antixenosis: estos componentes afectan al vector y no al virus directamente. La antibiosis incluye todos los efectos adversos ejercidos por la planta, que alteran la biología del áfido vector, como cualquier factor que reduzca la tasa de crecimiento, el número de ninfas o la muerte de los áfidos. Los tricomas glandulares que atrapan insectos en algunas especies de papa pertenecen a este tipo de resistencia. La antixenosis o no preferencia es la acción repelente de la planta hacia el insecto. Esto puede ser debido a toxinas, compuestos volátiles o tricomas no glandulares presentes en la planta. Las plantas con este tipo de componente de resistencia usualmente no permiten que los áfidos se alimenten de ellas, si el efecto no es muy fuerte pocos áfidos podrían estar presentes aunque no establecerse en estas plantas. Algunas accesiones de *Solanum acaule* tienen este tipo de resistencia (Jayasinghe y Salazar, 1998).

La presencia del PLRV puede ser erradicada mediante la aplicación de la termoterapia. El almacenamiento de los tubérculos enfermos por varios meses a temperaturas entre 29ºC y 35.6ºC, y el tratamiento con calor dos

horas diarias en condiciones controladas seis semanas a 40 ºC inactivan este virus. Tubérculos infectados al ser tratados con agua caliente (50-55ºC de 15 a 20 minutos) se liberan de su presencia, aunque las variedades muestran una respuesta diferencial ante este tratamiento (Singh y Khurana, 1993). Se ha logrado un 73-100 % de saneamiento a partir de brotes de tubérculos con la aplicación de la electroterapia (Hernández *et al*., 2001).

El cultivo de meristemos también permite el saneamiento de los distintos cultivares frente al PLRV: el corte de meristemos con dos y cuatro primordios foliares asegura un 100 % de plantas regeneradas sanas (Hadidi *et al*., 1998).

2. Virus Y de la papa (potato virus Y, PVY). El PVY pertenece al género de los Potyvirus. Está compuesto por partículas largas, flexuosas de c. 730 x 11 nm. El genoma está compuesto por una cadena simple de ARN monopartito que constituye aproximadamente el 6 % del virus.

Es el otro virus más importante trasmitido por áfidos, las plantas infectadas con PVY frecuentemente sufren daños más severos que las infectadas con PLRV.

En papa este virus puede ocasionar (Figura 2): a) un mosaico o moteado de suave a severo, b) pueden observarse líneas (*streak*) oscuras (necrosis a lo largo de las venas por el envés de los foliolos que más tarde al necrosarse los peciolos de las hojas pueden secarse completamente *leaf-drop streak*) y c) necrosis en forma de manchas irregulares en las hojas. Solo o en infecciones complejas con el PVX puede causar una enfermedad conocida como mosaico rugoso.

Figura 2. Síntomas ocasionados por PVY en plantas de papa. A la izquierda planta con mosaico, a la derecha síntomas necróticos ocasionados por una infección primaria con PVY^{c} (cortesía de Asscheman *et al.*, 1996)

Existen tres razas principales:

PVYo(cepa común): como síntomas primarios puede llegar a ocasionar necrosis, mosaico, moteado o amarillamiento de los foliolos, necrosis y muerte de las hojas (*leaf-dropping*), y a menudo muerte prematura. La necrosis que comienza con manchas puntiformes o anillos en los foliolos puede llegar a causar el colapso de las hojas y que estas queden colgando del tallo (*leaf - drop streak*). Cuando la infección proviene del año anterior (síntomas secundarios), las plantas se quedan enanas, arrugadas, deformadas, y pueden observarse síntomas de necrosis en el tallo y follaje.

PVYn: La infección primaria con esta raza del PVY ocasiona anillos cloróticos o necróticos, o manchas puntiformes en las hojas que primero son infectadas; posteriormente aparece un engrosamiento de las venas seguido por la aparición de un moteado verde amarillento en las hojas apicales. Algunas variedades muestran más claramente los síntomas primarios que otras, y estos a menudo inducen un moteado de muy ligero a ligero en el follaje durante el desarrollo del cultivo, que en muchas ocasiones no puede observarse en épocas tempranas del crecimiento de las plantas y en las plantas provenientes de tubérculos infectados (síntomas secundarios), pero los rendimientos pueden verse reducidos hasta un 30 %. Esta raza del PVY afecta considerablemente cultivos de importancia económica como tabaco, tomate y pimiento, y puede ocasionar graves problemas cuando estas solanáceas se encuentran sembradas cerca de las plantaciones de papa.

PVYc: Estos aislamientos son pobremente trasmisibles por áfidos y los síntomas primarios que ocasionan son necrosis, moteado, deformación o líneas necróticas en hojas y de forma variable en peciolos y tallos (*stipple streak*). Como síntomas secundarios pueden observarse líneas necróticas en hojas y de forma variable en peciolos y tallos (*stipple streak*), deformación o moteado y necrosis en los tubérculos (Bokx y Huttinga, 1981; Banttari *et al*. 1993; Singh y Khurana, 1993).

PVYntn: Es una variante del PVYn que ocasiona irregularidades anulares y en forma de arco en la piel de los tubérculos que sobresalen ligeramente y posteriormente se hunden tornándose necróticas y de color carmelita oscuro.

En Cuba, durante los años 1990-1995, se realizaron inoculaciones en las variedades Caesar, Origo, Onaway, Romano, Obelix, Atlantic, Maradonna, Aziza, Desirée, Montaz, Trent, Hudson, Liseta, Disco, Redsen, Asterix, Saginaw Gold, Erick, Rose Gold, Amadeus, Berber,

Ilona, Sirtema, Ajiba, Islander, Bintje, Bingo, Adora, Cosmos, Agria, Turbo, Felsina, Cornado, Robinta, Cosmos, Amadeus, Turbo, Famosa, Rosara, Felsina, Adora, Elba, Sirtema, Russet Burbank, Oscar, Novita, Red Pontiac, Carlita, Norland, Arinda y Cornado, con el objetivo de conocer si alguna mantenía un buen comportamiento frente a PVYo pero resultaron ser susceptibles (Cordero, 1995).

Se trasmite mecánicamente mediante daños y por contacto entre las hojas, a través de los tubérculos, por injerto y por al menos 30 especies de áfidos, entre las que se encuentra el *Myzus persicae* que es el trasmisor más importante, *Aphis gossypii, Aphis nasturtii, Macrosiphum euphorbiae, Myzus certus* y *Brachycaudus helichrysi*, en forma no persistente a través de todo el mundo (Banttari *et al*., 1993; Singh y Khurana, 1993; Salazar, 1995 y Asscheman *et al*., 1996).

Las plantas indicadoras más utilizadas son: *Capsicum frutescens* cv. Tabasco, *Datura stramonium, Solanum demissum A, Nicotiana glutinosa, Nicotiana tabacum* y *Solanum tuberosum* cv. Saco (Delgado-Sánchez y Grogan, 1970 y Bokx y Huttinga, 1981). Puede afectar cultivos de gran importancia como el tomate, tabaco y pimiento. En Cuba se ha encontrado de forma natural junto con el PVX en plantas de escoba amarga (*Parthenium hysterophorus*), (Cordero, 1983).

Tipos de resistencia:

- a la infección: en este tipo de resistencia se utilizan genes menores, su expresión es la de una reacción necrótica en algunos cultivares y en clones de *Solanum phureja* y *Solanum stenotomun.*
- asociada con la hipersensibilidad: los genes mayores Ny y Ry participan en la resistencia necrogénica. La reacción depende mucho de la raza del virus presente. Ry provee una protección completa y controla la resistencia extrema, o sea, que el virus no puede multiplicarse o translocarse en los materiales que portan este gén. Esta fue encontrada pot Stelzner (1950) y Cockerham (1970), Estrada (1999), en *Solanum stoloniferum* y el gén no es específico para razas. Como ejemplo de genotipos que portan el gén Ry tenemos: Santé, Corine, Bzura, Szignal, Bárbara, Bison, Fanal, Cordia, Esta, Forelle, Pirola y Vega. Algunos clones de *Solanum tuberosum* subsp. andigena portan genes de inmunidad; también podemos encontrarlos en *Solanum hougasii* (Swiezynski, 1994; Mihovilovich, 1996 y Estrada, 1999); *Solanum brevidens, Solanum canasense, Solanum chacoense, Solanum demissum, Solanum ambosinum, Solanum bukasovii, Solanum pampasense y Solanum sparsipilum* también portan genes

de resistencia al PVY (Dubbels, 1995; Ochoa, 1999; Struik y Wiersema, 1999).

Mediante el cultivo de meristemos el PVY es fácilmente eliminado de entre un 85 y 90 % de los meristemos más pequeños de 0.3 mm de longitud. El corte de los meristemos con dos y cuatro primordios foliares asegura una completa eliminación del PVY.

Las bajas temperaturas también pueden eliminar este virus del tejido de papa en que se desarrolla a 5°C.

La combinación del cultivo de meristemos con la termoterapia o quimioterapia ha probado ser muy eficaz para la eliminación de virus tales como PVY (Cassells y Long, 1982 y Hadidi *et al*., 1998).

Su presencia puede ser detectada mediante el test ELISA, el UMELISA, RT-PCR y la hibridación de ácidos nucleicos (Hadidi *et al*.,1998).

3. Virus X de la papa (potato virus X, PVX). Este virus puede estar presente en cualquier lugar donde la papa se cultive. Pertenece al género de los Potexvirus y está compuesto por partículas alargadas, flexuosas de c. 515 x 13 nm. Su genoma está constituido por una molécula de ARN de simple cadena, polaridad positiva, monopartito y de 6 kb (Koenig y Lesemann, 1989; Conti *et al*. 1996 y Büchen-Osmond, 1998).

Es el causante de la enfermedad conocida como mosaico latente. Luego de la infección primaria, el virus usualmente no causa síntomas en la mayor parte de los cultivares y puede trasmitirse de forma inadvertida; aunque puede llegar a ocasionar enanismo, moteado ligero, mosaico intervenal, necrosis severa en el follaje y el tubérculo, y matar las plantas infectadas (Figura 3).

Figura 3. Síntomas causados por PVX

Sus razas difieren en distintas propiedades y han sido clasificadas en cuatro grupos, atendiendo a sus relaciones serológicas, en tres grupos por su punto de inactivación térmica y en cuatro grupos, de acuerdo con la reacción de hipersensibilidad que ocasionen en distintos genotipos de *Solanum tuberosum* que tienen los genes de hipersensibilidad Nx y Nb (Cockerham, 1955 en Bradshaw y Mackay, 1994). En Bolivia se informó en esta solanácea una variante del grupo 4, que fue denominada como PVX_{HB} (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los distintos aislamientos con respecto a los genes que portan diferentes genotipos de papa

Gén	Cultivar	Grupo de aislamientos				
		1	2	3	4	HB
nx nb	Arran Banner	+	+	+	+	+
Nx nb	Epicure	-1	+	-1	+	+
nx Nb	Arran Victory	-1	-1	+	+	+
Nx Nb	Craigs	-1	-1	-1	+	+
Rx	Defiance					
Rx adg	Saco					
Rx acl	Astarte	-2	-2	-2	-2	+
	Saphir					

Leyenda: + = susceptible, -1 = hipersensible, -2 = resistencia extrema.

Los genotipos con Nx reaccionan con acronecrosis y permanecen casi siempre libres de PVX. La variante agresiva PVXHB invade las plantas con los genotipos Nb, Nx, Rx y Racl. Brown *et al.*, 1984 (Estrada, 1999) encontraron un gén de resistencia extrema al biotipo HB en *Solanum sucrense*.

El gén Rx (Mills, 1965; Cockerham, 1970 en Estrada, 1999) originado en la variedad chilena Villaroela de *Solanum tuberosum* ha sido transferido a los cultivares Atlantic, Carlton y Saco.

El gén Rxadg fue detectado por Wiersema en 1961 (Estrada, 1999), y se incorporó a los cultivares Aguti, Bárbara, Natalie, Saphir y Serrana-INTA. Algunos híbridos de *Solanum acaule* x *Solanum stoloniferum* x *tuberosum* tienen ambos genes: Ry y Rxacl (Ross, 1954 y Davidson, 1979 en Estrada, 1999).

También se ha informado la presencia de resistencia al PVX en *Solanum vernei*, *Solanum canasense*, *Solanum chacoense*, *Solanum chomatophilum*, *Solanum curtilobum*, *Solanum demissum*, *Solanum multidissectum*, *Solanum phureja*, *Solanum leptophyes*, *Solanum marinasense*, *Solanum medians*, *Solanum pampasense*, *Solanum* sp*arsipilum*, *Solanum tarijense*, *Solanum toralapanum y Solanum*

verrucosum (Swiezynski, 1994; Dubbels, 1995; Estrada, 1999; Struik y Wiersema, 1999 y Ochoa, 1999).

Doreste *et al*. (2002) obtuvieron plantas transgénicas resistentes a la infección por este virus en Cuba.

La aplicación de la técnica de cultivo de meristemos en combinación con la termoterapia ha permitido el saneamiento de muchos materiales infectados con PVX. También se han obtenido resultados satisfactorios con la quimioterapia mediante la incorporación de Virazole en explantes de papa y en el medio de cultivo. La utilización combinada de los tres métodos antes mencionados ha resultado ser de mucho valor para la obtención de plántulas libres de este virus (Cassells y Long, 1982; Singh y Khurana, 1993; Hadidi *et al*., 1998).

Este virus es altamente contagioso en condiciones naturales, se trasmite mecánicamente mediante el contacto entre hojas, la maquinaria contaminada, frotamiento, por daños que ocasionan los insectos masticadores en su alimentación, pero no por áfidos. *Synchytrium endobioticum* puede trasmitirlo a través de sus zoosporas, también es fácilmente trasmisible por injerto y *Cuscuta campestris* (Singh y Khurana, 1993; Salazar, 1995).

Las plantas indicadoras más utilizadas para el PVX son: *Nicotiana tabacum, Datura stramonium, Gomphrena globosa* (Koenig y Leseman, 1989). Su rango de hospederos es amplio y puede infectar especies de Solanaceae, *Chenopodiaceae, Amaranthaceae* y *Leguminosae* (Koenig y Lesemann, 1989; Singh y Khurana, 1993). En Cuba ha sido informada su presencia en forma de complejo junto al PVY en plantas de escoba amarga (*Parthenium hyterophorus* L) (Cordero, 1983).

En su detección se utilizan el *test* ELISA, el UMELISA y las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (Ramos *et al*., 1995; Hadidi *et al*., 1998).

4. Virus M de la papa (potato virus M, PVM). El virus M de la papa está presente comúnmente en el este de Europa y la ex URSS (Salazar, 1995). Pertenece al género de los Carlavirus y está constituido por partículas filamentosas de c. 650 x 12 nm. Su genoma está compuesto por una molécula de ARN de simple cadena (Conti *et al*., 1996).

A menudo se observan plantas en las que el virus se mantiene latente. Los síntomas ocasionados van de ligeros a severos (Figura 4). Las plantas infectadas presentan deformación y enrollamiento en las hojas apicales y un mosaico ligero que solamente puede observarse cuando la infección ocurre en plantas muy jóvenes. Algunos cultivares pueden

llegar a desarrollar necrosis en los tallos y peciolos. Los síntomas de la enfermedad se enmascaran por encima de 24 ºC. La enfermedad ocasionada por este virus se le conoce como mosaico enrollado o paraencrespamiento de la papa (*paracrinkle*) (Singh y Khurana, 1993; Salazar, 1995 y Asscheman *et al*., 1996).

Figura 4. Síntomas causados por PVM. A la izquierda síntomas de mosaico que también pueden ser ocasionados por PVX, PVS, PVY o PVA (cortesía de REDEPAPA, 2000), a la derecha síntomas de enanismo (cortesía de Asscheman *et al*. 1996)

Las razas del PVM difieren en el tipo y la severidad de síntomas que ocasionan, en su trasmisibilidad por áfidos, en la rapidez con que pueden multiplicarse y en la capacidad que muestren para inducir hipersensibilidad en plantas portadoras del gén Rm.

Tipos de resistencia

- **asociada con la hipersensibilidad:** El gén Rm se encontró en *Solanum megistacrolobum* EBS 1787 (Ross y Jacobsen, 1976 en Swiezynski, 1994). Las plantas que portan este gén pueden mantenerse saludables en condiciones naturales, presión de virus y su nivel de resistencia depende del fondo genético. La hipersensibilidad al

PVM puede encontrarse también en *Solanum cardiophyllum* y *Solanum microdontum*.

- **asociada con tolerancia:** En dos progenies de *Solanum gourlayi* (INTA 73 30 e INTA 73 56) se encontró un alto nivel de resistencia asociado al gén Gm que se expresa reduciendo la diseminación en las plantas inoculadas por injerto (Swiezynski *et al*., 1981 en Swiezynski, 1994). En *Solanum gourlayi* se encontró el gén dominante Ma. Los genotipos portadores de ambos genes dominantes (Gm y Ma) expresan altos niveles de resistencia, pero siempre se detecta algún efecto ocasionado por un fondo genético (Pochilonov, 1989 en Swiezynski, 1994).

También se ha encontrado resistencia al PVM en : *Solanum chacoense, Solanum microdontum, Solanum tuberosum* subsp. andígena y *Solanum leptophyes, Solanum bukasovii, Solanum chancayense, Solanum marinasense, Solanum medians, Solanum mochiquense, Solanum multiinterruptum* y *Solanum sparsipilum* (Estrada, 1999 y Ochoa, 1999).

La utilización de meristemos con dos primordios foliares para la propagación de los materiales en cultivo *in vitro* asegura en las plantas regeneradas la completa eliminación de este virus. El suministro durante dos semanas de Virazole, en el cultivo hidropónico de cortes de tallo de papas infectadas con PVM antes de la realización del cultivo de meristemos da resultados excelentes. Plantas derivadas de cultivos de explantes de papa infectados con PVM, en presencia de Virazole eliminan la presencia de este virus entre un 71 y 79 % (Cassells y Long, 1982; Hadidi *et al*., 1998).

Se trasmite mecánicamente por contacto entre plantas y también por áfidos de forma no persistente. Los vectores más eficientes son *Myzus persicae* y *Aphis nasturtii*, aunque *Macrosiphum euphorbiae* y *Aphis frangulae* también lo trasmiten con menos eficacia.

Su rango de hospederos es estrecho. Las especies susceptibles pertenecen principalmente a las solanáceas. Como plantas indicadoras se utilizan: *Datura metel, Lycopersicon esculentum, Nicotiana debneyi* y *Solanum rostratum* (Wetter, 1972; Singh y Khurana, 1993; Salazar, 1995; Asscheman *et al*., 1996).

Para su detección se utilizan el *test* ELISA y las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (Hadidi *et al*., 1998).

5. *Virus A de la papa (potato virus A, PVA)*. El PVA es un Potyvirus poco común en el trópico, que se encuentra frecuentemente en Europa y Norteamérica. Está constituido por partículas filamentosas de c. 730 x 11 nm. Su genoma está compuesto por una cadena simple de ARN. En la mayor parte de los cultivares puede llegar a ocasionar (Figura 5) un moteado clorótico entre y en las venas, que se observa con mayor claridad en días fríos y nublados. Los márgenes de las hojas afectadas pueden ondularse y las hojas tomar una apariencia ligeramente rugosa, donde las venas se hunden y las áreas intervenales se elevan. Las plantas enfermas tienden a abrirse, porque los tallos se encorvan hacia afuera. La severidad de los síntomas depende de las condiciones climáticas, el cultivar de papa y la raza de PVA presente (Singh y Khurana, 1993; Davis, 2000b).

Figura 5. Síntomas ocasionados por PVA (lado derecho de la foto cortesía de Asscheman *et al*., 1996)

Las razas de este virus difieren en la severidad de síntomas en *Nicandra physalodes* como suaves, moderadamente severas y severas (Salazar, 1995).

El gén Na presente en muchos genotipos confiere una respuesta hipersensible, que protege las plantas de una infección con PVA en condiciones naturales. Muchos cultivares de papa portan el gén Ry_{sto} para resistencia extrema al PVY, que también es útil para PVA (Swiezynski, 1994; Estrada, 1999).

Este virus ha podido ser eliminado por el cultivo de meristemos de ápices de tallo con dos y cuatro primordios de hojas; también ha sido efectiva la combinación de esta técnica con la termoterapia. El PVA también se ha eliminado de tejido de papa sometido a 5 ºC (Villalobos, 1979; Cassells y Long, 1982 y Hadidi *et al*., 1998).

Este virus es fácilmente trasmisible por inoculación mecánica, injerto y de forma no persistente por áfidos (*Myzus persicae, Myzus circumflexus, Aphis rhamni, Aphis frangulae, Aphis nasturtii* entre otros); afecta solanáceas.

Como plantas indicadoras se utilizan: *Nicotiana tabacum* var. Samsun y White Burley, *Nicandra physalodes*, *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Solanum demissum* x *Solanum tuberosum* cv. Aquila (híbrido A6) y *Solanum demissum* Sda. (Bartels, 1971).

Su detección se realiza mediante el test ELISA y las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (Hadidi *et al*., 1998)

6. *Virus S de la papa (potato virus S, PVS).* El virus S de la papa es un Carlavirus de amplia diseminación, que en el trópico puede propagarse rápidamente. Está compuesto por partículas filamentosas de c. 650 ´ 12 nm y su genoma lo constituye una molécula de ARN de simple cadena.

Los síntomas en la mayor parte de los genotipos de papa no son claros o extremadamente ligeros, transitorios y poco visibles (Figura 6). En algunas variedades la raza severa puede causar el bronceado de las hojas con finos puntos necróticos en los foliolos y el crecimiento abierto en la planta.

Figura 6. Plantas con síntomas de PVS (foto cortesía de Asscheman *et al*., 1996)

A menudo se observa una ligera depresión en las venas, rugosidad y enanismo (Wetter, 1971; Singh y Khurana, 1993, y Salazar, 1995).

Se reconocen dos grupos principales de variantes en papa, por la infección sistémica causada en *Chenopodium amaranticolor* y *Chenopodium quinoa* por las variantes andinas (Wetter, 1971; Salazar, 1995).

Tipos de resistencia

Asociada con la hipersensibilidad: El gén Ns fue encontrado en *Solanum tuberosum* subsp. andígena cv Huaca Nauhí, PI 258907. Este gén se expresa también en presencia del gén Gm que controla la resistencia a PVM. Una reacción similar se encontró en accesiones de *Solanum chacoense, Solanum megistacrolobum y Solanum microdontum.* Las variedades Szignal en Hungría y Fantasía en Alemania fueron los primeros cultivares de papa portadores del gen Ns.

El gén recesivo s proveniente de la variedad Saco posee un alto grado de resistencia contra este virus. También se ha informado resistencia al PVS en los genotipos Adretta, Narew, Uran, Solanum bukasovii, *Solanum chancayense, Solanum marinasense, Solanum medians, Solanum mochiquense, Solanum multiinterruptum y Solanum sparsipilum* (Swiezynski, 1994; Ochoa, 1999).

Este virus es probablemente el más dificil de erradicar mediante la utilización del cultivo de meristemos. La combinación de la termoterapia o quimioterapia, seguida por el cultivo meristemático de ápices, es muy útil para la obtención de plántulas libres de PVS (Singh y Khurana, 1993). En Cuba, se han realizado trabajos encaminados a la obtención de plántulas libres de PVS utilizando meristemos de distintos tamaños (0.3 a 0.2 mm; 0.2 a 0.1 mm y 0.1 a 0.06 mm). El rango con el que se han obtenido los mejores resultados es el de 0.1 a 0.06 mm (96.6 % de plants libres de virus) (García *et al.,* 2001).

Su rango de hospederos es amplio y puede infectar especies de las Solanaceae, Chenopodiaceae, Amaranthaceae y Leguminosae. Como plantas indicadoras pueden utilizarse *Nicotiana debneyii, Nicotiana tabacum, Nicotiana glutinosa y Lycopersicon esculentum.*

Se trasmite mecánicamente por contacto y algunas razas pueden trasmitirse por áfidos (*Myzus persicae*) de forma no persistente (Wetter, 1971; Singh y Khurana, 1993; Salazar, 1995 y Asscheman *et al*., 1996).

Para realizar el diagnóstico de este virus se utilizan el *test* ELISA, el UMELISA y las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (Hadidi *et al*., 1998; Quiñónez *et al*., 2000).

Afecta fundamentalmente solanáceas, pero puede infectar también algunas especies de las familias *Aizoaceae, Amaranthaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Leguminosae, Polygonaceae, Portulaceae y Scrophulariaceae*. Como plantas indicadoras se utilizan *Capsicum annuum, Capsicum frutescens, Nicotiana glutinosa, Lycopersicon esculentum, Nicotiana tabacum* vars. White Burley y Xanthi-nc, *Datura stramonium* y *Petunia sp.*

Se trasmite mecánicamente, por contacto, mediante áfidos de forma no persistente (*Myzus persicae*) cuando algún Potyvirus como PVA o PVY están presentes (Singh y Khurana, 1993; Salazar, 1995 y Brunt *et al*., 1996).

Para su detección se utilizan el *test* ELISA y las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (Hadidi *et al*., 1998).

7. Virus del mosaico del pepino (cucumber mosaic virus, CMV). El virus del mosaico del pepino pertenece a los Cucumovirus y su genoma está constituido por un ARN tripartito de simple cadena (ARNs 1; 2 y 3), necesario en la realización de la infección, que está encapsidado en tres partículas similares de alrededor de 28 nm de diámetro. Un cuarto ARN (ARN 4) es el mensajero subgenómico de la cubierta proteica y un quinto componente del ARN ha sido designado como CARNA 5, que también se le denomina ARN satélite.

Se encuentra ocasionalmente en papa, donde puede provocar clorosis y moteado en las hojas (Salazar, 1995). En Cuba ha sido encontrado en las especies silvestres *Solanum jamesii* Pi 275-263, *Solanum urumbambae* y *Solanum garciae* (Cordero, 1990).

Más de 60 especies de áfidos, incluyendo *Myzus persicae* y *Aphis gossypii* son capaces de trasmitirlo de forma no persistente. De forma experimental, el CMV se ha trasmitido mecánicamente con facilidad, aunque no es un virus estable y no puede ser propagado por los trabajadores al tocar las plantas.

Este virus tiene un rango de hospederos extremadamente amplio, alrededor de 800 especies de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas agrupadas en 40 familias son susceptibles (Kucharek y Purcifull, 1997).

Las plantas indicadoras más utilizadas con este virus son: *Cucumis sativus, Nicotiana tabacum, Nicotiana glutinosa, Lycopersicon esculentum, Phaseolus vulgaris* (frijol francés), Chen*opodium amaranticolor, Chenopodium quinoa y Vigna sinensis* (Gibbs y Harrison, 1970).

En su detección se utilizan el *test* ELISA, la técnica de reacción en cadena de la polimerasa y técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (Hadidi *et al*., 1998).

8. Virus del grabado del tabaco (tobacco etch virus, TEV). El virus del grabado del tabaco es un Potyvirus, cuyas partículas son varillas flexuosas y filamentosas de 730 x 12-13 nm. Su genoma está constituido por un ARN de simple cadena.

En Cuba ha sido encontrado en plantas de las especies silvestres *Solanum kurtzianum, Solanum tarijense, Solanum chacoense, Solanum cardiophyllum, Solanum querreroense* y *Solanum arrac-papa*, que mostraban síntomas de mosaico severo y rugosidad o deformación en las hojas (Cordero, 1991 y Cordero *et.al*., 1994).

El TEV puede ser trasmitido mecánicamente y por 10 especies de áfidos de forma no persistente. *Myzus persicae* es un vector eficiente. Las plantas indeseables y la presencia de otras solanáceas como pimiento (*Capsicum annuum*), *Solanum carolinense, Cirsium vulgare, Chenopodium album, Cassia obtusifolia, Datura stramonium, Solanum nigrum, Physalis spp*. y *Linaria canadensis* son buenos reservorios de este virus (Jones *et al*., 1997).

Su detección se realiza mediante el *test* ELISA y las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (Hadidi *et al*., 1998).

9. Tomato mottle taino virus (ToMoTV). El ToMoTV es un virus que pertenece al género Begomovirus de la familia Geminiviridae (Briddon y Markham, 1995), que fue informado en Cuba en el cultivo de la papa por Cordero *et al*. (2000)

Puede ocasionar en las plantas de papa infectadas síntomas de mosaico amarillo y enanismo. Se trasmite a través de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) por injerto y por tubérculos infectados. Su incidencia hasta el presente es baja.

Como plantas indicadoras pueden utilizarse variedades de papa, *Datura stramonium, Nicotiana tabacum* y tomate (*Lycopersicon esculentum*).

Su detección puede realizarse por PCR y técnicas de hibridación de ácidos nucleicos.

10. *Virus del bronceado del tomate (tomato spotted wilt virus, TSWV).* El virus del bronceado del tomate, conocido también por virus de la marchitez manchada del tomate, es un Tospovirus que afecta considerablemente la producción de alimentos y plantas ornamentales en todo

el mundo. En Cuba no ha sido informado hasta el presente pero por estar cuarentenado hacemos referencia también a este virus.

Entre los cultivos de importancia económica, en los que ocasiona una disminución severa de sus producciones están: tomate, papa, tabaco, cacahuete, pimiento, lechuga, frutabomba, piña, crisantemo, ageratum y dalia, entre otros.

Se ha informado en el cultivo de la papa en países tropicales y subtropicales. Las plantas infectadas pueden llegar a mostrar síntomas de necrosis en hojas, tallos y peciolos entre las partes media y superior, que en ocasiones recuerdan los provocados por la *Alternaria solani* al tener forma de manchas o anillos concéntricos. Los tubérculos de estas plantas pueden parecer normales o mostrar deformaciones, rajaduras y manchas necróticas internas.

Consta de partículas esféricas de 80-100 nm de diámetro revestidas por una membrana lipoproteica. Su genoma está constituido por un ARN monocatenario subdividido en tres moléculas: ARN L (-) de 8.2kb; ARN M(5.2 kb) y ARN S (3.4 kb), los dos últimos son ambisentido. Tanto el L como el M y el S son necesarios para que ocurra la infección viral. Puede infectar 550 especies de plantas ornamentales y hortícolas entre las que se encuentran: *Amaranthus caudatus, Amaranthus retroflexus, Brassica oleracea* var. botrytis, *Calendula officinalis, Camp*anula spp, *Capsella bursa-pastoris, Capsicum annuum, Cichorium* spp, *Chrysanthemun* spp, *Cynara scolymus, Dahlia variabilis, Datura stramonium, Lactuca sativa, Lycopersicon esculentum, Medicago sativa*, Nicotiana spp, *Ocimun basilicum*, Papaver spp, *Petunia hybrida, Portulaca oleracea, Salvia pratensis, Solanum melongena, Sonchus oleraceus, Stellaria media*, Tagetes spp.

Como plantas indicadoras pueden utilizarse: *Nicotiana glutinosa, Nicotiana benthamiana, Nicotiana tabacum, Nicotiana rustica, Petunia hybrida, Cucumis sativus y Datura stramonium.*

Se trasmite mecánicamente con alguna dificultad, a través de los tubérculos y mediante los insectos *Thrips tabaci, Frankliniella schultzei, Frankliniella occidentalis* y *Frankliniella fusca*.

Su detección puede realizarse mediante el *test* ELISA, la técnica de reacción en cadena de la polimerasa y técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (Singh y Khurana, 1993; Salazar, 1995; Conti *et al*., 1996; Nuez *et al*., 1996; Cho *et al*., 1998; Fernández, 2002).

VIRUS DEL MOSAICO AUCUBA DE LA PAPA (POTATO AUCUBA MOSAIC VIRUS, PAMV)

La presencia del PAMV ha sido informada en la mayor parte de los países donde se planta esta solanácea. Pertenece a los Potexvirus y está constituido por partículas filamentosas de c. 580 x 11nm. Su genoma consta de un ARN de simple cadena que constituye el 5 % de la partícula.

Ocasiona (Figura 7) lesiones locales cloróticas en las hojas más viejas, necrosis en las más jóvenes y necrosis apical. También puede inducir un mosaico ligero y deformación en toda la planta. En los tubérculos puede causar deformación y necrosis (*tuber blotch*).

Figura 7. Síntomas de PAMV (foto cortesía de REDEPAPA, 2000)

Se conocen tres variantes principales (suave, intermedia y severa), que se diferencian por la severidad de los síntomas que ocasionan en papa y tomate. La reducción en el rendimiento depende de la raza que se encuentre presente, las condiciones del cultivo y el genotipo.

Viroides. Los viroides son moléculas de ARN circular, de una sola cadena y contienen entre 246 y 375 nucleótidos. Son altamente infecciosos y su ARN no tiene actividad mensajera detectable, ni tampoco poseen cubierta proteica como los virus. En papa, el PSTVd es el único que se conoce (Diener *et al*., 1993; Salazar, 1995 y 1997a).

VIROIDE DEL TUBÉRCULO AHUSADO DE LA PAPA (POTATO SPINDLE TUBER VIROID, PSTV D)

El viroide del tubérculo ahusado de la papa está cuarentenado en Cuba (González *et al*., 2000) y puede ocasionar pérdidas bastante graves y en algunas regiones constituye una de las enfermedades más destructivas.

Está constituido por una pequeñísima molécula de ARN de 100 000 a 125 000 daltons de peso molecular, de forma circular o abierta y sin cubierta proteica. El medio ambiente juega un papel determinante en la severidad de los síntomas, ya que el PSTVd solo se multiplica y se acumula en una concentración elevada en los tejidos de la planta a temperaturas superiores a 20-22ºC.

Los síntomas rara vez se hacen evidentes en las plantas antes de la floración, los tallos y los pedicelos de las inflorescencias se adelgazan, quedando más erectos y largos que lo normal. Los foliolos son ligeramente más pequeños con sus márgenes ondulados y tienden a curvarse hacia dentro; el ángulo entre los tallos y peciolos es más agudo que lo normal. Las hojas inferiores más cercanas al suelo son visiblemente más cortas y erectas, contrastando con las hojas de plantas sanas que normalmente se apoyan contra el suelo. A medida que la estación de cultivo avanza, las plantas enfermas van reduciendo su ritmo de crecimiento, haciéndose difícil su identificación, debido a que se entrecruzan con las plantas sanas de la vecindad.

Los tubérculos (Figura 8) son de forma alargada y presentan una porción central cilíndrica, con tendencia en algunas variedades a formar extremos puntiagudos. Los síntomas se vuelven más pronunciados a medida que avanza la estación de cultivo, así aquellos con una piel regular se vuelven lisos, los que tienen piel roja se tornan rosados y los de color púrpura toman una coloración lavanda claro. Los ojos son más numerosos y se observa una disminución en su profundidad, son más notorios y más superficiales con el tejido que los rodea bien pronunciado y denticulado, mostrando a menudo manchas necróticas alrededor de las lenticelas. Con frecuencia se presentan resquebrajaduras, que son generalmente paralelas al eje longitudinal del tubérculo. En algunas variedades se observan nudos o hinchamientos que lo deforman severamente, también puede verse en la pulpa una extensa área de tejido necrótico.

Figura 8. Síntomas de PSTVd. A la izquierda pueden observarse tubérculos de forma alargada con ojos más numerosos y notorios, a la derecha en la parte inferior tubérculos ahusados (fotos cortesía de Asscheman *et al*., 1996)

Hay que mencionar que no todos los tubérculos que se forman en las plantas enfermas muestran síntomas, así como algunos de plantas sanas pueden tener una forma ahusada parecida.

Su presencia ha sido informada en Polonia, Rusia, Ucrania, Afganistán, China, India, Egipto, Nigeria, Argentina, Brasil, Canadá, Estados Unidos, Méjico, Perú y Australia.

Se trasmite por contacto, de forma natural, cuando las hojas de una planta infectada rozan o se ponen en contacto con las hojas de una planta sana, provocando roturas de pelos o tricomas, ocasionándose la infección. Esta trasmisión se produce también por el tránsito a través de los campos de personas, animales o implementos agrícolas. Puede propagarse por semilla y polen de papa y tomate. La trasmisión por insectos masticadores ha sido mencionada pero nunca confirmada; puede trasmitirse por áfidos si las fuentes del viroide también están infectadas con PLRV. Las larvas del nemátodo *Meloidogyne incognita* parecen llevar el viroide sobre su cuerpo y así servir como vectores pasivos.

La diseminación a larga distancia se lleva a cabo principalmente por el movimiento de tubérculos infectados, por lo que se recomienda usar tubérculos-semilla certificada, que se sabe con certeza que no se encuentran infectados.

El principal hospedero de este viroide es la papa, pero puede presentarse también en tomate, tabaco y berenjena (*Solanum melongena*).

Recientemente se ha encontrado en aguacates (*Persea americana*) y boniato (*Ipomoea batatas*) (Diener y Raymer, 1971; Anónimo, 2001a). Como plantas indicadoras se recomienda la utilización de *Scopolia sinensis*, el cultivar de tomate Rutgers, *Solanum berthaultii* PI 473340 y *Solanum acaule* OCH 11603, que se piensa que porta algunos genes mayores de resistencia. También se ha encontrado resistencia en *Solanum querreroense, Solanum bukasovii, Solanum huancabambense, Solanum marinasense, Solanum medians, Solanum mochiquense, Solanum multiinterruptum, Solanum pampasense* y *Solanum sparsipilum* (Swiezynski, 1994; Dubbels, 1995; Estrada, 1999 y Ochoa, 1999).

El PSTVd ha podido ser eliminado al combinar la termoterapia o tratamientos a baja temperatura con el cultivo de meristemos, o por el tratamiento a bajas temperaturas de los tubérculos (5ºC de tres a seis meses), por ciclos repetitivos de congelación y descongelación (-20ºC por 18 horas y 5ºC por seis horas) (Villalobos, 1979; Salazar, 1995 y Hadidi *et al*., 1998).

Su diagnóstico se realiza mediante RT-PCR y técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (Khurana y Garg, 1993; Singh *et al*., 1994; González y Soto y Peralta, 2000 y González *et al*., 2001 a y b).

Fitoplasmas. Los fitoplasmas son microorganismos que fueron previamente considerados como organismos parecidos a micoplasmas (MLO'S). Estos microorganismos son pleomórficos, sin pared celular y están rodeados de una membrana. Su diámetro varía mucho, cuerpos que miden 50 o más de 1000 nm se han hallado en la mayoría de las enfermedades de este tipo. Los cuerpos de los fitoplasmas contienen un enrejado fibrilar de hebras, que se supone que son ADN y áreas con gránulos semejantes a ribosomas. Estos organismos aparentemente se propagan por fisión binaria, gemación o fragmentación. Los fitoplasmas son los procariontes más pequeños capaces de tener replicación autónoma.

Los fitoplasmas incluyen a los espiroplasmas (ej: enanismo del maíz y *Spiroplasma citri*), por razones prácticas, aunque taxonómicamente están separados, existen otros organismos parecidos a los fitoplasmas que causan enfermedades similares en varias especies de plantas. Estos son los organismos parecidos a Ricketsias (RLO), entre los cuales hay algunos limitados al xilema y otros al floema de las plantas.

Fitoplasmas en el cultivo de la papa en cuba. En la papa se han informado varias enfermedades producidas por fitoplasmas (Figura 9), tales como el enrollamiento púrpura del ápice (*purple top rol*l, *PTR*), flavescencia marginal (*marginal flavescense, MF*), escoba de brujas

(*witches' broom, WB*), filodia de la papa (*potato phyllody, PP*), marchitez de la punta morada (*purple top wilt, PTW*) y stolbur (*potato stolbur*).

Figura 9. Síntomas ocasionados por fitoplasmas. A la izquierda se observan diferentes variedades de papa afectadas por stolbur, a la derecha punta morada (fotos cortesía de Asscheman *et al*., 1996)

En Cuba, fue informada (Jotoff y Lago, 1972) la marchitez de la punta morada (punta morada, amarillamientos del aster), que ocasiona clorosis en los foliolos usualmente a lo largo de los márgenes en las plantas infectadas, brotes erectos, enrollamiento de las hojas hacia arriba a medida que la enfermedad avanza. En la base de los foliolos se observa una pigmentación purpúrea y los tallos se marchitan debido a una necrosis del floema. En las plantas jóvenes afectadas se observan tubérculos aéreos y un engrosamiento de los nudos del tallo. Los tubérculos producidos por las plantas infectadas pueden ser flácidos y sus brotes ahilados.

Los fitoplasmas son patógenos que en su vector se trasmiten de forma persistente, por lo que requieren largos períodos de adquisición (de dos a más de 30 días), aunque algunas variantes del amarillamiento del aster pueden ser trasmitidas entre ocho y 24 horas. Requieren un período de incubación que varía en dependencia con el fitoplasma entre 10 y 35 días. Varios estudios han demostrado que en su vector pueden inducir cambios beneficiosos o perjudiciales para el insecto. Estos organismos pueden persistir en su vector hasta 88 días en algunos casos.

Para el PTW los vectores principales son *Macrosteles fascifrons* y *Elimana virescence* (Banttari *et al*., 1993; Salazar, 1995; 1997 a y b).

Su detección puede realizarse por microscopía electrónica, con la ayuda de un microscopio electrónico de barrido o de trasmisión, la técnica de reacción en cadena de la polimerasa y técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (Lee, 1999; Anónimo, 2001b).

Medidas de control. Utilización de tubérculos semilla de papa sanos para realizar las plantaciones.

- Utilización de métodos de diagnóstico adecuados que permitan conocer el estado sanitario del campo.
- Eliminación en los campos de las plantas enfermas (selección negativa).
- Utilización en las plantaciones de variedades de papa que porten resistencia frente a los virus que mayor incidencia y pérdidas ocasionen en esa región o país.
- Mantener un estricto control de vectores.
- Eliminar las plantas indeseables que puedan servir como fuentes de infección en el campo.
- Eliminar los tubérculos que hayan quedado en el campo de la cosecha anterior, evitando así la presencia de plantas enfermas que puedan servir como fuentes de infección.
- Aplicación de aceite mineral en las plantaciones.
- Eliminación de los tubérculos que en su brotación muestren proliferación de brotes o brotes ahilados.
- Eliminación antes de la plantación y luego de la cosecha de los tubérculos con síntomas evidentes de infección por virus.
- Evitar el contacto del follaje con los equipos de labranza.
- Desinfección de las herramientas con hipoclorito de sodio o compuestos de amonio cuaternario.
- Rotación de cultivos.
- Las plantaciones de esta solanácea no deben estar cerca de especies hortícolas u ornamentales.

Todas estas medidas contribuirán a evitar la propagación de las enfermedades virales, viroides y fitoplasmas en el cultivo de la papa (Salazar, 1995; Asscheman *et al.* 1996; Conti *et al.* 1996; Nuez *et al.* 1996; Salazar, 1997 a y b; Cho *et al.* 1998 y Anónimo, 2001a).

Resultados cubanos para PLRV. Durante las campañas 1996-1997; 1997-1998; 1998-1999 y 1999-2000, se inocularon con una cepa severa de PLRV y evaluaron en condiciones semicontroladas, diez plantas de distintos genotipos promisorios y comerciales. Como control susceptible

se utilizó la variedad Desirée y como control resistente el híbrido 385082-8 (Tabla 2).

Tabla 2. Genotipos inoculados en condiciones semicontroladas

Campaña	Genotipos	Campaña	Genotipos	Campaña	Genotipos
1996-1997	Carlita	1997-1998	Arinda	1998-1999	3-92-85
1996-1997	Desirée	1997-1998	385082-8	1998-1999	6-10I-85
1997-1998	1-5-85	1997-98	Baraka	1998-1999	3-27-85
1997-1998	389477-24	1997-1998	390640-11	1998-1999	388964-40
1997-1998	388285-8	1998-1999	6-220-85	1998-1999	6-10-85
1997-1998	2-5-85	1998-99	390642-6	1999-2000	385082-8
1997-1998	Desirée	1998-1999	385082-8	1999-2000	6-341-85
1997-1998	388439-15	1998-1999	6-423-85	1999-2000	6-463-85
1997-1998	3-46-85	1998-1999	6-220I	1999-2000	6-220I
1997-1998	6-21-85	1998-1999	6-463-85	1999-2000	6-15-85
1997-1998	6-340A-85	1998-1999	6-341-85	1999-2000	Symfonía
1997-1998	2-2-85	1998-1999	Fontenot	1999-2000	Kuroda
1997-1998	3-27-85	1998-1999	6-456-85	1999-2000	Santana
1997-1998	381218-44	1998-1999	Desirée	1999-2000	389664-23
1997-1998	388218-8	1998-1999	8-100	1999-2000	6-5-85
1997-1998	399064-8	1998-1999	6-21-85	1999-2000	Picasso
1997-1998	6-457-85	1998-1999	6-340I-85	1999-2000	8-84-86
1997-1998	389465-20	1998-1999	389453-29	1999-2000	Armada
1997-1998	389453-56	1998-1999	Dura	1999-2000	391218-21
1997-1998	6-456-85	1998-1999	Monte Bonito	1999-2000	Desirée
1997-1998	Oscar	1998-1999	Remarka		
1997-1998	Novita	1998-1999	6-457-85		
1997-98	Cornado	1998-99	388215-19		

Las plantas se inocularon en el momento de la brotación mediante áfidos de la especie *Myzus persicae* (cinco por planta). Las colonias sanas de estos áfidos se mantuvieron sobre berza (*Brassica oleracea* var. acephala) y se utilizaron como fuentes de infección plantas enfermas de papa, variedad Desirée (previa comprobación de la presencia del PLRV mediante el *test* ELISA). El período de adquisición y de inoculación fue de tres días (Pérez, 1989).

Las plantas inoculadas se observaron diariamente hasta el momento en que comenzaron a manifestarse los síntomas de la enfermedad. Posteriormente, se evaluó su severidad semanalmente mediante una escala de 0 a 5 (Cordero, 1998).

Los datos de aparición y severidad (transformados según $\sqrt{x+1}$ que se obtuvieron fueron procesados mediante análisis de varianza.

Para evaluar la aparición de los síntomas, los valores 0 se simbolizaron por el número 70. El diseño utilizado fue el de bloques completamente aleatorizados.

Los tubérculos de las variedades infectadas cuya media de severidad fue menor de 2, se plantaron al año siguiente junto al control susceptible Desirée. Los que mantuvieron el mismo comportamiento, luego de ser evaluados los síntomas secundarios, pasaron a prueba de campo.

La presencia de este virus se comprobó en las plantas infectadas 30 días después de su plantación, al analizar muestras del follaje mediante el *test* inmunoenzimático ELISA.

***Inoculación de los materiales en condiciones de campo*.** Durante las campañas 1996-1997; 1998-1999; 1999-2000; 2000-2001 y 2001-2002, se plantaron en condiciones de campo genotipos promisorios y variedades comerciales (Tabla 3), el control resistente 385082-8 y el susceptible la variedad Desirée, en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas como control sano y cuatro con material previamente inoculado en la fase de grelos con cinco áfidos de la especie *Myzus persicae*, tres días antes de la plantación en la etapa de desarrollo del cultivo anterior (infección secundaria), que es la más dañina (Davis, 2000).

Los datos de aparición y severidad de síntomas se evaluaron y procesaron de la misma forma descrita en el epígrafe anterior.

Tabla 3. Genotipos inoculados en condiciones de campo

Campaña	Genotipos	Campaña	Genotipos	Campaña	Genotipos
1996-1997	Carlita	2000-2001	Santana	2001-2002	5-92-93
1996-1997	Desirée	2000-2001	385082-8	2001-2002	6-31-93
1998-1999	Carlita	2000-2001	Arinda	2001-2002	385082-8
1998-1999	385082-8	2000-2001	Baraka	2001-2002	390981-11
1998-1999	Desirée	2000-2001	390642-6	2001-2002	389453-8
1999-2000	Baraka	2001-2002	398215-9	2001-2002	389453-29
1999-2000	Arinda	2001-2002	9-75-94	2001-2002	396642-6
1999-2000	Desirée	2001-2002	9-32-93	2001-2002	391218-25
1999-2000	390642-6	2001-2002	6-463-85	2001-2002	389664-23

La presencia de este virus se comprobó en las plantas infectadas 70 días después de su plantación, al analizar muestras del follaje mediante el *test* inmunoenzimático ELISA.

Luego de la cosecha del experimento, se evaluaron los rendimientos obtenidos en cada parcela en peso y número de tubérculos por plantón total y comercial.

Evaluación de materiales inoculados en condiciones semicontroladas. En la Tablas 2 se observa que en condiciones semicontroladas los genotipos Carlita, 391218-44, 388218-8, 399064-8, 6-547-85, 389465-20, 389453-56, 389453-29 y 391218-21 aunque presentaron los síntomas bastante rápidamente, mantuvieron durante toda la experiencia valores bajos de severidad. 390640-11, Baraka, Arinda, Oscar, 390642-6, 6-463-85, 8-100-86 y el 8-84-86 demoraron en manifestar indicios de la enfermedad que fueron poco severos, al igual que el híbrido 385082-8.

Los materiales Desirée, 1-5-85, 389477-24, 388285-8, 2-5-85, 388439-15, 3-46-85, 6-21-85, 6-340A-85, 2-2-85, 3-27-85, 6-456-85, Novita, Cornado, 6-220-85, 6-423-85, 6-220I-85, 6-341-85, Fontenot, 6-340I-85, Dura, Monte Bonito, Remarka, 6-457-85, 388215-19, 3-92-85, 6-10I-85, 388964-40, 6-10-85, 6-341-85, 6-15-85, Symfonía, Kuroda, Santana, 389664-23, 6-5-85; Picasso y Armada resultaron ser susceptibles al PLRV.

El *test* ELISA evidenció la presencia del PLRV en las plantas inoculadas a pesar de no mostrar indicios de afectación. Tal es el caso del genotipo 391218-21, que a pesar de no haber manifestado ningún síntoma secundario, obtuvo un valor medio de densidad óptica de 0.834 nm (X c. sano = 0.097 nm y X c. positivo = 0.827 nm).

El genotipo 8-100-86 a pesar de presentar bajos valores de severidad al ser inoculado con este virus es muy susceptible a geminivirus, por lo que recomendamos su eliminación del Programa de Mejoramiento Genético de Papa.

Evaluación de materiales inoculados en condiciones de campo. En las Tablas 3-7 pudo observarse que los genotipos Carlita, 385082-8, Baraka, Arinda, 390642-6, 398215-9, 9-75-94, 9-32-93, 6-463-85, 5-92-93, 6-31-93, 390981-11, 389453-8, 389453-29, 396642-6, 391218-25 y 389664-23 demoraron en presentar síntomas y su severidad fue muy baja. La variedad Desirée manifestó los síntomas rápidamente, alcanzando valores de severidad elevados.

Santana informada como susceptible al PLRV en los catálogos comerciales (Coumou, 2000), mostró bajos valores de severidad, pérdidas en los rendimientos y *test* ELISA en el experimento de campo (Tablas 8-17). Sin embargo, al ser inoculada en condiciones semicontroladas (condiciones de máxima susceptibilidad) y plantadas en campo manifestó un alto grado de severidad, que corrobora los resultados obtenidos en los catálogos comerciales.

Tabla 3. Comparación de los genotipos inoculados en condiciones de campo en cuanto a aparición y severidad de síntomas (1996-1997)

Genotipos	Aparición de síntomas Xn (días)	Severidad de síntomas Xn
Carlita	69.43 a	0.03 b
Desirée	36.89 b	4.49 a
ES x	7.196 *	0.0379***

Letras coincidentes no difieren entre sí
*= p de 0.05 % ***= p de 0.001 %

Tabla 4. Comparación de los genotipos inoculados en condiciones de campo en cuanto a aparición y severidad de síntomas (1998-1999)

Genotipos	Aparición de síntomas Xn (días)	Severidad de síntomas Xn
Carlita	70.00 a	0.00 b
385082-8	68.77 b	0.06 b
Desirée	35.00 c	4.52 c
ES x	0.269***	0.010***

Letras coincidentes no difieren entre sí
***= p de 0.001 %

Tabla 5. Comparación de los genotipos inoculados en condiciones de campo en cuanto a aparición y severidad de síntomas (1999-2000)

Genotipos	Aparición de síntomas Xn (días)	Severidad de síntomas Xn
Baraka	70.00 a	0.00 b
Arinda	70.00 a	0.00 b
390642-6	70.00 a	0.00 b
Desirée	39.00 b	3.25 a
ES x		0.018***

Letras coincidentes no difieren entre sí
***= p de 0.001.%

Tabla 6. Comparación de los genotipos inoculados en condiciones de campo en cuanto a aparición y severidad de síntomas (2000-2001)

Genotipos	Aparición de síntomas Xn (días)	Severidad de síntomas Xn
Santana	58.30 c	1.25 a
385082-8	64.60 b	0.21 b
Arinda	69.72 a	0.04 b
Baraka	70.00 a	0.00 b
390642-6	70.00 a	0.00 b
ES x	1.57***	0.05***

Letras coincidentes no difieren entre sí ***= p de 0.001 %

Tabla 7. Comparación de los genotipos inoculados en condiciones de campo en cuanto a aparición y severidad de síntomas (2001-2002)

Genotipos	Aparición de síntomas Xn (días)	Severidad de síntomas Xn
398215-9	60.48 a	1.22 a
9-75-94	65.76 a	1.04 ab
9-32-93	58.97 a	0.99 abc
6-463-85	68.34 a	0.88 abc
5-92-93	69.12 a	0.56 abcd
6-31-93	67.95 a	0.49 abcd
385082-8	67.57 a	0.32 bcd
390981-11	67.59 a	0.23 bcd
389453-8	69.00 a	0.21 cd
389453-29	68.05 a	0.19 cd
396642-6	69.40 a	0.06 d
391218-25	63.68 a	0.02 d
389664-23	70.00 a	0.00 d
ES x	2.373^{ns}	0.101*

Letras coincidentes no difieren entre sí
ns= no significativo. *= nivel de probabilidad de 0.05 %

Tabla 8. Comparación de los genotipos en cuanto a rendimiento total y comercial por plantón expresado en kilogramos (1996-1997)

Variedades	Rendimiento comercial/plantón			Rendimiento total/plantón		
	Sanos Xn	Enfermos Xn	Pérdidas (%)	Sanos Xn	Enfermos Xn	Pérdidas (%)
Carlita	0.48 a	0.43 a	10.42	0.48 a	0.45 a	6.25
Desirée	0.36 a	0.15 a	58.33	0.36 a	0.22 a	38.89
ES x	0.09 ns			0.093 ns		

Letras coincidentes no difieren entre sí

Tabla 9. Comparación de los genotipos en cuanto a número de tubérculos total y comercial por plantón (1996-1997)

Genotipos	No. tubérculos comercial/plantón		No. tubérculos total/plantón	
	Sanos Xn	Enfermos Xn	Sanos Xn	Enfermos Xn
Carlita	6.94 a	6.59 a	7.35 a	7.75 a
Desirée	5.97 a	2.52 a	6.17 a	2.53 a
ES x	1.474ns		1.534ns	

Letras coincidentes no difieren entre sí

Tabla 10. Comparación de los genotipos en cuanto a rendimiento en peso total y comercial por plantón expresado en kilogramos (1998-1999)

Genotipos	Rendimiento comercial/plantón			Rendimiento total/plantón		
	Sanos Xn	Enfermos Xn	Pérdidas (%)	Sanos Xn	Enfermos Xn	Pérdidas (%)
Carlita	0.91 a	0.86 a	5.49	0.95 a	0.87 ab	8.42
385082-8	0.80 ab	0.74 ab	7.50	0.86 ab	0.78 ab	9.30
Desirée	0.65 b	0.31 c	52.31	0.70 b	0.35 c	50.00
ES x	0.054***			0.052***		

Letras coincidentes no difieren entre sí ***= p de 0.001 %

Tabla 11. Comparación de los genotipos en cuanto a número de tubérculos total y comercial por plantón (1998-1999)

Genotipos	No. tubérculos comercial/plantón		No. tubérculos total/plantón	
	Sanos Xn	Enfermos Xn	Sanos Xn	Enfermos Xn
Carlita	5.10 ab	4.52 b	6.97 a	5.10 a
385082-8	6.30 a	6.47 a	7.15 a	8.20 a
Desirée	5.62 ab	4.22 b	7.62 a	6.17 a
ES x	0.482*		0.849^{ns}	

Letras coincidentes no difieren entre sí *= p de 0.05 %

Tabla 12. Comparación de los genotipos en cuanto a rendimiento en peso total y comercial por plantón expresado en kilogramos (1999-2000)

Genotipos	Rendimiento comercial/plantón			Rendimiento total/plantón		
	Sanos Xn	Enfermos Xn	Pérdidas (%)	Sanos Xn	Enfermos Xn	Pérdidas (%)
Baraka	0.71 a	0.60 abc	15.49	0.74 abc	0.63 abcd	14.86
Arinda	0.66 a	0.62 ab	6.06	0.78 a	0.75 ab	3.85
Desirée	0.55 abc	0.41 c	25.45	0.56 cd	0.47 d	16.07
390642-6	0.52 abc	0.45 bc	13.46	0.59 bcd	0.50 d	15.25
ES x	0.063*			0.056**		

Letras coincidentes no difieren entre sí *= p de 0.05 % **= p de 0.01 %

Tabla 13. Comparación de los genotipos en cuanto a número de tubérculos total y comercial por plantón (1999-2200)

Variedades	No. tubérculos comercial/plantón		No. tuberculos total/plantón	
	Sanos Xn	Enfermos Xn	Sanos Xn	Enfermos Xn
Baraka	6.95 ab	6.62 ab	8.97 b	8.77 b
Arinda	7.61 a	7.02 ab	12.19 a	11.87 a
Desirée	6.95 ab	4.40 c	8.97 b	8.45 b
390642-6	5.55 bc	5.30 bc	8.62 b	8.27 b
ES x	0.619*		0.768**	

Letras coincidentes no difieren entre sí ***= p de 0.001%

Tabla 14. Comparación de los genotipos en cuanto a rendimiento en peso total y comercial por plantón expresado en kilogramos (2000-2001)

Genotipos	Rendimineto comercial/plantón			Rendimiento total/plantón		
	Sanos Xn	Enfermos Xn	Pérdidas %	Sanos Xn	Enfermos Xn	Pérdidas %
Santana	0.58 b	0.56 b	3.45	0.58 b	0.57 b	1.72
385082-8	0.48 b	0.51 b	0.00	0.52 b	0.52 b	0.00
Arinda	0.75 a	0.73 a	2.67	0.77 a	0.74 a	3.90
Baraka	0.83 a	0.76 a	8.43	0.84 a	0.76 a	8.43
390642-6	0.51 b	0.50 b	1.96	0.53 b	0.52 b	1.89
ES x	0.04***			0.04***		

Tabla 15. Comparación de los genotipos en cuanto a número de tubérculos total y comercial por plantón (2000-2001)

Genotipos	No. tubérculos comercial/plantón		No. tubérculos total/plantón	
	Sanos Xn	Enfermos Xn	Sanos Xn	Enfermos Xn
Santana	5.97 d	6.40 d	6.40 d	6.84 cd
385082-8	8.15 bc	11.05 a	9.57 bc	12.67 a
Arinda	9.40 abc	10.05 ab	11.40 ab	12.02 ab
Baraka	9.60 abc	8.90 abc	10.52 ab	10.17 ab
390642-6	7.47 cd	7.67 bcd	9.17 bcd	9.40 bc
ES x	0.73 ***		0.91 ***	

Letras coincidentes no difieren entre sí ***= p de 0.001%

Tabla 16. Comparación de los genotipos en cuanto a rendimiento en peso total y comercial por plantón expresado en kilogramos (2001-2002)

Genotipos	Rendimiento comercial/plantón Xn	Rendimiento total/plantón Xn
398215-9	0.26	0.28
9-75-94	0.34	0.35
9-32-93	0.53	0.54
6-463-85	0.38	0.39
5-92-93	0.38	0.40
6-31-93	0.37	0.39
385082-8	0.43	0.45
390981-11	0.41	0.42
389453-8	0.49	0.50
389453-29	0.39	0.40
396642-6	0.38	0.39
391218-25	0.39	0.39
389664-23	0.48	0.57

Tabla 17. Comparación de los genotipos en cuanto a número de tubérculos total y comercial por plantón (2001-2002)

Genotipos	No. tubérculos comercial/plantón Xn	No. tubérculos total/plantón Xn
398215-9	4.22	5.03
9-75-94	3.67	4.17
9-32-93	4.63	5.13
6-463-85	4.34	4.92
5-92-93	4.51	5.02
6-31-93	5.53	6.74
385082-8	5.75	6.86
390981-11	4.14	4.55
389453-8	4.55	5.59
389453-29	4.97	6.21
396642-6	6.00	6.37
391218-25	4.08	4.64
389664-23	6.32	6.98

El material 385082-8, informado como resistente (Cordero, 1998), mostró una concentración viral elevada (Tablas 18-21). Este genotipo hace más de 17 años que se planta en campo sin haberse podido renovar su semilla, por lo que muestra cierto grado de degeneración.

Los híbridos 390642-6 y 6-463-85 mostraron tanto en condiciones semicontroladas como de campo escasos síntomas, aunque la presencia del PLRV pudo ser evidenciada mediante el *test* ELISA, por lo que se comportaron de forma tolerante. Debe destacarse el clón 6-463-85 que lleva reproduciéndose en campo por más de 14 años (Tablas 18-21).

Tabla 18. Comparación de los distintos genotipos en cuanto a los valores del *test* ELISA obtenidos (1998-1999)

Genotipos	Unidades de DO (nm) Xn
Carlita	0.401 a
385082-8	0.589 a
Desirée	0.615 a
ESx	0.1021 ns
C. sano	0.285
C. enfermo	0.604

Letras coincidentes no difieren entre sí

Tabla 19. Comparación de los distintos genotipos en cuanto a los valores del *test* ELISA obtenidos (1999-2000)

Genotipos	Unidades de DO (nm) Xn
Baraka	0.7149 a
Arinda	0.6638 a
390642-6	0.6415 a
Desirée	0.6531 a
E.S.x	0.1403 ^{ns}
C. sano	0.188
C. enfermo	0.880

Letras coincidentes no difieren entre sí

Tabla 20. Comparación de los distintos genotipos en cuanto a los valores del *test* ELISA obtenidos (2000-2001)

Genotipos	Unidades de DO (nm) Xn
390642-6	1.15 a
385082-8	0.24 b
Santana	0.12 b
Baraka	0.11 b
Arinda	0.11 b
ESx	0.04 ***
C. sano	0.097
C. enfermo	0.827

Letras coincidentes no difieren entre sí ***= p de 0.001 %

Tabla 21. Comparación de los distintos genotipos en cuanto a los valores del *test* ELISA obtenidos (2001-2002)

Genotipos	Unidades de DO (nm) Xn
396642-6	1.10 a
398215-9	0.81 b
391218-25	0.81 b
390981-11	0.66 bc
389664-23	0.56 cd
389453-29	0.50 cde
389453-8	0.40 def
385082-8	0.26 efg
9-75-94	0.24 fg
6-31-93	0.18 fg
5-92-93	0.17 fg
9-32-93	0.17 fg
6-463-85	0.13 g
ESx	0.078***
C. sano	0.103
C. enfermo	0.804

Letras coincidentes no difieren entre sí ***= p de 0.001 %

Carlita, Baraka y Arinda, variedades informados por los catálogos comerciales (Coumou, 2000), con buen comportamiento ante el PLRV, resultaron también ser tolerantes a este virus en nuestras condiciones por mostrar escasos síntomas, mantener buenos rendimientos y llegar a alcanzar concentraciones elevadas de virus (Tablas 3 a la 21).

Los resultados de la campaña 2001-2002 deberán corroborarse durante la etapa de desarrollo del cultivo 2002-2003 en condiciones semicontroladas, para poder comprobar si los materiales inoculados mantienen los mismos comportamientos expresados con anterioridad.

Consideramos que los resultados son de mucha importancia, ya que los virus son los patógenos más dañinos de la papa por causar grandes pérdidas en los rendimientos (degeneración) y porque se mantienen indefinidamente en el cultivo por su propagación vegetativa. En las zonas tropicales por debajo de los 2500 m, los virus ocasionan una disminución en los rendimientos de casi 20 % (Estrada, 1999) y el PLRV es uno de los más importantes, por lo que la utilización en nuestros campos de variedades con resistencia frente a este virus asegurará el estado fitosanitario y el incremento de los rendimientos en las plantaciones.

CONCLUSIONES

- En condiciones semicontroladas los genotipos 391218-44, 388218-8, 399064-8, 389465-20, 389453-56, 389453-29, 391218-21, 390640-11, 8-100-86, 8-84-86 y Oscar mostraron buenos comportamientos frente al PLRV.
- Carlita, Baraka, Arinda y los híbridos 390642-6, 6-463-85 y 385082-8 se comportaron de forma tolerante frente al PLRV.
- Los materiales 398215-9, 9-75-94, 9-32-93, 5-92-93, 6-31-93, 390981-11, 389453-8, 389453-29, 396642-6 391218-25 y 389664-23 mostraron buen comportamiento frente al PLRV en condiciones de campo.
- Los materiales Desirée, 1-5-85, 389477-24, 388285-8, 2-5-85, 388439-15, 3-46-85, 6-21-85, 6-340A-85, 2-2-85, 3-27-85, 6-456-85, Novita, Cornado, 6-220-85, 6-423-85, 6-220I-85, 6-341-85, Fontenot, 6-340I-85, Dura, Monte Bonito, Remarka, 6-457-85, 388215-19, 3-92-85, 6-10I-85, 388964-40, 6-10-85, 6-341-85, 6-15-85, Symfonía, Kuroda, Santana, 389664-23, 6-5-85, Picasso y Armada resultaron ser susceptibles.

RECOMENDACIONES

El híbrido 385082-8 debe ser rejuvenecido pues lleva muchos años reproduciéndose.

Los genotipos 398215-9, 9-75-94, 9-32-93, 5-92-93, 6-31-93, 390981-11, 389453-8, 389453-29, 396642-6, 391218-25 y 389664-23 deberán ser inoculados en condiciones semicontroladas y posteriormente plantados en campo, para poder conocer si siguen manteniendo su buen comportamiento frente al PLRV.

BIBLIOGRAFÍA

Asscheman, Ir. E.; Bokx, J. A.; Brinkman, H.; Bus, C. B.; Hotsma, P. H.; Meijers, C. P.; Mulder, A.; Scholte, K.; Turkensteen, L. J.; Wustman, R. y Van der Zaag D. E.. Potato diseases. Edt. Dr. Ir. D. E. Van der Zaag, NIVAA, P: O: Box 17337 Netherlands, 1996, 180 pp.

Anónimo. Ficha técnica para análisis del riesgo del viroide tubérculo fusiforme de la papa (Potato spindle tuber viroid, PSTVd). Análisis de riesgo del rayado bacteriano de la hoja del arroz, 2001a.

Anónimo. The use of polymerase chain reaction and molecular hybridization for detection of phytoplasmas in different plant species in Mexico. Resumen 19. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 2001b, 19, 1-2.

Bradshaw, J. E. y Mackay, G. R. Potato Genetics. CAB International, 1994, 551 p.

Banttari, E.; Peter, E. J. y. Khurana, S. M. P. Management of diseases caused by viruses and viruslike pathogens. Potato Health Management. Edited by Randall C. Row. APS Press, 1993, 127-133.

Bartels, R. Potato Virus A. CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, 1971, 54.

Bokx, J. A. y Huttinga, H. Potato Virus Y. CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, 1981, 242.

Büchen-Osmond, C. Potato Virus X. http/life.anu.edu.au/viruses/ICTVdb/ 5601000.htm. 1998.

Brunt, A. A.; Crabtree, K.; Dallwitz, M. J.; Gibbs, A. J.; Watson, L. y Zurcher, E. J. Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version 20 th. 1996.

Briddon, R. W. y Markham, P. G. Family Geminiviridae. VIth ICTV Report. 1995.

Cassells, A. C. y Long, R. D. The elimination of potato viruses X, Y, S, and M in meristem and explant cultures of potato in the presence of Virazole. *Potato Research,* 1982, 165-173.

Cho, J.; Mau, R. F. L.; Pang, S. Z.; Wang, M.; Gonsalves, C.; Watterson, J.; Custer, D.M. y Gonsalves, D. Appproaches for controlling Tomato Spotted Wilt Virus. Plant Virus *Disease Control*. APS Press, 1998, 547-564.

Clark, J. K. Potato Leafroll Virus. University of California. http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/selectnewpest.potatoes.html. 2000.

Conti, M.; Gallitelli, V.; Lisa, V.; Lovisolo ,O.; Martelli, G. P.; Ragozzino, A.; Rana, G.. L. y Vovlas, C. I principali virus delle piante ortive. Copyright Bayer, 1996, 206 p.

Cordero, M. *Parthenium hysterophorus* (escoba amarga), planta indeseable, reservorio natural de los Virus X, Y de la Papa. *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Hortalizas, Papas, Granos y Fibras*, 1983, 2, 23-32.

Cordero, M. Informe de campaña. Instituto Nacional de Ciencia Agrícola. 1990.

Cordero, M. Informe de campaña. Instituto Nacional de Ciencia Agrícola. 1991.

Cordero, M.; Estévez, A.; Valdés, S. y Reinaldo, S. Presencia del virus del grabado del tabaco en distintas especies silvestres de papa. Fondo de manuscritos, 1994.

Cordero, M. Informe de cierre de quinquenio 1990-1995. Proyecto de Mejoramiento de Papa. Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova, 1995.

Cordero, M. Bases metodológicas para la evaluación de la resistencia al PLRV en genotipos de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Cuba. Tesis para optar por la Maestría en Ciencias Biológicas, 1998. 69 p.

Cordero, M.; Ramos, P.; González, G.; Estévez, A.; Valdés, S. y García, D. Presencia de un Begomovirus en el cultivo de la papa. Memorias ALAP XIX Congreso, 8, 2000.

Davis, R. M. Potato Leafroll. UC IPM. Pest Management Guidelines: potato. http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r607101411.htmL. 2000a.

Davis, R. M. Potato mosaic diseases caused by Potyviruses. UC IPM. Pest Management Guidelines: potato. http//www.ipm.ucdavis.edu/PMG/ r607101411.htmL. 2000b.

Delgado-Sánchez, S. y Grogan, R. G. Potato virus Y. CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, 1970. 37.

Diener, T. O. y Raymer, W. B. Potato spindle tuber virus. CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, 1971, 66.

Diener, T. O.; Owens, R. A.; Hammond, R. W. Viroids: the smallest and simplest agents of infectious disease. How do they make plants sick? *Intervirology*, 1993. 35, 186-195.

Dorestes, V.; Ramos, P. L.; Enríquez, G. A.; Rodríguez, R.; Peral, R. y Pujol, M. Transgenic potato plants expressing the coat protein gene potato virus X (PVX) developed resistance to the viral infection. *Phytoparasitica*, 2002, 30, 2.

Dubbels, S. Physiological characters, disease and pest resistances. Commonwealth Potato Collection Evaluation Data. wwwscri.sari.ac.uk/cpc/index.htm. 1995.

Estrada, N. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. Centro de Información para el Desarrollo, CID, 1999, 372 p.

Fernández, M. Virosis en Tabaco. http//www.agrovision.com.ar/35/39.htm. 2002.

García, E. T.; Curbelo, T. M. I. y Tsyplenkov, C. A. Incidencia y distribución de las enfermedades virosas en el cultivo de la papa durante la campaña 1976-77. *Cienc. Tec. Agric. Protección de Plantas*, 1978, 1, 3, 13-22.

García, L.; Sarría, Z.; Pichardo, T. y Pérez, B. Saneamiento del virus S de la Papa en plantas cultivadas *in vitro*. IV Taller Nacional de Producción de Papas en los Trópicos. Compendio de exposiciones, 2001, 46-48.

Gibbs, A. J. y Harrison, B. D. Cucumber Mosaic Virus. CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, 1970, 1.

González, L.; Soto, M. y Peralta, E. L. Optimización del diagnóstico molecular del viroide del tubérculo ahusado de la papa al servicio de la cuarentena. Memorias ALAP XIX Congreso, 2000. 9, 227.

González, L.; Soto, M. y Peralta, E. L. Evaluación y disponibilidad en Cuba de procedimientos de diagnóstico para la detección del Viroide del Tubérculo Ahusado de la Papa (PSTVd). Compendio de exposiciones IV Taller Nacional de Producción de Papas en los Trópicos. 2001a.

González, L.; Peralta, E. L.; Walsh, K.; Boonham, N. y Barker, I. Detección del viroide del tubérculo ahusado de la papa (PSTVd) utilizando la Reacción en Cadena de la Polimerasa por Transcripción Inversa mediante Taqman Tiempo real. 41 Reunión Anual de la Sociedad de Fitopatología Americana (abstracts), 2001b, 67-68.

Hadidi, A.; Khetarpal, R. K. y Koganezawa, H. Plant Virus Disease Control. *American Phytopathological Society*, 1998, 684 p.

Harrison, B. D. Potato Leafroll Virus. CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, 1984, 291.

Hernández, R.; González, E.;. Peralta, E. L; Bermúdez, D.; González, Y.; Bernal, F.; Rojas, X.; González, G.; Cortés, C.; Pairol, A. y Igarza, Y. Alternativa al saneamiento a virus y bacterias en cultivos micropropagados en Cuba. 41 Reunión Anual de la Sociedad de Fitopatología Americana (abstracts), 2001, 108-109.

Jayasinghe, U. Variability of, and resistance to Potato Leafroll Virus (PLRV). Control of virus and virus-like diseases of potato and sweet potato. Report of the III Planning Conference, 1989, 141-153.

Jayasinghe, U. y Salaza,r L. F. Present status of controlling potato leafroll Virus. Plant virus disease control. *American Phytopathological Society*, 1998, 684 p.

Jones, J. B.; Jones, J. P.; Stall, R. E. y Zitter, T. A. Compendium of tomato diseases. *American Phytopathological Society*. APS Press, 1997, 73 p.

Jotoff, T. L. y Lago, L. Nuevas enfermedades virosas de papas en Cuba. *Revista Agropecuaria*, 1972, 4, 69.

Khurana, S. M. P. y Garg, I. D. New techniques for detection of viruses and viroids. *Advances in Horticulture*, 1993, 7, 529 - 566.

Koenig, R. y Lesemann, D. E. Potato Virus X. Descriptions of Plant Viruses, 1989. 354.

Kucharek, T. y Purcifull, D. Aphid-transmitted viruses of Cucurbits in Florida. *Circular*, 1997, 1184, 1-11.

Lee, M. E. Commonly asked questions about Phytoplasmas. http:// www.plant path.wisc.edu/soyhealth/caq.htm. 1999.

López, L.; Müller, R.; Balmori, E.; de la Riva, G.; Ramírez, N.; Dorestes, V., López, M.; Pérez, S.; Oramas, P. y Selman, G.. Molecular cloning and nucleotide sequence of the coat protein gene of a Cuban isolate of Potato Leaf Roll Virus and its expression in *Echerichia coli*. *Virus Genes*, 1994. 9, 1, 77 - 83.

Mihovilovich, E. Development and identification of Potato Virus X and Y immune parental clones: a breeding success. *CIP Circular*, 1996, 22, 2.

Mills, W. R. Inheritance of immunity to Potato Virus X. *Am. Pot. J.* 1965, 42, 244-255.

Nuez, F.; Gil, R. y Costa, J. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Ediciones Mundi. Prensa. Madrid. 1996. 607 p.

Ochoa, C. M. Las papas de Sudamérica (parte I). Centro Internacional de la Papa (CIP), 1999, 1036 p.

Oramas, P. Obtención y caracterización molecular de plantas transgénicas de papa resistentes a las infecciones del PLRV. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, 1999. 88 pp.

Peralta, E. L. Identificación, estudio y diagnóstico mediante el método ELISA del Virus del Enrollamiento de la Hoja (PLRV) en Cuba. Tesis para aspirar al grado de Candidato a Doctor en Ciencias Biológicas. 1982.

Pérez, K. y Robert, Y. Observaciones sobre estacionalidad de vuelos de áfidos cubanos y particularmente de *Myzus persicae* Sulz. en el cultivo de la patata. *Agronomie*, 1984, 4, 161 - 169.

Pérez, K. G. Los áfidos en el cultivo de la papa y en particular *Myzus persicae* Sulz. como vector de virus. Tesis para optar por el grado científico Doctor en Ciencias Agrícolas. Ministerio de la Agricultura. Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova, 1989, 99 p.

Quiñonez, M.; Martínez, Y. y Peralta, E. L. Establecimiento de un sistema de diagnóstico para la detección del virus de la papa (PVS). Memorias del XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa, 2000, 46.

Ramos, P. L.; López, M.; Carpio, E.; Pujol, M.; Blanco, R.; Triguero, A.; Ramírez, N.; Dorestes, V.; Balmori, E.; Selma- Husein, G.. y Oramas, P. Detección de PVX en plantas de papa por microELISA usando anticuerpos monoclonales. *Centro Agrícola*, 1995, 1.

Ramos, P. L.; Carpio, E.; Blanco, R.; Ramírez, N.; Doreste, V.; López, M. A.; Selman-Housein, G.. y P. Oramas. Detection of Potato Leafroll Luteovirus in potato plants and aphids by ELISA using monoclonal antibodies. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 1998, 16, 1.

REDEPAPA. Fotos sobre patologías. Centro Internacional de la Papa, Corpoica Regional. 2000. 1.

Rizvi, A. Dr. S. Progress in identifying resistance to PLRV. Strategy for virus management in potatoes. Report of Planning Conference at CIP/Lima. 1980. April 21-25.

Ryabov, E. V.; Fraser, G..; Mayo, M. A.; Barker, H. y Taliansky, M. Umbravirus gene expression helps Potato Leafroll Virus to invade mesophyll tissues and to be transmitted mechanically between plants. *Virology*. 2001, 286, 363-372.

Salazar, L. F. Los Virus de la Papa y su Control. Centro Internacional de la Papa (CIP), 1995, 226 p.

Salazar, L. F. Identificación y control de enfermedades virales y fitoplasmas de la papa. I Simposium Internacional de la Papa. http:/ /www.redepapa.org/ salazar1.pdf. 1997a.

Salazar, L. F. Infopapa 2: Fitoplasmas: un factor negativo para la producción de semilla de papa. http://wwwcondensan.org/infoandina/ Foros/InfoPapa/papa. 1997 b. 27.htm.

Singh, M. N.; Khurana, S.M.P.; Nagaich, B. B. y Agrawal, H. O. Strains of potato leafroll virus and their aphid transmission. *J. Indian Potato Assoc*. 1982, 9 (2, 3, & 4), 121-127.

Singh, R. P. y Khurana, S. M. P. Viral and allied diseases of potato. *Advances in Horticulture* 1993. 7, 491-527.

Singh, R. P.; Boucher, A.; Lakshman, D. K.; Tavantzis, S. M. Multimeric non-radioactive cRNA probes improve detection of potato spindle tuber viroid (PSTVd). *Journal of Virological Methods*, 1994, 49, 221-234.

Singh, R. P.; Kurz, J. y Boiteau, G.. Detection of stylet-borne and circulative potato viruses in aphids by duplex reverse transcription polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, 1996, 59, 189-196.

Souza-Dias de, J. A. C.; Russo, P.; Miller, L. y Slack, S. A. Comparison of nucleotide sequences from three Potato Leafroll Virus (PLRV) isolates collected in Brazil. *American Journal of Potato Research*, 1999, 76, 17-24.

Spire, D.; Ferault, C.; Robert, Y. y Jouan, B. Problemas de la papa y de su selección en Cuba. Instituto Nacional de Investigación Agronómica. Misión en Cuba. 1971.

Struik, P. C. y Wiersema, S. G. Seed potato technology. Wageningen Pers, Wageningen. The Netherlands, 1999, 383 p.

Swiezynski, K. M. Inheritance of resistance to viruses. Potato Genetics. Edited by J. E. Bradshaw y G. R. Mac Kay, 1994, 552 p.

Vega, J. G.. Enfermedades del cultivo de la papa por virus. Aspectos tecnológicos del cultivo de papa en el Ecuador. Fundación para el desarrollo agropecuario FUNDAGRO. Proyecto Kellogg, Papa, 1991, 260 p.

Villalobos, M. Obtención de plantas de clavel (*Dianthus caryophyllus*) libres de virus por cultivo in vitro de meristemos y ápices vegetativos. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Chapingo, México, 1979, 94 p.

Wetter, C. Potato Virus S. CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, 1971, 60.

Wetter, C. Potato Virus M. CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, 1972, 87.

CAPÍTULO XIII

ENFERMEDADES FUNGOSAS Y BACTERIANAS: DESCRIPCIÓN, EPIDEMIOLOGÍA Y MANEJO

L. Pérez y A. García

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) es originario de las tierras andinas altas de Suramérica, donde el análisis de las comunidades antiguas de esos sitios ha revelado que ha sido cultivada por al menos 8 000 años. Hoy es un cultivo importante como fuente de nutrición humana y se coloca en cuarto lugar en la producción mundial después del trigo, maíz y arroz.

La papa tiene cientos de plagas y patógenos reconocidos incluidas malezas, insectos, nematodos, hongos, bacterias y virus. Algunos de estos han sido transportados a nuevas localidades junto al cultivo. Otros estaban ya presentes cuando este fue introducido y proliferaron en esta nueva planta hospedante (Rowe, 1993). Debido a que la planta es multiplicada a partir de tubérculos que transportan fácilmente algunas plagas y patógenos, muchas enfermedades y problemas de plagas han seguido a la planta dondequiera que esta ha sido cultivada.

El tizón tardío de la papa es un ejemplo primerísimo de un patógeno introducido en tubérculos para plantar. Las evidencias indican que el patógeno es originario de México Central y se dispersó a través de EU, Canadá y Europa a principios de la década de 1840. Era desconocido en Europa hasta que causó la epidemia de 1845-1846, que devastó el cultivo en Irlanda y que resultó en la hambruna que costó la muerte a un millón de personas y la emigración de otros 1.5 millones a América.

El cultivo es atacado por un grupo importante de enfermedades causadas por hongos, bacterias y nemátodos, que afectan diferentes órganos de la planta y sus rendimientos. En el presente capítulo se describen los síntomas, la biología, la epidemiología y el manejo de las principales enfermedades fungosas y bacterianas existentes en Cuba, así como reguladas por la cuarentena. Se hace una recopilación de la información internacional disponible, de la experiencia personal de los autores y de los trabajos realizados en Cuba hasta el presente.

Las pérdidas causadas por las enfermedades en el cultivo son importantes y pueden alcanzar al 80 % del rendimiento potencial, como ocurre cuando existen epidemias del tizón tardío. Por otro lado, estas no se limitan a la fase de campo, sino que pueden aumentarse durante la transportación y el almacenamiento, como ocurre con algunas de las pudriciones de tubérculos.

1. TIZÓN TARDÍO CAUSADO POR *Phytophthora infestans* (Mont.) DE BARY

Introducción. El tizón tardío es sin duda la enfermedad más importante de la papa en el mundo y fue la causa de la hambruna en Irlanda durante 1840. Al mismo tiempo, no hay duda de que es una de las enfermedades que ha contribuido más al desarrollo de la fitopatología como ciencia. *Phytophthora infestans* es un patógeno temible, debido a la velocidad con que se puede dispersar en el cultivo. De un nivel aparentemente insignificante de infección, puede destruir enteramente un cultivo susceptible en pocos días. Los daños están relacionados a la destrucción temprana del follaje, que limita la capacidad productiva de las plantas y a la posterior pérdida de calidad y la pudrición de los tubérculos.

Una parte importante de los costos de producción del cultivo en las zonas donde la enfermedad incide, está dedicada a la adquisición de fungicidas y a las aplicaciones para prevenir la infección.

La presencia de la enfermedad en Cuba se encuentra referida desde los primeros informes publicados por la Estación Experimental Agronómica de Santiago de Las Vegas (Jehle, 1915; Bruner, 1920).

Síntomas. Los primeros síntomas aparecen usualmente de forma focal en las zonas más bajas o más húmedas en los campos (ej., donde se deposita el agua de los tubos de riego). Los primeros síntomas en las plantaciones son raramente observados antes de los 25 días de germinado el cultivo, cuando coincide con frentes fríos que garantizan las condiciones para la infección y diseminación.

Follaje. Las lesiones en las hojas son variables, dependiendo de las condiciones de luz, temperatura, humedad y variedad. Los síntomas iniciales son manchas pequeñas típicas de color verde claro, que pueden comenzar durante tiempo húmedo como mancha acuosa pobremente definida o verde claro de un diámetro de 1-2 cm. En unas pocas horas puede formarse una capa delgada de micelio blanco sobre las manchas consistentes de esporangióforos y de los esporangios que se forman sobre estos (Figura 1).

Figura 1. Síntoma de tizón tardío. Note la esporulación sobre la hoja

Este micelio es usualmente observado solo en la cara inferior de las hojas, aunque con condiciones excepcionalmente favorables el micelio se puede encontrar en la parte superior de ellas. Un día después, la zona de la mancha esporulada cambia de color verde claro a gris carmelitosa o pardo oscuro y el micelio desaparece. Las manchas en este momento se observan redondeadas irregulares claramente definidas. Según la lesión se expande, la zona acuosa de 0.5-1.0 cm de diámetro se forma alrededor del tejido que muere, en donde se forma también micelio esporulado (Figura 2). Este proceso se repite hasta que la totalidad de la hoja es afectada y muere. Cuando las condiciones de temperatura son superiores a 25ºC, hay humedades relativas bajas o la variedad es poco sensible, el tejido afectado muere y hay poco o ningún micelio sobre las manchas. En Cuba, esta manifestación es posible cuando la aparición de la enfermedad ha coincidido con frentes fríos débiles o acompañados de poca precipitación y baja humedad relativa.

En estas condiciones, a veces es difícil determinar la presencia de la enfermedad en el campo, debiendo llevarse las muestras al laboratorio para inducir la esporulación mediante incubación en condiciones apropiadas de temperatura y humedad.

Tallos. En las ramas y tallos aparecen lesiones alargadas de color gris a pardo oscuro, que usualmente los rodea y, en condiciones adecuadas, se desarrolla un micelio (Figuras 3 y 4).

Figura 2. Manchas necróticas de tizón en foliolos de papa

Figura 3. Infecciones de *P. infestans* en ramas

Figura 4. Infecciones de *P. infestans* en la base del tallo de la planta

La infección de los tallos puede aparecer en cualquier momento del desarrollo de la enfermedad, pero usualmente predomina al inicio de la epidemia antes de que se cierre el follaje del cultivo o con temperaturas subóptimas para la infección. A finales de los 90, las manchas en la base de los tallos, con poco o muy escaso desarrollo de la enfermedad en el follaje, fue un síntoma frecuente en algunas plantaciones que se atribuyó a razas de *P. infestans* con algún grado de resistencia al metalaxyl (principal ingrediente en uso en ese momento) y/o con diferente patogenicidad. Kapsa y Wojciechowska (1996) informaron de la presencia en Polonia de tizones del tallo producidos por aislados, que resultaron más patogénicos en las variedades locales que los aislados de las hojas y comentaron que las aspersiones usuales con fungicidas en campo e invernaderos no brindaron una adecuada protección contra estos aislados.

Las infecciones de los tallos, a diferencia de las de las hojas, pueden persistir más tiempo. Los tallos pueden romperse por ellas, debido a la fragilidad de los tejidos en las lesiones.

Tubérculos. Los tubérculos de campos afectados, cosechados durante períodos húmedos en el momento de la cosecha, pueden infectarse. Las lesiones de los tubérculos ocurren a través de las lenticelas, los ojos y lasrajaduras de la piel (Turkensteen, 1996). La infección se ve primeramente como pequeñas marcas grises azuladas a través de la piel (Figura 5).

Figura 5. Necrosis exterior del tubérculo afectado por *P. infestans*

Las lesiones posteriormente se vuelven abultadas o grumosas y el tejido afectado se vuelve pardo (Figura 6). Hay zonas de tejido aparentemente sano entre las pardas. La infección puede permanecer superficial o penetrar profundamente en el tubérculo. Durante el almacenamiento las lesiones crecen y la enfermedad puede diseminarse a otros tubérculos sanos. El tizón puede ser seguido de pudriciones secas o de la pudrición blanda bacteriana.

Figura 6. Necrosis interior de los tubérculos afectados por *P. infestans*

Los síntomas pueden confundirse con los de otras patologías causadas por nematodos, hongos, virus y los daños por herbicidas a los tubérculos expuestos.

El riesgo de infección de los tubérculos es mayor en suelos arcillosos húmedos que en los suelos sueltos más secos. En las papas cosechadas en Cuba, los daños por tizón son poco frecuentes, porque la mayor parte de la cosecha ocurre durante los meses más secos del año.

La enfermedad tiene un fuerte impacto sobre los rendimientos. En la Figura 7 aparece la relación entre el nivel de severidad del tizón tardío y los rendimientos de la papa Chieftain y Desirée fueron determinados en tres campañas (de 1995-1996 a 1997-1998; L. Pérez y F. Rodríguez, datos no publicados).

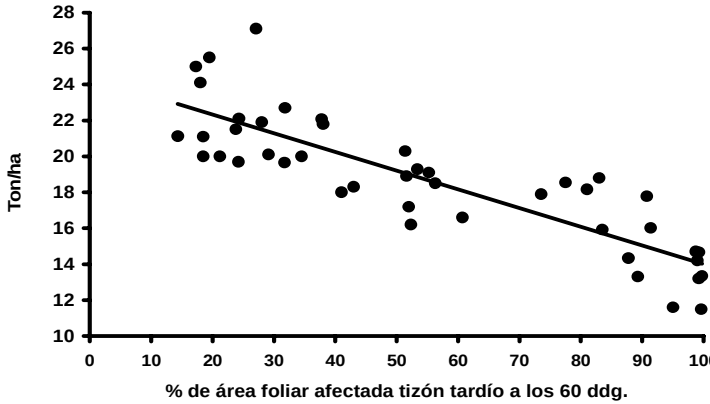


Figura 7. Relación entre la incidencia de *Phytophthora infestans* y los rendimientos de tubérculos de papa a los 60 días después de germinadas en las variedades Chieftain y Desirée en tres campañas de cultivo (1995-1996 a 1997-1998; Pérez y Rodríguez, datos no publicados)

Etiología. Las especies de *Phytophthora* son diploides y de micelio coenocítico, carecen de quitina en la pared celular y producen zoosporas biflageladas. Los esporangios de *P. infestans* son ovoides, elipsoides o limoniformes, estrechos hacia el extremo, caducos y semipapilados. El tamaño promedio varía entre 36 x 22 y 19 x 29 µm (Erwin y Ribeiro, 1996). Los esporangióforos se componen simpodialmente con un pequeño ensanchamiento justamente debajo del esporangio (Figura 8).

Figura 8. Esporangióforos y esporangios de *P. infestans*

El hongo es heterotálico. Los anteridios son anfígenos y los oogonios son de 31 a 50 µm de diámetro (promedio 38 µm). Las oosporas que se forman en las hojas son apleróticas y miden de 24-35 µm de diámetro (Figura 9).

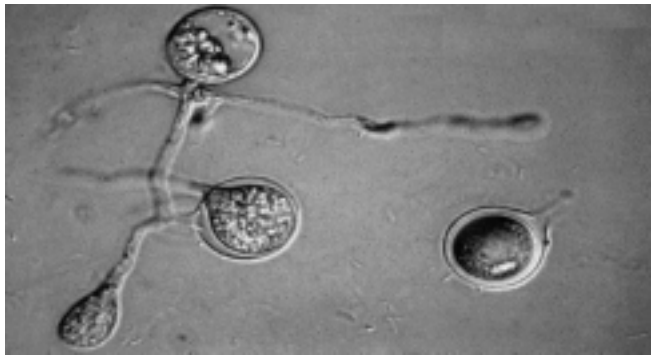


Figura 9. Anteridios, oogonios y oosporas de *P. infestans*

Otros hospedantes. Fundamentalmente ataca a la papa y el tomate de forma severa, así como ocasionalmente la berenjena y otros *Solanum*.
Biología y ciclo de la enfermedad. La biología de *Phytophthora infestans* es típica de todos los *Oomycetes*, pero la enfermedad se asemeja más a los mildeus algodonosos que a las causadas por otras especies de *Phytophthora*. Las especies de *Phytophthora* son diploides y de micelio coenocítico, carecen de quitina en la pared celular y producen zoosporas biflageladas. Para *Phytophthora infestans* hay dos tipos de apareamiento: A_1 y A_2. Las estructuras sexuales (anteridio y oogonios) se inducen solamente en presencia del grupo de apareamiento opuesto y de la fusión genética resultan las oosporas (Figura 10). Hasta principios de los 80, el único grupo de apareamiento encontrado era el A_1 en la mayor parte del mundo, pero en el Centro de México coexistían A_1 y A_2 en proporciones 50:50 (Niederhauser, 1991).

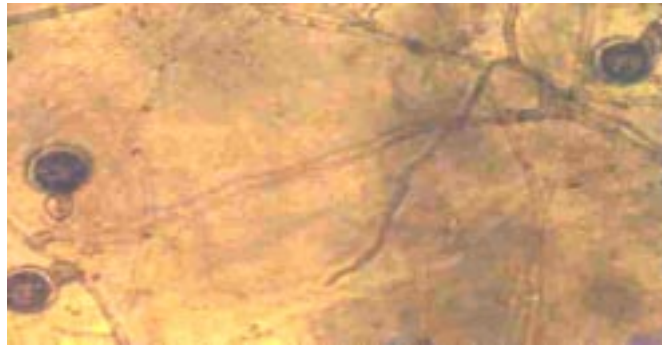


Figura 10. Oosporas producidas *in vitro* por el apareamiento de aislados de los grupos A_1 y A_2 (INISAV, 1995)

La inoculación de hojas con aislados combinados de A_2 de *P. infestans* y *P. drechsleri* y A_1 de *P. infestans*, induce la formación de oosporas (Skidmore, *et al*., en 1984, citados por Erwin y Ribeiro, 1996). Estas últimas garantizan la variación genética y son estructuras de sobrevivencia, mientras que las infecciones del follaje o los tubérculos son iniciadas por esporangios asexuales y/o zoosporas. Los individuos en las poblaciones asexuales sobreviven más comúnmente como micelio en los tubérculos infectados. Entre los hospedantes del patógeno se incluyen la papa, el tomate y un gran número de solanáceas (Hooker, 1980; Pérez, 1995; Turkensteen, 1996).

El patógeno puede sobrevivir períodos de condiciones adversas, como son inviernos fríos y veranos secos calientes, como hifas en partes in-

fectadas de las plantas (tubérculos, tallos, frutos de tomate) y como oosporas (Turkensteen, 1996). Estas estructuras sirven para diseminar la enfermedad a nuevos campos y entre estaciones de cultivo.

En Cuba se observó un aumento de la frecuencia de los aislados del grupo de apareamiento A_2 en los años 1997 y 1998 (y una disminución importante de los aislados pertenecientes al A_1) con una alta capacidad de formación de oosporas (Tomás y López, 1999), pero su papel en la epidemiología de la enfermedad en condiciones de campo en Cuba no está aún claro.

La forma más común de diseminación de la enfermedad es a través de los esporangios que se forman en condiciones apropiadas de humedad. Los esporangios se producen óptimamente a temperaturas cercanas a 21ºC, cuando la humedad relativa es cercana a 100 %. Son rápidamente diseminados por las salpicaduras de lluvia y el viento.

La enfermedad es favorecida por el tiempo fresco (12 a 24ºC) en que estos se forman y pueden germinar como conidios, pero toma proporciones epidémicas cuando hay una lámina de agua sobre la superficie de la planta y las temperaturas son cercanas a 20ºC, condiciones en las cuales cada esporangio da lugar a 6-8 zoosporas que pueden cada una causar una nueva infección (Rowe, 1993). Como la germinación requiere de un período de tres horas y la penetración de otras dos a tres horas, se requiere de la presencia de una lámina de agua en la superficie de la hoja de al menos cinco horas para garantizar la infección (Turkensteen, 1996). A temperaturas entre 15 y 20ºC, el ciclo desde la espora a una nueva generación de esporas demora unos cinco días.

Un tiempo ligeramente caliente, húmedo y nublado, favorece el desarrollo de la enfermedad. Un tiempo soleado y seco puede detener el desarrollo y desaparecer la esporulación debajo de las hojas, pero si retornan las condiciones favorables puede reiniciarse su desarrollo.

Para la caracterización de las poblaciones de *P. infestans*, han sido utilizados marcadores genéticos y fenotípicos que han permitido lograr un más completo conocimiento de la genética de las poblaciones. Estos son:

1. Tipo de apareamiento (primera indicación de grandes cambios en las poblaciones)
2. Locus de los alelos de las aloenzimas glucosa-6-fosfatoisomerasa (*Gpi*), enzima málica (*Me*), y peptidasas (*Pep*), que brindaron las primeras evidencias genéticas de diploidía en *P. infestans* y permitieron realizar las primeras comparaciones de la diversidad genética

entre las poblaciones de *P. infestans* de diferentes localidades (Shattock *et al*., 1986; Tooley *et al*., 1986).

3. *Fingerprinting* del ADN nuclear (Sonda RG 57), que revela hasta 30 locus en las poblaciones de *P. infestans* y ha permitido obtener una mayor resolución de la estructuras de las poblaciones (Goodwin *et al*., 1992).
4. Polimorfismo del genoma mitocondrial (Carter *et al*., 1990).
5. Fenotipos virulentos (razas patogénicas).
6. Resistencia al metalaxyl.

Centro de origen y migraciones de P. infestans. Desde el descubrimiento de que el tipo A_2 de apareamiento era común en el valle central de México, se han venido acumulando evidencias que las alturas centrales de México eran el centro de origen del hongo, debido a que:

1. esta región había sido históricamente la única en que ambos tipos de apareamiento se encuentran en igual frecuencia (Hawkes 1966; Niederhauser 1991; Tooley *et al*., 1986)
2. la población es muy variada en términos de virulencia (Mills y Niederhauser, 1953; Rivera- Peña, 1988; Tooley *et al*., 1986), y
3. la población es muy diversa para marcadores neutrales (Fry *et al*., 1993). Esta diversidad existe en independencia de la dispersión asexual del patógeno. La coevolución del patosistema *Solanum-Phytophthora infestans* probablemente involucra a muchas especies de *Solanum* de las alturas centrales de México, ya que *S. tuberosum subsp. tuberosum* originaria de los Andes no fue muy intensamente cultivada en el valle de Toluca hasta la década de los 50.

La primera gran migración global de *Phytophthora infestans,* de la cual se posee información ocurrió en la década de 1840. La enfermedad fue informada en 1843 en Filadelfia y en 1845 se encontraba en todas las localidades marítimas de la costa este de Canadá y los Estados Unidos (Fry *et al*., 1993). En junio de 1845 se informó en Bélgica y durante el verano de ese año, se informó en muchos lugares distantes de Europa. En octubre se informó su presencia en toda Irlanda y Alemania. Consiguientemente, la enfermedad fue encontrada en todos los lugares donde se cultiva la papa. El hongo puede haber sido transmitido desde México a Estados Unidos y de aquí a Europa, o de México directamente a Europa. La distribución intercontinental posterior fue garantizada por el comercio internacional de semillas de papa.

Como no hay evidencia definitiva de migraciones posteriores en el intervalo entre las décadas de 1840 y 1970, estas poblaciones de dife-

rentes regiones del mundo, han estado separadas de la población original del centro de México hasta una fecha relativamente reciente (Fry *et al*., 1992). En la mayoría de las localidades no afectadas por la migración de los años 70, ha predominado un solo genotipo con una frecuencia superior al 50 %. Este genotipo y otros cercanamente relacionados (difieren solo en una de las 14 bandas que se han revelado en fingerprintings o por la pérdida de uno de los cuatro alelos de alozimas), han constituido una línea clonal que ha dominado en las poblaciones del patógeno fuera de México (Fry *et al*., 1992). En algunas muestras de diferentes partes del mundo, esta línea clonal histórica ha sido la única detectada. Estos datos son consistentes con el concepto de que las poblaciones de *P. infestans* en Eurasia, Africa, y América del Sur estaban constituidas por una sola línea clonal de *P. infestans* hasta relativamente reciente. Las poblaciones de Estados Unidos y Canadá estaban constituidas por esta línea y unas pocas otras (Fry *et al*., 1993), mientras que las de México estaban constituidas por poblaciones sexuales. Si estas colecciones históricas son descendientes de la primera migración, entonces la vía de migración ha sido de localidades de una mayor diversidad a localidades de menor diversidad (de México a EU., de EU a Europa y de Europa a Asia y América del Sur).

Ocurrió una segunda migración del hongo hacia fuera de México, probablemente durante los años 70. El informe de la presencia del tipo A_2 de apareamiento de *P. infestans* en Europa Occidental por Hohl e Iselin (1984), fue el primer indicio de una nueva y importante evolución del desarrollo de este hongo. El tipo A_2 ha sido ahora encontrado en todos los continentes excepto Australia (Fry *et al*., 1992). El mecanismo de migración ha sido probablemente a través de tubérculos infectados para consumo doméstico, o tomates importados desde México al oeste de Europa a finales de los 70. Las migraciones globales posteriores parecen que han sido también a través de la semilla infectada. Los estudios de las poblaciones en Europa indican que las nuevas poblaciones han ido desplazando a las viejas en unos pocos años (Spielman *et al*., 1989). Los análisis de los alelos de aloenzimas han revelado que ha ocurrido un desplazamiento y una hibridación entre ambas poblaciones. Todo parece indicar que las nuevas poblaciones son mejor adaptadas y competitivas que las compuestas por las viejas líneas clonales del patógeno, posiblemente asociado a una mayor agresividad, lo que puede explicar parcialmente su mayor frecuencia de detección en el oeste de Europa a mediados de los 80 (Fry *et al*., 1993).

Una implicación práctica de la migración ha sido la variación de la sensibilidad al metalaxyl que ha sido problemática. La resistencia al metalaxyl no estaba muy distribuida en las viejas poblaciones. En Estados Unidos y Canadá, el tipo de apareamiento A_2 fue encontrado en 1990 en papas y tomates de la Florida y al este de Washington, en Nueva York, Tennessee, Carolina del Norte y la Columbia Británica (Deahl *et al*., 1995; Platt *et al*., 1993). De 85 aislados de Florida y Texas estudiados, 61 % fueron del grupo A_2 y resistentes al metalaxyl. Todo parece indicar que estas migraciones han tenido lugar en papas de semillas, posturas y frutos frescos de tomate.

La existencia de ambos tipos de apareamiento y de razas resistentes al metalaxyl en áreas de producción de papas determina:

1. Una mayor diversidad genética y potencial para la aparición de nuevas razas o líneas que pueden vencer la resistencia de las variedades en cultivo.
2. Un incremento en la ocurrencia y/o severidad debido al desarrollo de líneas más agresivas (en efecto, Sujkowski *et al*. 1993, han demostrado la recombinación sexual entre ambas poblaciones de *P. infestans*).
3. Limitaciones para el uso de fungicidas derivados de fenilamidas en lugares donde hasta ese momento eran efectivos contra el tizón tardío.
4. La epidemiología de la enfermedad puede cambiar drásticamente si se forman las oosporas en los agroecosistemas del tomate y la papa, y estas pueden sobrevivir en el suelo entre estaciones de cultivo, de forma que puedan servir de inóculo primario. Shattock (1995) informó una supervivencia de siete meses en experimentos con oosporas del patógeno obtenidas en el laboratorio y mantenidas en suelo.

El cultivo de la papa en Cuba es dependiente esencialmente de importaciones de semillas provenientes de Holanda y Canadá. La epidemiología del tizón tardío en el país está muy relacionada a la sanidad de las semillas importadas en relación con el tizón (fundamentalmente de las condiciones epidemiológicas durante la fase vegetativa de desarrollo de los cultivos para semilla, del número de tratamientos realizados para el control del tizón y de la sensibilidad de las poblaciones del hongo, a las fenilamidas en las zonas de producción de semilla de Canadá y Holanda), y de las frecuencias y estabilidad de los frentes fríos que entran al país durante la estación de cultivo de la papa y del ENOS, que garantizan condiciones del tiempo favorables al desarrollo de la enfermedad.

En la campaña de cultivo de 1993-1994, se desarrollaron fuertes afectaciones de tizón, debido a condiciones muy favorables y estables de clima a una inadecuada protección del cultivo. La presencia de cepas con una alta tolerancia al metalaxyl, a pesar de no haberse realizado apenas tratamientos con este fungicida, hizo que se considerara la posibilidad de que se estaban introduciendo aislados de *P. infestans* con alta resistencia al producto en la semilla importada. Un grupo importante de aislados mostraron resistencia a 10 y 100 ppm de ingrediente activo, en etapas muy tempranas del desarrollo del cultivo. En el ciclo de cultivo siguiente, se monitoreó la población del patógeno en la semilla importada durante la inspección cuarentenaria de la semilla y se identificaron un grupo de aislamientos de diferentes certificados, tanto en la semilla canadiense como holandesa, pertenecientes al tipo de apareamiento A_2 con fuerte tolerancia al metalaxyl.

Epidemiología. Pronóstico de las epidemias de P. infestans. Diferentes sistemas de pronóstico de las fechas de la aparición de la enfermedad han sido desarrollados. Estos pueden ser divididos en modelos empíricos (relaciones entre clima y aparición de diferentes fases de la enfermedad o fases del ciclo del patógeno y holísticos) en los que se realiza un seguimiento detallado de cada una de las fases del ciclo infeccioso y se decide la necesidad y efectividad económica de los tratamientos. Una revisión completa y detallada de este tópico puede encontrarse revisando los trabajos publicados por Beaumont (1947), Hyre (1954), Wallin (1951), de Weille (1951, 1962), Bourke (1970), Zadocks (1984) y Taylor *et al*. (2003).

Los modelos más difundidos fueron los empíricos, basados en la determinación de "períodos críticos" a partir del concepto introducido por van Everdingen (1926), quién postuló las reglas holandesas para el pronóstico del tizón tardío de la papa. El concepto de período crítico ha sido altamente productivo, pero es *post factum* y más que predecir lo que va a suceder, señala que ya ha ocurrido la esporulación y el proceso infectivo. Los métodos informados por Beaumont (1947), de Weille (1951, 1962) y Naumova, se basan en la determinación de períodos críticos. Krause *et al*. (1975) y posteriormente MacKenzie y Schimmelpfenning, (1978), y MacKenzie (1981, 1984) informaron que el *Blitecast*, sistema automatizado que reunía criterios de diferentes sistemas para la determinación de los períodos críticos para el desarrollo del tizón, recoge la información fenológica y climática de los agriculto-

res participantes en el programa y en el mismo día elabora las recomendaciones de aspersión o no de las plantaciones.

En Cuba en años normales, los brotes de tizón están relacionados a la entrada de frentes fríos. En la Tabla 1 aparecen los frentes fríos ocurridos en 16 campañas paperas desde 1978–1979 y 1993-1994.

Tabla 1. Frentes fríos que han arribado al territorio nacional y frecuencia de períodos favorables al desarrollo del tizón en las campañas paperas de 1978-1979 al 1992–1994 (datos de Gómez, 1999)

Campaña	Frentes fríos totales	Frentes que ocasionan períodos favorables	Porcentaje
1978-1979	14	8	57,1
1979-1980	19	9	47,3
1980-1981	20	10	50,0
1981-1982	16	5	31,2
1982-1983	28	14	50,0
1983-1984	23	7	30,4
1984-1985	17	8	47,0
1985-1986	18	10	55,5
1986-1987	19	9	47,3
1987-1988	26	11	42,3
1988-1989	13	6	46,1
1989-1990	18	6	33,3
1990-1991	18	8	44,4
1991-1992	21	15	71,4
1992-1993	25	7	28,0
1993-1994	21	11	52,3

Mayea *et al*. (1975) evaluaron los sistemas de pronóstico de Beaumont, Wallin y Hyre en localidades de la región central del país y concluyeron que las precipitaciones resultaron el factor más importante para el desarrollo de la enfermedad y que el método del gráfico móvil (precipitaciones-temperaturas) podía ser el más adecuado para predecir la ocurrencia de las epidemias.

Papoyan y Pérez (1975) transfirieron el método de Naumova desarrollado en la URSS para la determinación de los períodos críticos para el desarrollo del tizón tardío de la papa y en tomate. Rodríguez *et al*. (1997) y Gómez *et al*. (1998) modificaron los índices de Naumova para el cálculo de los períodos favorables para el desarrollo del tizón, con el objetivo de mejorar la precisión de las predicciones del método de Naumova. El procedimiento permite determinar dos niveles de condiciones críticas: períodos de alerta y períodos críticos (Tabla 2).

Tabla 2. Indices climáticos para la determinación de períodos críticos para la aparición de tizón tardío en papa (Rodríguez *et al.*, 1989)

	HR med	HR min.	T. máx.	T. min.	Características
Período alerta	= ó>84 %	= ó>60 %	25-28ºC	>11ºC	Brotes ligeros. Aplicación focos
Período crítico	= ó>84 %	= ó>60 %	<25ºC	>11ºC	Condiciones muy favorables conducentes a epidemias con gran nocividad si hay lluvias

Padrón (1982) propuso el sistema del umbral de lluvias semanal: epidemias condicionadas por valores acumulados de lluvia de cuatro semanas superiores a 38 mm y temperatura inferior a 24ºC.

Gómez (1999) desarrolló el índice de riesgo de tizón tardío, que integra el método de períodos críticos de Naumova modificado, los acumulados de lluvia y asigna factores de corrección en función de los meses del año y del tipo de período favorable, y permite un mejor nivel de coincidencia entre pronósticos y brotes de tizón. En la Tabla 3, aparecen las correspondencias entre el IRTT y los brotes de tizón.

Tabla 3. Coincidencia entre los pronósticos en base al IRTT y la aparición del tizón tardío de la papa (tomados de Gómez, 1999)

Localidad	Campañas analizadas	Coincidencia (%)	No coincidencia tipo A (%)	No coincidencia tipo B(%)
Güira de Melena	15	93,3	6,66	0,00
Güines	15	80,0	20,0	0,0
Melena del Sur	15	93,3	6, 7	0,0
Jovellanos	14	71,4	28,6	0,0
Colón	14	57,1	42,9	0,0
Aguada de Pasajeros	14	64,3	14,3	21,4
Yabú	12	58,3	41,7	0,0
Venezuela	8	84,5	0,0	12,5
Total	107	75,7	20,6	3,4

* Hay predicciones de aparición pero no ocurrieron brotes de tizón
** No hay predicciones de aparición pero ocurrieron brotes de tizón

De forma resumida, en la práctica el sistema opera de la forma siguiente: cuando se producen los períodos de alerta, se inician tratamientos generalizados en las plantaciones que están en la localidad, considerada que tengan más de 25 días de edad, con fungicidas de contacto. Al mismo tiempo, se procede a la inspección detallada de las plantas de los campos, con vistas a localizar los primeros síntomas de la

enfermedad en ellos. De aparecer los primeros síntomas se procede a realizar tratamientos con fungicidas sistémicos antioomycetes.

La utilización de sistemas de aviso de los períodos críticos permiten por un lado racionalizar el uso de ingredientes activos y los costos de producción y, por ende, disminuir la contaminación y los residuos del cultivo y, por otro, optimizar los momentos en que se deben realizar los tratamientos de control.

Fungicidas. Para el control del tizón se utilizan diferentes ingredientes activos pertenecientes a varias familias químicas (Pérez *et al*., 1997; Rodríguez *et al*., 1997; Rodríguez, 2000; Pérez, 2003):

Cúpricos. Son los productos más antiguamente usados para el control de las enfermedades foliares de la papa. En Cuba se utilizan el oxicloruro de cobre y el óxido cuproso para el control del tizón temprano y tardío de la papa. Las dosis de empleo varían entre 3 y 5 kg de Cu metálico ha^{-1}. Son productos multisitios y no se conocen casos de resistencia. Hay problemas con la intoxicación por Cu en el cultivo por problemas de exceso de uso.

***Etilenbisditiocarbamatos*.** En este grupo descubierto a mediados de los años 40 (Owens, 1969), se encuentran importantes ingredientes activos utilizados para el control de tizones tardío y temprano, como son el mancozeb, maneb, zineb y el propineb. Se transforman por oxidación a monosulfuro de etilenthiuram (Spencer, 1977), que es el compuesto fungitóxico. Son compuestos multisitios que se usan como tratamiento de base en numerosos programas de manejo de enfermedades foliares, del suelo y de la semilla en hortalizas, frutales y cereales. Son ampliamente utilizados como acompañantes en las estrategias de manejo de la resistencia, para alternar o mezclar con fungicidas sistémicos unisitios. Su dosis de empleo se encuentran entre 1.6 y 2.0 kg de ingrediente activo (ia.)ha^{-1}.

***Clorotalonil*.** Es un fungicida de contacto con un amplio espectro de actividad. Se usa en el control de tizón tardío y temprano en papa, y tomate a dosis entre 0.5 y 0.75 kg $ia.ha^{-1}$ en tratamientos a intervalos de siete a 10 días. Ha sido ampliamente utilizado para alternar y mezclar con fungicidas de alto riesgo de resistencia, para reducir la presión de selección de poblaciones insensibles.

Su mecanismo de acción ha sido bien estudiado por Vincent y Sisler (1968) y está relacionado a la reacción con el glutation, coenzima A, 2-mercaptoetanol y otros compuestos formando derivados de S. Por esto, el contenido de SH (tiol) de la célula se reduce significativamente,

lo que resulta en inhibición de todas las reacciones dependientes de los grupos tiol. El glutation es un componente importante del metabolismo celular y es rápidamente afectado por el clorotalonil. Su acción, por tanto, es inespecífica y multisitio. Inhibe la germinación de las esporas y la esporulación; presenta, además, una excelente adhesión a la superficie de las hojas.

Derivados de ftalimidas. Entre los derivados de ftalimidas se encuentra el folpet. Estos compuestos bloquean los grupos tiol en el citoplasma celular, inhibiendo numerosas enzimas del metabolismo fúngico (Lukens, 1969). Se utiliza a dosis de 1.6-2.4 kg ia.ha^{-1} y su eficacia es similar a la de los carbamatos. En los últimos años ha venido reemplazando y alternándose con los dithiocarbamatos, con el objetivo de disminuir los residuos de estos en los tubérculos a la cosecha.

Fluazinam. Pertenece a la clase de los 2,6 dinitroanilidas. Tiene una actividad selectiva contra especies de *Botrytis, Sclerotinia, Alternaria* y contra *Phytophthora infestans*. Su eficacia en cambio contra *Peronospora tabacina* es pobre. Para el control de *P. infestans* se utiliza a dosis de 500 g ia.ha^{-1}. Aplicado repetidamente a dosis de 150–200 g ia.ha^{-1}, previene el desarrollo del tizón. Su acción es de contacto no sistémica e inhibe la liberación de las zoosporas de los esporangios y la germinación. Su mecanismo de acción está relacionado al bloqueo de la fosforilación oxidativa a nivel de las mitocondrias (Gasztonyi y Lyr, 1995).

Derivados de fenilamidas. En los derivados de fenilamidas se encuentran varios grupos de ingredientes activos, que marcaron pauta en el control de Oomycetes. Hay cuatro grupos de compuestos: las acylalaninas a las cuales pertenecen el furalaxyl, el metalaxyl, y el benalaxyl; las acylamino butyrilactonas, al cual pertenece el ofurace y las acylamino-oxazolidinonas, al cual pertenecen el oxadycil y el cyprofuram (Schwinn y Staub, 1995).

Son ingredientes activos de una marcada actividad sistémica translaminar y acropetal, aunque tienen diferencias de actividad entre ellos. El más activo y ampliamente usado de estos compuestos es el metalaxyl, que es una mezcla de dos isómeros uno fungitóxicamente activo y otro inactivo. En la actualidad se produce el isómero levogiro con el nombre químico de mefenoxam. El metalaxyl se utilizó para el control de mildeus en un gran número de cultivos vegetales, papa, tabaco, viticultura y fruticultura (Schwinn y Staub, 1995). Se caracterizó durante muchos años antes de aparecer poblaciones tolerantes por un marcado efecto sistémico, tanto en tejido leñoso como verde, preventi-

vo y curativo, sobre el desarrollo del micelio posterior a la formación de haustorios y la esporulación, con una protección que alcanzaba hasta los 14 días en el caso del tabaco y la papa. En el caso de *Phytophthora* no inhibe la liberación de zoosporas. El metalaxyl y el benalaxyl han sido ampliamente utilizados en Cuba (y en menor medida el ofurace), para el control del tizón tardío a la dosis de 220 g ia.ha^{-1} en mezclas con dithiocarbamatos, clorotalonil y cymoxanil (Pérez *et al*., 1997; Rodríguez *et al*., 1997; Rodríguez, 2000).

Las fenilamidas interfieren con la síntesis de ARN ribosomal al inhibir la ARN polimerasa (Schwinn y Staub, 1995; Davidse, 1995). Han existido desde poco después de su aparición en el mercado, fuertes problemas de selección de poblaciones, resistentes que se presentan de forma cruzada a todos los miembros de estas familias químicas (Pérez y Aguiar, 1982). La pérdida de sensibilidad ha sido relacionada a un cambio en el sitio de acción, que disminuye la afinidad con estos fungicidas (Davidse, 1995). Aunque al final de la campaña de cultivo usualmente se puede encontrar una alta frecuencia de poblaciones tolerantes a niveles de 10 y 100 ppm de metalaxyl y los aislados resistentes muestran un nivel alto de competencia y virulencia en ausencia del fungicida en relación a las cepas sensibles, al principio del ciclo de cultivo siguiente la frecuencia de aislados y su nivel de tolerancia es en general apreciablemente menor (Muiño *et al*., 1997).

Debido a la alta frecuencia de poblaciones tolerantes existentes en la actualidad, en la mayor parte de las áreas de cultivo en el mundo, su uso ha sido fuertemente restringido.

Cymoxanil. Pertenece al grupo de las cyanoacetamida-oximas. El cymoxanil es ampliamente utilizado en mezclas con otros fungicidas antioomycetes, para el tratamiento foliar en papa, tomate y vid contra *Phytophthora, Peronospora, Plasmopara*, etc. No tiene uso en el control de hongos de suelo. Tiene una fuerte actividad inhibitoria de la esporulación, pero la persistencia de la acción fungicida es muy corta por su degradación en la planta, por lo que debe ser utilizado en combinación con otros ingredientes activos. Se ha comprobado su acción en el control de tizón en mezclas con fungicidas derivados de acylamidas en estrategia antiresistencia a la dosis de 80 g ia.ha^{-1} (Rodríguez, *et al*., 1997). Tiene acción de penetración y una pequeña actividad apoplástica.

Dimetomorph. Este ingrediente activo es una morfolina, pero a diferencia del resto de las morfolinas conocidas, inhibe específicamente el desarrollo de especies de *Peronosporaceos* (Schwinn y Staub, 1995).

Los datos disponibles demuestran que el compuesto causa una proliferación extensa de material en la pared celular de las hifas y crecimiento anormal interior de la pared celular (Kühn *et al*., 1990). El dimetomorph ha sido ampliamente utilizado en el control de *Phytophthora infestans* y diferentes mildeus como *Peronospora tabacina*, *Plasmopara viticola*, etc. Su acción es marcada en la inhibición de la esporulación y el crecimiento micelial. Las dosis de uso son de 180-250 g ia.ha^{-1} en aspersiones foliares y ha sido muy efectivo en el control de cepas resistentes a acylamidas (Rodríguez *et al*., 1997). La actividad ha sido considerada más fungistática que fungicida (Schwinn y Staub, 1995).

Aminoácido-amida carbamato. Este es un nuevo grupo de ingredientes activos, de los cuales dos compuestos (iprovalicarb y benthiavalicarb) han sido comercializados para el control de enfermedades causadas por oomycetes en tabaco, hortalizas, viticultura, etc. Presentan una actividad translaminar y acropetal marcada, aunque su absorción es inicialmente lenta. Presentan un marcado efecto antiesporulativo contra especies de *Peronospora y Phytophthora*. Su mecanismo de acción no está bien establecido, pero se sabe que es diferente al resto de los grupos de fungicidas sistémicos utilizados para el control de oomycetes pues presentan una alta actividad contra aislados resistentes a acylamidas (Pérez, *et al*., 2000; Pérez *et al*., 2002; Rodríguez *et al*., 2000). Se utiliza el iprovalicarb a dosis de 200-220 g ia.ha^{-1} en mezclas con un dithiocarbamato y el benthiavalicarb, a dosis de 30 g ia.ha^{-1} en mezclas con mancozeb y folpet; a estas dosis a intervalos entre aplicaciones de 10 días han resultado muy eficaces en el control de *P. infestans* en papa y tomate, y de *Peronospora tabacina* y *P. nicotianae* en tabaco (Pérez *et al*., 2000; Rodríguez *et al*., 2000).

Oxazolidinonas. Este grupo está representado por el fenamidone, que es un inhibidor del transporte de electrones a nivel de sitio o en las mitocondrias, por lo que presenta resistencia cruzada con las estrobilurinas y otros compuestos relacionados (Pérez, 2003). A diferencia de las estrobilurinas, su acción es más específica sobre oomycetes Peronosporáceos (Latorse *et al.*, 1998; Brunelli, 1999). Presenta una buena actividad sistémica por vía radical y una buena traslocación translaminar y acropetal en aspersiones foliares. Inhibe la germinación y esporulación a las dosis de 100–150 g ia.ha^{-1}. En papa ha presentado un excelente control de *P. infestans*.

Estrobilurinas y compuestos relacionados. En este grupo de ingredientes activos se encuentran los derivados de estrobilurinas y

methoxyacrilatos, y comprende compuestos de una alta eficacia y un gran espectro de acción contra un amplio grupo taxonómico de especies, pero al mismo tiempo muy variable. Los compuestos más conocidos son el azoxystrobin, kresoxim methyl y trifloxystrobin, pero el que muestra más actividad contra oomycetes es el azoxystrobin, que en el caso del control del tizón tardío requiere dosis de hasta 250 g ia.ha^{-1}, mientras que contra deuteromycetes y oomycetes están en el orden de los 40-150 g ia.ha^{-1}, por lo que su uso para controlar *P. infestans* es muy costoso (Pérez *et al*., 1997). Son inhibidores del transporte de electrones en las mitocondrias al nivel del sitio o en el complejo bc_1. No tienen resistencia cruzada con los inhibidores al nivel del sitio i. Su actividad varía apreciablemente entre compuestos.

Ha sido demostrado que son fungicidas de alto riesgo de resistencia por mutación simple de un aminoácido a nivel, porque se pierde afinidad con el sitio de acción. Presentan resistencia cruzada con el fenamidone que es un compuesto derivado de las oxazolidinonas para el control de oomycetes.

***Propamocarb*.** Es un fungicida con acción de penetración translaminar y movimiento apoplástico intermedio y rápido (Harris, 1995), que mejora la cobertura de la superficie foliar, utilizado contra oomycetes que afectan el follaje y la raíz en hortalizas, tabaco y ornamentales. Su mecanismo de acción está al nivel de la membrana celular fúngica y no se conoce muy bien, salvo que es reversible si se le agregan esteroles al medio, por lo que se induce que de alguna manera tienen que ver con el bloqueo de la síntesis de esterol. Afectan la esporulación y el crecimiento del micelio de los hongos objeto de los tratamientos. Se informan discrepancias entre el comportamiento *in vivo e in vitro* (Kaars Sijpeisteijn, 1974), debido a los efectos de estos productos sobre mecanismos de defensa de la planta, aunque se consideran de carácter secundario (Schwinn y Staub, 1995). En ensayos de campo a las dosis de 1.75 y 2.0 kg ia.ha^{-1} en mezcla con cymoxanil y dithiocarbamatos, han resultado muy eficientes en el control de tizón tardío (Rodríguez, 2000).

Etilfosfonatos. En este grupo se encuentran el fosetil Al y el fosfito de potasio, dos productos que tienen un amplio uso en el control de enfermedades por *Phytophthora* y Peronosporáceos en frutales, viticultura y hortalizas. Presentan tres características que los distinguen del resto de los ingredientes activos: traslocación apoplástica y simplástica en tejido leñoso y verde, inducción marcada de fitoalexinas alrededor de los puntos de infección (Bompeix *et al*., 1980) y ligera actividad curativa.

El fosetyl Al ha sido muy utilizado en el control de enfermedades de la raíz en piña (*P. nicotianae*), cítricos (gomosis en inyecciones y aspersiones) y control de la pudrición de la raíz en aguacates (*P. cinnamomi*). Su actividad contra *P. infestans* es más pobre, por lo que se utiliza en mezcla con otros antioomycetes para reforzar la acción y como parte de estrategias antirresistencia. El mecanismo de acción está relacionado al metabolismo de los aminoácidos y la composición de las proteínas. Su actividad en la producción de fitoalexinas es marcada, aunque se discute mucho si es un efecto primario o secundario en el control en campo. Se comercializa actualmente mezclado con fenamidone para el control de oomycetos foliares.

Manejo integrado de la enfermedad. Las medidas de manejo integrado de la enfermedad son esencialmente encaminadas a disminuir la frecuencia e intensidad de los brotes y el número de tratamientos con fungicidas para su control.

Las medidas de control del tizón tardío incluyen medidas integradas culturales y químicas que comprenden: la exclusión (uso de lotes de tubérculos sanos para siembra); el saneamiento (destrucción de residuos de cosecha, de tubérculos infectados en el campo y el follaje inmediatamente después de la cosecha); una correcta nivelación de los suelos y drenajes que impida el estancamiento del agua y las condiciones para la aparición de focos primarios aún cuando las condiciones sean ligeramente favorables; el monitoreo continuado de las condiciones ambientales, para realizar los avisos de la existencia de períodos críticos favorables a la enfermedad para el inicio de los tratamientos tempranamente y de la presencia de la enfermedad en el campo; la ejecución de tratamientos con fungicidas protectores de contacto y sistémicos y el uso de variedades con algún nivel de resistencia vertical y horizontal siempre que estén disponibles.

Los fungicidas a utilizar dependen del estado del desarrollo del cultivo y de la existencia de condiciones para el desarrollo del tizón. Después de la emergencia de los brotes, el follaje y las raíces se desarrollan simultáneamente. El crecimiento de los tubérculos puede empezar lentamente entre dos y cuatro semanas después de la emergencia y continuar a una tasa constante durante un largo período (Van der Zaag, 1970).

Durante una parte del crecimiento vegetativo, el crecimiento del follaje y los tubérculos proceden simultáneamente. Cuando el crecimiento del follaje alcanza su máximo, la formación de los tubérculos alcanza el 45 % de su desarrollo (Meier, 1997). Del inicio del ciclo del culti-

vo hasta el momento que comienza la etapa de gran crecimiento de la planta, deben utilizarse fungicidas de contacto o con penetración translaminar. A partir del inicio de la fase de gran crecimiento la protección debe desarrollarse utilizando productos con una adecuada actividad sistémica, para evitar que queden producto de la expansión diaria de la lámina foliar, zonas de limbo desprotegidas. A partir de la terminación de la gran fase de crecimiento, se puede volver a la utilización de fungicidas de contacto o en función de la situación epidemiológica utilizar eventualmente sistémicos con propiedades antiesporulativas y erradicativas (Figura 11).

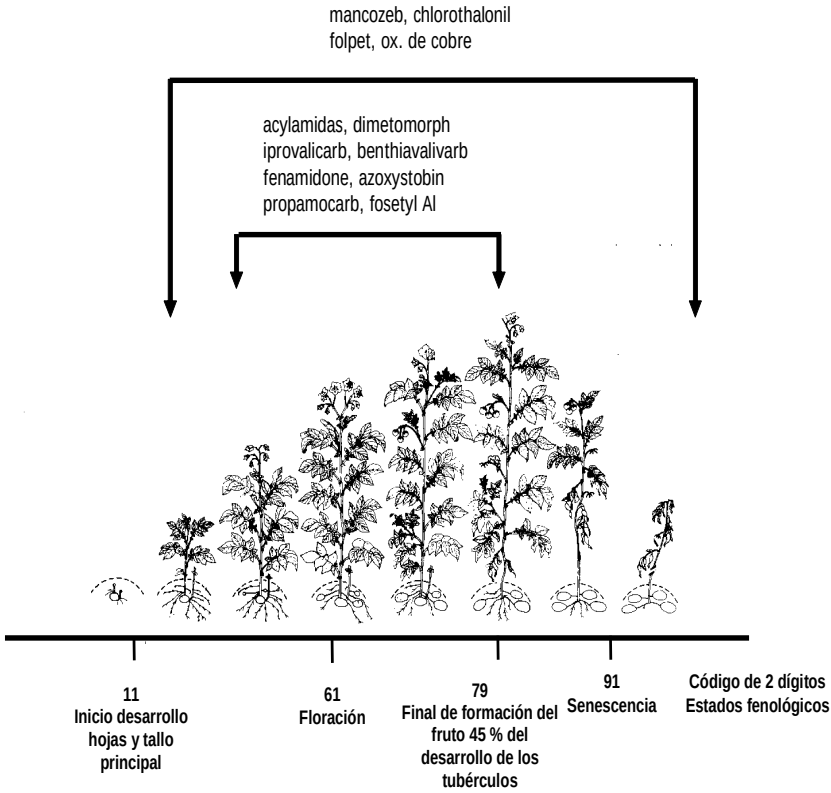


Figura 11. Ubicación de los diferentes tipos de fungicidas en función de la etapa de crecimiento de la papa (estados fenológicos modificados de Meier, 1997)

La resistencia al metalaxyl y otras acylamidas ha sido informada desde 1980 en Holanda e Irlanda y posteriormente en un número considerable de países (Davidse, 1995). En Holanda es prohibida la utilización de metalaxyl en plantaciones dedicadas a la producción de semillas, con vistas a evitar la transmisión de poblaciones resistentes del patógeno a las acylamidas en la semilla para plantación. En la actualidad, las acylamidas han sido casi totalmente descartadas debido a su falta de eficacia por la gran distribución de aislados resistentes de *P. infestans* existentes.

Con los grandes problemas de resistencia encontrados en Cuba durante las campañas paperas entre los años 1994 a 1998, se ha reducido su utilización y se han sustituido o alternado con tratamientos de dimetomorph, iprovalicarb, benthiavalicarb y más recientemente fenamidone, todos en mezclas con dithiocarbamatos o folpet.

El uso de variedades con resistencia vertical ha sido una práctica extendida en muchos países pero el uso extensivo de ellas determina que se seleccionen poblaciones del hongo con virulencia a estas (Van der Plank, 1963). En la actualidad existen razas complejas del patógeno. Los genes más fuertes de resistencia al tizón se definen por la frecuencia de las razas con virulencia sobre esos genes en ausencia de estos (Van der Plank, 1963). El gén 1 de susceptibilidad al tizón es fuerte, porque cuando se cultivan variedades que no lo poseen, la frecuencia de las razas con el gén 1 de virulencia es baja. El gén 4 es débil, pues las razas con el gén 4 de avirulencia son relativamente frecuentes en las poblaciones de *P. infestans*, aún en ausencia de variedades que portan el gén complementario, por lo que hay una baja presión homeostática sobre las poblaciones del hongo con este gén.

En la actualidad, se busca la selección de variedades con resistencia parcial. Las variedades obtenidas hasta el momento que expresan resistencia parcial presentan una baja calidad comercial. La mayoría de los estudios en la actualidad están encaminados a la identificación de genes de resistencia en especies de *Solanum* silvestres.

El ácido salicílico es una molécula señal elicitor de los mecanismos de defensa de las plantas a los patógenos (Malamy *et al*., 1990). El acibenzolar S methyl (BTH) simula la actividad del ácido salicílico en la elicitación de resistencia sistémica adquirida en diferentes cultivos con una potencia cuatro veces superior (Kessmann *et al*., 1994 a y b; Lawton *et al*., 1996). En Cuba ha sido introducido con éxito para el control del moho azul del tabaco (*Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina*;

Pérez *et al*., 2003). En papa, las aplicaciones de BTH a 50 mg.L^{-1} incrementaron la actividad β 1,3 glucanasa y la síntesis de proteínas PR (Bokshi *et al*., 2003), permitiendo un control total de las manchas foliares en plantas inoculadas artificialmente. Sin embargo, los ensayos de campo realizados en Cuba no permitieron evidenciar un control importante del tizón tardío en las parcelas tratadas.

2. TIZON TEMPRANO CAUSADO POR *Alternaria solani* SORAUER

Introducción. La presencia en Cuba del tizón temprano causado por *Alternaria solani* (Sor.) está referida en las primeras publicaciones de la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas (Bruner, 1920; Cook, 1939). Es la enfermedad más frecuente que afecta las plantaciones de papa en Cuba, presentándose en la totalidad de las variedades y sistemas de cultivo de papa, y se considera la enfermedad más importante del cultivo a lo largo del país. Piña (1980), Arzuaga (1982) y Castellanos (1995), informan que esta puede reducir los rendimientos entre el 4 y el 38 % de la cosecha potencial del cultivo.

Síntomas: La infección inicial es más frecuente en las hojas inferiores más viejas. Las lesiones son evidentes inicialmente en forma de pequeñas manchas circulares (1-2 mm), que luego se vuelven ovoides circulares y toman una coloración castaño-negra; generalmente tienen márgenes angulares, debido a que están situadas entre las nervaduras de las hojas. Las lesiones presentan visualmente anillos concéntricos formados por tejidos necróticos hundidos y levantados alternadamente, lo que le da un aspecto de diana de tiro al blanco (Figura 12).

Figura 12. Manchas de tizón temprano por *Alternaria solani*

Entre las lesiones el tejido foliar se vuelve clorótico. Según se forman nuevas lesiones y las viejas se expanden, la hoja entera se vuelve clorótica y después se seca, pero no llegan a desprenderse de la planta. Los daños que muestran las hojas exceden visualmente la cantidad de tejido infectado, lo que indica el efecto de las toxinas producidas (ácido alternárico, zinniol; Ichihara *et al*., 1985; Stanchova, 1989; Langsdorf *et al*., 1990; Maiero *et al*., 1991).

El hongo infecta las hojas en cualquier momento de su desarrollo y mientras la planta se encuentra en crecimiento, se mantienen de pequeño tamaño (en ocasiones imperceptibles a simple vista). A partir del inicio de la tuberización y floración, las manchas se expanden y esporulan (Turkensteen, 1996), siendo en algunos lugares una enfermedad de plantas senescentes (Hooker, 1980). Es usualmente más severo cuando la planta se encuentra predispuesta, debido a la falta de una adecuada humedad o una nutrición deficiente. La enfermedad es más intensa en las plantas que sufren de estrés hídrico o nutricional. Por este motivo, los primeros síntomas y los daños más intensos, se localizan en las áreas de los campos donde hay déficit de humedad, como son los extremos de las líneas de riego, donde el viento impide un adecuado humedecimiento o donde no hay un adecuado solapamiento del chorro de los surtidores, así como en los sectores del campo donde por una inadecuada distribución del fertilizante, las plantas presentan una inadecuada nutrición.

Las variedades de madurez tardía son generalmente más resistentes. En las condiciones del trópico y de Cuba, la enfermedad puede reducir el rendimiento de forma apreciable, especialmente cuando los primeros síntomas aparecen en las plantaciones en una edad joven.

En los tubérculos se producen lesiones oscuras, hundidas, de forma circular o irregular, redondeadas a menudo por bordes levantados de color purpúreo o bronceado (Figura 13). Por debajo de la lesión, la pulpa es seca, de textura coriácea a corchosa y de color amarillo a castaño. Las lesiones pueden aumentar de tamaño durante el almacenaje.

Etiología. En *Alternaria solani* Sorauer (sin. *Macrosporium solani* Ellis y Martin), las colonias son efusas, pardo grisáceas a negras, velludas. Los conidióforos emergen en pequeños grupos rectos o flexuosos, septados, más pardo pálidos o pardo oliváceos de hasta 110 x 6-10 µm. Los conidios son usualmente solitarios, raras veces en cadenas cortas, rectos o ligeramente flexuosos, obclavados o con el cuerpo del conidio oblongo o elipsoidal, estrechándose hacia el extremo, pardo pálido u

oliváceo pálido con 9 a 11 septos transversales y pocas septas longitudinales miden de 150-300 x 15 a 19 µm en la parte más ancha.

Figura 13. Síntomas en tubérculos afectados por *A. solani*

Las características culturales del hongo varían ampliamente. La mayoría de las colonias crecen bien en medio de cultivo, aunque esporulan pobremente (Hooker, 1980). El crecimiento óptimo en cultivo ocurre a 28ºC, mientras que la temperatura óptima para la formación de conidios está entre 19-23ºC (Lukens y Horsfall, 1971; Douglas y Pavel, 1971; Izquierdo, 1977; Piña, 1980). A temperaturas superiores a 27ºC, se detiene la forma de conidios. La producción máxima de esporas ocurre entre las 3:00 a.m. y las 9:00 p.m.

Los estudios mediante marcadores de polimorfismo (AFLP) y el análisis fenético entre aislamientos de tomate y papa de diferentes regiones del país permitió establecer la existencia de una marcada variabilidad y diferencias de agresividad (sobre la base del tamaño de las lesiones y la severidad de las necrosis) en las poblaciones del patógeno de diferentes regiones de Cuba (Pérez, 2003). Se encontró una diferencia marcada entre los cuatro grupos formados, diferenciándose los aislados provenientes de papa de los de tomate. No se encontraron relaciones entre grupos genéticos y localidad geográfica de donde fueron obtenidos. Dita-Rodríguez *et al*. (2000), informaron en un estudio más limitado la presencia de más de un patotipo del patógeno.

Otros hospedantes. Se encuentra más comúnmente en papa, tomate y otras solanáceas, pero ha sido registrado en un amplio rango de hospedantes. Castellanos (1996) informa que puede infectar *Solanum nigrum* L., *S. campechiensis* L. y *Lycopersicum pimpinellifolium* L.

Epidemiología y ciclo de enfermedad. *A. solani* persiste en el suelo en residuos de cosecha, suelo, tubérculos infectados u otros hospedantes del grupo de las solanáceas (Hooker, 1980). Mayea, Silverio y Naranjo (1989) informan que la enfermedad presenta tres fuentes de inóculo principales: clamidosporas en el suelo, tubérculos usados para la semilla y desde solanáceas silvestres que crecen durante todo el año en colindancia con los campos de cultivo. El hongo puede penetrar directamente a través de la epidermis. La infección primaria ocurre en el follaje más viejo durante la etapa más temprana de cultivo; sin embargo, las plantas con una fuerte fertilización nitrogenada y en crecimiento activo no muestran síntomas, y la mayor diseminación secundaria se realiza especialmente después de la floración, cuando comienza el movimiento de alcaloides desde las hojas hacia los tubérculos en formación. La esporulación es más abundante según envejecen las hojas (Castellanos *et al*., 1995). La enfermedad se desarrolla con mayor rapidez durante los períodos en que ocurren noches húmedas y días soleados.

Para la infección de los tubérculos es necesaria la presencia de heridas y temperaturas entre 12 y 16ºC (Hooker, 1980).

Gómez *et al*. (1999 b) informaron en relación con el comportamiento del tizón temprano, que se pueden diferenciar dos regiones en La Habana, una compuesta por las plantaciones de Güines y Melena del Sur, donde la tasa de infección logística es menor producto de las temperaturas más bajas y otra constituida por las plantaciones de Güira de Melena, San Antonio de los Baños, Quivicán, Alquízar y Batabanó, con tasas logísticas de infección y registros de temperaturas mínimas superiores.

Gómez *et al*. (1990) propusieron un método para el pronóstico de los períodos favorables para el desarrollo del tizón temprano. Los períodos críticos están basados en la existencia durante dos días consecutivos, de una humedad relativa media superior a 84 %, mínima superior a 60 %, temperatura mínima superior a 18 ºC y lluvia igual o superior a 0.5 mm. Castellanos (2000) informó que el sistema no es un buen pronosticador de la enfermedad en las plantaciones de Cienfuegos.

Fungicidas. Se utilizan para el control del tizón temprano fungicidas de contacto y sistémicos. Entre los de contactos se encuentran:

- *Etilenbisditiocarbamatos*: folpet y clorotalonil en aspersiones cada 7-10 días controlan eficientemente la enfermedad (ver descripción en el acápite dedicado a los fungicidas para el tizón tardío). Se han utilizado además:

- *Derivados del estaño*. Se encuentran en este grupo el acetato e hidróxido de fentín (acetato trifenil de estaño e hidróxido trifenil de estaño; Piña, 1980), que son inhibidores de la fosforilación oxidativa (Kaars Sijpesteijn *et al*., 1962). Su uso en papa se autoriza hasta 30 días antes de la cosecha. Son inhibidores de la germinación de conidios y esporulación sobre las hojas. Se utilizan en tratamientos semanales o decenales a dosis de 0.75-1.0 kg ia.ha^{-1}. En los últimos años su uso en Cuba se ha reducido apreciablemente.
- *Derivados de dicarboximida*. A esta familia pertenece el iprodione. Es un fungicida que controla eficientemente diferentes especies de *Alternaria, Botrytis, Helminthosporium, Rhizoctonia y Sclerotium*. Son fungicidas de contacto que afectan la germinación conidial menos intensamente que el crecimiento micelial. Cuando las esporas germinan, los tubos son cortos y deformados. El producto se une a la pared celular de las hifas mientras estas crecen. Según Edlich y Lyr (1995), son altamente selectivos. Ha sido informada la inestabilidad mitótica, afectación en la síntesis de ADN, sin efecto en la síntesis de pared celular, poca inhibición de la síntesis de ARN y proteínas, y un nivel incrementado de los aminoácidos libres. Se ha demostrado que la enzima flavio citocromo C oxidasa NADPH dependiente, ligada a la membrana celular, es fuertemente bloqueada de forma tal, que se inhibe el flujo de electrones NADPH–citocromo C. Para el control de tizón temprano en papa puede ser utilizado a la dosis de 0.5 a 0.75 kg ia.ha^{-1}

Además de los fungicidas de contacto antes mencionados, se utilizan ampliamente en la papa diferentes ingredientes con distintos grados de sistemicidad y traslocación en los tejidos de las plantas. Entre ellos se encuentran:

⇨ *Inhibidores de C_{14} α-demetilasa*. Estos compuestos inhiben la enzima C_{14} α-demetilasa (inhibidores de demetilasa, DMI) en la ruta metabólica de la síntesis de ergosterol en los hongos. Son considerados fungicidas de riesgo moderado de adquisición de resistencia y aunque en Cuba en otros cultivos se han informado casos de pérdida de sensibilidad de los patógenos, como es el caso del banano (Pérez *et al*., 2000), en papa no existen antecedentes en el país. A este grupo pertenecen dos familias químicas de fungicidas que tienen interés en el cultivo de la papa para el control de *Alternaria solani*: triazoles e imidazoles.

- *Triazoles.* Se encuentran en este grupo los ingredientes activos (Almandoz *et al*., 1999; Castellanos 2000; Dahmen *et al*., 1992): difenoconazol (8-120 g ia.ha^{-1}); tebuconazol (80-100 g ia.ha^{-1}); tebuconazol + triadimenol (0.075 + 0.075 ia.ha^{-1}); bromuconazol 125 g ia.ha^{-1}; bitertanol; propiconazol (80-100 g ia.ha^{-1}).
- *Imidazoles*. Se encuentra en este grupo el prochloraz, que se utiliza a dosis entre 0.225 y 0.45 kg ia.ha^{-1} (Almandoz *et al.,* 1999).
- *Estrobilurinas y methoxyacrilatos.* Las propiedades de los productos y de la familia química aparecen descritas anteriormente. Pare el control de *Alternaria solani* se puede utilizar a la dosis de 75-100 g ia.ha^{-1} en aspersiones a intervalos de 10-12 días (Almandoz *et al*., 1999).

Manejo integrado de la enfermedad. El manejo de la enfermedad se ha basado en la integración de medidas culturales y de protección química. Las principales medidas culturales han sido evitar el estrés de las plantas por un riego, y una nutrición uniforme y adecuada para evitar los factores de predisposición. La eliminación de los hospedantes del patógeno colindantes y evitar las malezas en la plantación pueden contribuir a disminuir la presión de inóculo y a retrasar la aparición de la enfermedad en el campo.

La inspección minuciosa de la aparición de las primeras manchas en el campo permite detectar tempranamente la presencia de la enfermedad, que puede estar restringida durante los primeros días de desarrollo del cultivo.

El monitoreo de las condiciones climáticas permite apoyar las decisiones de control. En tiempo muy frío con temperaturas predominantemente inferiores a 18ºC, la enfermedad se detiene y viceversa, cuando la enfermedad está presente en el campo, las condiciones de altas temperaturas y el humedecimiento del follaje, sea por lluvia o rocío en las etapas medias y avanzadas del desarrollo de la plantación, contribuirán a su desarrollo epidémico.

El control se ha basado esencialmente en la utilización sistemática de fungicidas de contacto (Piña, 1980) y sistémicos (Almandoz *et al*., 1999; Castellanos, 2000).

Ha sido usualmente efectivo establecer un programa de tratamientos coincidente con la infección secundaria del patógeno. En plantaciones de la región de Sola en Camagüey, la programación de los tratamientos se ha realizado en función de los datos de trampas de esporas con una buena eficacia técnico-económica. Rowe (1993) informa de la

utilización de un sistema de pronóstico basado en la acumulación de 300 días fisiológicos, desde la emergencia de las plantas para predecir el aumento estacional de las conidiosporas en el aire de *Alternaria solani* en plantaciones de Wisconsin y concluyó que en áreas donde el tizón temprano es la enfermedad principal, se pueden reducir de forma importante los costos de protección, atrasando las aplicaciones de fungicidas hasta el momento justamente antes en que se predice el aumento de la concentración de esporas del patógeno en el aire.

Ha sido informado un control similar al obtenido con mancozeb, con aplicaciones semanales del fungicida biológico Gluticid, constituido por metabolitos de *Pseudomonas aeruginosa* cepa PSS (pioverdin, metabolitos en base a compuestos fenólicos, ácido salicílico y péptidos) en un formulado en forma de polvo humedecible (Stefanova *et al*., 1995; Villa *et al*., 2000).

Castellanos (2000) informó que aspersiones foliares con esporas de *Trichoderma harzianum*, brindaron una eficacia insuficiente para su uso comercial en campo.

Hernández *et al*. (1994) informaron la inducción de resistencia a *A. solani* con reducción significativa del área necrosada en hojas de tomate Campbell, mediante aplicaciones de K_2HPO_4, Na_2HPO_4 y Na H_2PO_4. Solórzano *et al*. (1996 a y b), Fernández *et al*. (1996 y 1998) y Solórzano *et al*. (1999), informan la inducción de fenilalanina-amoniolisas, peroxidasas polifenoloxidasas y quitinasas, que son enzimas vinculadas a los mecanismos de defensa de las plantas a consecuencia de las inoculaciones con *A. solani* en tomate. Los informes sobre la eficacia de los tratamientos con BTH (ver inducción de resistencia con acibenzolar S methyl en tizón tardío) para el control de *A solani*, son contradictorios; Babu *et al*. (2000) no obtuvieron resultados positivos como elicitor de mecanismos de defensa contra *A. solani*, mientras que Bokshi *et al*. (2003) informan una reducción importante del desarrollo de la enfermedad en campo y la inhibición total de las enfermedad en condiciones de casa de cultivo.

3. RHIZOCTONIOSIS. KÜHN (*Thanatephorus cucumeris* (FRANK) DONK

Introducción. La presencia de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de la papa, aparece referida en Cuba por Cardín (1915), desde los primeros informes publicados por la antigua estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas. La enfermedad está presente en bajas intensi-

dades en la semilla comercial, que se importa desde Holanda y Canadá, por lo que el patógeno puede considerarse presente en la mayoría de las plantaciones cada año. En los tubérculos de semilla canadienses aparece con más distribución y presencia que en la holandesa. La presencia de síntomas en plantaciones, sin embargo, está condicionada a la presencia de condiciones particulares ambientales, por lo que puede considerarse en general de poca importancia económica en el cultivo en las condiciones de Cuba.

Síntomas. El síntoma más común es la presencia en la superficie de los tubérculos de esclerocios de color negro o castaño (Figura 14). Generalmente la epidermis del tubérculo por debajo de estos no presenta ninguna anormalidad. Otros síntomas incluyen agrietaduras, malformaciones, concavidades y necrosis en el extremo de unión con el estolón.

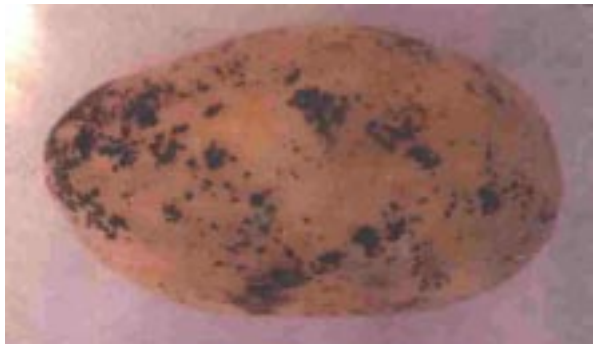


Figura 14. *Rhizoctonia solani* en el tubérculo

Los daños más severos se producen después de la siembra si la germinación de los tubérculos es lenta y la temperatura del suelo es baja; el hongo mata los brotes subterráneos, retardando o anulando la emergencia especialmente en suelos fríos y muy húmedos, lo que da resultados campos con fallas, desigualdad de crecimiento, plantas débiles y reducción del rendimiento.

Los brotes que llegan a emerger también se infectan, formándose por debajo del nivel del suelo (siendo la primera causa de pérdida de rendimiento), chancros en los tallos en desarrollo de un color pardo rojizo conspicuo, que llegan a estrangularlos (Figura 15). El estrangulamiento parcial de los tallos puede suscitar una gran diversidad de síntomas, incluido el retardo en el desarrollo de la planta, arrosetamiento del ápice, la necrosis cortical del tejido leñoso, pigmentación purpúrea de las hojas, y tubérculos aéreos, y el enrollamiento hacia arriba de las hojas y clorosis.

Figura 15. Necrosis de la base del tallo de papa por *Rhizoctonia*

Da lugar también a un desarrollo pobre del sistema radical.

Debido a la diversidad de síntomas que produce la enfermedad, puede ser confundida con el enrollamiento de las hojas y deformaciones de tubérculos que produce la sarna común y algunos virus de plantas.

Rhizoctonia produce una toxina que regula el crecimiento, la que puede ser parcialmente responsable de las malformaciones.

El estado sexual se produce en la superficie de los tallos, exactamente por encima de la línea del suelo, formando una capa tenue blanco plomiza, en la que se originan las basidiosporas y le dan apariencia polvorosa.

Etiología. *Rhizoctonia solani* Kuhn [estado perfecto *Tanathephorus cucumeris* (Frank) Donk. (Syn. *Corticium solani* (Prill and Delacr.); *Pellicullaria filamentosa* (Pat.) Rogers e *Hypochnus solani* Prill and Delacr]. Las colonias en PDA son primero incoloras, volviéndose rápidamente pardas (Mordue, 1974). El micelio aéreo es variable, con una zona afieltrada en la cual hay frecuentemente hifas largas dispersas. Las hifas de *Rhizoctonia* son capaces de anastomosarse (fusión de hifas), por lo que los aislamientos han sido agrupados en función de esta cualidad. Los aislamientos patogénicos a la papa pertenecen al grupo AG-3 (Hooker, 1980). Las hifas vegetativas jóvenes tienen sus células multinucleadas y se ramifican cerca de la septa distal de la célula. La característica más típica son sus ramificaciones en ángulo recto,

constricciones en el punto de origen de la ramificación de la hifa, formación de una septa en la rama cerca de su origen y un prominente aparato que conforma el poro de cada septo.

Otros hospedantes. *R. solani* es patógeno de numerosos cultivos y malezas en todo el mundo; posee patogenicidad por la influencia de las cepas presentes.

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. El patógeno se mantiene de una campaña a la otra en su forma de esclerocios en el suelo y sobre los tubérculos o como micelio en restos vegetativos en el suelo. Cuando las condiciones son favorables, los esclerocios germinan e invaden los tallos de papa o los brotes emergentes principalmente a través de las heridas. Durante la etapa de crecimiento de las plantas, tanto las raíces como los estolones son invadidos a medida que se desarrollan. La formación de los esclerocios ocurre después que se ha matado la planta mientras los tubérculos están enterrados.

La población de *Rhizoctonia* se incrementa mediante cultivos sucesivos de papa en el campo. El uso de semilla infestada de esclerocios también favorece el incremento del inóculo en el suelo. Las condiciones que favorecen la infección son la alta humedad y temperaturas bajas (óptimo18ºC).

Tanto las hifas como los esclerocios pueden ser afectados por muchos microorganismos que viven en el suelo (Turkensteen, 1996). La densidad del patógeno en el suelo disminuye durante los períodos sin cultivos, pero debido a su capacidad de crecimiento se recobran rápidamente cuando las condiciones se tornan favorables. Puede producirse un aumento poliético de la infección si las rotaciones son cortas.

Las variedades muestran diferentes niveles de susceptibilidad a la enfermedad (Camara *et al*., 1988).

Manejo de la enfermedad. En general, la enfermedad no causa daños severos en Cuba, dado que la temperatura y las condiciones ambientales permiten una rápida germinación de la semilla. No obstante, debe usarse siempre que sea posible semilla libre de esclerocios o con muy poca incidencia de estos, ya que son una importante fuente de la infección temprana.

La enfermedad puede controlarse con medidas químicas y culturales, favoreciendo la fauna de nematodos micófagos mediante la rotación y enmiendas verdes que permitan el aumento de las poblaciones de estos (Schoolte *et al*., 1996). La rotación con gramíneas reduce la población del patógeno.

Se han utilizado diferentes fungicidas para el tratamiento de semillas y suelo. Entre ellos se encuentran:

- *Benzimidazoles*: Son fungicidas sistémicos de amplio espectro. Bloquean la formación de microtúbulos al unirse a las β tubulinas y, por tanto, la mitosis celular. Para la desinfección de semillas en Estados Unidos y Europa se han utilizado el benomyl y el thiabendazol en tratamientos al suelo y a la semilla (Hooker, 1980). Los tratamientos de suelo con benomyl o con PCNB reducen el inóculo pero no siempre los beneficios justifican los costos.
- *Derivados de urea (Pencycuron*). Este fungicida fue registrado a finales de los años 80 para el control específico de *Pellicular*ia, *Rhizoctonia solani* y especies afines en arroz, papa y ornamentales. Su mayor uso está en el tratamiento de tubérculos de papa y arroz. Hay grupos de anastomosis de *R. solani* que no son sensibles al ingrediente activo. Es un producto no sistémico cuya acción principal es por inhibición del crecimiento de hifas. Los datos indican la inhibición de la síntesis de quitina, aunque no se considera que sea el principal mecanismo de acción. Se asume que puede estar en relación con el bloqueo de la formación de microtúbulos a nivel celular (Gasztonyi y Lyr, 1995). Puede utilizarse para el tratamiento por inmersión de la semilla en una suspensión al 2 % o como tratamiento al suelo a la cama de siembra a 1.25 kg ia.ha^{-1} (Tsror *et al*., 1996).

4. PUDRICIONES SECAS POR Fusarium spp

Introducción. Las pudriciones secas de los tubérculos por *Fusarium spp*., se encuentran referidas en el cultivo de la papa en Cuba desde las primeras publicaciones de incidencia de plagas y enfermedades de la Estación Experimental Agronómica de Santiago de Las Vegas (Bruner, 1920). Este desorden está ampliamente distribuido en la mayoría de las plantaciones de Cuba y muy asociado a los daños mecánicos durante la cosecha y el transporte. La enfermedad se encuentra de alguna manera presente en la mayoría de los certificados de tubérculos para semilla, en las que está regulada bajo una tolerancia de no más del 2 % de tubérculos afectados (de todas las anomalías consideradas como pudriciones secas por hongos). Es probablemente la enfermedad que causa más pérdidas durante el almacenamiento y tránsito tanto de tubérculos de consumo como de semillas (Rowe, 1993). Es también una causa importante de deterioro de la semilla después de la plantación.

Síntomas. La pudrición seca por *Fusarium* afecta los tubérculos en almacenaje y los que se usan como semilla propagativa. En los tubérculos las lesiones que se inician en las heridas causadas durante almacenaje y transporte, se hacen evidentes alrededor de un mes después del almacenaje como pequeñas áreas pardas en la piel. La infección se va extendiendo lentamente y el peridermo correspondiente a las partes lesionadas se hunde y arruga, formando a veces anillos concéntricos a medida que el tejido se va secando y momificando. Del peridermo muerto pueden emerger pústulas que contienen micelio y esporas.

Las necrosis internas toman un matiz pardo que varía al chocolate, con el borde ligeramente necrosado que se distingue por una coloración más oscura. Los bordes de la lesión en progreso retienen su coloración castaña, pero el tejido necrosado viejo toma diferentes colores formando cavidades tapizadas de micelio (Figuras 16 y 17). Han sido descritas diferencias entre los síntomas causados por diferentes especies de *Fusarium* (Turkensteen, 1996).

Figura 16. Pudrición seca por *Fusarium spp*

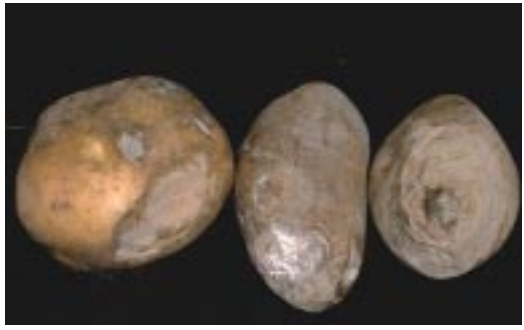


Figura 17. Pudriciones secas por *Fusarium.* Síntomas externos

Cuando la humedad relativa alcanza el punto de saturación, pueden ocurrir infecciones secundarias de *Erwinia spp.* El líquido que emana de estas pudriciones pone en peligro los tubérculos circundantes.

El tubérculo entero que se usa como semilla se infecta durante el almacenaje a través de heridas o durante la siembra por las heridas que se provocan durante la siembra. La superficie de corte de los tubérculos que se fraccionan es la vía de ingreso más importante.

En suelos húmedos, a menudo diferentes especies de *Erwinia* penetran como patógenos secundarios y destruyen la porción de semilla. Los campos de papa infestados de *Fusarium* exhiben una gran variabilidad en el tamaño de las plantas, lo mismo que fallas.

Otros hospedantes. Los aislados de papa generalmente no infectan otras plantas. Los aislados de *Colocasia* pueden infectar tubérculos de papa.

Etiología. Según Hooker (1980), *Fusarium solani (*Mart) App et Wr. emend Snyd et Hans, *F. roseus* (Lk) Snyd. y Hans. «*Sambucinum*» y *Fusarium oxysporum* Schlecht son los mayores implicados en las pudriciones secas de semillas. En los tubérculos holandeses se encuentra presente además *F. sulphureum* (Turkensteen, 1996), que se considera entre las principales especies involucradas.

Mayea-Silverio *et al*. (1980), en Cuba informaron la presencia de los patógenos *Fusarium oxysporum, Fusarium sulphureum, Fusarium solani, Fusarium culmorum, Rhizoctonia solani, Phoma exigua var. exigua, Pythium sp*. y *Sclerotium rolfsii* en pudriciones de tubérculos almacenados en Cuba. Estos autores asociaron las pudriciones de tubérculos a los problemas de daños mecánicos a la cosecha y a los desbalances hídricos.

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. Las especies de *Fusarium* pueden sobrevivir varios años en el suelo, pero el inóculo primario se mantiene generalmente en la superficie de los tubérculos, a partir de los cuales los propágulos contaminan los envases, el equipo usado para la recolección y almacenamiento, e inoculan las heridas provocadas durante el transporte de la semilla, especialmente cuando se trata de semilla cortada. La semilla entera o fraccionada que se ha infestado se pudre e infesta el suelo, que queda adherido a la superficie de los tubérculos cosechados.

El hongo infecta la semilla a través de las heridas causadas durante la cosecha o también a través de las infecciones causadas por otros patógenos. La infección se desarrolla a temperaturas por encima de 10ºC y óptimamente por encima de 15ºC (Rowe, 1993; Turkensteen, 1996).

Existe una marcada diferencia entre las variedades de papa en cuanto a la resistencia a *Fusarium* usado en la inoculación.

Manejo de la enfermedad. Las medidas de manejo son todas encaminadas a prevenir los daños mecánicos y disminuir la predisposición de los tubérculos a la infección:

- cosechar los tubérculos después que el plantón esté totalmente muerto para asegurarse de la madurez de la piel;
- tomar medidas con la operación de las máquinas y manipulación, para disminuir heridas mecánicas durante la recolección y el almacenaje;
- evitar almacenar tubérculos contaminados de suelo y residuos de cosecha;
- proporcionar alta humedad y buena ventilación durante una semana a comienzos del período de almacenaje, para facilitar la cicatrización de heridas; las pudriciones por *Fusarium* no progresan en almacenamiento si las heridas están bien cicatrizadas (Rowe, 1993);
- almacenar a bajas temperaturas y en seco;
- tratar tan pronto como sea posible los tubérculos de semilla con thiabendazol, prochloraz, o imazalil (2000 mgL^{-1}), antes de almacenarlos a 5ºC. La dilación en el almacenaje a bajas temperaturas favorece el desarrollo de las pudriciones (Rowe, 1993; Theron y Millard, 1996);
- calentar los tubérculos provenientes de cámaras frías a 20-25ºC, antes de fraccionarlos o sembrarlos, y sembrar inmediatamente después de fraccionar la semilla en suelos con humedad óptima (evitar exceso de agua), para propiciar el rápido desarrollo de los brotes y una buena cicatrización de las heridas de corte (Hooker, 1980; Rowe, 1993; Turkensteen, 1996).

5. MARCHITEZ POR *Fusarium spp*

Introducción. La marchitez de la papa por *Fusarium spp.* es una enfermedad de amplia distribución mundial y presente en la mayoría de las plantaciones de papas en el país, aunque con poca importancia económica en general.

Síntomas. Varias especies de *Fusarium* provocan síntomas esencialmente similares. En la superficie de los tubérculos se forman manchas de varios tipos, incluyendo el bronceado de la base, muerte de la unión del estolón, pudrición superficial y decoloración vascular interna; todos estos daños desmejoran las cualidades de los tubérculos.

En las plantas se presenta la pudrición cortical de raíces y tallos en la parte inferior, decoloración vascular o pudrición de los tallos inferiores, marchitez a veces unilateral, o sea, más severa en un lado de la planta tallo, clorosis, amarillamiento o bronceado del follaje; arrosetamiento y coloración purpúrea de las partes aéreas, tubérculos aéreos en las axilas de las hojas y muerte prematura de la planta. Pueden también hacerse evidente otros síntomas, lo que depende del patógeno involucrado y del medio ambiente (Figura 18).

Figura 18. Marchitez por *Fusarium spp*

Etiología. Las especies de hongos asociadas a marchiteces en papa son: *Fusarium solani (*Mart) App. et Wr [sin. *F. solani f. sp. eumartii* (Carp) S.y H.]; *F. oxysporum* Schl [sin. *F. oxysporum f. sp. tuberosi (*Carp) S y Hansen], *F. avenaceaum (*Fr) Sacc [sin. *F. roseum (*Lk.) S. y Hansen].

F. solani se obtiene fácilmente a partir de raíces y con dificultad de los tejidos decolorados de los tallos; *F. oxysporum* es aislado fácilmente de las raíces y parte inferior del tallo pero difícil de tubérculos afectados; *F. avenaceum* se aisla fácilmente del tejido vascular decolorado de la parte que se encuentra cerca de la superficie del suelo y tejido vascular. Según Hooker (1980), la marchitez por *F. solani* es la más severa e importante económicamente.

F. solani presenta colonias dispersas, flocosas, gris blancuzcas, que crecen moderadamente en cuñas de agar y que colorean el agar típicamente de color azulado o pardo azulado. Presentan microconidios abundantes en el micelio aéreo desde fiálides alargadas laterales; son hialinos

de forma cilíndrica o alantoides 9-16 x 2-4µm y se pueden volver uniseptados. Los macroconidios desarrollan en cuatro a siete días desde conidióforos ramificados y bien desarrollados. Son cilíndricos a falcados, ligeramente más anchos cerca del extremo y con una bien marcada célula apical. Miden de 40-100 x 5-7 µm. Presentan clamidosporas globosas a ovales de 10-11 x 8-9µm (Booth y Waterston, 1964 a).

Según Booth (1971), *Fusarium oxysporum* presenta colonias que crecen como promedio 4.0-4.5 cm en PDA en cuatro días. El micelio es de color blanco-rosa pálido con un tinte purpúreo usualmente en el medio, de crecimiento delicado esparcido a flocoso y abundante, volviéndose afieltrado y algunas veces arrugado. Los microconidios crecen en fiálides simples, que se desarrollan lateralmente o en hifas con conidióforos cortos ramificados esparcidamente. Los microconidios son generalmente abundantes, variables, elipsoidales, rectos o curvos, 5-12 x 2.2–3.5 µm. Los macroconidios esparcidos en algunas cepas crecen en conidióforos más ramificados o en la superficie de esporodoquios. Son de paredes finas, falcados, generalmente de 3-5 septos, fusoides, tubulados y puntiagudos en ambos extremos. Los conidios miden: con tres septos de 27-46 x 3-5µm; los de cinco septos 35-60 x 3-5 µm; los de siete septos 50-66 x 3.5- 5 µm.

Fusarium avenaceum presenta colonias de color variable, predominando el melocotón con tinción del medio rojo. El micelio es blanco flocoso y se tiñe de color melocotón. Los esporodoquios están ausentes, se desarrollan espasmódicamente o pueden ser abundantes, dando lugar a pústulas anaranjadas según se desarrollan los macroconidios (Booth y Waterston, 1964 b). En las cepas pionnotales, el micelio está ausente y los cultivos asumen una apariencia limosa con una coloración ocrácea intensa. Microconidios ausentes. Macroconidios falcados con extremos curvados. Presentan hasta siete septos: los de un septo miden de 10-15 x 3.5-4.5 µm; los de 3 de 21-38 x 3.5-4 µm; los de 4-6 septos miden de 44-70 x 4-5 µm.

Las clamidosporas están ausentes en el micelio y raramente presentes en los conidios.

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. Los *Fusarium* que producen marchitez son habitantes típicos del suelo y la enfermedad se transmite con diferencias de efectividad por medio del inóculo que se encuentra superficialmente o dentro del tubérculo de semilla.

F. solani vive en el suelo por largos períodos, sin una reducción notable de su patogenicidad cuando se siembra papa en el campo de nuevo.

La infección se realiza a través de las raíces y progresa hacia el tallo, con excepción de *F. solani* que se moviliza del tallo por el estolón hacia los tubérculos en desarrollo.

La semilla infectada cortada con pudrición en la base del estolón, transmite la enfermedad a las nuevas plantas con eficiencia variable. El inóculo es introducido en los campos nuevos principalmente por el uso de tubérculos infectados. La siembra continua de papa, particularmente si se usan tubérculos infectados, acelera el incremento del inóculo. El agua que corre por la superficie del terreno y suelo, que se desplaza por el viento o que es llevado por los implementos, dispersa el inóculo desde los suelos infectados.

Manejo de la enfermedad:

- utilizar terrenos libres de patógenos causantes de marchitez
- evitar la contaminación de los suelos sanos por transferencia de inóculo a partir de suelo infestado, tubérculos o restos de cosecha

6. GANGRENA. *Phoma exigua* Desm

Introducción. En Europa hay dos patógenos asociados a esta enfermedad *Phoma exigua* var. Foveata, que aparece en climas más fríos y que causa una pudrición seca extensa a los tubérculos y *Phoma exigua* var. Exigua, que aparece tanto en climas fríos como en climas más cálidos (Turkensteen, 1996). Este último es débilmente patogénico a los tubérculos de papas y causa el daño conocido como “huella del dedo pulgar” (Figura 19).

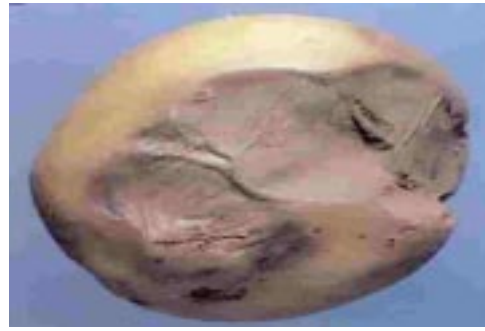


Figura 19. Tubérculo afectado por *Phoma exigua.* Note el síntoma de huella del dedo pulgar

En Cuba, Mayea-Silverio *et al*. (1980) informaron la presencia de *P. exigua* var exigua en pudriciones de tubérculos almacenados. No fue encontrada la especie *P. exigua* var. foveata.

Las pudriciones de tubérculos por *Phoma exigua* en Cuba, pueden considerarse de una importancia menor. Mayea *et al*. (1980), informó que la variedad Claudia presenta una susceptibilidad elevada al patógeno.

Síntomas. Son pequeñas depresiones de color oscuro. Se hacen evidentes en la superficie del tubérculo, generalmente en las heridas, ojos o lenticelas y pueden agrandarse para formar lo que se conoce como huellas del dedo pulgar o lesiones irregulares más grandes de bordes definidos, cuya área superficial no tiene relación con la profundidad de la pudrición (Figura 19). Internamente el tejido afectado se diferencia bien del tejido sano. La pudrición por *Phoma exigua* var. foveata es extensa de color pardo rojizo; en cambio la de *Phoma exigua* var. exigua es más pequeña de color negro, y forma y cavidades restringidas. Los picnidios pueden formarse solitarios o agrupados sobre las lesiones o en el micelio que tapiza las cavidades. Excepcionalmente las lesiones pueden restringirse al grosor de la epidermis o volverse extensas, oscuras y de forma irregular.

Figura 19. Necrosis de la base del tallo de la papa por *Rhizoctonia*

Otros hospedantes. *P. exigua* var exigua está diseminada sobre una gran diversidad de hospedantes. *P. exigua* var foveata está principalmente en papa, pero se le ha encontrado ocasionalmente atacando malezas.

Etiología. *Phoma exigua* var foveata *(*Foister) Boerema es el agente causal más importante; sin embargo, el más frecuente es *Phoma exigua* var exigua Desm (sin. *P. solanicola).* Sutton (1980) describe estos patógenos de la forma siguiente:

- *P. exigua* var. exigua presenta colonias muy variables con márgenes lobulados, usualmente con micelio afieltrado de color blanco, negro u oliváceo sin zonas concéntricas. La aplicación de OH Na da una pigmentación azul verdosa al agar cambiante a carmelita rojizo. Los conidios de 5.5-10 x 2.5-3.5 µm, son rectos a ligeramente curveados, elipsoides o cilíndricos, frecuentemente bigotulados y toman un septo.
- *P. exigua* var. foveata presenta colonias similares a la de la var. exigua, pero relativamente uniformes con un micelio blanco grisáceo y el margen es entero no lobulado. En adición el medio es coloreado amarillo carmelitoso por los pigmentos de antraquinona y se tornan rojos en condiciones alcalinas. Los cultivos viejos desarrollan cristales amarillo–verdosos.

Ambos hongos presentan picnidios generalmente globosos (90-200 µ) de color castaño oscuro-negro que producen picnosporas cilíndricas hialinas (4-5 x 2-3 µ). *P. exigua* var foveata es fácilmente distinguible, porque produce el pigmento antraquinona que se pone rojo al someterse a vapores de amonio por algunos segundos.

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. Los tubérculos infectados o contaminados producen también tallos infectados, en los cuales la infección permanece latente durante el período del cultivo, a menos que los tallos por cualquier razón comiencen a morirse. Los picnidios se presentan en grupos especialmente en los nudos, a medida que los tallos comienzan a envejecer. Las gotas de lluvia arrastran las picnidiosporas al suelo y diseminan el inóculo para las plantas vecinas. Las raíces del tubérculo madre continúan activas, producen picnidios y son una fuente importante de inóculo para los tubérculos que se contaminan al momento de la cosecha. Antes de la cosecha los tubérculos se pueden infectar a través de las lenticelas, especialmente cuando hay alta humedad en el suelo. Sin embargo, la gangrena se desarrolla de forma más intensa después de la cosecha, por efecto de los daños causados en la epidermis de los tubérculos.

Control. El control de la enfermedad se consigue principalmente con medidas culturales y el uso de semillas sanas. Debe evitarse sembrar variedades altamente susceptibles. Durante la cosecha es importante evitar producir daños en la epidermis de los tubérculos y exposición a temperaturas bajas, especialmente si se han producido heridas.

Es recomendable en campos con presencia de la enfermedad, destruir las plantas y cosechar tan pronto sea posible. Se requiere que los tubérculos para semilla se mantengan a temperaturas entre 18-20 ºC durante una semana, para permitir la completa cicatrización de las heridas (Hooker, 1980). Por otro lado, se deben desinfectar los tubérculos con TBZ en un período no mayor de tres semanas después de la cosecha

7. TIZÓN FOLIAR Y PUDRICIÓN DE LOS TUBÉRCULOS POR *Phytophthora nicotianae var. parasitica*

Introducción. *Phytophthora nicotianae* var parasitica ha sido informado por primera vez en 1993 en el valle del Yabú en la provincia de Villa Clara, causando: a) brotes de un tizón foliar que se presenta en condiciones ambientales similares a las que determinan los brotes de tizón tardío y b) en los años 2002–2003 han venido incrementándose pudriciones húmedas de los tubérculos por este hongo, que se desarrollan en asociación con *Erwinia carotovora s.sp. carotovora* y *Geotrichum candidum*, agente causal también de pudriciones de tubérculos en condiciones de exceso de agua en el suelo, las que producen pérdidas considerables durante la fase de almacenamiento.

Erwin y Ribeiro (1996) citan informes de pudriciones de tubérculos y tizones de las hojas y el tallo por *P. nicotianae* en India, EU, Japón, Venezuela e Irán.

Síntomas:

- *Tizón foliar*. Las manchas en su apariencia inicial se asemejan a las de *P. infestans* y pueden confundirse con las de estas. Desarrollan primero una clorosis y posteriormente una necrosis, que se cubre de un micelio blancuzco formado por los esporangióforos y esporangios del hongo.
- *Pudriciones de tubérculos.* En los últimos años se vienen presentando pudriciones en tubérculos que se asemejan en su inicio a las causadas por la pudrición rosada; los tubérculos afectados presentan una coloración parda rosada al inicio que se torna negruzca y fétida enseguida por la acción de microorganismos asociados que aceleran

la descomposición. Se presenta sobre todo en suelos sometidos a excesos de humedad.

Etiología. El organismo causal es *Phytophthora nicotianae* B. de Haan var. parasitica (Dastur) (Waterhouse *Phytophthora parasitica* Dastur), el cual según las descripciones de Waterhouse y Waterston (1964) y Erwin y Ribeiro (1996), presenta hifas gruesas e irregulares de hasta 9 µm de ancho. Los esporangios son más estrechos que las hifas miceliares, o ramificados irregular o simpodialmente. Los esporangios varían de elipsoides a ovoides, obpiriformes a esféricos sin un notable estrechamiento al extremo y con una papila notable, con un promedio de 38 x 30 µm (máximo 50 x 40 µm), algunas veces intercalares, deciduos con un pedicelo corto y se forman sobre largos tallos de 100 a 595 µm. Las clamidosporas son de hasta 60 µm (28 µm de promedio) que se forman más tardíamente (1-2 semanas), con paredes de 3-4 µm, las que se vuelven amarillo pálido con la edad. Los oogonios son usualmente producidos cuando se enfrentan aislamientos de diferentes grupos de apareamiento que miden 24-26 µm de diámetro; anteridios esféricos u ovales 10 x 12 µm; oosporas apleróticas de 18-20 µm. La mayoría de los aislamientos son heterotálicos.

Otros hospedantes. *P. nicotianae var. parasitica* se presenta en un amplio número de plantas incluidas en 58 familias.

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. *P. nicotianae var. parasitica* es un organismo que permanece en el suelo. Los esporangios se diseminan rápidamente en el agua de suelo a otras plantas o por salpicaduras de riego y lluvia a las hojas inferiores de la planta, donde puede causar en condiciones favorables de humedad relativa un tizón foliar. La pudrición de los tubérculos se presenta en campos con exceso de humedad si las temperaturas son elevadas.

Manejo de la enfermedad. En general en la papa el patógeno se presenta de forma ocasional, cuando coinciden altas humedades con temperaturas elevadas. El manejo del riego y las condiciones de cultivo es un aspecto esencial. Para el tizón foliar se pueden hacer aspersiones de los fungicidas, que se utilizan para el control del tizón tardío bajo esquemas similares de protección (ver acápite dedicado al uso de fungicidas para el manejo de *P. infestans*).

En el caso de la pudrición de los tubérculos, es esencial que se evite el exceso de humedad y se aplique una norma de riego en función de las necesidades del cultivo y el tipo de suelos para evitar los

encharcamientos. La nivelación de los campos para evitar el estancamiento del agua y favorecer el drenaje superficial es altamente recomendable.

No hay posibilidades de control químico para prevenir la pudrición de los tubérculos. En caso de excesiva humedad en zonas del campo, estas zonas deben ser cosechadas separadamente, para evitar las contaminaciones de otros tubérculos. Debe evitarse almacenar tubérculos con presencia del patógeno siempre que esto sea posible.

8. MANCHA DE LA CASCARA POR *Polyscytalum pustulans* (Owen and Wakef.) M. B. Ellis

Introducción. La mancha de la cáscara es una enfermedad cuya aparición fue confirmada en Cuba en la región de Arroyo Seco en el municipio de Gibara en Holguín en noviembre de1976, en Potrerillo 1977 en la actual provincia de Holguín, en Niquero Granma, 1976 y Las Tunas en 1976 (Kikuchi *et al*., 1977).

Existen informes no confirmados por el Centro Nacional de Sanidad Vegetal de la enfermedad en campos de papa para semilla de la zona de San José de la Lajas en la provincia de La Habana. Sin embargo, las condiciones generales del país son poco favorables para la enfermedad que se desarrolla fundamentalmente en temperaturas bajas.

En los cargamentos de semilla de Holanda han sido encontrados tubérculos con estos síntomas con baja frecuencia. Esto es debido a que los campos de semilla de papa en Holanda son cosechados temprano y las infecciones son más probables cuando las temperaturas son bajas (Turkensteen, 1996).

Síntomas. En tubérculos almacenados se observan manchas o pústulas individuales o en grupos, de color negro púrpura, ligeramente levantadas, de 2 mm de diámetro, distribuidas ya sea al azar o reunidas alrededor de los ojos, cicatrices del estolón o de la epidermis lesionada (Figura 20). Las manchas están separadas del tejido subyacente por una capa de corcho y pueden ser fácilmente eliminadas por un cuchillo. A veces se forman superficies necróticas más grandes.

Figura 20. Mancha de la cáscara *Polyscitalum pustulans*

Después de la infección, las raíces, los estolones y tallos subterráneos desarrollan lesiones discretas de color castaño claro que se agrandan, oscurecen y rajan transversalmente. Los brotes de los tubérculos pueden también presentar lesiones castañas. La irregularidad que se presenta en el campo de cultivo junto con el retardo de la emergencia de las plantas son consecuencias del uso de tubérculos de semilla severamente infectados. Al final de la estación de crecimiento se forman esclerocios en las células severamente afectadas del tejido cortical de tubérculos y semillas, los que pueden permanecer viables al menos por ocho años (Turkensteen, 1996).

Etiología. *Polyscytalum pustulans (*Owen and Wakef.) M. B. Ellis Sin. (*Oospora pustulans* Owen and Waken F) presenta colonias grises de aspecto polvoriento (Hooker, 1980). Los conidióforos son erectos, ramificados, de más de 140 µm de largo con la parte inferior de color castaño claro. Los conidios son secos, cilíndricos, mayormente unicelulares, pero ocasionalmente presentan un septo; miden de 6-18 x 2-3 µm y se desarrollan en cadenas que se fragmentan con facilidad. En cultivos viejos se forman esclerocios.

Otros hospedantes. Las manchas de la cáscara se desarrollan solamente en papa, pero las lesiones que provoca en la planta pueden ser encontradas además en *Solanum spp.*, *Nicotiana spp.*, *Lycopersicon sculentum y Datura spp.* (Turkeensten, 1996).

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. Las primeras infecciones se originan a partir del inóculo de los tubérculos-semilla. Inicialmente se desarrollan lesiones de color castaño claro en los tallos en la unión con tubérculos madre y posteriormente en los nudos (Hooker, 1980;

Turkensteen, 1996). El hongo infecta primero los estolones en el ápice y avanza hacia abajo a medida que se van formando las yemas y las escamas de las yemas, que van a constituir los ojos del tubérculo.

Según Hooker (1980), la infección de los tubérculos durante la cosecha y el almacenaje se originan a partir de conidios que se han formado abundantemente en tejidos infectados. Los tubérculos no presentan síntomas durante la cosecha y tanto las manchas de la epidermis como las yemas necróticas de los ojos, se observan recién después de dos meses, incrementándose durante el almacenaje.

Al final del período de desarrollo de la planta se producen esclerocios dentro de las células del tejido cortical de tallos y tubérculos en proceso de deterioro.

La enfermedad es más frecuente durante la estación de clima frío y húmedo, y es más severa en terrenos arcillosos pesados (Hooker, 1980).

La mancha es común en tubérculos recogidos húmedos y almacenados a 4ºC. Los conidios producidos en almacén diseminan la enfermedad en los tubérculos. La mayoría del inóculo se origina en los infectados, pero los esclerocios pueden mantener su viabilidad en suelo por ocho años.

Manejo de la enfermedad:

- usar solamente tubérculos sanos para la plantación. En campos infectados, no cosechar durante el tiempo húmedo y frío
- almacenar los tubérculos en ambiente seco (75 % de humedad o menor) y 15ºC previene la infección de los ojos
- desinfectar los tubérculos de semilla inmediatamente posterior a la cosecha. El benomyl o el TBZ aplicados al momento de la cosecha disminuyen la enfermedad. Debido a que persisten en la cáscara del tubérculo e inhiben la esporulación reducen enormemente las infecciones.

Se pueden producir tubérculos libres de *P. pustulans* propagando plantas a partir de estacas de tallo, aunque para mantener la sanidad de las plantas es necesario prevenir la enfermedad durante multiplicación comercial.

9. PUDRICIÓN DE LA BASE DEL TALLO POR *Sclerotium rolfsi*

Introducción. Este patógeno es cosmopolita y tiene un amplísimo rango de hospedantes. Ataca muchos cultivos durante el tiempo más húmedo y caliente. La enfermedad no presenta una alta incidencia en las principales zonas paperas del país. Sus informes son más frecuentes en la zona central de Cuba, en las provincias de Villa Clara (Seidel, 1976),

Sancti Spiritus y Camagüey, pero se ha encontrado también en suelos rojos de la provincia de La Habana.

Síntomas. Las plantas afectadas con la pudrición del tallo por *Sclerotium rolfsii*, muestran inicialmente una pudrición húmeda al nivel o ligeramente por debajo del nivel del suelo (Figura 21). Las lesiones se expanden por encima y debajo del tallo, y todas las partes de la planta pueden afectarse, dando lugar al amarillamiento y marchitez del follaje.

Figura 21. Micelio y esclerocios de *S. rolfsii* en tallos de papa

Los tubérculos se infectan a través de los estolones y el hongo, crecen sobre la superficie de los tubérculos y los invade pudriéndolos (Figura 21). En condiciones apropiadas de humedad, porciones de la planta y del suelo aparecen cubiertas del micelio blanco radial de *S. rolfsii*, el cual genera pequeños esclerocios de alrededor de 1-2 mm de diámetro, que son blancos cuando jóvenes y pardos al madurar.

Figura 21. Tubérculos y tallo colonizado por *S. rolfsii*

Epidemiología y ciclo de vida. El hongo persiste en el suelo entre cultivos. La germinación de los esclerocios y la infección es favorecida por temperaturas calientes y la superficie del suelo húmeda.

La pudrición del tallo solo es problemática en las áreas de cultivo calientes. El hongo puede invadir tanto plantones muertos como vivos. Las pérdidas más intensas de tubérculos pueden ocurrir cerca de la cosecha y continúan durante el tránsito.

Control cultural:

- realizar las plantaciones tempranamente para minimizar las pudriciones del tallo y evitar las temperaturas altas más tardías
- debe evitarse plantar en suelos infectados
- rotar con cultivos menos susceptibles.

Control químico. Hay antecedentes del uso de metam sodio en agua de riego, preplantación, que permite reducir la población al menos por un año.

10. PUDRICIÓN DE TUBÉRCULOS POR *Geotrichum candidum*

Introducción. En los últimos años, con el incremento y mejoramiento de las instalaciones de riego de las plantaciones, que han permitido una mejor estabilidad de la frecuencia del riego, se ha incrementado la pudrición de los tubérculos por *Geotrichum candidum*.

G. candidum es un patógeno débil que se presenta en ocasiones asociados a las pudriciones húmedas por *E. carotovora. s. sp. carotovora* y como esta, el hongo afecta los tubérculos que han estado en condiciones de saturación de agua en el campo.

Síntomas. La pudrición por *Geotrichum candidum* se caracteriza por desarrollarse hacia adentro de la superficie del tubérculo. Los tubérculos afectados liberan un olor desagradable particular, tienen una textura gomosa y se tornan rosados a rojizos al exponerse al aire. En condiciones de alta humedad, desarrollan una capa delgada de hifas y esporas. Los síntomas se asemejan a los de la pudrición rosada y los exudados que salen de los tubérculos afectados pueden causar una pudrición blanda de los tubérculos adyacentes (Turkensteen, 1996).

Etiología. El agente causal es el hongo *Geotrichum candidum* Link ex Pers. (teliomorfo *Endomyces geotrichum* Butler), el cual presenta micelio hialino y septado con hifas anchas vegetativas radiales, que se ramifican dicotómicamente e hifas más estrechas esporulativas, que pueden

también ramificarse. Los conidios (artrosporas) son formados por segmentación de hifas; pueden también intercalarse en las hifas anchas vegetativas. Los conidios tienen 2-8 x 3-50 µm, más comúnmente de 3-6 x 6-12 µm. El hongo crece rápidamente en papa dextrosa agar, produciendo una colonia blanca opaca con cadenas de artrosporas.

Epidemiología y ciclo de vida. *G. candidum* es un hongo comúnmente encontrado en el suelo que se desarrolla en el suelo y en plantas, y es comúnmente encontrado en la piel de los tubérculos y en pudriciones causadas por otros organismos.

Manejo de la enfermedad. La enfermedad solo se puede prevenir mediante un adecuado manejo de la agrotecnia que evite el encharcamiento y sobrehumedecimiento de los campos. Si a pesar de las medidas de manejo de nivelación y preparación de suelos, del riego y de los drenajes, se produjeran parches de encharcamiento en los campos, se debe proceder a cosechar estos parches individualmente y no almacenar los tubérculos junto a tubérculos sanos. Los lotes que incluyan tubérculos afectados deben ser secados rápidamente, almacenados en un lugar fresco y ser comercializados rápidamente. No hay posibilidades de control químico

11. PUDRICION ROSADA. *Phytophthora erythroseptica* Pethybr. var. *erythroseptica*

Introducción. La enfermedad está presente en Cuba y ha sido informada con mayor frecuencia en las plantaciones de papa del valle del Yabú en la zona central del país (LAPROSAV, Villa Clara, 1993).

Los síntomas de pudrición rosada pueden ser confundidos con los causados por otros patógenos fungosos de la papa.

La enfermedad se presenta esencialmente en suelos y climas moderadamente fríos. Pueden presentarse brotes locales asociados a lluvias intensas o riego excesivo, especialmente después de un tiempo de días calientes.

Síntomas. Las plantas infectadas pueden marchitarse en cualquier época de su vida, pero con mayor frecuencia al final del cultivo. Las hojas cercanas a la base del tallo se ponen cloróticas, se secan y se caen.

La marchitez es el síntoma inicial pudiendo formarse tubérculos aéreos. El patógeno ataca raíces, estolones y tallos, matando el tejido comprometido a medida que se va desarrollando la lesión. Las lesiones del tallo pueden extenderse hasta las hojas basales con humedecimiento y decoloración vascular castaño claro en los márgenes. Los tallos

necrosados toman una coloración castaña a negra y pueden confundirse con la pierna negra producida por *Erwinia sp.*

Los tubérculos se infectan usualmente a través de estolones, pero en algunos casos la acción se inicia en yemas y lenticelas. La pudrición se extiende uniformemente en el tubérculo con el margen de avance delimitado por una línea oscura tenue, visible a través de la epidermis. El peridermo en las porciones afectadas toma un tinte castaño cremoso en cultivares de color blanco y el tejido debajo de las lenticelas es de color castaño oscuro (Figura 22). El tejido comprometido se mantiene intacto pero adquiere consistencia esponjosa. Cuando se seccionan los tubérculos enfermos y se expone la superficie de corte al aire, a los 20-30 min posteriores, el tejido toma progresivamente una coloración rosado salmón y cambia a castaño y luego a negro después de una hora. En los tubérculos los síntomas pueden confundirse con los ataques de *Phytium* y de *Geotrichum candidum*.

Figura 22. Pudrición rosada por *Phytophthora eritroseptica*

Una característica de la enfermedad es que puede dispersarse de tubérculos enfermos a sanos a una velocidad tal, que pilones enteros pueden colapsar en pocas semanas después de la cosecha (Turkensteen, 1996).

Otros hospedantes. Ha sido descrita como patógeno de papas y tulipanes, aunque ha sido aislada de raíces de 17 plantas diferentes.

Etiología. El patógeno fue inicialmente descrito en Irlanda por Pethybridge en 1913 y 1914 (Erwin y Ribeiro, 1996), causando la

pudrición rosada de la papa. El patógeno ha sido subclasificado en dos variedades, *erythroseptica* (Waterhouse, 1963) y *pisi* (Bywater y Hickman, 1959 citados por Erwin y Ribeiro, 1996). Ahora está presente en casi todas las áreas productoras de papa del mundo. Aunque es un patógeno primario de solanáceas, ahora también ha sido informado como un patógeno serio de numerosas plantas (ver descripción de Erwin y Ribeiro, 1996, Tabla 25 A.1.)

Phytophthora erythroseptica (Pethybr.) var. *erythroseptica*. Según la descripción de Erwin y Ribeiro (1996), los esporangios no tienen papila y son de forma variable ovoide, elipsoide, piriformes o distorsionados, con una constricción distal. Tienen de 43-69µ x 26-47µm. El oogonio es de 30-35 µm de diámetro, de paredes lisas de una micra de grosor y puede colorearse de amarillo pálido a la vejez. Los anteridios son anfígenos elipsoides o angulares de 14-16 x 13 µm. Las oosporas llenan casi completamente el oogonio y tienen paredes gruesas de 2,5 µm. Los órganos sexuales se forman abundantemente en medio de cultivo de agar. Las clamidosporas están ausentes.

Las especies *P. crytogea* Pethybr, *P. dreschleri* Tucker, *P. megasperma* Dreschler y *P. parasitica* Dastur también infectan papa y producen los mismos síntomas.

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. *P. erytroseptica* es endémico de muchos suelos. Las zoosporas, esporangios u oosporas pueden servir como inóculo, pero las grandes cantidades de oosporas que se forman en el suelo son probablemente los agentes más importantes de propagación del patógeno y supervivencia (Hooker, 1980; Turkensteen, 1996). Las plantas de todas las edades son susceptibles, pero la enfermedad es más frecuente en plantas maduras cercanas a la cosecha.

La enfermedad se propaga en suelos cercanos a la saturación, que puede ser la consecuencia de la falta de drenaje, precipitación excesiva e irrigación. El exceso en el suelo de residuos vegetales en descomposición favorece la absorción de agua, su retención y la incidencia de la enfermedad. Las lluvias fuertes, después de un período seco caliente, estimulan la formación de zoosporas (Turkensteen, 1996). Infectan plantas estresadas por deficiencia de oxígeno asociada con los encharcamientos. Las temperaturas por encima de 20ºC favorecen la aparición de la enfermedad.

Manejo de la enfermedad. Las medidas de control son esencialmente culturales:

- realizar rotaciones adecuadas
- sembrar los tubérculos de semilla en suelos con buen drenaje
- evitar excesos de riego al final de la campaña de cultivo
- después de la cosecha, proceder al secado y consumo tan pronto como sea posible de los tubérculos que procedan de campos afectados.

12. COSTRA PLATEADA. *Helminthosporium solani* Dur. y Mont

Introducción. La presencia de la enfermedad en Cuba (aunque no se precisa la procedencia) ha sido referida por Seidel (1976). Al igual que *Rhizoctonia solani* pero con mucha menor frecuencia, el patógeno se presenta cada año en algunos certificados de las variedades holandesas para semilla (por su importancia en Cuba y su frecuencia en la semilla importada, no se controla su incidencia), pero es muy común en la variedad Bintje que se importa para procesamiento industrial.

Síntomas. La enfermedad se presenta inicialmente como pequeños puntos circulares definidos pardo claros y márgenes indefinidos que se agrandan hasta cubrir áreas considerables del tubérculo. Las áreas afectadas presentan un brillo plateado característico, especialmente si la superficie está húmeda (Figura 23). El color de las partes afectadas puede oscurecerse con la edad. Si el área comprometida es muy extensa, los tubérculos pueden arrugarse durante el almacenaje. Las variedades de piel roja tienden a perder su color normal.

Figura 23. Tubérculos afectados por sarna plateada (*Helminthosporium solani*)

Tanto la antracnosis como la costra plateada producen el mismo tipo de mancha en la superficie del tubérculo y pueden presentarse juntas, pero en el caso de la antracnosis, se nota generalmente los esclerocios sobre las lesiones, mientras que en la costra plateada los márgenes son más definidos y presentan una especie de hollín en la superficie, debido a la presencia de conidióforos y conidias.

Etiología. El agente causal es *Helminthosporium solani* Dur and Mont [sinónimo, *Spondylocladium atrovirens* (Harz).Harz ex Saccardo]. Según Ellis (1968), las colonias son pardo oscuras a negras y tienen micelio inmerso de hifas subhialinas, septado, ramificado, que toma coloración parda con la edad y algo más abultado en el punto de origen de los conidióforos. Los conidióforos emergen solitarios o en grupos, son septados, rectos o flexuosos, sin ramificaciones sobre los que se forman conidios en disposición verticulada a partir del extremo distal de la célula y miden de 120-600 µm. Los conidios emergen por un poro en el extremo del septo y en verticilos cercanos al septo superior, tienen hasta ocho septas, miden de 7-11 x 24-85 µm, son de color pardo oscuro, redondeados en la base y agudos en el ápice (9 µm de ancho en la base y 2-5 µm en el ápice (Figuras 24, 25 y 26).

Figura 24. Conidióforos y conidios de *Helminthosporium solani*

Figura 25. Síntomas de sarna pulverulenta causada por *S. subterranea*

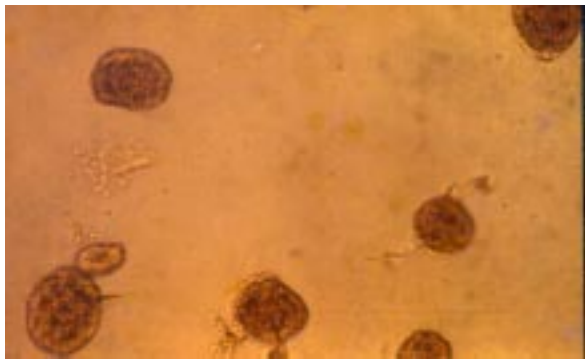


Figura 26. Quistosomas de *Spongospora subterranea* (Laboratorio Central de Cuarentena)

Otros hospedantes. *H. solani* no ha sido encontrado en otro hospedante. En papa solo afecta los tubérculos.

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. Se transmite por la semilla infectada; en menor proporción puede transmitirse por el suelo. La infección ocurre antes de la extracción de los tubérculos del suelo a través de las lenticelas y el peridermo. El micelio se desarrolla solamente en la capa del peridermo, invadiendo inter e intracelularmente.

Mientras más tiempo permanecen los tubérculos maduros en el suelo, mayores son las probabilidades de infección y severidad de la enfermedad. Las condiciones mínimas para la infección son 3ºC y 90 % de humedad relativa. La enfermedad continúa incrementándose durante el almacenamiento. Algunas variedades pueden ser más susceptibles que otras.

Manejo de la enfermedad. Las medidas de control son:

- ☞ usar semilla certificada libre de la enfermedad
- ☞ tratar la semilla con benomyl
- ☞ cosechar los tubérculos tan pronto estén maduros
- ☞ ventilar el almacén con aire caliente que tiene efecto de desecación y almacenar a temperaturas bajas que permitan la cicatrización

ENFERMEDADES BACTERIANAS DE LA PAPA

Las enfermedades de la papa causadas por bacterias fitopatógenas son extremadamente perjudiciales, no solo por los daños que provocan sino también por su difícil control una vez que están instaladas en el campo y ser algunas objetivo de cuarentena, tanto para productores como importadores en el ámbito mundial, lo que impone barreras de riesgo al comercio con los países que las reportan.

Entre las más importantes se encuentran el "marchitamiento bacteriano o pudrición parda", la "pudrición anular", las "pudriciones blandas" y la "sarna común".

1. MARCHITAMIENTO BACTERIANO (PUDRICIÓN PARDA) POR *Ralstonia solanacearum* Yabuuchi *et al*.

Introducción. Actualmente está considerada la enfermedad bacteriana principal del cultivo, porque el patógeno es objeto de cuarentena para muchas de las organizaciones de protección de plantas (EPPO, 2002), debido al amplio rango de hospedantes que posee, ser un habitante del suelo con sobrevivencia en este sustrato por varios años, aún en ausencia de plantas susceptibles y la capacidad que posee de trasmitirse de forma latente (asintomática) en los tubérculos usados como semillas, propiciando una eficiente introducción en áreas libres (Tabla 4).

Se ha planteado (Hayward, 1991) como la segunda plaga en importancia de la papa a escala mundial.

Hasta mediados de los años setenta, se pensaba que esta era una enfermedad prácticamente restringida a los países con clima tropical o subtropical, donde habían ocurrido los principales brotes y el patógeno era endémico en los suelos, pero en 1976 (Olsson, 1976) fue informada su presencia en un país tan frío como Suecia y desde 1992 (Janse, 1996) comienza a aparecer por todo el continente europeo y se encuentra en la lista oficial de plagas cuarentenadas de Cuba como objetivo (Jordán, 1996).

En su extensa monografía, Kelman (1953) señala la presencia del marchitamiento bacteriano en Cuba desde principios del siglo pasado atacando tabaco y berenjena. Hacia 1958, en los archivos de la antigua Estación Experimental de Santiago de las Vegas, se habla de su aparición en papa en una finca de un campesino de esa localidad habanera. Según el CMI (1977), aparece registrada en estos cultivos y sobre musáceas; sin embargo, debe aclararse que de los cultivos señalados anteriormente, en Cuba no se ha detectado en musáceas, a pesar de los intensos rastreos y encuestas que han hecho por todo el país por más de 30 años los oficiales del Sistema Estatal de Protección de Plantas, no es hasta 1974 (Pazos y Hevesi, 1974) que es informada oficialmente en papa y más tarde (Stefanova y Amat, 1978) en tomate y pimiento; la maleza *Milleria quinqueflora* (Stefanova y Rodríguez, 1978) y tres ornamentales: *Dahlia coccinea, Helychrysum bracteatum, Helianthus annus* y otra mala hierba, *Parthenium hysterophorus,* (Stefanova *et al*., 1986).

Tabla 4. Enfermedades bacterianas de la papa

Nombre común	Patógeno	Hospedantes	Ciclo de la enfermedad	Control
Pudrición acuosa	*Phytium spp.*	Amplio rango de los hospedantes	Hongo habitante del suelo que penetra por heridas de tubérculos	1. Cosechar tubérculos maduros 2. Evitar daños mecánicos 3. Aumentar movimiento de aire en almacén
Oidium	*Erysiphe cichoracearum*	Diferentes especies de plantas	Se diseminan los conidios por el aire. Raramente se encuentran cleistotecios. El riego por aspersión y lluvia limita desarrollo	1. Asperjar azufre cada 1-2 semanas. 2. Raramente importante en cultivos bajo aspersión
Alternaria alternata	*Alternaria alternata*	Solanáceas. Forma lesiones similares a *A. solani*	Se considera parásito débil. Produce toxinas asociadas a otras enfermedades	Los tratamientos para *A. solani* la controlan
Mancha foliar por *Pleospora*	*Pleospora herbarum (Stemphylum botryosum)*	Solanáceas	Asociado a plantas débiles o pobremente adaptadas a altas temperaturas Se transmite por ascosporas y conidios	
Manchas por *Stemphylium consortiale*	*Stemphyllum consortiale*	Papa. Lesiones similares a *A. solani* sin anillos concéntricos	-	-
Mancha anular	*Septoria lycopersici*	Tomate, papa	Inóculos se mantienen en rastrojos en el suelo y lo transporta la lluvia	Los fungicidas. de contacto para los tizones controlan la enfermedad
Pudrición gris	*Botrytis cinerea*	Muchas especies	Se hace evidente al final del ciclo vegetativo en partes evanescentes Esporas se diseminan por el aire. Infecta tubérculos por heridas	1. Fungicidas protectores 2. Dejar cicatrizar los tubérculos . antes de almacenar.
Pudrición carbonosa	*Macrophomina phaseoli*	Amplio rango	El hongo se mantiene saprofíticamente y sobrevive como microesclerocios. La infección de los tubérculos ocurre por heridas, lenticelas o los ojos	1. Cosechar antes que suba la temperatura 2. Evitar usar semilla de áreas donde la enfermedad es frecuente
Carbón	*Tecaphora solanii*	*S. tuberosum* *S. stoloniferum* D. stramonium	Se introduce la enfermedad en el campo con tuberculos infectados. Las esporas conservan su efectividad. largo tiempo	1. Usar variedades de resistencia conocida 2. Rotaciones largas 3. Cuarentena estricta
Royas	*Puccinia pitteriana*	*S. demissum* tomate *S. tuberosum*	Inóculo inicial transportado. por el viento posiblemente desde hospedantes silvestres	Los carbamatos son efectivos a intervalos de 14 días

La enfermedad en Cuba está restringida a las provincias más occidentales, Pinar del Río, La Habana y la Isla de la Juventud sobre papa y tomate fundamentalmente (en los otros hospedantes ha sido ocasional), en los que a principios de los años 70 se comenzó a manifestar con alta incidencia, lo que motivó tomar una serie de medidas severas de cuarentena apoyadas por investigaciones sobre el patógeno.

Sintomatología. *R. solanacearum* se establece en los haces vasculares de las plantas que ataca, bloqueando la transportación de agua y de nutrientes, causando un típico marchitamiento de las plantas infectadas que se hace irreversible y sistémico con la consiguiente muerte de las plantas. Esto se manifiesta sobre todo, en los estadios fenológicos que demandan altos gastos energéticos, como la fructificación, demanda que no puede cubrirse al estar obstruido el sistema conductor. Los síntomas característicos del "marchitamiento bacteriano" en la mayoría de los hospedantes son: el marchitamiento y achaparramiento de las plantas y el amarillamiento del follaje. A pesar de que los síntomas pueden aparecer en cualquier fase de crecimiento del hospedante, el mayor marchitamiento y colapso ocurre cuando las plantas jóvenes suculentas se infectan. La expresión específica de los síntomas varía con el cultivo y la tasa de desarrollo de la enfermedad, la que es influida por las condiciones ambientales. Aun cuando los verdaderos síntomas de marchitez pueden faltar, suele ocurrir el achaparramiento y enanismo de las plantas.

Los primeros signos comienzan por un ligero amarillamiento de las hojas inferiores en las plantas de papa; a veces solo una rama de un solo tallo puede mostrar flaccidez. En otros casos, si el establecimiento de la enfermedad es rápido, el follaje de un tallo completo puede caer y marchitarse súbitamente sin mucho cambio de color, las hojas marchitas pueden decolorarse a un verde pálido y finalmente se tornan pardas sin enrollarse. Debajo de la epidermis de los tallos de plantas jóvenes, se desarrollan bandas estrechas oscuras que corresponden con los haces vasculares. En condiciones de alta humedad puede ocurrir ocasionalmente el pardeamiento y la pudrición de los peciolos de las hojas.

En el tallo, por la base de la planta, se observa la formación de verruguitas (restos de raíces aéreas que produce la planta para contrarrestar el bloqueo vascular), y al hacer un corte se detecta, en parte o completamente atacado, el tejido de los haces conductores que tiene una coloración amarilla a pardusca; en las raíces y estolones se aprecia la misma coloración.

La marchitez provocada por esta bacteria en papa es similar al efecto de falta de agua o de la que producen otros agentes patógenos con la que puede confundirse; sin embargo, una característica importante de distinción es la aparición en unos pocos minutos de un exudado blanco lechoso fluyendo de los haces vasculares donde se ha hecho un corte.

En los tubérculos infectados, se pueden apreciar externamente zonas oscuras a casi negras alrededor de las yemas, de donde puede brotar exudado al que se quedan adheridas partículas de suelo. Internamente, al hacer un corte, el anillo vascular puede presentar una coloración ligeramente crema a pardo oscuro con salida de exudado; a medida que la enfermedad avanza, la pudrición se acentúa favorecida por al ataque de microorganismos secundarios, pudiendo destruirse completamente el tubérculo contaminado.

Etiología y ecología. *Ralstonia solanacearum* yabuuchi (sinónimo**:** *pseudomonas solanacearum* smith) es una especie compleja conformada por cepas con una gran variación intra-específica, que difieren en su comportamiento patogénico y metabólico de una zona a otra e incluso dentro de un mismo país. Se han realizado diferentes clasificaciones, pero las más aceptadas son:

- ***razas:*** se basan en el rango de hospedantes que puede afectar la bacteria (Buddenhagen *et al*., 1962), así tenemos:
  - raza 1: ataca numerosos cultivos como tabaco, papa, tomate, pimiento, berenjena, maní, plátanos diploides, muchas otras solanáceas y numerosas malezas; es común en los climas cálidos y en regiones bajas de la zona tórrida (alrededor de 28-30 ºC o más)
  - raza 2: afecta a las musáceas en general tanto cultivadas como silvestres: plátanos, bananos, *heliconia*, *stretlizia*. Endémica en el Caribe, Centro y Sur América; fue introducida en Filipinas alrededor de 1968 (Buddenhagen, 1986) y más recientemente ha sido encontrada en otros países asiáticos y en varios africanos (Eppo, 2002), predomina también en ambientes cálidos
  - raza 3**:** tiene un rango de hospedantes estrecho, afectando principalmente papa y tomate con muy baja virulencia a otras solanáceas, también se ha aislado de varias malezas (Graham y Lloyd, 1978; Jackson *et al*., 1979) y en flores ornamentales (Strider *et al*., 1981; Olsson, 1976). Se encuentra mayormente en los países de clima templado a frío o en los trópicos en zonas de gran elevación (alre-

dedor de 20-27ºC). Posteriormente se informaron dos nuevas razas (Buddenhagen, 1986):

- raza 4**:** ataca primariamente al jengibre de donde único se han obtenido aislamientos con alta virulencia a este cultivo; encontrada fundamentalmente en Filipinas (Kam y Quimio, 1977).
- raza 5**:** afecta mayormente a la mora en China (He *et al*., 1983).

➢ ***biovares:*** se basan en las diferencias bioquímicas de acuerdo con la capacidad de oxidar tres disacáridos (lactosa, maltosa y celobiosa) y tres hexosas alcoholes (ducitol, manitol y sorbitol) (Hayward, 1964):

- biovar 1**:** no oxida ninguno de los carbohidratos
- biovar 2**:** utiliza los disacáridos pero no las hexosas alcoholes
- biovar 3**:** oxida todos los carbohidratos
- biovar 4: emplea solamente las hexosas alcoholes; posteriormente, las cepas de mora se consideraron un nuevo biovar (Buddenhagen, 1986)
- biovar 5: tiene un comportamiento inusual utilizando lactosa, maltosa, celobiosa y manitol. Se han encontrado diferencias en el origen geográfico de algunos biovares, que indica una evolución independiente por separado. De forma general, el biovar 1 predomina en América y el biovar 3 en Asia (Hayward 1990, 1991).

Solamente se ha encontrado relación entre la raza 3 y el biovar 2, considerándose que ambos son equivalentes. Más recientemente, se denominó biovar 2a (Hayward, 1994) a las cepas de la raza 3 predominantes en países de alta latitud con climas fríos. Estudios posteriores utilizando técnicas de biología molecular, como análisis de RFLP y otras huellas genómicas (Cook y Sequeira, 1988; Cook y Sequeira, 1994; Gillings y Fahy, 1994; Horita y Tsuchiya, 2000; Poussier *et al*., 2000) han confirmado las diferencias evolutivas de las cepas americanas y asiáticas, así como que las cepas de la raza 3 son más homogéneas que las de la raza 1.

El patógeno puede transmitirse de diversas formas. Debido a su capacidad de perpetuarse en el suelo en ausencia de cultivos hospedantes, no es inusual que en campos vírgenes pueda aparecer la epidemia. Esto está relacionado fundamentalmente con la supervivencia de la bacteria, en malas hierbas que pueden ser portadores asintomáticos (Graham *et al*., 1979; Pradhanang *et al*., 2000). La bacteria puede penetrar a través de las raíces, aún a través de las lesiones que se producen durante el crecimiento normal de este órgano de la planta o por heridas produci-

das durante las labores del cultivo. Se ha comprobado que los daños radicales producidos por nematodos del género *meloidogyne* favorecen su entrada (Abd el-Ghafar y Abd el-Kader, 1997; Yen *et al*., 1997) y rompen la resistencia de los cultivares (Nagesh *et al*., 1997). También el agua de riego contribuye a su dispersión arrastrando partículas de suelo contaminadas o porque las fuentes de abasto lo estén (Wenneker *et al*., 1999). Los utensilios y maquinarias agrícolas facilitan la diseminación en y entre los campos, incluso el hombre y los animales en sus zapatos y patas pueden trasladar la infección de un lugar a otro. Se ha comprobado, sin embargo, que una de las vías más eficientes de diseminación ha sido la utilización de tubérculos semilla infectados en áreas libres, como consecuencia de la habilidad del patógeno de ser portado en forma latente (asintomática) en poblaciones bajas (Ciampi *et al*., 1980; Ciampi-Panno *et al*., 1981), que no pueden ser detectadas, si no se utilizan métodos refinados de diagnóstico. La raza 3 (biovar 2a), particularmente, tiene estas características por desarrollarse en ambientes más bien fríos donde la enfermedad puede tener manifestaciones muy lentas (Graham *et al*., 1979; Sunaina *et al*., 1989). No obstante, al llegar estos tubérculos a temperaturas más cálidas, el patógeno se reproduce rápidamente provocando explosiones epidémicas (French, 1984; Nyangeri *et al*., 1984). Esta es una de las razones principales de su ocurrencia en los países europeos (que anteriormente se consideraban libres) desde comienzos de los años 90 hasta la actualidad.

En Cuba, Pazos *et al*. (1976), trabajando con aislamientos obtenidos de plantas de papa y mediante inoculaciones artificiales, encontraron que estos eran patogénicos en papa, tomate y berenjena pero no a plátano y tabaco (donde indujeron hipersensibilidad), concluyendo que estaban en presencia de una nueva raza o un patotipo diferente a la raza 3.

Stefanova y Amat (1982) obtuvieron los mismos resultados con inoculaciones, con aislamientos obtenidos durante los años 1973-1978 de papa, tomate, pimiento y *M. quinqueflora*. Estos mismos autores encontraron que estos aislamientos bioquímicamente se ubicaban en el biovar 3 (aunque algunas cepas de papa se comportaron de forma heterogénea no pudiendo ubicarse en ninguno de los existentes entonces), por lo que consideraron que los aislamientos cubanos pertenecían a la raza 1 o una intermedia entre la 1 y la 3. Sin embargo, Albornoz (2002), al analizar más de 50 aislamientos de años posteriores (datos no publicados), encontró que estos coincidían con el biovar 1, que es uno de los incluídos en la raza 1.

Stefanova y Marrero (1983), en experimentos situados en campos infectados de papa, encontraron que las poblaciones del patógeno decrecían rápidamente después de tres meses en ausencia del hospedante y que los altos niveles de humedad favorecían la sobrevivencia en el suelo. Posteriormente, Stefanova y Prior (1990) analizaron, en condiciones de laboratorio, el comportamiento poblacional del patógeno en suelos cubanos típicos (Ferralíticos Rojos y cársicos ferralíticos lixiviados Amarillos-Rojizos) con diferentes potenciales hídricos y encontraron igualmente que la alta humedad del suelo favorecía el mantenimiento de poblaciones altas y estables. Encontraron además que en los suelos rojos, los potenciales hídricos altos (pf 4,0) reducían rápidamente la sobrevivencia de las bacterias (41,6 días), mientras que en los cársicos, aun cuando existía disminución, el componente arcilloso protegía a la bacteria que podía persistir por 70 días y aún en desecación (pf 4,16) por 62 días, por lo que el manejo del riego y la desecación se podían adoptar como estrategia de control teniendo en cuenta estos factores.

Diagnóstico. El diagnóstico a partir de muestras con síntomas se basa en el aislamiento del patógeno. Generalmente se utiliza el medio de Kelman (Kelman, 1954), sobre el cual se forman colonias características que permiten su diferenciación de otras bacterias y además permite discriminar entre las colonias virulentas y avirulentas. Sin embargo, la detección en suelos y aguas contaminadas y sobre todo, en tubérculos con infección latente, ha llevado al desarrollo de métodos más sensibles que van desde medios selectivos (Granada y Sequeira, 1983; Englebrecht, 1994; Elphinstone *et al*., 1996), métodos serológicos, como la inmunofluorescencia indirecta (ifi) (Janse, 1988), elisa (Robinson-Smith *et al*., 1995), ncm-elisa (Priou *et al*., 1998, 1999), y de biología molecular como pcr (Seal *et al*., 1993), hibridización fluorescente *in situ* (fish) (Wullins *et al*., 1999), pcr múltiplex fluorogénica (Weller *et al*., 2000). En estos momentos lo que más se emplea es una combinación de varios métodos, por ejemplo, discriminación de las muestras por ifi o elisa, seguido de un posenriquecimiento de las muestras sospechosas en caldo semiselectivo smsa (Elphinstone *et al*., 1996) que aumenta la posibilidad de detección (Ronda *et al*., 1999) la aplicación de alguna técnica molecular para la confirmación del primer resultado y, si es necesario, el aislamiento sobre smsa sólido e inoculación en plántulas de tomate.

Manejo de la enfermedad. Dadas las diversas maneras de diseminación del patógeno y su capacidad conocida de sobrevivir en los suelos en los desechos de plantas y en asociación con la rizosfera de plantas hospedantes y no-hospedantes y malezas (Hayward, 1991), así como la gran variación ya explicada de las cepas del patógeno, solo una estrategia adecuada de manejo integrado puede significar el éxito en reducir la presencia de la enfermedad o incluso, llegar a eliminarla; por lo antes expuesto, dicha estrategia tiene que ser específica para cada lugar en particular.

La utilización de tubérculos semilla sanos y su siembra en suelos libres de la enfermedad, por supuesto que son los dos factores principales en cualquier esquema de lucha. Sin embargo, existen otros factores que también influyen en la ocurrencia de la enfermedad, como son los factores ambientales (principalmente la temperatura climática, el tipo de suelo y su humedad; Keshwal, 2000; Koga *et al*., 1997; Yuan *et al*., 1997), las rotaciones empleadas con cultivos no hospedantes, la resistencia o susceptibilidad de las variedades y las medidas culturales de saneamiento del cultivo y el control de nematodos.

Para poder iniciar cualquier plan de manejo contra *R. solanacearum*, se hace indispensable contar con un adecuado soporte científico-técnico e incluso legislativo en materia de cuarentena. Esto se traduce en que debe utilizarse solamente semilla certificada como libre, incluso para infecciones latentes, mediante técnicas de alta sensibilidad realizadas en laboratorios acreditados. En los lugares donde aparezca la enfermedad, debe hacerse un estudio de las cepas circulantes incluyendo el tipo de raza presente (1 ó 3), ya que esto es decisivo en la toma de decisiones posteriores, sobre todo por su alcance en el rango de hospedantes del patógeno. El área afectada debe declararse inmediatamente en cuarentena, prohibiendo la producción de semillas de papa así como también la comercialización como consumo, para evitar la propagación a áreas no contaminadas aún a costa de las pérdidas económicas que esto pueda ocasionar.

Los campos donde se detecte contaminación, deben ser cercados si es posible, o por lo menos, impedir al máximo el trasiego de hombres, maquinarias y animales. Si la infección aparece tempranamente en el ciclo vegetativo, es preferible eliminar todas las plantas y desechos, y quemarlos en el mismo campo en un hoyo abierto al efecto. Si es en el momento de la cosecha, se deben eliminar los tubérculos podridos junto con los desechos y quemarlos igualmente. Los tubérculos

aprovechables deben ser consumidos preferiblemente en lugares aledaños con alta densidad de personal (hospitales, fábricas, etc.), para evitar su transportación a áreas libres y bajo la supervisión de los oficiales de cuarentena para que se destruyan también sus desechos.

Todo el personal que labore en campos infectados debe desinfectar su calzado, así como las maquinarias e incluso las patas de los animales usados como tracción con un bactericida adecuado (formol, hipoclorito de sodio o calcio, etc.) antes de salir de estos. En estos campos no deben sembrarse solanáceas ni cultivos hospedantes por un período no menor a dos o tres años. Es de primera necesidad mantener las áreas libres de malas hierbas y plantas voluntarias. En los países cálidos donde abundan los días con sol, es beneficioso mantener en barbecho limpio el terreno por unos tres a seis meses, removiendo el suelo para que el efecto de los rayos solares disminuya el inóculo.

Debe evitarse al máximo el escurrimiento de agua desde los campos contaminados a los aledaños. Es conveniente, además, hacer análisis bacteriológico a las fuentes de abasto para conocer si se han infectado.

Las rotaciones más adecuadas en los campos contaminados son sembrar gramíneas (p.ej., maíz, avena), liliáceas (p.ej., ajo, cebolla), brasicáceas (p.ej., col, acelga, coliflor), leguminosas (p.ej., frijoles) o cucurbitáceas (p.ej., pepino, calabaza, melón), que no son hospedantes de la bacteria y decrecen el inóculo del suelo (Autrique y Potts, 1987; Melo *et al*., 1998; Verma y Shekhawat, 1991; Verma *et al*., 1997). No obstante, para levantar la cuarentena de un campo determinado, debido a las diferencias de supervivencia de las cepas en este sustrato y a la diversidad en la receptividad del mismo, dependiente de sus propias características físicas y químicas (Mateo *et al*., 1982; Michel y Mew, 1998), es necesario previamente efectuar análisis de laboratorio que certifiquen su liberación.

Otra práctica utilizable es sembrar variedades resistentes en las zonas contaminadas, pero esto debe hacerse con suma precaución, ya que se ha comprobado que variedades con cierta resistencia pueden portar de forma latente al patógeno y transmitirlo a su progenie (Mutombo *et al*., 1998). No puede olvidarse que los nematodos constituyen vehículos de la infección, por lo cual si esta plaga también está presente en los campos, se deben tomar medidas adicionales para su control.

El Departamento de Cuarentena Interior del Centro Nacional de Sanidad Vegetal elaboró un programa de erradicación de la enfermedad (DGSV, 1976), al que se fueron incorporando los resultados

investigativos obtenidos en Cuba y la experiencia mundial en el combate contra esta bacteria, adoptando estrictas medidas de aislamiento y tratamiento de los campos contaminados. En 1986 se promulgó un programa de defensa nacional contra la patología (CNSV, 1986) de obligatorio cumplimiento y que aún está vigente, el cual se ha ido perfeccionando, añadiendo las nuevas tecnologías surgidas con el progreso científico (p. ej., desde 1995, toda la semilla nacional de papa y de importación se analiza para infección latente por ifi). El resultado de estas medidas logró que en unos años los brotes se mantuvieran al mínimo y que desde 1988 no haya ocurrido más ningún brote.

2. PUDRICIONES BLANDAS BACTERIANAS

Introducción. Bajo el nombre de causantes de pudriciones blandas, se agrupan numerosas especies de bacterias agrupadas en los géneros *Pseudomonas, Clostridium, Bacillus* y *Erwinia.* Sin embargo, en los tres primeros, las especies son generalmente patógenos secundarios y oportunistas, por lo que solo trataremos las del último, que son las de importancia relevante como patógenos verdaderos del cultivo. Asociadas con la papa hay tres especies de *Erwinia*: *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* (van Hall) Dye (*Eca*), *Erwinia carotovora subsp. carotovora* (Jones) Bergey *et al*. (*Ecc*) *y Erwinia chrysanthemi* Burkholder *et al*. (*Echr*). Estas bacterias se encuentran diseminadas por todo el mundo donde se cultiva este tubérculo y son causantes de pérdidas tanto en el campo como en poscosecha durante el almacenaje. Mientras que *Eca* es un patógeno casi exclusivo de la papa, *Ecc* y *Echr* tienen numerosos hospedantes (CPC, 2001). La ocurrencia de una u otra, como veremos más adelante, está determinada por las condiciones climáticas existentes.

En Cuba, son causa de importantes pérdidas posterior a la cosecha durante la fase de almacenamiento en frigoríficos y comercialización.

Sintomatología. Las *Erwinias* de la pudrición blanda pueden ocasionar diferentes tipos de síntomas, que están condicionados principalmente por factores abióticos prevalecientes. De forma general, si se siembra un tubérculo infectado o se contamina con inóculo del suelo puede podrirse completamente, lo que origina fallas de emergencia, o parcialmente en cuyo caso las bacterias migran a través de los tallos, causando síntomas aéreos y por la parte basal de estos vía el estolón hacia los tubérculos hijos, que pueden también podrirse o infectarse latentemente.

Pudrición de los tubérculos. Generalmente comienza por las lenticelas o partes dañadas por heridas. Inicialmente es de color blanco o crema y

de consistencia acuosa, pero su aspecto cambia posteriormente por la acción de otros microorganismos secundarios, produciéndose un olor fétido fuerte y desagradable (sobre todo a temperaturas de 25ºC o más) y la extensión de la pudrición por todo el tubérculo (Figuras 27 y 28). A veces es notable un oscurecimiento del margen que delimita la zona enferma de la sana. En condiciones secas, no obstante, la pudrición puede estar restringida a pequeñas áreas hundidas de color oscuro.

Figura 27. Tubérculo con lenticelas agrandadas por *E. carotovora*

Figura 28. Tubérculo con pudriciones por *E. carotovora*

***Síntomas aéreos*.** Los síntomas sobre los tallos y hojas también son algo variables, aunque después de la propuesta de Perombelon y Kelman (1987), para unificarlos en un término común se les conoce como "pierna o pata negra" (Figura 29). Sin embargo, los síntomas típicos de pierna negra casi siempre ocurren en climas frescos y húmedos. Está asociado con la pudrición de los tubérculos madres, que progresa hacia los tallos por encima del nivel del suelo, los cuales toman una coloración parda oscura a negra. Cuando se halan con la mano, estos tallos se par-

ten cerca del nivel del suelo y sus extremos son blandos, mucosos y pegajosos con olor fétido. En regiones de clima cálido las hojas se tornan cloróticas y las plantas se marchitan, muriendo rápidamente. Si el tiempo es seco, las hojas amarillean y posteriormente se secan y los tallos pueden sufrir rajaduras.

Figura 29. Pie negro por *E. carotovora*

La parte aérea también puede presentar síntomas, debido no a la infección de los tubérculos madres sino a contaminaciones secundarias por otras vías ya descritas y que generalmente están relacionadas con daños sobre estos. En este caso, la pudrición puede extenderse hacia arriba y hacia abajo del punto de entrada e incluso llegar a los tubérculos o quedarse localizada a zonas de los tallos y follaje, dependiendo igualmente de la humedad y temperatura.

Se ha visto que en muchos casos no existe correlación entre la manifestación de la pudrición en los tubérculos y la aparición de síntomas aéreos y viceversa, ya que los factores desencadenantes de la pierna negra aún no son bien conocidos.

Etiología y ecología. Pueden encontrarse causando pudriciones blandas en papa tres especies: *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* (van Hall) Dye (*Ecar*)*; Erwinia carotovora subsp. carotovora* (Jones) Bergey *et al*. (*Ecc*) *y Erwinia chrysanthemi* Burkholder *et al*. (*Echr*).

La ecología de las *Erwinias* de la pudrición blanda es bastante compleja (Perombelon y Kelman, 1980; Perombelon, 1992) y hay aún mu-

chos aspectos que son desconocidos. *Ecar* está casi restringida a los climas templados, *Ecc* puede encontrarse en estos y también en zonas cálidas mientras que *Echr* predomina en los climas tropicales y subtropicales (Graham y Dowson, 1960; Lindo and French, 1981; Luamb *et al*., 1986; Lund, 1979; Molina y Harrison, 1977; Perombelon, 1985; Serfontein *et al*., 1991).

La expresión de los diferentes tipos de síntomas, así como la incidencia de la enfermedad y cual de las especies de *Erwinia* está involucrada, están relacionadas con la humedad del suelo y la temperatura ambiental reinante (Elphinstone, 1987; French y Lindo, 1979; Graham y Dowson, 1960; Harrison, 1985; Perombelon, 1979). A temperatura de 15ºC o inferiores, aparece *Eca* causando afectaciones en los tubérculos y tallos, por encima y hasta alrededor de los 20ºC, *Eca* sigue siendo el mayor componente de enfermedad pero *Ecc* también puede surgir atacando los tubérculos. Por arriba de 20ºC y por debajo de los 25ºC, *Eca* y *Ecc* son los principales componentes pero *Echr* puede aparecer sobre los tubérculos, mientras que después de los 25ºC solo aparecen *Ecc* y *Echr* tanto en tubérculos como en tallos.

Por otra parte, la humedad del suelo combinada con la temperatura ambiental hacen que se expresen determinados síntomas. La humedad es un factor esencial para que se desarrolle la pudrición, ya que la película de agua que recubre los tubérculos provee un ambiente anaeróbico donde estas bacterias se multiplican rápidamente y además mantienen abiertas las lenticelas por donde pueden penetrar. En los suelos húmedos cuando hay altas temperaturas, se desarrolla más rápidamente la pudrición de los tubérculos, ocurriendo fallas en la emergencia de las plantas. Si inicialmente las temperaturas son más bajas que la adecuada para el patógeno, los brotes emergen y se manifiestan pudriciones en los tallos (pierna negra). Si la humedad del suelo se mantiene después de la emergencia, predominará la pierna negra tanto en frío como en calor, mientras que si los suelos están secos son más relevantes las fallas a alta temperatura y secamiento de las plantas a bajas temperaturas. Por el contrario en los suelos secos, independientemente de las temperaturas, las plantas provenientes de tubérculos infectados emergen sin síntomas aparentes, manteniéndose si el suelo continúa seco, pero que desarrollan pierna negra si aumenta la humedad en este. Otro elemento importante en la incidencia de la enfermedad, es el nivel de inóculo en los tubérculos para que se produzca pudrición, para lo cual se ha esta-

blecido el umbral en 10^3 células bacterianas/tubérculo (Aleck y Harrison, 1978; Maas Geesteranus y Vruggink, 1976; Bain *et al*., 1990).

La vía principal de la diseminación de la enfermedad hacia áreas libres, son los tubérculos para semillas aparentemente sanos, pero portadores de las bacterias en forma latente sobre su superficie, en las lenticelas, en daños ya suberizados e incluso en el sistema vascular (Gotz *et al*., 1984; Harju y Kankila, 1993; Hélias *et al*., 2000; Naumann y Zielke, 1977; Nielsen, 1978; Piplani *et al*., 1983; Tsror *et al*., 1996). Estos tubérculos al ser sembrados generalmente se pudren, liberando gran cantidad de bacterias que se trasladan en el agua del suelo y contaminando a los demás (Perombelon, 1974).

Al parecer (aunque existen datos contrarios), las *Erwinias* de la pudrición blanda no tienen mucha capacidad de sobrevivencia en los suelos *per se*, pero sí se ha demostrado su supervivencia en los residuos de cosecha (sobre todo en climas templados), aunque sus poblaciones disminuyen rápidamente cuando se aplican rotaciones con cultivos no hospedantes. Otros nichos de mantenimiento del inóculo son las plantas espontáneas de papa y la rizosfera de malezas y otros cultivos, donde pueden mantenerse de una temporada a otra (Burr y Schroth, 1977; Crownhurst y Wright, 1988; McCarter-Zorner *et al*., 1985; Meneley y Stanghellini, 1976; Perombelon y Hyman, 1989; Powelson y Apple, 1984).

Las bacterias también pueden llegar a los campos a través del agua de irrigación. Se han aislado de fuentes naturales como parte de su microbiota e incluso hay informes de hasta del agua de mar (Cappaert *et al*, 1988; Cother *et al*., 1992; Franc *et al*., 1985 a y b; McCarter-Zorner *et al*., 1984; Quinn, 1985). También se ha comprobado que los insectos pueden trasladar la infección, sobre todo si en lugares cercanos hay residuos de papas o vegetales podridos (Brewer *et al*., 1980; Graham *et al*., 1976; Kloepper *et al*., 1979). Hay informes de que algunos animales al alimentarse de papas contaminadas llevan las bacterias en su tracto digestivo y al defecar pasan la infección al suelo (Cother y Gilbert, 1990).

Otras formas de propagación dentro de los campos son la lluvia, que salpica de plantas contaminadas a otras adyacentes y los aerosoles bacterianos, que se producen mayormente durante las labores culturales y son transportados por el viento (Graham y Harrison, 1975; Graham y Lloyd, 1978; Graham *et al*., 1979; Perombelon *et al*., 1979, Quinn *et al*., 1980). Todo tipo de daño a los tubérculos o a las plantas, ya bien sea por las labores de campo o poscosecha o en el beneficio, o causado por

insectos, nematodos u otros animales e incluso por otros microorganismos, facilita la entrada de las bacterias y, por tanto, aumenta su incidencia (Davis *et al*., 1985; Elphinstone y Perombelon, 1986; Henriksen, 1976; Wastie *et al*., 1994 a y b).

Cuando los tubérculos son almacenados húmedos o en condiciones de alta humedad relativa o ventilación deficiente que produzca condensación de agua sobre su superficie, tienden a podrirse, liberando bacterias que contaminan a los cercanos y a los sacos inferiores (Forsund, 1985; Maher y Kelman, 1985; Perombelon *et al*., 1979).

Está demostrado que la capacidad de pudrición de estas bacterias está relacionada con la producción de varias enzimas pectinasas y celulasas, que son capaces de degradar los tejidos parenquimatosos del hospedante. Se conocen varios de los genes que codifican para estas enzimas y su relación con la patogenicidad y virulencia (Haseloff *et al*., 1998; Herron *et al*., 2000; Mukherjee *et al*., 2000; Nachin y Barras, 2000; Nasser *et al*., 1997; Nasser *et al*., 1999; Rouanet *et al*., 1999; Roy e*t al*.; 1999; Shevchik y Hugouvieux-Cotte-Pattat, 1997; Shih *et al*., 1999; Tardy *et al*., 1997; Vidal *et al*., 1998).

Diagnóstico. A partir de tubérculos o plantas con síntomas, el aislamiento de estos patógenos normalmente es fácil en los medios de cultivo tradicionales de laboratorio (i.e. agar nutriente), ya que son de crecimiento rápido y sobre las 48 horas ya se tienen colonias con tamaño suficiente para ser transferidas. La diferenciación de la *Erwinia* involucrada requiere de verificar su comportamiento ante diferentes pruebas bioquímicas, que también son generalmente de rutina.

Para diagnosticar la infección latente en tubérculos o su presencia en agua, suelo o en la rizosfera de las plantas, se necesitan medios de cultivo más elaborados, que permitan su identificación y excluyan a la vez, la mayoría del resto de la microbiota contaminante. Para estos fines se han propuesto por diversos investigadores varios medios, pero el más empleado por sus mejores resultados ha sido el CVP (Cuppels y Kelman, 1974) o modificaciones de este original (Perombelon y Burnett, 1991; Woodward y Robinson, 1990).

También y sobre todo para la cuantificación de las poblaciones de estos patógenos en tubérculos semillas, se han empleado las técnicas serológicas como IFI y ELISA, tanto con sueros policlonales como monoclonales y el PCR, que ha permitido la detección de bajas poblaciones en los diferentes nichos, prefiriéndose en la actualidad la combi-

nación de estos métodos (Allan y Kelman, 1977; Bang, 1989; Calzadilla, 1997; De Boer y Ward, 1995; Fraaije *et al*., 1997; Frechon *et al*., 1998; Hélias *et al*., 1998; Hyman *et al*., 1997; Hyman *et al*., 2000; Schober y van Vuurde, 1997; Singh y Trevors, 1999; Singh *et al*., 2000; Sledz *et al*., 1999; Zolobowska y Pospieszny, 1999).

Resistencia de las variedades de papa. Morales y Suárez (1989) estudiaron la susceptibilidad de diferentes variedades a *Ecc* en laboratorio. Las variedades más resistentes resultaron Bertina, Frisia, Claudia y Desiree, mientras que las más susceptibles resultaron Red Pontiac y Pepita.

Manejo de la enfermedad. La lucha contra esta patología se hace un tanto difícil, debido a la amplia diseminación que tienen estos patógenos, sobre todo *Ecc* y *Echr*; a su gran rango de hospedantes; la existencia de infecciones latentes en los tubérculos, que permite su introducción en áreas libres si no se poseen métodos refinados y sensibles de diagnóstico; las diferentes vías en que pueden trasladarse las bacterias de un lugar a otro, contaminando los campos aunque se haya partido de semillas completamente sanas y que aún no se cuenta con cultivares con niveles adecuados de resistencia.

No obstante, se pueden tomar una serie de medidas para su prevención o la disminución de su afectación si ya han aparecido brotes. Entre las más importantes están:

- el uso exclusivo de semilla sana y una buena calidad en la certificación de los campos destinados a semillas, que impida que los de alta afectación sean utilizados para estos fines;
- en los campos en que aparezca la enfermedad, se deben realizar selecciones negativas para eliminar tanto las plantas como tubérculos enfermos y reducir las fuentes de contaminación;
- siempre que sea posible, emplear rotaciones con cultivos no hospedantes;
- debe controlarse el drenaje y la cantidad de agua suministrada con el riego de los suelos, ya que la humedad alta es uno de los factores críticos en el desarrollo de la enfermedad;
- una de las fuentes probables de infección puede ser el agua superficial empleada en la irrigación, por lo que de comprobarse esto, utilizar agua de pozos profundos.
- si hay posibilidad, es más aconsejable en el momento de la cosecha destruir el follaje por medios químicos, para evitar los aerosoles

bacterianos que se trasladan de un lugar a otro cuando esto se hace de forma mecánica;

- ❖ tanto en las labores culturales de cosecha y poscosecha, hay que minimizar los daños de los tubérculos;
- ❖ durante el almacenamiento, los tubérculos deben mantenerse secos, empleando ventilación forzada y evitando los cambios de temperatura para que no se condense agua sobre los mismos;
- ❖ debe haber además un buen control de las malezas y las plantas espontáneas y desinfectar los almacenes, maquinarias y envases que hayan estado en contacto con tubérculos podridos.

3. SARNA COMÚN POR *Streptomyces* spp

Introducción. Las bacterias del grupo de los "estreptomicetos" están consideradas como organismos omnipresentes y no existen dudas de que su hábitat natural es el suelo donde tienen condiciones favorables para su desarrollo, porque son capaces de degradar moléculas complejas de polisacáridos y proteínas, como las que se encuentran en los residuos de plantas y animales, no necesitan de requerimientos nutricionales especiales como factores de crecimiento y vitaminas, y su biología reproductiva formando micelio y esporas le permiten adaptarse a las condiciones cambiantes de este hábitat y sobrevivir por largos períodos en condiciones desfavorables (Korn-Wendish y Kutzner, 1992). Las especies de *Streptomyces* que causan la sarna común de la papa encuentran, por tanto, se diseminadas por todo el mundo, reduciendo el comercio de papas tanto de consumo como de procesamiento industrial y de semillas, siendo considerada en 1991 (Loria *et al*., 1997) como la cuarta enfermedad más importante del cultivo en una encuesta realizada a los productores.

En Cuba, en los últimos años, la enfermedad ha estado presente dañando la calidad de la semilla nacional y de las papas de consumo. La incidencia de los últimos años ha sido atribuida a un aumento del pH de los suelos, debido al incremento del riego con aguas subterráneas y la falta de su uniformidad a la falta de fertilizantes de reacción ácida y a la disminución de los ciclos de rotación.

Síntomas. La sarna común solo afecta los tubérculos. Los síntomas pueden variar bastante en dependencia de la susceptibilidad de la variedad y de la población del patógeno involucrado. Así pueden haber lesiones superficiales, hendidas y levantadas que pueden ser confundidas con las producidas por hongos (*Spongospora subterranea*), nemátodos

(*Meloidogyne spp.*) o virosis (*Potato mop top*). Las lesiones más típicas de la sarna común comienzan en forma de pequeñas manchas carmelitas (alrededor de 1 mm de diámetro) asociadas con las lenticelas y que se van agrandando a medida que el tubérculo crece (Figura 30).

Figura 30. Sarna común por *Streptomyces scabies*

Estas manchas se transforman en pústulas como cráteres superficiales de forma estrellada con diámetros entre 0.5-1.5 cm que son el resultado de la infección de las células epidérmicas y del tejido superficial subyacente, así como la formación de una capa de corcho como barrera, en respuesta de la planta para detener la infección. Con el crecimiento del tubérculo, la capa de corcho se rompe, infectándose nuevos tejidos y formándose nuevas capas de corcho. Esta situación se repite varias veces y es la que provoca el patrón estrellado de las pústulas. Si se cosechan tubérculos con el suelo húmedo, puede verse en ocasiones las lesiones cubiertas por una capa blanca-grisácea de esporas del patógeno, que desaparecen a medida que se seca la superficie.

Por el contrario, la sarna en forma de malla afecta todos los órganos subterráneos de las plantas. Las lesiones iniciales son carmelitas y se forman sobre la base de los tallos y sobre los estolones, mientras que en las raíces se produce una pudrición del mismo color. El sistema radical con infección severa provoca una reducción del vigor de la planta y, como consecuencia, hay un menor número de tubérculos por planta. Los tubérculos jóvenes afectados muestran lesiones oscuras, que pueden cubrir toda la superficie o ser localizadas aunque restringidas a la superficie del tubérculo. A medida que este crece, las lesiones toman la forma característica de malla y a veces los tubérculos muestran rajaduras.

Etiología. El patógeno comúnmente asociado con esta enfermedad es el actinomiceto *Streptomyces scabiei* (ex Thaxter) Lambert y Loria (1989a), pero a finales del siglo pasado estudios taxonómicos con el apoyo de la biología molecular revelaron que otras especies de *Streptomyces* podían estar involucradas. Se ha encontrado que además de *S. scabiei*, pueden producir la sarna común *S. europaeiscabiei* y *S. stelliscabiei*, mientras que *S. reticuliscabei* está mayormente asociado con la sarna de malla (Bouchek-Mechiche *et al*., 2000), y *S. caviscabies* (Goyer *et al*., 1996) con las hendiduras profundas.

En Japón y en Finlandia se ha informado también otra especie, *S. turgidiscabies*, causando la sarna (Miyajima *et al*., 1998). En Estados Unidos se presentó *S. acidiscabies*, afectando la papa en suelos con bajo pH (Lambert y Loria, 1989b). Como la especie predominante es *S. scabiei* y además es la más estudiada, la información siguiente es referida a esta a menos que se especifique lo contrario.

Diagnóstico. No se han encontrado métodos directos de detección, posiblemente debido a que el patógeno está presente en la mayoría de los suelos y a que los síntomas son muy evidentes sobre los tubérculos. Existe metodología para detectar la producción de taxtomina A (que es un factor muy relacionado con el poder patogénico) a partir de cepas aisladas (Loria *et al*., 1995), pero esta prueba debe evaluarse con cuidado ya que otros estreptomicetos son capaces de producir esta toxina. Mediante la utilización de pruebas bioquímicas y fisiológicas es posible separar *S, scabiei* de otros estreptomicetos (Lambert y Loria, 1989a), al igual que utilizando hibridación del ADN y perfiles de proteínas y ácidos grasos (Healy y Lambert, 1991; Paradis *et al*. 1994), aunque las cepas del patógeno muestran una gran diversidad.

Epidemiología y ciclo biológico. La sarna común afecta la piel de los tubérculos en crecimiento. Aunque se ha encontrado que no disminuye la cantidad de las cosechas, la apariencia desagradable externa de los tubérculos los hace poco aceptados en el mercado y en muchos países está sujeta a legislaciones que limitan su presencia en los tubérculos semillas. Los síntomas varían dependiendo de la variedad de papa y su susceptibilidad y la población presente del patógeno, pero de forma general se pueden agrupar en sarna superficial en forma de pústulas levantadas, sarna en forma de pústulas hendidas y sarna en forma de malla. Existen datos de que los tubérculos enfermos no son reservorio de inóculo para la progenie. Así Adams y Hilde (1981), aunque sembraron tubérculos con sarna severa, solo obtuvieron tubérculos hijos con

síntomas ligeros, concluyendo que no existía correlación entre la severidad de la infección de las semillas y la progenie, y que la enfermedad no disminuía los rendimientos significativamente. Sin embargo, en estudios posteriores que duraron tres años, Fischl (1990) encontró que el patógeno podía afectar el desarrollo inicial de las plantas y la progenie podía presentar niveles de infección entre 20-25 %, pero que esto estaba más relacionado con el inóculo del patógeno presente en el suelo. Investigaciones posteriores (Pavlista, 1996) han concluido que el patógeno es un habitante autóctono del suelo, aún en los no cultivados y que los tubérculos se infectan por esta vía y no por usar tubérculos semillas contaminados. Sin embargo, estudios en Japón (Goto, 1992) refutan esta idea, ya que al sembrar tubérculos contaminados en suelos desinfectados se correlacionó la severidad de la infección inicial con la obtenida en la progenie.

Los síntomas producidos por *S. scabiei* están relacionados con la producción de fitotoxinas (King *et al*., 1991; Lawrence *et al*., 1990; Slabbert *et al*.,1994), denominadas taxtomina A y B, aunque este no es el único factor que induce el desarrollo de síntomas, ya que se han encontrado cepas (Natsume *et al*., 1996) capaces de provocar enfermedad sin producir toxina. Por otra parte, se logró insertar un fragmento genómico de *S. scabiei* en otro *Streptomyces* no patogénico confiriéndole la facultad de provocar síntomas, sin que hubiera producción de toxina por el microorganismo modificado (Burkhalid & Loria, 1997), pero encontrándose un compuesto extracelular no identificado soluble en agua capaz de necrotizar los tejidos de la papa. Análisis posteriores del fragmento genómico indicaron que este se trataba de un elemento de transposición ligado físicamente a los genes en *Streptomyces* y que podía haber sido movilizado en *S. scabiei* desde otro género no determinado todavía.

El patógeno penetra en los tubérculos a través de las lenticelas o heridas. Durante los primeros estadios de la tuberización se comienzan a formar las lenticelas, siendo en este momento muy susceptibles a la infección, volviéndose resistentes aproximadamente una semana después de su formación, por lo que es imprescindible la presencia del patógeno en etapas tempranas del cultivo para una colonización efectiva de los tubérculos. La principal vía del micelio es intercelular a través de la lamela media. Solamente en las partes viejas periféricas de las lesiones se puede observar micelio intracelular con esporulación abundante. Un elemento importantísimo para que se produzca infección, es

la humedad del suelo al comienzo de la tuberización. Cuando el suelo está seco las lenticelas son contaminadas fácilmente, mientras que en condiciones húmedas es muy poco probable que haya ninguna infección. Otro factor contribuyente a la penetración y el establecimiento del patógeno en los tubérculos es el pH del suelo. Se ha comprobado que altos pH sobre todo en suelos arenosos incrementan el riesgo de infección. El patógeno no solo puede afectar la papa sino también la remolacha, el rábano, la zanahoria y la chirivía. Además, se ha visto que la población aumenta notablemente con el cultivo de pastos y cereales (Turkensteen, 1996). Las temperaturas del suelo entre 13-25ºC favorecen el desarrollo de la enfermedad y la mayoría de las lesiones se producen a 20ºC (Lapwood, 1978).

El causante de la sarna en malla, *S. reticuliscabei*, tiene un comportamiento diferente, ya que no solo afecta los tubérculos sino todas las partes de las plantas de papa que están por debajo del suelo y las infecciones severas pueden producir pérdidas considerables de las cosechas y disminución de la calidad. Contrariamente a la sarna común, su incidencia se ve favorecida por el alto contenido de humedad del suelo y, por tanto, por el riego. Se encuentra en los suelos arenosos con bajo pH y en los arcillosos con altos valores de pH (Scholte, 1996). La infección ocurre cuando los tubérculos sembrados comienzan a brotar y se forman las raíces aún antes del inicio de formación del tubérculo. La infección severa de las raíces no está correlacionada con infecciones severas en los tubérculos progenie, ya que esto depende de las condiciones abióticas y además estos órganos no tienen desarrollo sincrónico.

Resistencia de las variedades. Prácticamente en todos los países productores existen programas de mejoramiento de variedades, que contemplan la resistencia contra la sarna y aunque ya se han obtenido variedades con aceptable tolerancia, no existen cultivares totalmente resistentes, debido a que aún no se han dilucidado con precisión los mecanismos que rigen este proceso (Goth *et al*., 1993; Loria *et al*., 1997; McKee, 1958).

Manejo de la enfermedad. Como se ha explicado, la sarna común ocurre mayormente en suelos arenosos con buen drenaje, con reacción alcalina a neutra y en condiciones de sequía (Adams y Lapwood, 1978), por lo que entre las prácticas culturales más utilizadas están un manejo adecuado y uniforme del riego, sobre todo al comienzo de la tuberización y el aumento de la acidez del suelo por ejemplo con el uso de compuestos de azufre, abonos verdes. El empleo de rotaciones con pastos y

gramíneas no es aconsejable, ya que el patógeno puede vivir en las raíces de muchas de ellas (Lapwood, 1978). La sarna de malla tiene un comportamiento contrario y, por tanto, se deben alcalinizar los suelos arenosos y acidificar los arcillosos, y mantenerlos relativamente secos. Para ambos casos, cuando la incidencia es considerable, lo más idóneo es el empleo de variedades resistentes y, por supuesto, el empleo de semilla sana para no aumentar el inóculo del suelo.

ENFERMEDADES FUNGOSAS Y BACTERIANAS SOMETIDAS A REGULACIONES CUARENTENARIAS

1. SARNA PULVERULENTA. *Spongospora subterranea* (Wallr.) *Lagerh. f.sp subterranea* Tomlinson

Introducción. La sarna pulverulenta es una de las enfermedades más importantes del cultivo en muchas áreas del mundo, siendo su importancia relacionada a prácticas deficientes culturales, como son la falta de una adecuada rotación y a condiciones ambientales frescas (Beukema *et al*., 2000). Ha sido informada en Cuba, pero los informes se refieren invariablemente a la presencia en la semilla importada y se considera, de forma general, que la enfermedad tiene pocas posibilidades de desarrollo en las condiciones de clima y suelos de Cuba.

Las pérdidas económicas no son usualmente significativas, cuando las papas se comercializan inmediatamente sin lavar, porque los tubérculos son afectados solo superficialmente cuando son frecuentemente pelados.

En las dos últimas décadas del siglo XX, las técnicas de comercialización en muchos países contemplan el lavado de los tubérculos y su comercialización en envolturas plásticas transparentes, donde las papas con sarna son inaceptables. Los rendimientos pueden ser reducidos cuando se desarrollan agallas. En las papas de semillas generalmente no se permiten o se establecen niveles de tolerancia leves (Harrison *et al*., 1997).

Síntomas. La infección de tubérculos en las lenticelas, heridas y con menor frecuencia los ojos, se presenta en forma de pústulas de color pardo de 0,5-2 mm de diámetro, que se extiende por debajo del peridermo, formando lesiones levantadas en forma de granitos. El aumento de tamaño y división de las células parasitadas empuja y rompe el peridermo, formando proyecciones de color blanco con apariencia de verrugas.

Por debajo de la lesión se forma tejido de cicatrización, que se oscurece poco a poco y se deteriora dejando una depresión superficial llena de una masa polvorienta de esporas o quistosoro. La lesión está usualmente rodeada por los bordes levantados del peridermo desgarrado. Cuando hay mucha humedad en el suelo, no se forma peridermo de cicatrización y la lesión se expande tanto en profundidad como en extensión formando cavidades o verrugas grandes.

Durante el almacenaje puede derivar en pudrición seca o dar lugar a la formación de un mayor número de pústulas o úlceras. Cuando el tejido infectado no emerge a través del peridermo, la infección y necrosis se extienden lateralmente.

La infección de raíces o estolones es similar a la que presentan los tubérculos, con pequeñas manchas necróticas que se transforman en verrugas de color blanco lechoso de 1-10 mm. Las agallas que se forman en las raíces pueden ser tan graves como para producir la marchitez y muerte de la planta. Superficialmente se parecen a los causados por *Synchitrium endobioticum*, con la diferencia de que este último no ataca las raíces. Según maduran se van poniendo de color castaño oscuro y gradualmente se desintegran liberando hacia el suelo masas pulverulentas de esporas.

Etiología. *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh. fue el nombre dado en 1891 al patógeno (Von Lagerheim, 1891). La enfermedad fue por primera vez descrita en Alemania en 1841. El patógeno pertenece al orden Plasmodiophorales del reino Protozoa. Hasta recientemente, se consideraba un hongo y por conveniencia es aún agrupada con los hongos en la mayoría de los tratados. Hay dos subespecies diferentes *S. subterranea*, que se diferencian sobre la base del rango de hospedantes pero no de su morfología. *S. subterranea f.sp. nasturtii* Tomlinson infecta el berro pero no la papa y el tomate. Esta f.sp. fue nombrada cuando Towlinson describió el patógeno causante de la enfermedad del berro, una proposición que automáticamente cambió el nombre del patógeno de la papa y el tomate de *S. subterranea* a *S. subterranea f.sp. subterranea* Tomlinson. *S. spongospora f.sp. subterranea* puede, además de a la papa y el tomate, afectar a otros hospedantes pero no al berro (Tomlinson, 1958; Harrison *et al*., 1997).

Las quistosomas o masas de esporas son ovoides, irregulares o alargadas de 19 a 85 µ de diámetro constituidas por un conglomerado de esporas o quistes de descanso fuertemente unidas entre sí (Hooker, 1980). La espora individualmente es poliédrica de 3,5-4.5 µm de diámetro de

pared lisa, delgada, castaño amarillenta. Las zoosporas primarias y secundarias son uninucleadas de forma ovoide a esférica de 2,5-5,6 µm de diámetro con dos flagelos de tamaño desigual (13.7 y 4.5 µm).

El diagnóstico en suelo y plantas puede ser además realizado por ELISA (Merz *et al*., 1997) y en tubérculos y suelo por PCR (Bell *et al*., 1999).

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. Las masas de esporas se conservan en el suelo. Estimuladas por la presencia de raíces de plantas susceptibles, germinan produciendo zoosporas primarias, las cuales ingresan a las células epidérmicas de las raíces, estolones o pelos radicales donde producen masas multinucleadas (plasmodio esporangial), que originan zoosporas secundarias que diseminan la infección a raíces y tubérculos. Las células del hospedante estimuladas por la invasión de zoosporas secundarias, se agrandan y multiplican formándose así las agallas. Dentro de las agallas se forman finalmente las masas de esporas de descanso (Lawrence y McKenzie, 1981; Harrison *et al*., 1997).

El inóculo se disemina por el viento y por tubérculos portadores de esporas de descanso. La infección temprana de los tubérculos y raíces es favorecida por la presencia de humedad y temperatura baja en el suelo y las infecciones tardías por una gradual pérdida de humedad. Los quistes persisten por más de seis años. El tiempo que transcurre desde la infección de las raíces hasta formación de agallas es de tres semanas en temperaturas de 16-20 ºC. Se presenta en suelos con pH entre 4,7 y 7,6. Las esporas sobreviven pasar por el tracto intestinal de los animales (Hooker, 1980; Harrison *et al*., 1997).

S. subterranea es vector del *Potato Mop Top Virus*, por lo que su control puede concomitantemente reducir la infección del virus.

Rango de hospedantes. *Spongospora subterranea* es un parásito obligado. Se divide en dos formas especialis: f.sp. *subterranea*, la cual afecta papa y tomate y f.sp. *nasturtii*, que afecta solamente el berro silvestre.

El hospedante principal de S. *tuberosum f. sp. tuberosum* es la papa. El hongo infecta y completa su ciclo de vida sobre diversas especies tuberíferas de *Solanum* y sobre raíces de las no tuberíferas *S. nigrum y N. rustica.*

El tomate es raramente afectado porque el patógeno que es de temperaturas frescas no se adapta bien a las temperaturas más cálidas donde generalmente crecen los tomates (USDA, 1960; Karling, 1968). Otras solanáceas hospedantes son *Solanum nigrum, Capsicum annum* y *Nicotiana rustica* (Lawrence y McKenzie, 1981).

Entre las especies hospedantes del género *Solanum* (papas) están *S. tuberosum subsp. tuberosum y S. tuberosum subsp. andigena* (tetraploides), S. *phureja* (variedades andinas de papa), algunas especies de papas amargas y algunas especies silvestres de *Solanum* como son: *S. ajanhuiri, S. ciliatum, S. chacoense, S. commersonii, S. haematoclodum, S. lycopersicum var. cerasiforne, S. marginatum, S. mammosum, S. phureja* (papas diploides), *S. racemosum, S. sisymbrifolium, S. stenotomun* (papas diploides*), S. tilcarense, S. villosum, S.* x *ajanhuiri* (papa amarga diploide, *S. x curtilobum* (*pentaploid bitter potato*), *S. x juzepczukii* (*triploid bitter potato*) y *S. warcewicyzii* (Franco, 1994).

Medidas de manejo. Se recomiendan las siguientes medidas de control (Lawrence y MacKenzie, 1981; Aguilera *et al*., 1992; Harrison *et al*., 1997):

a) Uso de variedades resistentes (aunque no se conocen inmunes)
b) Rotación de 3-10 años en función de clima y suelo.
c) Uso de semilla libre
d) Siembra en suelos porosos bien drenados, evitando terrenos contaminados. Evitar el sobrehumedecimieto de los suelos, que favorece la enfermedad en la etapa de desarrollo de los tubérculos
e) No utilizar estiércol de animales alimentados con tubérculos infectados

2. CÁNCER DE LA PAPA POR *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc

Introducción. Esta es una enfermedad de climas fríos originaria de los Andes en Sur América, de donde fue introducida a Europa en 1880. Fue primeramente identificada en Holanda en 1915 (Turkensteen, 1996) y requiere de condiciones apropiadas de humedad en el suelo para su desarrollo. La enfermedad es tan importante, que ha sido sujeta a la legislación cuarentenaria en la mayoría de los países. Es objeto de inspección y peritaje a la llegada de los tubérculos de semilla a Cuba antes de su desembarque en los puertos.

Síntomas. Se observa la aparición de tumores verrucosos que varían en tamaño en hojas, tallos estolones y tubérculos (Figura 31), aunque de hecho, solo las estructuras caulinares u órganos similares a los tallos desarrollan las agallas mientras que las raíces no son afectadas. Las agallas o verrugas pueden medir de unos pocos hasta 10 mm; son de color verde a pardo claro, volviéndose negros en la madurez y después se deterioran. Ocasionalmente se forman agallas en la parte superior del tallo, hojas o flores. Las agallas subterráneas se forman en la base

del tallo, el extremo del estolón y los ojos de los tubérculos. Los tubérculos afectados pueden llegar a deformarse completamente o ser reemplazados íntegramente por agallas. Las agallas subterráneas son de color blanco a castaño pero se vuelven negras a medida que se van deteriorando.

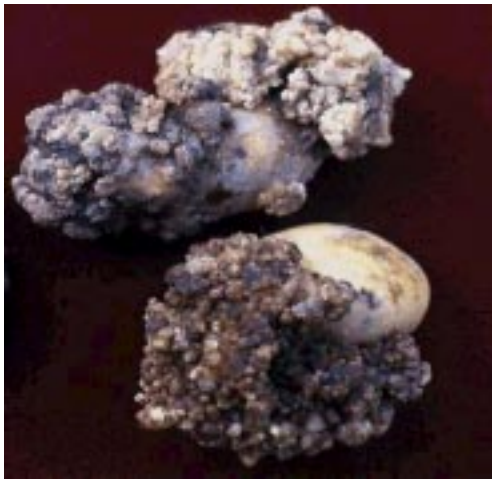


Figura 31. Cáncer de la papa por *Synchytrium endobioticum*

Eventualmente las agallas del cáncer pueden confundirse con las producidas por *Spongospora subterranea*, pero el primero no afecta las raíces.

Etiología. El agente causal es *Synchytrium endobioticum (*Schilb.) Perc. (sinónimo *Chrysophlyctis endobiotica* Schilberszky; *Synchytrium solani* Massee), el cual se encuentra en el grupo I de la Lista Oficial de Organismos cuarentenados de Cuba (Jordán 1996).

Es un hongo que no produce hifas. Según Walker (1983), los prosoros o esporas de verano se desarrollan a partir de las esporas que penetran la superficie de las plantas, de 1-4 en las células epidérmicas, aseptadas, ligeramente pardo doradas, de paredes gruesas, lisas, esféricas u ovoides de 40-50 µm de diámetro y que descansan en la célula infectada vacía. El contenido se vacía a través de un poro de la pared exterior del prosoro para formar un soro de esporangios 47-100 x 72-81 µm de diámetro.

Los esporangios (o gametangios) rodeados de la pared del hospedante forman una roseta, son de 1-9 por soro haploide (algunas veces hay un solo esporangio presente), de color castaño dorado de paredes delgadas, lisas, de 25-38 x 62 -87 µm de diámetro, de forma polihédrica,

redondeados o de forma casi esférica y germinan, dando lugar a esporas que funcionan como zoosporas o gametos.

Las zoosporas son esféricas a alongados 1.5-3.0 µm de diámetro, son de forma de pera y se movilizan por medio de un flagelo posterior simple que posteriormente pierden; cuando funcionan como gameto se fusionan, para formar zigotes biflagelados, que infectan el hospedante y forman las esporas de descanso.

Las esporas de descanso o invernales están localizadas muy profundamente en los tejidos, debido a la división repetida de la célula infectada, las cuales llenan casi completamente, son aseptadas, de forma ovoide o esféricas, de color canela dorado de paredes muy gruesas y miden de 35-80 µm de diámetro con la pared gruesa muy acanalada, a menudo con tres canales laterales confluentes (Figura 32) y funcionan como esporangios dando lugar directamente a zoosporas. Existen razas fisiológicas del patógeno (Langerfeld, 1984b).

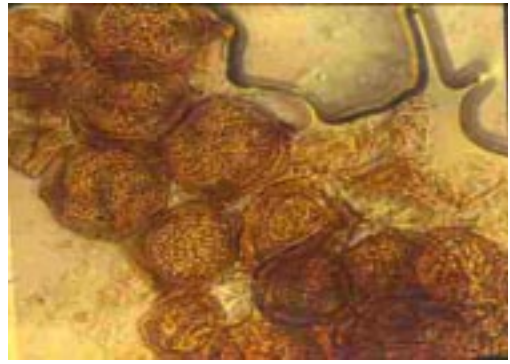


Figura 32. Quistes de *S. Endobioticum* (preparaciones del Laboratorio Central de Cuarentena)

Existe un número de métodos de rutina para determinar la presencia de esporangios de invierno viables en suelo. Para completar la información debe revisarse Mygind (1954), Nelson y Olsen (1964), Pratt (1976) (*a wet-sieving and flotation technique*), OEPP/EPPO (1977), Efremenko y Yakovleva (1983), Laidlaw (1985).

Otros hospedantes. La papa es el hospedante principal, aunque *Synchitrium endobioticum* ha sido transferido a otras solanáceas, en las que las hojas y raíces han sido atacadas. Ciertas variedades de tomate son susceptibles. No obstante, se considera que aparte de la papa no tienen importancia otras especies vegetales.

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. Cuando las condiciones para la infección son desfavorables, el hongo sobrevive en el suelo en forma de esporangios de descanso, donde puede sobrevivir hasta 38 años (Turkensteen, 1996). La diseminación del inóculo en el campo puede realizarse por medio de tubérculos infectados, implementos agrícolas, etc. Los esporangios de descanso germinan irregularmente dando lugar en presencia de agua libre, a zoosporas que producen la infección inicial. A partir de esta se forman esporangios de verano o prosoros, que tienen la forma de sacos membranosos, dentro de los cuales se forman zoosporas mótiles. El período de vida es de aproximadamente dos horas antes de enquistarse sobre tejido susceptible y de su penetración a través de la célula epidérmica. Después de haberse desarrollado, pueden ser liberados del tejido infectado y pueden reinfectar tejido meristemático secundario en un ciclo secundario o pueden conjugarse, formándose de esta manera un zigote que se localiza en células más profundas por la activa división de las células hospedantes, dando lugar a esporangios de invierno o descanso. Los esporangios de descanso son liberados de las agallas o verrugas por desintegración del tejido afectado.

El hongo tiene mayor actividad durante la producción de tejido susceptible en la etapa de crecimiento de los brotes, estolones, yemas y ojos. Los esporangios de descanso requieren agua para su germinación y distribución de las zoosporas. El desarrollo de la enfermedad se restringe en veranos con temperaturas inferiores a 5ºC. El pH del suelo no tiene importancia, ya que se ha observado en pH entre 3,5 y 9,5. La infección es favorecida a temperaturas entre 12 y 24ºC.

Control. Se ha desarrollado una campaña mundial contra la diseminación de la enfermedad por medio de medidas legislativas de cuarentena. Hay variedades resistentes en Europa y América del Norte. No existe control químico.

3. PUNTEADO NEGRO. *Colletotrichum atramentarium* (Berk. et Br.) Taub

Síntomas. El nombre de la enfermedad proviene de la presencia de grandes cantidades de esclerocios sobre tubérculos, estolones, raíces y tallos aéreos y subterráneos. Los sintomas son diversos; la parte aérea de la planta presenta amarillamiento del follaje y marchitez, mientras que en la parte subterránea se produce pudrición de las raíces, tallos y estolones. Los síntomas en el follaje se presentan inicialmente en el ápice de la planta, y luego en la parte media y basal sucesivamente. El

amarillamiento del follaje y la marchitez se pueden confundir con los síntomas de *Verticillium spp y Fusarium spp.* La infección de los órganos subterráneos se parecen a las de *Rhizoctonia*. La invasión del tejido cortical causa desprendimiento del peridermo, de tal manera que cuando se extrae una planta afectada del suelo las raíces tienen apariencia de fibras, debido al descortezamiento. A medida que el tallo se seca, el tejido cortical se desprende y se forman numerosos esclerocios interna y externamente.La pudrición severa de la planta puede causar una reducción en el tamaño de los tubérculos. El ataque a los estolones se realiza en cualquier momento del desarrollo de los tubérculos, a una distancia que varía entre 15-45 mm de estos. En la parte superior de los tubérculos se forman esclerocios y áreas plomizas que reflejan que se asemejan a las producidas por la costra plateada.

Otros hospedantes. Ataca además de la papa, el tomate, ají, berenjena, *Physalis peruviana y Datura stramonium.*

Etiología. *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) (sin. *Colletotrichum atramentarium (*Berk and Br) Taub*)* se desarrolla sobre una variedad de medios incluyendo PDA, donde forma un micelio blanco superficial con esclerocios negros, globosos separados o confluentes, de 100 µ-0,5 mm en anillos concéntricos (Sutton, 1980). Forma además acérvulos con esporas y setas. Las setas varían ente 80 y 350 µ, son septadas con el extremo puntiagudo. Los conidióforos se desarrollan libremente o en palisada y son sub-hialinos cilíndricos y ahusados o ligeramente claviformes. Las masas de conidios se presentan amarillentas o rosadas, pero individualmente los conidios son hialinos fusiformes, rectos con una constricción mediana, con 1-3 gótulas, atenuados basalmente y redondeados en el ápice (16,0-22,0 x 3.0–4,0 µm). Los apresorios son comunes, pardos, clavados, largos, ocasionalmente irregulares y los bordes casi crenados de 11,5–16,5 x 6–9,5 µm.

Epidemiología. La conservación del patógeno de una campaña a otra se realiza en forma de esclerocios en la superficie de los tubérculos o en residuos vegetales en el suelo. Hay poca evidencia de que vive en el suelo, pero puede sobrevivir por largos períodos. *C. atramentarium* es considerado parásito débil que ataca plantas poco vigorosas.

Manejo de la enfermedad. Lo que comúnmente se recomienda es el empleo de semilla sana, rotación, fertilización adecuada y manejo conveniente del riego.

4. MUERTE SÚBITA O MARCHITEZ POR *Verticillium*

Introducción. La muerte súbita o marchitez por *Verticillium* causa una senescencia en las plantas entre cuatro y seis semanas antes de lo normal. La enfermedad induce una madurez temprana combinada con un efecto negativo en la actividad fotosintética de la planta durante la estación de crecimiento, que es difícil de distinguir de la senescencia normal de las plantas y causa pérdida de los rendimientos.

La enfermedad está ampliamente distribuida en la mayoría de las regiones donde se planta el cultivo. No hay informes de su presencia en Cuba y ambos organismos causales se encuentran en la lista de organismos cuarentenados de Cuba (Jordán, 1996).

Síntomas. Produce senescencia prematura de las plantas. Las hojas se ponen de color verde claro o amarillo y mueren jóvenes. Se presenta primeramente por las hojas inferiores de las plantas. Las zonas internerviales de las hojas se amarillan primeramente y después se tornan pardas y mueren (Rowe, 1993).

Las plantas pueden perder su turgencia y marchitarse especialmente en días soleados y calurosos en cualquier época del período del cultivo, pero generalmente se observan estos síntomas en tallos aislados (Figura 33). El tejido vascular en la parte afectada se vuelve pardo claro, lo que se observa mejor al hacer un corte a bisel a nivel del cuello del tallo. Las hojas pueden mostrar foliolos marchitos a un solo lado del peciolo de la hoja o también hojas marchitas en un solo lado de la planta.

Figura 33. Muerte súbita o marchitez por *Verticillium dahliae*. A) Plantas con marchitez B) Coloración reticular de los vasos del tubérculo

El amarillamiento o marchitez se desarrolla hacia arriba en las plantas hasta que estan mueren. Cuando se realizan cortes longitudinales de los tallos o transversales en los tubérculos de plantas afectadas, los tejidos vasculares del tallo pueden mostrar coloraciones pardas o bronceadas (Figura 34) aunque estos síntomas pueden también estar presentes por otras causas. En contraste con la marchitez por Fusarium, las coloraciones de los vasos en el caso de la marchitez por *Verticillium* raramente alcanzan más de 10-12 pulgadas por encima del nivel de la superficie del suelo.

Figura 34. Planta con *Verticillium spp.* Coloración de vasos bajo la corteza

Los tubérculos de plantas infectadas aunque no todos, muestran una coloración pardo clara del anillo vascular, la que puede llegar a abarcar la mitad de la pulpa; en estas condiciones se forman cavidades en la parte interna del tubérculo. El tejido que rodea los ojos también se decolora, adquiriendo coloraciones rosadas o canela que forma manchones en la superficie de los tubérculos afectados.

Etiología. Los agentes causales son *Verticillium dahliae* Klebahn (sin. *V. dahliae var. longisporum* c. Stark; *V. alboatrum var medium* Wollenw.) y *V. albo-atrum* Reinke and Berthold (sin. *V. albo-atrum var. caespitosum* Wollenw.; *V. albo-atrum var. tuberosum* Rudolph) (Hawksworth y Talboys, 1970 b). Hasta los años 70 algunos investigadores particularmente en Estados Unidos, consideraban a *V. dahliae* sinónimo con *V. albo-atrum* y muchas publicaciones importantes lo referían como

V. albo-atrum (o como la forma microesclerocial de *V. albo-atrum*), donde ahora es claro que el hongo en cuestión era v. *dahliae.* La distinción entre las dos especies ha sido ampliamente aceptada por algún tiempo, aunque aún existen informes, en los cuales las dos especies están confundidas. Algunos investigadores evitan comprometerse refiriéndose solo a *Verticillium.*

Las relaciones filogenéticas sugieren que *Verticillium* es de origen polifilético (Bidochka *et al*., 1999). Las dos especies patogénicas, *V. albo-atrum* y *V. Dahliae,* al menos cuando se aislan frescas pueden ser rápidamente distinguidas sobre la base de las características culturales (Smith, 1965). La pérdida de los pigmentos y de la capacidad de producir conidios hace, sin embargo, la identificación de los aislados viejos más difícil.

Según Hawksworth y Talboys (1970b), las colonias de *V. dahliae* crecen rápido en agar malta y PDA a 23 ºC. Las primeras hifas producidas son hialinas. El micelio se vuelve floculoso y blanco y es más compactado en PDA que en malta, hialino, blanquecino a crema por el reverso después de una semana, volviéndose oscuro con la presencia de microesclerocios. Los conidióforos son abundantes y más o menos erectos, hialinos, ramificados, verticiladamente, con 3-4 fiálides que crecen de cada nudo y con algunas en ocasiones ramificadas. Las fiálides son variables en tamaño principalmente 16-35 x 1-2.5 µm. Los conidios crecen solitarios a los apíces de las fiálides, son elipsoidales o irregularmente subcilíndricos, principalmente simples pero pueden tener ocasionalmente un septo y miden 2.5-8 x 1,4- 3.2 µm. Los conidios que se forman después particularmente en medio de cultivo son más pequeños 3-6 y 2-3 µm. Generalmente los conidios son unicelulares, pero pueden tener un septo. Forman un micelio de descanso pardo oscuro en asociación con microesclerocios. No hay clamidosporas. En cultivo, los microesclerocios crecen centralmente pard,o oscuros o negros consistiendo de masas de células hinchadas casi globulares (Figura 35). Cada microesclerocio se desarrolla de una sola hifa por gemación repetida; pueden ser de forma variable y mide 15 -50 (ocasionalmente hasta 100) µm. Según Hawksworth y Talboys (1970 b), se distingue de *V. albo-atrum* por la presencia de colonias que forman estos microesclerocios, que son enteramente negras en el reverso con crecimiento a 30°C.

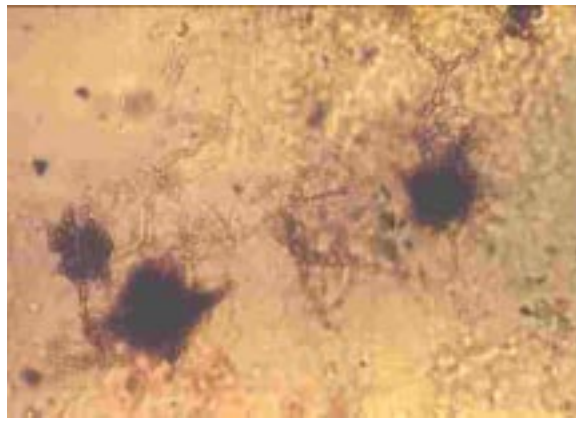


Figura 35. Microesclerocios de *V. dahliae* (preparaciones del Laboratorio Central de Cuarentena)

Verticillium albo-atrum desarrolla un micelio de sobrevivencia oscuro septado sobre los tallos en el campo y después de 10-15 días en los medios de cultivo, en contraste con los cordones oscuros de micelio de *V. Dahliae*, que tienen pseudoesclerocios negros de pared gruesa llamados también microesclerocios de 30-60 µm de diámetro. Según Hawksworth y Talboys (1970 a), los cultivos de *V. albo-atrum* crecen rápido en PDA y agar malta a 23ºC. Las primeras hifas que producen son hialinas y el micelio se vuelve floculoso y blanco a grasoso, blanco a cremas en el reverso. Después de 2-3 semanas se vuelven pardo-cremas negros, debido a la formación de micelio de descanso. Los conidióforos son abundantes más o menos erectos, hialinos, ramificados verticiladamente, con 2-4 fiálides, que emergen de cada nudo. Las fiálides de tamaño variable miden 20-30 x 1.4-3.2 µm. Los conidios emergen solitarios en los ápices de las fiálides, elipsoidales o irregularmente subcilíndricos, hialinos mayormente simples, ocasionalmente con un solo septo miden 6-12 x 2,5-4. (Hawksworth y Talboys, 1970 a; Hooker, 1980).

Según Hawksworth y Talboys (1970 a), se distingue de *V. dahliae*, por la ausencia de microesclerocios y por la producción de un micelio oscuro de descanso. Tambºén, en los tejidos de las plantas la base de los conidióforos en *V. albo-atrum* tienden a ser oscuros.

A partir de filtrados de cultivos de *V. albo-atrum*, Huang and Mahoney (1999) aislaron una endo-poligalacturonasa que hidroliza un

amplio rango de sustancias pécticas, incluyendo el ácido poligalacturónico, las pectinas metiladas y las pectinas de la pared celular de las células de plantas de tomate.

Para su diagnóstico a partir del suelo y partes de plantas, han sido desarrollados medios selectivos, sistemas de trampeo, separación en papel de filtro y columnas de agua ELISA, a partir de sueros específicos y PCR.

Otros hospedantes. Causan marchiteces representadas comúnmente por flacidez diurna y marchitez permanente, clorosis que da lugar a necrosis marginal y entre las venas. Se han hecho aislamientos de *V. albo-atrum* que posiblemente incluyen también *V. dahliae,* a partir de un amplio rango de hospedantes (más de 50 especies en 23 familias).

Epidemiología y ciclo de la enfermedad. Los propágulos durmientes de *Verticillium* germinan en presencia de las raíces en crecimiento de las plantas susceptibles (Rowe, 1993). La infección se realiza a través de pelos radicales y heridas, incluyendo los del punto de emergencia de las raíces adventicias y directamente a través de los brotes y superficies foliares, así como a través de las heridas causadas por nemátodos (Hooker, 1980; Sherf, 1980; Rowe, 1993). Las hifas avanzan inter e intracelularmente hacia el xilema. Los conidios se forman en los tejidos vasculares, son de vida efímera y se propagan en la corriente de savia de la planta, permitiendo que el hongo adquiera una naturaleza sistémica. El hongo se desarrolla rápidamente hacia arriba en el xilema o los canales conductores de savia. Su actividad aquí interfiere con el movimiento normal del agua y los nutrientes. El hongo produce una toxina que contribuye a la marchitez y el manchado de las hojas.

El patógeno es sensible a la humedad del suelo y la temperatura. Las plantas de papa tienen que tener al menos un día del suelo saturado antes de que la infección ocurra (Sherf, 1980). La temperatura del suelo debe ser moderada o fresca para que ocurra la infección: 24ºC es la temperatura óptima, 13ºC la mínima y 30ºC la máxima.

Ambas especies tienen baja capacidad competitiva y sobreviven pobremente en suelo en ausencia de un hospedante apropiado. Los microesclerocios y los propágulos de micelio oscuro son generalmente efímeros. Los propágulos infecciosos germinan y producen conidios en pocas horas.

V. albo-atrum se muestra generalmente más patogénico que *V. dahliae,* Las temperaturas más o menos altas (22-27ºC) favorecen el

desarrollo de *V. dahliae*, mientras que *V. albo-atrum* es más patogénico en el rango de 16-27ºC. La rotación del cultivo por tres años afecta de forma importante el incremento del inóculo en el suelo, sobre todo si se realiza con cereales. *V. albo-atrum* es casi enteramente limitado a regiones frías templadas, aunque puede ocurrir en papas a gran altitud en el trópico (Turkensteen, 1987) y existen informes de cepas que afectan la alfalfa en el sur de California (Howell y Erwin, 1995; Erwin y Howell, 1998).

El inóculo puede ser transmitido a grandes distancias por los suelos contaminados que se adhieren a semillas y de campo a campo por equipos agrícolas contaminados o por el agua de regadío. Puede también ser diseminado por el viento y de planta a planta por el contacto de las raíces.

La cantidad de muerte prematura por *Verticillium* que se desarrolla en un campo dado, depende de las densidades de población que alcanza el patógeno en el momento de plantar.

Manejo de la enfermedad. En áreas donde la enfermedad no está presente debe utilizarse semilla libre del patógeno. La mayoría de las estrategias de control se basan en la reducción del inóculo inicial en el suelo. Entre estas se encuentran:

- desinfectar tubérculos contaminados con suelo infestado
- los fungicidas sistémicos (benomyl o tiofanato metil) aplicados a la semilla al igual que los no sistémicos como mancozeb, captan o metiram son efectivos
- evitar el exceso de riego puede reducir la incidencia de la enfermedad
- el control de nemátodos retarda la aparición de la enfermedad
- rotación por tres años con monocotiledóneas
- plantar variedades con resistencia a la enfermedad. Goth y Haynes (2000) observaron una mejora de los rendimientos en calidad de los clones con resistencia a *Verticillium*. Lynch *et al*. (1997) informaron que la resistencia a *V. albo-atrum* en la papa fue conferida por un solo gen dominante y concluyeron que transferir la dominancia del gen Vc al germoplasma tetraploide podría brindar el control efectivo de la marchitez por *Verticillium*.

ENFERMEDADES BACTERIANAS NO PRESENTES EN CUBA

1. PUDRICIÓN ANULAR POR *Clavibacter michiganensis subsp. Sepedonicus*

Introducción. El patógeno causa la muerte temprana de las plantas, pudrición de la progenie y amplia reducción de las cosechas. Un alto nivel de infección puede causar una pérdida total. Sin embargo, con los esquemas de certificación de semillas de papa que se emplean actualmente, generalmente los brotes ocurren esporádicamente y a niveles bajos en las regiones endémicas; no obstante, como los esquemas exigen una tolerancia cero para este patógeno, se sufre un alto costo por la pérdida de la certificación por varios años, las acciones de desinfección de maquinarias y equipos, y la pérdida de mercado. Está considerado de significación cuarentenaria en toda Europa y en América (EPPO, 2002). Se encuentra en la Lista Oficial de Cuarentena de Cuba como objetivo A1 (Jordán, 1996). Hasta ahora el único hospedante natural que se conoce es *Solanum tuberosum*.

Sintomatología. Los síntomas pueden ser algo variables, pero lo más típico es un marchitamiento de las plantas muy similar al que causa *R. solanacearum.* Cuando aparecen tardíamente en la temporada de cultivo pueden enmascararse por ataques de tizón (*Phytophthora infestans*) o confundirse con la falta de agua o la propia senescencia de las plantas. La primera manifestación es el marchitamiento parcial o completo de las hojas inferiores y el doblamiento de sus márgenes hacia arriba y dentro.

Estas van perdiendo su color verde normal brillante que se vuelve verde grisáceo con moteaduras y finalmente a amarillo y después se necrotizan. También es frecuente que se produzca una necrosis intervenal. En algunos cultivares muy susceptibles se ha observado enanismo tipo roseta.

La marchitez no necesariamente se aprecia en todos los tallos o puede suceder que los foliolos de un solo lado de un tallo se marchiten. Usualmente las hojas inferiores son las primeras afectadas, pero algunas veces en los tallos el marchitamiento comienza desde arriba. Cuando los tallos infectados son cortados en la base aparece un exudado cremoso más grueso que la savia normal (Figura 36).

Figura 36. Síntomas de marchitez en hojas y tubérculos de papa afectadas por *C. michiganense pv. sepedonicu*

Ocasionalmente, pueden estar infectados los tubérculos madres sin que se exhiban síntomas aéreos. En los tubérculos ligeramente infectados, al cortarlos transversalmente en su unión con el tallo, puede notarse que el anillo vascular toma un color amarillo pálido, pero en algunas variedades esto es muy difícil de discernir. A medida que avanza la enfermedad, el anillo vascular y el tejido circundante comienza a podrirse y es notoria la presencia de un exudado grumoso amarillento de consistencia de queso, el anillo vascular se torna necrótico y el tejido por fuera de él se separa facilmente de los tejidos más internos. Externamente pueden presentarse zonas con decoloración carmelita rojizo y en casos avanzados fisuras o grietas profundas, que facilitan la entrada de otros microorganismos que pudren totalmente los tubérculos y enmascaran la pudrición anular. Como expresamos anteriormente, hay tubérculos contaminados de forma latente, que no muestran síntoma alguno y son los principales responsables que al sembrarse inicien el ciclo infeccioso. Esto puede ocurrir tanto en variedades resistentes como susceptibles.

Etiología y ecología. El agente causal es *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* (Spieckermann and Kottoff) Davis *et al*. [sinonimia: *Corynebacterium sepedonicum* (Spieckermann y Kottoff) Skaptason and Burkholder].

No se han encontrado diferencias fundamentales entre las cepas aisladas que permitan suponer una variación suficiente para separarlas en grupos, formas patogénicas, etc. Los tubérculos de papa infectados con la bacteria son la primera fuente de inóculo y la práctica de cortar los tubérculos para la siembra puede dar hasta un 100 % de contaminación (Dykstra, 1942; Nelson, 1986). Las bacterias migran desde los tubérculos semillas a los tallos a través del tejido vascular y luego hacia los

tubérculos progenie a través del estolón. Este patógeno no sobrevive bien en el suelo (Nelson, 1979 y 1980), pero puede invernar en el campo en plantas voluntarias de papa y en los desechos de los tejidos del cultivo después de la cosecha y mantenerse hasta la siguiente (Nelson y Kozub, 1990). Sin embargo, posee una alta supervivencia en forma de exudados secos sobre los equipos, maquinarias, envases y almacenes, permaneciendo infecciosa en este estado por al menos 18 meses a temperaturas entre 5 a-40^{0}C (Nelson, 1979, 1980 y 1984; Slack, 1987). Tiene un óptimo de crecimiento a temperaturas bajas (21-23^{0}C), estando mayormente confinado a las regiones frías productoras de papa, aunque también hay informes en países con clima más cálido. El clima de Europa central y norte, la parte norte de los Estados Unidos, así como el de Canadá, parece favorecer la enfermedad. La bacteria llega a áreas libres, principalmente a través de los tubérculos infectados que pasan inadvertidos, debido a la característica de transmitirse de forma asintomática en ellos (Nelson y Kozub, 1990), con niveles poblacionales bajos muy difíciles de detectar por los métodos convencionales. Como ya se explicó anteriormente, constituyen un reservorio de fuente de inóculo los desechos de cosecha, las plantas voluntarias de papa así como las superficies de equipos y maquinarias que pueden contaminar los lotes en el beneficio. Aunque de forma natural solamente se han encontrado infecciones en papa, Manzer y Genereux (1980) lograron incitar síntomas por inoculación artificial sobre 28 especies de *Solanum* y dos de *Lycopersicum*, por lo que pudieran existir hospedantes silvestres que actúen como reservorios de inóculo. En 1987, Bugbee *et al*., informaron la presencia del patógeno en plantas de berenjena en el campo que no mostraban síntoma alguno. Posteriormente, Bugbee y Gudmestad (1988) lograron aislarlo de las semillas de este hospedante latente. Además, hay evidencias de la diseminación por insectos (Duncan y Genereux, 1960; Christie *et al*., 1991) como *Leptinotarsa decemlineata* y *Myzus persicae;* y posiblemente pájaros o mamíferos, pero hasta el momento no se han desarrollado medios lo suficientemente selectivos y eficaces para realizar estudios detallados de estos nichos.

También existe transmisión de planta a planta por el agua de riego y las labores culturales (Rich, 1983), pero se ha demostrado que esta vía no reviste tanta importancia en la diseminación de la enfermedad (Mansfeld-Giese, 1997).

Diagnóstico. Este patógeno como la mayoría de las especies de *Clavibacter* tiene un metabolismo poco activo, siendo de crecimiento muy lento sobre los medios de cultivo y prácticamente imposible aislarlo cuando hay ligeras infecciones o son asintomáticas. Esto ha conllevado a la búsqueda de métodos alternativos aplicando técnicas serológicas y más actualmente de biología molecular para demostrar las contaminaciones de los tubérculos. Así, tenemos que la Unión Europea (Anon, 1990) combina el uso de la inmunofluorescencia con la inoculación en plántulas de berenjena para la confirmación de las muestras sospechosas. Por otra parte, en Canadá, a partir del desarrollo de anticuerpos monoclonales (De Boer y Wieczorek, 1984; De Boer *et al*., 1988) realizan la discriminación de las muestras mediante ELISA y su confirmación por IFI, protocolo que ha demostrado una buena eficiencia (De Boer y Hall, 2000). En años más recientes, varios investigadores han propuesto el uso de PCR en diversas variantes y la aplicación de sondas muy específicas, que aumentan extraordinariamente el poder de detección y la eliminación de reacciones cruzadas con otros microorganismos de la microflora de los tubérculos de papa y, por ende, la aparición de falsos resultados (Schneider *et al*., 1993; Rademaker y Janse, 1994; Li y De Boer, 1995; Slack *et al*., 1996; Lee *et al*., 1997; Li *et al*., 1997; Mills *et al*., 1997; Schaad *et al*., 1999; Pastrik, 2000).

Manejo de la enfermedad. En la mayoría de los países se aplica con este patógeno el esquema de tolerancia 0, o sea, su exclusión total. Para esto se requiere un esquema de certificación de la papa y de análisis de las importaciones, basado en técnicas de diagnóstico confiables, capaces de detectar las infecciones latentes en los tubérculos, que es la vía principal de introducción en áreas libres. En los campos donde se detecte la infección, debido a la poca sobrevivencia per se de la bacteria en el suelo en ausencia del hospedante, se recomienda la eliminación de todos los residuos de cosecha y plantas voluntarias, así como no sembrar papa al menos por dos años rotando con otros cultivos que no sean solanáceas. Todas las maquinarias, implementos agrícolas e incluso los centros de beneficio, almacenes y transportes que hayan estado en contacto con lotes contaminados, deben ser desinfectados con bactericidas apropiados (p. ej. amonio cuaternario), ya que como explicamos anteriormente el patógeno sí sobrevive bastante tiempo sobre las superficies. Todos los envases emplesdos en la recolección de la cosecha, una vez utilizados en consumo los tubérculos aprovechables, deben ser destruidos.

2. PUDRICIONES BLANDAS BACTERIANAS

Introducción. Bajo el nombre de causantes de pudriciones blandas se agrupan numerosas especies de bacterias en los géneros *Pseudomonas, Clostridium, Bacillus* y *Erwinia.* Sin embargo, en los tres primeros las especies son generalmente patógenos secundarios y oportunistas, por lo que solo trataremos las del último que son las de importancia relevante como patógenos verdaderos del cultivo. Asociadas con la papa, hay tres especies de *Erwinia*: *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* (van Hall) Dye (Eca), *Erwinia carotovora subsp. carotovora* (Jones) Bergey *et al*. (Ecc) *y Erwinia chrysanthemi* Burkholder *et al*. (Echr). Estas bacterias se encuentran diseminadas por todo el mundo donde se cultiva este tubérculo y son causantes de pérdidas tanto en el campo como en poscosecha durante el almacenaje. Mientras que Eca es un patógeno casi exclusivo de la papa, Ecc y Echr tienen numerosos hospedantes (CPC, 2001). La ocurrencia de una u otra, como veremos más adelante, está determinada por las condiciones climáticas existentes.

En Cuba son causa de importantes pérdidas posterior a la cosecha, durante la fase de almacenamiento en frigoríficos y comercialización

Sintomatología. Las *Erwinias* de la pudrición blanda pueden ocasionar diferentes tipos de síntomas que están condicionados principalmente por factores abióticos prevalecientes. De forma general, si se siembra un tubérculo infectado o se contamina con inóculo del suelo puede podrirse completamente, lo que origina fallas de emergencia, o parcialmente en cuyo caso las bacterias migran a través de los tallos causando síntomas aéreos y por la parte basal de estos vía el estolón hacia los tubérculos hijos, que pueden también podrirse o infectarse latentemente.

***Pudrición de los tubérculos*.** generalmente comienza por las lenticelas o partes dañadas por heridas. Inicialmente es de color blanco o crema y de consistencia acuosa, pero su aspecto cambia posteriormente por la acción de otros microorganismos secundarios, produciéndose un olor fétido fuerte y desagradable (sobretodo a temperaturas de 25^0C o más) y la extensión de la pudrición por todo el tubérculo. A veces, es notable un oscurecimiento del margen que delimita la zona enferma de la sana. En condiciones secas, no obstante, la pudrición puede estar restringida a pequeñas áreas hundidas de color oscuro.

*Síntomas aéreos***:** los síntomas sobre los tallos y hojas también son algo variables, aunque después de la propuesta de Perombelon y Kelman (1987), para unificarlos en un término común se les conoce

como “pierna o pata negra”. Sin embargo, los síntomas típicos de pierna negra casi siempre ocurren en climas frescos y húmedos. Está asociado con la pudrición de los tubérculos madres que progresa hacia los tallos por encima del nivel del suelo, los cuales toman una coloración parda oscura a negra. Cuando se halan con la mano, estos tallos se parten cerca del nivel del suelo y sus extremos son blandos, mucosos y pegajosos con olor fétido. En regiones de clima cálido las hojas se tornan cloróticas y las plantas se marchitan, muriendo rápidamente. Si el tiempo es seco, las hojas amarillean y posteriormente se secan y los tallos pueden sufrir rajaduras.

La parte aérea también puede presentar síntomas, debido no a la infección de los tubérculos madres sino a contaminaciones secundarias por otras vías ya descritas y que generalmente están relacionadas con daños sobre ellos. En este caso, la pudrición puede extenderse hacia arriba y hacia abajo del punto de entrada e incluso llegar a los tubérculos o quedarse localizada a zonas de los tallos y follaje, dependiendo igualmente de la humedad y la temperatura.

Se ha visto que en muchos casos no existe correlación entre la manifestación de la pudrición en los tubérculos y la aparición de síntomas aéreos y viceversa, ya que los factores desencadenantes de la pierna negra aún no son bien conocidos.

Etiología y ecología. Pueden encontrarse causando pudriciones blandas en papa tres especies: *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* (van Hall) Dye (Ecar)*; Erwinia carotovora subsp. carotovora* (Jones) Bergey *et al.* (Ecc) *y Erwinia chrysanthemi* Burkholder *et al*. (Echr).

La ecología de las *Erwinias* de la pudrición blanda es bastante compleja (Perombelon y Kelman, 1980; Perombelon, 1992) y hay aún muchos aspectos que son desconocidos. Ecar está casi restringida a los climas templados, Ecc puede encontrarse en éstos y también en zonas cálidas mientras que Echr predomina en los climas tropicales y subtropicales (Graham y Dowson, 1960; Lindo y French, 1981; Luamb *et al*., 1986; Lund, 1979; Molina y Harrison, 1977; Perombelon, 1985; Serfontein *et al*., 1991).

La expresión de los diferentes tipos de síntomas, así como la incidencia de la enfermedad y cuál de las especies de *Erwinia* está involucrada están relacionadas con la humedad del suelo y la temperatura ambiental reinante (Elphinstone, 1987; French y Lindo, 1979; Graham y Dowson, 1960; Harrison, 1985; Perombelon, 1979). A temperatura de 15ºC o inferiores aparece Eca, causando afectaciones en los

tubérculos y tallos; por encima y hasta alrededor de los 20ºC, Eca sigue siendo el mayor componente de enfermedad, pero Ecc también puede surgir atacando los tubérculos. Por arriba de 20ºC y por debajo de los 25ºC, Eca y Ecc son los principales componentes, pero Echr puede aparecer sobre los tubérculos, mientras que después de los 25ºC solo aparecen Ecc y Echr tanto en tubérculos como en tallos.

Por otra parte, la humedad del suelo combinada con la temperatura ambiental hacen que se expresen determinados síntomas. La humedad es un factor esencial para que se desarrolle pudrición, ya que la película de agua que recubre los tubérculos provee un ambiente anaeróbico, donde estas bacterias se multiplican rápidamente y además mantienen abiertas las lenticelas por donde pueden penetrar. En los suelos húmedos cuando hay altas temperaturas se desarrolla más rápidamente la pudrición de los tubérculos, ocurriendo fallas en la emergencia de las plantas. Si inicialmente las temperaturas son más bajas que la adecuada para el patógeno, los brotes emergen y se manifiestan pudriciones en los tallos (pierna negra). Si la humedad del suelo se mantiene después de la emergencia, predominará la pierna negra tanto en frío como en calor, mientras que si los suelos están secos son más relevantes las fallas a alta temperatura y secamiento de las plantas a bajas temperaturas. Por el contrario en los suelos secos, independientemente de las temperaturas, las plantas provenientes de tubérculos infectados emergen sin síntomas aparentes mantieníendose así si el suelo continúa seco, pero que desarrollan pierna negra si aumenta la humedad en este. Otro elemento importante en la incidencia de la enfermedad, es el nivel de inóculo en los tubérculos para que se produzca pudrición, para lo cual se ha establecido el umbral en 10^3 células bacterianas/tubérculo (Aleck y Harrison, 1978; Maas Geesteranus y Vruggink, 1976; Bain *et al*., 1990).

La vía principal de la diseminación de la enfermedad hacia áreas libres son los tubérculos semillas aparentemente sanos, pero portadores de las bacterias en forma latente sobre su superficie, en las lenticelas, en daños ya suberizados e incluso en el sistema vascular (Gotz *et al*., 1984; Harju y Kankila, 1993; Hélias *et al*., 2000; Naumann y Zielke, 1977; Nielsen, 1978; Piplani *et al*., 1983; Tsror *et al*., 1996). Estos tubérculos al ser sembrados generalmente se pudren, liberando gran cantidad de bacterias que se trasladan en el agua del suelo, contaminando a los demás (Perombelon, 1974).

Al parecer (aunque existen datos contrarios), las *Erwinias* de la pudrición blanda no tienen mucha capacidad de sobrevivencia en los

suelos *per se*, pero sí se ha demostrado su supervivencia en los residuos de cosecha (sobre todo en climas templados), aunque sus poblaciones disminuyen rápidamente cuando se aplican rotaciones con cultivos no hospedantes. Otros nichos de mantenimiento del inóculo son las plantas espontáneas de papa y la rizosfera de malezas y otros cultivos donde pueden mantenerse de una temporada a otra (Burr y Schroth, 1977; Crownhurst y Wright, 1988; McCarter-Zorner *et al*., 1985; Meneley y Stanghellini, 1976; Perombelon y Hyman, 1989; Powelson y Apple, 1984).

Las bacterias también pueden llegar a los campos a través del agua de irrigación. Se han aislado de fuentes naturales como parte de su microbiota e incluso hay informes de hasta del agua de mar (Cappaert *et al*., 1988; Cother *et al*., 1992; Franc *et al*., 1985 a y b; McCarter-Zorner *et al*., 1984; Quinn, 1985). También se ha comprobado que los insectos pueden trasladar la infección sobre todo si en lugares cercanos hay residuos de papas o vegetales podridos (Brewer *et al*., 1980; Graham *et al*., 1976; Kloepper *et al*., 1979). Hay informes de que algunos animales al alimentarse de papas contaminadas llevan las bacterias en su tracto digestivo y al defecar pasan la infección al suelo (Cother y Gilbert, 1990).

Otras formas de propagación dentro de los campos son la lluvia, que salpica de plantas contaminadas a otras adyacentes y los aerosoles bacterianos que se producen mayormente durante las labores culturales y son transportados por el viento (Graham y Harrison, 1975; Graham *et al*., 1976; Graham *et al*., 1979; Perombelon *et al*., 1979, Quinn *et al*., 1980). Todo tipo de daño a los tubérculos o a las plantas, ya bien sea por las labores de campo o poscosecha, o en el beneficio, o los causados por insectos, nemátodos u otros animales e incluso por otros microorganismos, facilitan la entrada de las bacterias y, por tanto, aumentan su incidencia (Davis *et al*., 1985; Elphinstone y Perombelon, 1986; Henriksen, 1976; Wastie *et al*., 1994 a y b).

Cuando los tubérculos son almacenados húmedos o en condiciones de alta humedad relativa o ventilación deficiente, que produzca condensación de agua sobre su superficie, tienden a podrirse, liberando bacterias que contaminan a los cercanos y a los sacos inferiores (Forsund, 1985; Maher y Kelman, 1985; Perombelon *et al*., 1979).

Está demostrado que la capacidad de pudrición de estas bacterias está relacionada con la producción de varias enzimas pectinasas y celulasas, que son capaces de degradar los tejidos parenquimatosos del hospedante. Se conocen varios de los genes que codifican para estas enzimas y su relación con la patogenicidad y la virulencia (Haseloff *et*

al., 1998; Herron *et al*., 2000; Mukherjee *et al*., 2000; Nachin y Barras, 2000; Nasser *et al*., 1997; Nasser *et al*., 1999; Rouanet *et al*., 1999; Roy *et al.*; 1999; Shevchik y Hugouvieux-Cotte-Pattat, 1997; Shih *et al*., 1999; Tardy *et al*., 1997; Vidal *et al*., 1998).

Diagnóstico. A partir de tubérculos o plantas con síntomas, el aislamiento de estos patógenos normalmente es fácil en los medios de cultivo tradicionales de laboratorio (i.e. agar nutriente), ya que son de crecimiento rápido y sobre las 48 horas ya se tienen colonias con tamaño suficiente para ser transferidas. La diferenciación de la *Erwinia* involucrada requiere verificar su comportamiento ante diferentes pruebas bioquímicas que también son generalmente de rutina.

Para diagnosticar la infección latente en tubérculos o su presencia en agua, suelo o en la rizosfera de las plantas, se necesitan medios de cultivo más elaborados que permitan su identificación y excluyan, a la vez, la mayoría del resto de la microbiota contaminante. Para estos fines se han propuesto por diversos investigadores varios medios, pero el más empleado por sus mejores resultados ha sido el CVP (Cuppels y Kelman, 1974) o modificaciones de este original (Perombelon y Burnett, 1991; Woodward y Robinson, 1990).

También y sobre todo para la cuantificación de las poblaciones de estos patógenos en tubérculos semillas, se han empleado las técnicas serológicas como IFI y ELISA tanto con sueros policlonales como monoclonales y el PCR, que ha permitido la detección de bajas poblaciones en los diferentes nichos, prefiriéndose en la actualidad la combinación de estos métodos (Allan y Kelman, 1977; Bang, 1989; Calzadilla, 1997; De Boer y Ward, 1995; Fraaije *et al*., 1997; Frechon *et al*., 1998; Hélias *et al*., 1998; Hyman *et al*., 1997; Hyman *et al*., 2000; Schober y van Vuurde, 1997; Singh y Trevors, 1999; Singh *et al*., 2000; Sledz *et al*., 1999; Zolobowska y Pospieszny, 1999).

Manejo de la enfermedad. La lucha contra esta patología se hace un tanto difícil, debido a la amplia diseminación que tienen estos patógenos, sobre todo Ecc y Echr; a su gran rango de hospedantes; la existencia de infecciónes latentes en los tubérculos que permite su introducción en áreas libres si no se poseen métodos refinados y sensibles de diagnóstico; las diferentes vías en que pueden trasladarse las bacterias de un lugar a otro, contaminando los campos aunque se haya partido de semillas completamente sanas y que aún no se cuenta con cultivares con niveles adecuados de resistencia.

No obstante, se pueden tomar una serie de medidas para su prevención o la disminución de su afectación si ya han aparecido brotes. Entre las más importantes están:

- ⇨ el uso exclusivo de semilla sana y una buena calidad en la certificación de los campos destinados a semillas, que impida que los de alta afectación sean utilizados para estos fines;
- ⇨ en los campos en que aparezca la enfermedad, se deben realizar selecciones negativas para eliminar tanto las plantas como tubérculos enfermos y reducir las fuentes de contaminación;
- ⇨ siempre que sea posible, emplear rotaciones con cultivos no hospedantes;
- ⇨ debe controlarse el drenaje y la cantidad de agua suministrada con el riego de los suelos, ya que la humedad alta es uno de los factores críticos en el desarrollo de la enfermedad;
- ⇨ una de las fuentes probables de infección puede ser el agua superficial empleada en la irrigación, por lo que de comprobarse esto, utilizar agua de pozos profundos.
- ⇨ si hay posibilidad, es más aconsejable en el momento de la cosecha destruir el follaje por medios químicos, para evitar los aerosoles bacterianos que se trasladan de un lugar a otro cuando esto se hace de forma mecánica;
- ⇨ tanto en las labores culturales de cosecha y poscosecha, hay que minimizar los daños de los tubérculos;
- ⇨ durante el almacenamiento los tubérculos deben mantenerse secos empleando ventilación forzada y evitando los cambios de temperatura para que no se condense agua sobre ellos;
- ⇨ debe haber además un buen control de las malezas y las plantas espontáneas y desinfectar los almacenes, las maquinarias y los envases que hayan estado en contacto con tubérculos podridos.

BIBLIOGRAFÍA

Abd El-Ghafar, N. y Abd El-Kader K. M. Interaction between root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and *Pseudomonas* (*Burkholderia*) *solanacearum* on tomato. *Annals of Agricultural Science*, 1997,42:607-617.

Adams, M. J. y Lapwood, D. H. Studies on the lenticel development, surface microflora and infection by common scab (*Streptomyces scabies*) of potato tubers growing in wet and dry soils. *Ann. Appl. Biol*. 1978, 90: 335-343

Adams, M. J. y Hide, G. A. Effects of common scab (*Streptomyces scabies*) on potatoes. *Annals of Applied Biology*, 1981, 98:211-216.

Aguilera, J.; Aguirre, G.; Navia, O. y Vasquez, T. Control de *Nacobbus aberrans* y *Spongospora subterranea* mediante la técnica de solarización En: Resúmenes PROSEMPA. II Reunión Nacional de la Papa, Cochabamba, Bolivia, Septiembre 22-25, 1992, p. 46.

Aleck, J. R. y Harrison, M. D. The influence of inoculum density and environment on the development of potato blackleg. *Am. Potato J.*, 1978, 55, 479-494

Allan, E. y Kelman, A. Immunofluorescent stain procedures for detection and identification of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*. *Phytopathology*, 1977, 67, 1305-1312

Almandoz, J.; Pérez, L.; Rodríguez, F.; Parra, J. y Pico, V. M., Efectividad de nuevos fungicidas para el control de *Alternaria solani* Sor. en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*). *Fitosanidad*, 1999, 3 (3): 67 – 72.

Alvarez, C.; Heredia, I.; Martín, G.. E. y López, M. O. *Phytophthora parasitica* Dastur, causante de manchas en las hojas en *Solanum tuberosum L*. (Informe Laboratorio Provincial de Santa Clara no publicado). 1997.

Anon. Quarantine procedures No.25, *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*- inspection and test method. *EPPO Bull*. 1990, 20:235-254

Arzuaga, J. Estudio de la resistencia genética de *Alternaria solani* Sor en 84 variedades de papa. Tesis de grado para optar por el grado de Dr. en Ciencias Agrícolas. ISCAH. La Habana, 1982. 195 pp.

Autrique, A. y Potts, M. J. The influence of mixed cropping on the control of potato bacterial wilt (*Pseudomonas Solanacearum*). *Annals of Applied Biology*, 1987, 111, 125-133

Babu, S.; Seetharaman, K.; Nandakumar, R. y Johnson, I. Biocontrol efficacy of *Pseudomonas* fluorescens against *Alternaria solani* and tomato leaf blight disease. *Annals of Plant Protection Sciences*, 2000, 8: 2, 252-254.

Bain, R. A.; Pérombelon, M. C. M.; Tsror, L. y Nachmias, A. Blackleg development and tuber yield in relation to numbers of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on seed potatoes. *Plant Pathology*, 1990, 39,125-133

Bang, H. Prevalence of *Erwinia*-species in basic seed lots of potatoes grown in northern Sweden. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 1989, 39, 373-379.

Beaumont, A. The dependence on weather of the dates of outbreaks of potato late blight epidemics. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 1947, 31: 45 – 67.

Bell, K. S.; Roberts, J.; Verrall, S.; Cullen, D. W.; Williams, N. A.; Harrison, J. G; Toth, I. K.; Cooke, D. E. L.; Duncan, J. M. y Claxton, J. R. Detection and quantification of *Spongospora subterra*nea *f.sp. subterranea* in soils and on tubers using specific PCR primers. *European Journal of Plant Pathology*, 1999, 105, 905-915.

Beukema, H. P.; Turkensteen, L. P. y Peeten, J. M. G. Potato explorer. Production, Diseases, Storage, Markets.Data base, Release, 1.2. NIVAA, Holland. 2000.

Bidochka, M. J., Burke, S. y Ng, L., Extracelular hydrolytic enzymes in the fungal genus Verticillium: adaptations for pathogenesis. *Canadian Journal of Microbiology*, 1999, 45(10): 856-864.

Bokshi, A. I.; Morris S. C. y Deverall, B. J. Effects of benzothiadiazole and acetylsalicylic acid on b1, 3 glucanase activity and disease resistance in potato. *Plant Pathology*, 2003, 52: 22-27

Bompeix, G.; Fettouche, F. y Saurdressan, P. Mode d'action du Phosetyl Al. *Phytiatr. Phytopharm.* 1980. 30: 257 - 272

Booth, C. y Waterston, J. M. *Fusarium solani*. CMI. Description of phytopathogenic fungi and bacteria. No. 25. C.M.I., CAB, Kew, Surrey, England. 1964a.

Booth, C. y Waterston, J. M. *Fusarium avenaceum*. CMI. Description of Phytopathogenic Fungi and Bacteria. No. 29. C.M.I., CAB, Kew, Surrey, England. 1964b.

Booth, C. The genus Fusarium. C.M.I., CAB, Kew, Surrey, England. 1971. 237 pp.

Bouchek-Mechiche, K.; Gardan, L.; Normand, P. y Jouan, B. DNA relatedness among strains of *Streptomyces* pathogenic to potato in France: description of three species *Streptomyces europaeiscabiei* sp. nov. and *Streptomyces steliiscabiei* sp. nov. associated with common scab, and *Streptomyces reticuliscabei* sp. nov. associated with netted scab. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2000, 50: 91-99.

Bourke, P. M. Use of weather information in the prediction of plant disease epiphytotics. *Annual Review of Phytopathology*, 1970, 8: 345-371.

Brewer, J. W.; Harrison, M. D. y Winston, J. A. Differential attraction of *Drosophila melanogaster* Meig. to potato tissue infected with two varieties of *Erwinia carotovora*. *Am. Potato J*., 1980, 57:219-224.

Brunelli, A. Brighton'98: the new fungicides and insecticides. 9th International Congress of Pesticide Chemistry, London, UK, 2-7 August 1997. Pesticide Science, 55: 2, 213-215.*Informatore Fitopatologico*, 1999, 49 (11): 16-18.

Bruner, S. G. Lista preliminar de las enfermedades de las plantas de importancia económica para Cuba. Informe de los años 1918-1919 y 1919-1920. Est. Experimental Agronómica Agrícola de Santiago de las Vegas. 1920. 42 pp.

Buddenhagen, I. W. Bacterial wilt revisited. In: Bacterial Wilt Disease in Asia and the South Pacific. Proceedings of an International Workshop Held at PCARRD; Los Baños, Philippines (G.J. Persley, ed.) Camberra, ACIAR Proceedings no.13, Camberra, Australia. 1986. Pp. 126-143

Buddenhagen, I. W.; Sequeira, L. y Kelman, A. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, 1962, 52:726.

Bugbee, W. M. y Gudmestad, N. C. The recovery of *Corynebacterium sepedonicum* from sugar beet seed. *Phytopathology*, 1988, 78:205-208

Bugbee, W. M.; Gudmestad, N. C.; Secor, G. A. y Nolte, P. Sugar beet as a symptomless host for *Corynebacterium sepedonicum*. *Phytopathology*, 1987, 77, 765-770

Burkhalid, R. A. y Loria, R. Cloning and expression of a gene from *Streptomyces scabies* encoding a putative pathogenicity factor. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179: 7776-7783.

Burr, T. J. y Schroth, M. N. Occurrence of soft-rot *Erwinia spp.* in soil and plant material. *Phytopathology*, 1977, 67, 1382-1387.

C.A.B.I. CPC (Crop Protection Compendium). CABI, G.B. 2001.

Calzadilla, M. Ultramicroanalytical system (UMAS) for detection of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Dye by DAS-ELISA. *Revista de Protección Vegetal*, 1997. 12(1):65-66.

Camara, M.; Herrera-Isla, L., y Galantai, E. Resistencia varietal en papa a *Rhizoctonia solani Kühn*. *Centro Agrícola*, 1988, 14 (2): 88-90

Cappaert, M. R.; Powelson, M. L.; Franc, G.. D. y Harrison, M. D. Irrigation water as a source of inoculum of soft rot *erwinias* for aerial stem rot of potatoes. *Phytopathology*, 1988, 78, 1668-1672.

Cardín, P. Informe del Departamento de Patología Vegetal y Entomología. Tercer Informe Anual. (Febrero 1909-Julio 1914) Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas. 1915. Pp. 98-173.

Carter, D. A.; Archer, S. A.; Buck, K. W.; Shaw, D. S. y Shattock, R. C. Restriction fragment length polymorphism of mitochondrial DNA of *Phytophthora infestans. Mycol. Res.*, 1990, 94: 1123- 1128.

Castellanos, L. Nocividad, epidemiología y manejo del tizón temprano *Alternaria solani* Sor. en el cultivo de la papa. Tesis para optar del grado Científico de Dr. en Ciencias Agrícolas. 2000.

Castellanos, L.; García, J. y Santana, T. Influencia de la edad de las hojas de la papa sobre el desarrollo de *Alternaria solani*. *Centro Agrícola*, 1995, 22 (3): 89-91.

Castro, M. E. A.; Zambolim, L.; Chaves, G.. M.; Cruz, C. D. y Matsuoka, K. Variabilidad patogenica de *Alternaria solani*, agente causal da pinta-preta do tomateiro. *Summa Phytopathologica*., 2000, 26: 1, 24-28

Christie, R. D.; Sumalde A. C.; Schulz, J. T . y Gudmestad, N. C. Insect transmission of the bacterial ring rot pathogen. *American Potato Journal*, 1991, 68:363-372

Ciampi, L.; Sequeira, L. y French, E. Latent infection of potato tubers by *Pseudomonas solanacearum*. *American Potato Journal*, 1980, 57, 377-386.

Ciampi-Panno, L.; Sequeira, L. y French, E. *Pseudomonas solanacearum*. Distribution in potato plants, establishment of latent infections. Proceedings 5th International conference Plant Pathogenic Bacteria, Cali, Colombia. 1981. Pp. 148-161.

CMI. Distribution maps of plant diseases. *Pseudomonas solanacearum* (E. F. Smith) E. F. Smith. Map no. 138, 5th Edition, CAB. 1977.

CNSV Programa de defensa nacional contra *Pseudomonas solanacearum* Smith. Dpto. de Cuarentena Interior, La Habana, Cuba. 1986.

Cook, D. y Sequeira, L. The Use Of Restriction Fragment Length Polymorphism (Rflp) Analysis In Taxonomy And Diagnosis. Bacterial Wilt Newsletter, Aciar, 1988. No. 4: 4.

Cook, D. y Sequeira, L. Strain Differentiation Of *Pseudomonas Solanacearum* By Molecular Genetics Methods. In: Bacterial Wilt: The Disease And Its Causative Agent, *Pseudomonas Solanacearum*. Ed.: Hayward, A.C. And Hartman, G.L., Pp.77-93, Cabi, England. 1994.

Cook, M. T. Enfermedades de las plantas económicas de las Antillas, Universidad de Puerto Rico. 1939.

Cother, E. J. y Gilbert, R. L. Presence of *Erwinia chrysanthemi* in two major river systems and their alpine sources in Australia. *J. Appl. Bact*., 1990, 69, 729-738.

Cother, E. J.; Bradley, J. K.; Gillings, M. R. y Fahy, P. C. Characterization of *Erwinia chrysanthemi* biovars in alpine water sources by biochemical properties, GLC fatty acid analyses and genomic DNA fingerprinting. *J. Appl. Bact*., 1992, 73, 99-107.

Crowhurst, R. N. y Wright, P. Subspecies of *Erwinia carotovora* causing blackleg of potato in Pukekohe and Pukekawa and their survival in soil. *New Z. Potato Bull*, 1988, 109, 20-22.

Cuppels, D. y Kelman, A. Evaluation of selective media for isolation of soft-rot bacteria from soil and plant tissue. *Phytopathology*, 1974, 64, 468-475.

Dahmen, H. y Staub, T. Biological characterization of uptake, translocation, and dissipation of difenoconazole (CGA 169374) in wheat, peanut, and tomato plants. *Plant Disease*, 1992, 76 (5): 523-526.

Davidse, L. C. Phenylamide fungicides-biochemical action and resistance. In: Modern Selective Fungicides Ed. Prof. Horst, Lyr. Gustav Fischer, Verlag. New York. 1995. Pp 347-354.

Davis, J. R.; Sorensen, L. H. y Corsini, G. S. Synergistic effects of *Fusarium sambucinum* on the expression of infection by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica.* Report Int. Conf. Potato Blackleg Disease, Potato Marketing Board. 1985. Pp. 23.

De Boer, S. H. y Wieczorek, A. Production of monoclonal antibodies to *Corynebacterium sepedonicum*. *Phytopathology*, 1984, 74, 1431-1434

De Boer, S. H. y Hall, J. W. Proficiency testing in a laboratory accreditation program for the bacterial ring rot pathogen of potato. *Plant Disease*, 2000, 84, 649-653

De Boer, S. H.; Wieczorek, A. y Kummer, A. An ELISA test for bacterial ring rot of potato with a new monoclonal antibody. *Plant Disease*, 72, 874-878.

Deahl, K. L.; Demith, S. L.; Sinden, A. y Rivera Peña, A. Identification of mating types and metalaxyl resistance in North American populations of *Phytophthora infestans*. *Am. Potato Journal*, 1995, 72:35-49.

DeBoer, S. H. y Ward, L. J. PCR detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* associated with potato tissue. *Phytopathology*, 1995. 85, 854-858.

Dgsv Programa Erradicativo De *Pseudomonas Solanacerum* Smith. Dpto. De Cuarentena Interior, La Habana, Cuba. 1976.

Dita-Rodríguez, M. A.; Suárez-Acosta, M.; García, D. y Veitía-Rodríguez, N. Caracterización fisiológica de aislados de *Alternaria solani* Sor, en diferentes regiones de Cuba para su uso en mejoramiento genético. *Centro Agrícola*, 2000, 27 (1): 16–24.

Douglas, D. R. y Pavel, J. J. An efficient method of inducing of *Alternaria solani* Sor. in pure culture. *Phytopathology*, 1971, 61 (2): 239.

Efremenko, T. S. y Yakovleva, V. A. Comparative assessment of the methods used in USSR and abroad for determining soil infestation by *Synchytrium endobioticum*, the pathogen of potato wart. *Mikologiya i Fitopatologiya* 1983, 17, 427-433.

Ellis, M. B. y Gibson, I. A. S. *Alternaria solani*. CMI. Description of pathogenic fungi and bacteria. No. 475. Kew Surrey. 1975.

Ellis, M. B. *Helminthosporium solani*. CMI. Description of pathogenic fungi and bacteria. No. 186. Kew Surrey. 1968.

Elphinstone, J. G. y Perombelon, M. C. M. Contamination of potatoes by *Erwinia carotovora* during grading. *Plant Pathology*, 1986, 35, 25-33.

Elphinstone, J. G. La pudrición blanda y la pierna negra de la papa. CIP, Bol. Inf. Técnica 21, Perú, 1987. 18 pp.

Elphinstone, J. G.; Hennesy, J.; Wilson, J. K.y Stead, D. E. Sensitivity of different methods for the detection of *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith in potato tubers, *EPPO BULL*. 1996, 26: 663-678

Englebrecht, M. C. Modification of a semi-selective medium for the isolation and quantification of *Pseudomonas solanacearum*. *Bacterial Wilt Newsletter* 1994. 10. Pp. 3-5

Eppo. First report of the working party on potato wart disease. EPPO Publications Series C, 1977. No. 50.

Eppo. pqr VERSION 4.1 Eppo, PARIS. 2002.

Erwin, D. y Ribeiro, O. K., 1996. *Phytophthora disease worldwide*. APS Press, St. Paul, 562 pp.

Erwin, D. C. y Howell, A. B. *Verticillium* survives heat in Mojave Desert alfalfa. *California Agriculture*, 1998, 52(4):24-27.

Fernández, A.; Solórzano, E.; Peteira, B. y Fernández, E. Inducción de peroxidasas en hojas de tomate con diferente grado de susceptibilidad a *Alternaria solani Rev. de Protección Vegetal*, 1996, 11 (2): 79-84.

Fernández, A.; Solórzano, E.; Peteira, B. y León, O. Proteínas relacionadas con la patogénesis en plantas de tomate infectadas con *Alternaria solani*. *Rev. de Protección Vegetal*, 1998, 13 (3): 157-164.

Fischl , G. The prospective consequences by planting seed potatoes infected by common scab. *Novenytermeles*, 1990, 39:313-323.

Forsund, E. The role of humidity and temperature factors in the curing and storing periods and their impact on the occurrence of soft rot in storage and blackleg in the progeny of seed potatoes. Report Int. Conf. Potato Blackleg Disease, Potato Marketing Board, 1985. p. 23.

Fraaije, B. A.; Appels, M.; DeBoer, S. H.; van Vuurde, J. W. L. y Bulk, R. W. van. Detection of soft rot *Erwinia spp.* on seed potatoes: conductimetry in comparison with dilution plating, PCR and serological assays. *Eur. J. Plant Pathol*., 1997, 103, 183-193.

Franc, G.. D.; Harrison, M. D.; Maddox, D. y Michaud, J. E. The presence of *Erwinia carotovora* in surface water in the United States. *Report Int. Conf. Potato Blackleg Disease*, Potato Marketing Board, 1985b. p.47.

Franc, G.. D.; Harrison, M. D. y Maddox, D. The presence of *Erwinia carotovora* in snow and surface water in the United States. *Report Int. Conf. Potato Blackleg Disease*, Potato Marketing Board. 1985a. p. 46-47.

Franco, E. Catálogo de Semilla Basica de Papa en el Perú (Catalog for potato basic seed in Peru). Lima, Peru: Proyecto SEINPA, CIP. 1994.

Frechon, D.; Exbrayat, P.; Hélias, V.; Hyman, L. J.; Jouan, B.; Llop, P.; López, M. M., Payet, N.; Pérombelon, M. C. M.; Toth, I. K.; van Beckhoven J. R.CM.; van der Wolf, J.M. y Bertheau, Y. Evaluation of a PCR kit for the detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on potato tubers. *Potato Research*, 1998, 41, 163-173.

French, E. R. Diagnosis de la marchitez bacteriana de la papa, con énfasis en la latencia. En: Marchitez bacteriana de la papa (*Pseudomonas solanacearum*) en América Latina. CIP, Perú. 1984. p. 51-54.

French, E. R. y Lindo de, L. The *Erwinias* of potatoes in Peru. En: Developments in Control of Potato Bacterial Diseases, Report of a Planning Conference, CIP, Perú, 1979. Pp.88-93.

Fry, W. E.; Goodwin, S. B., Matuszak; J. M., Spielman; L. J., Milgroom; M.G. y Drenth, A. Population genetics and intercontinental migrations of *Phytophthora infestans*. *Ann. Rev. Phythopathol*., 1992, 30: 107-129.

Fry, W. E.; Goodwin, S. B.; Dyer, A. T.; Matuszak, J. M.; Drenth, A.; Tooley, P. W.; Sujkowski, L. S.; Koh, Y. J.; Cohen, B. A.; Spielman, L. J.; Deahl, K. L.; Inglis, D. A. y Sandlan, K. P. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: Chronology, pathways and implications. *Plant Disease*, 1993, 77 (7): 653- 661.

Gasztonyi, M. y Lyr, H. Miscellaneous fungicides In: Modern Selective Fungicides Ed. Lyr, H. Gustav Fischer, Verlag. New York. 1995, p. 389-414.

Gillings, M. R. y Fahy, P. Genomic fingerprinting: towards a unified view of the *Pseudomonas solanacearum* species complex. In: bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Eds: Hayward, A. C. and Hartman, G. L CABI, England. 1994, p. 95-112,

Gómez, G..; Rodríguez, J. y Castellanos, L. Pronóstico a corto plazo del tizón temprano *Alternaria solani* Sor. en el cultivo de la papa Resúmenes II Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, La Habana, 1990, p. 189.

Gómez, G. Sistema de pronóstico para el tizón tardío de la papa causado por *Phytophthora infestans* de Bary en Cuba. Tesis presentada para aspirar al grado de Dr. en Ciencias Agrícolas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. 1999.

Gómez, G..; Almaguel, L.; Jiménez, S.; Secada, I. y Cortiñas, J. Zonificación de *Alternaria solani* en la provincia de La Habana. *Fitosanidad*, 1998, 2 (3-4): 15-20.

Gómez, G..; Pedroso, P.; Súarez, M. M; Figueroa, M.; Castellanos, L.; Pico, V. M.; Hernández, A.; Secada, I. y González, M. Regionalización bioclimática del tizón temprano de la papa (*Alternaria solani* Sor.) en Cuba. *Fitosanidad*, 1999 b, 3 (3): 31-36.

Gómez, G. y Suárez M. Pronóstico del tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans* (Mont) de Bary) en Cuba. I. Análisis de la edad del cultivo e intervalo de tiempo óptimo para el surgimiento de los primeros brotes de la enfermedad. *Fitosanidad*, 2001, 5(2): 23-28.

Goodwin, S. B.; Spielman, L. J.; Matuszak, J. M; Bergeroon, S. N. y Fry, W. E. Clonal diversity and and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* populations in northern and central Mexico. *Phythopathology*, 1992, 82: 955-961.

Goth, R. W.; Haynes, K.G. y Wilson, D. R. Evaluation and characterization of advanced potato breeding clones for resistance to scab by cluster analysis. *Plant Disease*, 1993, 77: 911-914

Goth R. W. y Haynes K. G. Evaluation of potato clones for severity of *Verticillium* wilt, yield and specific gravity in Maine. *American Journal of Potato Research*, 2000, 77, 89-94

Goto, M. 1992. Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. Academic Press Inc., pp.342

Goyer, C.; Faucher, E. y Beaulieu, C. *Streptomyces caviscabies* sp. nov., from deep pitted lesions in potatoes in Québec, Canada. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1996, 46: 635-639.

Gotz, J.; Schenk, G.. y Bulnheim, U. On the latent infection of potato tubers by *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* (van Hall) Dye after transfer of pathogen-free in vitro plants to the field. Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR, 1984. 38,190-192

Graham, D. C. y Dowson, W. J. The coliform bacteria associated with potato blackleg and other soft rots. *Ann. Appl. Biol*., 1960, 48, 51-57.

Graham, D. C. y Harrison, M. D. Potential spread of *Erwinia spp.* in aerosols. *Phytopathology*, 1975, 65:739-741.

Graham, D. C.; Quinn, C. E.; Sells, I. A. y Harrison, M. D. Survival of strains of soft rot coliform bacteria of microthreads exposed in the laboratory and in the open air. *J. Appl. Bact.* 1979, 46, 367-376.

Graham, D. C.; Quinn, C. E. y Harrison, M. D. Recurrence of soft rot coliform bacterial infections in potato stem cuttings: an epidemiological study on the central nuclear stock production farm in Scotland 1967-74. *Potato Research*, 1976, 19:3-20.

Graham, J. y Lloyd, A. B. *Solanum cinereum*, a wild host of *pseudomonas solanacearum* biotype Ii. J. *Aust. Inst. Agric*. Sc. 1978. 44:124-126

Graham, J.; Jones, D. A. y Lloyd, A. B. Survival of *Pseudomonas solanacearum* race 3 in plant debris and in latently infected potato tubers. *Phytopathology*, 1979, 69:1100-1103.

Granada G. A. y Sequeira, lSurvival of *pseudomonas solanacearum* in soil, rhizosphere, and plant roots. *Canadian journal of microbiology*, 1983, 29, 433-440.

Harju, P. y Kankila, J. *Erwinia carotovora* contamination of Finnish seed potatoes and the prevalence of bacterial subspecies and serogroups. *Agricultural Science in Finland*, 1993, 2: 345-352.

Harris, R. I. Uptake and redistribution of propamocarb hydrochloride applied to potato foliage. Abstracts of 13th. Triennial Conference of the European Association for Potato Research. Veldhoven, the Netherlands, 14-19 of July, 1995, p. 274-275.

Harrison, M. D. The blackleg disease-factors affecting expression of infection. Report Int. Conf. Potato Blackleg Disease, Potato Marketing Board. 1985, p.19-21.

Harrison J. G., Searle R. J. y Williams N. A. Powdery scab of potato-a review. *Plant Pathology*, 1997, 46, 1-25.

Haseloff, B. J.; Freeman, T. L.; Valmeekam, V.; Melkus, M. W.; Oner, F.; Valachovic, M. S. y San Francisco, M. J. D. The exuT gene of *Erwinia chrysanthemi* EC16: nucleotide sequence, expression, localization, and relevance of the gene product. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1998, 11, 270-276.

Hawkes, J. G. Modern taxonomic work on the *Solanum* species of Mexico and adjacent countries. *Am. Potato Journal*, 1966, 43: 81- 103.

Hawksworth, D. L. y Talboys, P. W. *Verticillium albo-atrum*. C. M. I. Descriptions of Pathogenic fungi and Bacteria. 1970 a. 255. Kew Surrey.

Hawksworth, D. L. y Talboys, P. W. *Verticillium dahliae*. C. M. I. Descriptions of Pathogenic fungi and Bacteria. 1970 b. 256. Kew Surrey.

Hayward, A. C. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Appl. Bact*. 1964, 27, 265-277.

Hayward, A. C. Diagnosis, distribution and status of groundnut bacterial wilt. En: bacterial wilt of groundnut. aciar proceedings No. 31, Camberra, Australia. 1990. Pp.12-17.

Hayward, A. C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Rev. Phytopathology*, 1991, 29, 65-87.

Hayward, A.C. Systematic and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. In. bacterial wilt: The disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. (Hayward, A.C. and Hartman, G. L., Eds.). cabi, g.b. 1994, p. 123-135.

He, L., Sequeira, L. y Kelman, A. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant disease*, 1983, 67, 1357-1361.

Healy, F. G.. y Lambert, D. H. Relationships among *Streptomyces spp*. causing potato scab. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1991, 41:479-482.

Hélias, V.; Andrivon, D. y Jouan, B. Internal colonization pathways of potato plants by *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*. *Plant Pathology*, 2000, 49, 33-42.

Hélias, V.; Roux, A. C.; Bertheau, Y.; Andrivon, D.; Gauthier, J. P. y Jouan, B. Characterization of *Erwinia carotovora* subspecies and detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in potato plants, soil and water extracts with PCR-based methods. *Eur. J. Plant Path*., 1998, 104, 685-699.

Henriksen, J. B. Influence of the conditions under seed potato tubers are handled on blackleg infection. EPPO Bull, 1976, 6,309-313.

Hernández, S.; Solarzano, E.; y Fernández E. Evaluación de diferentes compuestos en la inducción de resistencia en *Alternaria solani*. *Revista de Protección Vegetal*, 1994, 9 (1-3): 23-28.

Herron, S. R.; Benen, J. A. E.; Scavetta, R. D.; Visser, J. y Jurnak, F. Structure and function of pectic enzymes: virulence factors of plant pathogens. *Proc. Nat. Acad. Sci. United States of America*, 2000, 97, 8762-8769.

Hohl, H. R. y Iselin, K. Strains of *Phytophthora infestans* with A_2 mating type behavior. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 1984, 83: 529 - 530.

Hooker, W. J. Compendium of potato diseases. APS Press, St. Paul, 1980. 166 p.

Horita, M. y Tsuchiya, K. Comparative analysis of Japanese and foreign strains of Ralstonia solanacearum based on 16s ribosomal RNA gene sequences. *Journal of General Plant Pathology*, 2000, 66:132-137.

Howell, A. B. y Erwin, D. C. Characterization and persistence *of Verticillium albo-atrum* isolated from alfalfa growing in high temperature regions of southern California. *Plant Pathology*, 1995, 44(4): 734-748.

Huang, L. K. y Mahoney, R. R. Purification and characterization of an endo-polygalacturonase from *Verticillium albo-atrum*. *Journal of Applied Microbiology*, 1999, 86,145-156.

Hyman, L. J.; Birch, P. R. J.; Dellagi, A.; Avrova, A. O. y Toth, I. K. A competitive PCR-based method for the detection and quantification of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on potato tubers. *Letters in Applied Microbiology*, 2000, 30, 330-335.

Hyman, L. J.; Dewasmes, V.; Toth, I. K. y Pérombelon, M. C. M. Improved PCR detection sensitivity of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in potato tuber peel extract by prior enrichment on a selective medium. *Letters in Applied Microbiology*, 1997, 25, 143-147.

Hyre, R. A. Progress in forecasting late blight of tomato and potato. *Plant Disease Rep*. 38: 1954, 245-253.

Ichihara, A.; Tazaki, H. y Sakamura, S. The structure of zinnolide, a new phytotoxin from *Alternaria solani*. *Agricultural and Biological Chemistry* 1985, 49 (9): 2811-2812.

Izquierdo, F. Un rápido y sencillo método para provocar la esporulación de *A. solani* en cultivo puro. *Revista CENIC*, 1977, 8 (1): 155-162.

Jackson, M. T.; González, L. C. y Aguilar, J. A. Avances en el control de la pudrición bacteriana de la papa en Costa Rica. *Fitopatología* 1979, 14, 48-53.

Janse, J. D. A detection method 1996. for *Pseudomonas solanacearum* in symptomless potato tubers and some data on is sensitivity and specificity. *EPPO Bulletin*, 1988,18, 343-351.

Janse, J. D. Potato brown rot in western Europe-history, present occurrence and some remarks on possible origin, epidemiology and control strategies. *EPPO Bulletin*, 1996, 26, 679-695.

Jehle, R. A. El tizón tardío y las enfermedades de la papa. Est. Exp. Agronómica de Santiago de las Vegas, Circular 48. 1915.

Jordán, A. Lista oficial de organismos cuarentenados. Resolución 441/96. Gaceta Oficial de la República de Cuba. La Habana 7 de Octubre. 1996.

Kaars Sijpesteijn, A.; Kerkenaar, A. y Overeem, J. C. Observations on selectivity and mode of action of prothiocarb. Meded. Fac.*Landbouwwetensch*, 1974, 39: 1027–1034.

Kaars Sijpesteijn, A.; Rijkens,F.; Luitjen, J. G.. A. y Williemsen, L. C. On the antifungal and antibacterial activity of some trisubstituted organic germanium, organotin and organolead compounds Antonie van Leeuwenhoek, *J. Microbiol. Serol*., 1962, 28, 346-356.

Kaessmann, H.; Staub, T.; Hoffmann, C.; Maetzke, T.; Heizog, J.; Ward, E.; Uknes, S. y Ryals, J. Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. *Ann. Rev. of Phytopathology*, 1994, 32, 439-459.

Kapsa, J. S. y Wojciechowska, B. Stem blight (*Phytophthora infestans*) - a new problem of potato crops in Poland. Abstracts of 13th. Triennial Conference of the Europpean Conference for the Potato Research. Veldhoven, The Netherlands, 14-19 July. p. 596-597.

Kelman, A. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum.* N.*C. Agric. Exp. Stn. Tech. Bull*., 1953, 99.

Kelman, A. The relationship of pathogenicity in Pseudomonas solanacearum to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology*, 1954, 44:693-695.

Keshwal, R. L.; Khare, U. K. y Singh, R. P. Effect of physical properties of soil on wilt incidence and population of Ralstonia solanacearum. *Annals of Plant Protection Sciences*, 2000, 8:40-43.

Kessmann, H.; Staub, T.; Hofmann, C.; Maetzke, T. y Herzog, J. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Ann. Rev. of Phytopathology*, 1994, 32, 439-459.

Kikuchi, D.; Cuenca, D.; Iglesias, L. y Piedra, B. Microflora parasítica de los principales cultivos agrícolas de las provincias orientales de la República de Cuba. (Informe no publicado) 1977, 61 p.

King, R. R.; Lawrence, C. H. y Clark, M. C. Correlation of phytotoxin production with pathogenicity of *Streptomyces scabies* isolates from scab infected potato tubers. *American Potato Journal*, 1991, 68:675-680.

Kloepper, J. W.; Harrison, M. D. y Brewer, J. W. The association of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* and *Erwinia carotovora* var. *carotovora* with insects in Colorado. *Am. Potato J*., 1979, 56, 351-361.

Koga, K.; Hara, H. y Tanaka, H. Suppressive soils to bacterial wilt of tobacco in Japan and population dynamics of *Pseudomonas solanacearum* in these soils. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 1997, 63, 304-308.

Korn-Wendisch, F. y Kutzner, H. J. The Family *Streptomycetaceae.* In: The Procaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications. 2d edition. Vol. I, Chap. 41. Eds. Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K.H. Springer-Verlag, New York 1992, p. 921-995.

Krause, R. A.; Massie, L. B. y Hyre, R. A. Blitecast: a computerized forecast of potato late blight. *Plant Disease Rep*., 1975, 59, 95-98.

Kuhn, P.J.; Albert, G.; Loyness, L.E.; Lee, S.A. y Lindsley, M.C. Studies on the antifungal activity *in vitro* of dimethomorph, a novel fungicide active against downy mildews and *Phytophthora*. 9th International Reinhardsbrunn Symposium, Modern fungicides and antifungal compounds. 1990, p. 229-238.

Laidlaw, W. M. R. A method for the detection of the resting sporangia of potato wart disease (*Synchytrium endobioticum*) in the soil of old outbreak sites. *Potato Research*, 1985, 28, 223-232.

Langerfeld, E. Potato wart in the Federal Republic of Germany. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 1984, 14, 135-139.

Lambert, D. H. y Loria, R.. *Streptomyces scabies* sp. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1989a 39: 387-392.

Lambert, D.H. y Loria, R.. *Streptomyces acidiscabies* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1989b, 39: 393-396.

Langsdorf, G..; Furuichi, N.; Doke, N. y Nishimura, S. Investigations on *Alternaria solani* infections: detection of alternaric acid and a susceptibility-inducing factor in the spore-germination fluid of *A. solani*. *Journal of Phytopathology*, 1990, 128 (4): 271-282.

LAPROSAV, Villa Clara. Registro de intercepciones de enfermedades fungosas en los cultivos de Villa Clara. Archivo digital inédito del Laboratorio Provincial de Villa Clara. 1993.

Lapwood, D. H. *Streptomyces scabies* (Thaxter) Wakeman & Henrici. In: European Handbook of Plant Diseases Ed. Smith, I.M., Dunez, J., Lelliott, R. A., Phillips, D. H. and Archer, S.A. Blackwell Scientific Publications. England. 1978, p. 195-196.

Latorse, M. P.; Gouot, J. M. y Pepin, R. Curative activity of RPA407213 against downy mildew on grapevine: biological and microscopical study. Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases-1998: Volume 3: Proceedings of an International Conference, Brighton, UK (16-19 November 1998), 1998, 863-868.

Lawrence, C. H. y McKenzie, A. R. Powdery scab. In. Compendium of Potato Diseases. Ed. Hooker, W. J., St. Paul, Minnesota, USA: *American Phytopathological Society*. 1981, p. 35-36.

Lawrence, C. H.; Clark, M. C. y King, R. R. Induction of common scab symptoms in aseptically cultured potato tubers by the vivotoxin, thaxtomin. *Phytopathology*, 1990, 80:606-608.

Lawton, K. A.; Friedrich, L.; Hunt, M.; Weymann, K.; Delaney, T.; Kessmann, H.; Staub, T. y Ryals, J. Benzothiadiazole induces disease resistance in Arabidopsis by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. *The Plant Journal*, 1996, 10, 71-82.

Lee, I. M.; Bartoszyk I. M.; Gundersen, D. E.; Mogen, B. y Davis, R. E. Nested PCR for ultrasensitive detection of the potato ring rot bacterium, *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63:2625-2630.

Li, X. y De Boer, S. H. Selection of polymerase chain reaction primers from an RNA intergenic spacer region for specific detection of *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus. Phytopathology*, 1995, 85:837-842.

Li, X.; Boer, S. H. y de, Ward, L. J. Improved microscopic identification of *Clavibacter. michiganensis subsp. sepedonicus* cells by combining *in situ* hybridization with immunofluorescence. *Letters in Applied Microbiology*, 1997, 24:431-434.

Lindo, L. de y French, E. R. Erwinia species attacking potato in the humid tropics of Peru. *Fitopatologia*, 1981, 16(2): 69-74.

Loria, R.; Bukhalid, R. A.; Creath, R. A.; Leiner, R. H.; Olivier, M. y Steffens, J. C. Differential production of thaxtomins by pathogenic *Streptomyces* species in vitro. *Phytopathology*, 1995, 85: 537-541

Loria, R.; Bukhalid, R. A.; Fry, B. A. y King, R. R. Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Plant Disease*, 1997, 81:836-846

Luamb, V. M.; Perombelon, M. C. M. y Zutra, D. Studies of a wilt disease of the potato plant in Israel caused by *Erwinia chrysanthemi. Plant Pathology*, 1986, 35, 196-202.

Lukens, R. J. y Horsfall, J. G. Spore germination and appressorial formation, a new assay for fungicides. *Review of Plant Pathology*, 1971, 50(11):619.

Lukens, R. J. Heterocyclic nitrogen compounds. In: Fungicides Vol. 2. Chemistry and Physiology. Ed. Torgeson D.C. Academic Press New York, 1969, p. 336-446.

Lund, B. M. Bacterial soft rot of potatoes. In: Lovelock, D.W. and Davies, R. (eds.). Plant Pathogens. Society of Applied Bacteriology, Tech. Series No.12, Academic Press. 1979.

Lynch, D. R.; Kawchuk, L. M.; Hachey, J.; Bains, P. S. y Howard, R. J. Identification of a gene conferring high levels of resistance to Verticillium wilt in *Solanum chacoense*. *Plant Disease*, 1997, 81, 1011-1014.

Maas Geesteranus, H. P. y Vruggink, H. *Erwinia carotovora* (Jones) Bergey *et al*. var *atroseptica* (Hellmers et Dowson) Dye. Seed tuber infection vs. symptom expression in the field. *EPPO Bull*, 1976, 6:223-224.

MacKenzie, D. R. y Schimmelpfenning, H. Development of a microcomputer vent for forecasting potato late blight using the Pennsylvania State University's Blitecast system (Abs.). *American Potato Journal*, 1978, 55:384.

MacKenzie, D. R. Scheduling fungicide applications for potato late blight with blitecast. *Plant Disease*, 1981, 65:394-399.

MacKenzie, D. R. Blitecast in retrospect a look at what was learned. *FAO Plant Prot. Bulletin*, 1984, 32(2):45-50.

Madden, L.; Pennypacker, S. P. y McNab, A. A. FAST, a forecast system for *Alternaria solani* on four tomato cultivars. *Phytopathology*, 1978, 68 (9):1354-1355.

Maher, E.A. y Kelman, A. Factors affecting susceptibility of stored potato tubers to *Erwinia carotovora*. Report Int. Conf. Potato Blackleg Disease, Potato Marketing Board, 1985, p. 21-22.

Maiero, M.; Bean, G. A. y Ng, T. J. Toxin production by *Alternaria solani* and its related phytotoxicity to tomato breeding lines. *Phytopathology* 1991. 81(9): 1030-1033.

Malamy, J.; Carr, J. P.; Klessig, D. F. y Raskin, I. Salicylic acid: A likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science*, 1990, 250, 1001-1004.

Mansfeld-Giese, K. Plant-to-plant transmission of the bacterial ring rot pathogen *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*. *Potato Research*, 1997, 40, 229-235.

Mateo, N.; Aguilar, D.; Fiallos, W.; Trejo, J. y Salgado, J. Effect of fallow periods on the yield and the incidence of pseudomonas solanacearum on potato in Honduras. *Fitopatología*, 1982, 17(1):24-29.

Mayea-Silverio, S. y Naranjo, M. Estudio sobre la epidemiología del tizón temprano. Tesis de Grado. Universidad Central de Las Villas. 1989.

Mayea-Silverio, S.; Padrón-Pérez, M. A. y Cupull, R. Determinación de las especies de *Phoma* presentes en tubérculos de papa en Cuba. *Centro Agrícola* 1995, 22 (1): 83-85.

Mayea-Silverio, S.; Padrón-Soroa, J.; Soría, M. y Pettersen, G. Despistaje de las enfermedades de los tubérculos de papa almacenados en Cuba. *Centro Agrícola*, 1980, 7 (2): 49-60.

Mayea-Slverio, S. Algunos métodos para el pronóstico del tizón tardío de la papa y las posibilidades de su utilización en Cuba. *Centro Agrícola*, 1975, 2 (2-3): 77-85.

McCarter-Zorner, N. J.; Franc, G.. D.; Harrison, M.D.; Michaud, J.E.; Quinn, C. E.; Sells, I. A.y Graham, D. C. Soft rot *Erwinia* in surface and underground waters in southern Scotland and in Colorado, United States. *J. Appl. Bacteriol*., 1984, 57, 95-105.

McCarter-Zorner, N. J.; Harrison, M. D.; Franc, G.. D.; Quinn, C. E.; Sells, I. A. y Graham, D. C. Occurrence of soft rot *Erwinia* bacteria in the rhizosphere of weeds and crop plants in Colorado, United States and Scotland. *J. Appl. Bacteriol*., 1985, 59, 357-368.

McKee, R. K. Assessment of the resistance of potato varieties to common scab. *European Potato Journal*, 1958, 1:65-80.

Meier, U. Growth stages of the Mono and Dicotyledonous plants. BBCH Monograph. Federal Bureau Centre For Agriculture and Forestry. Blackwell Wissenschafts-Verlag-GmbH, 1997, 622 pp.

Melo, M. S. de.; Takatsu, A.; Uesugi, C. H.; Furuya, N. y Matsuyama, N. Population dynamics of Ralstonia solanacearum isolates in root systems of various crops. Bulletin of the Institute of Tropical Agriculture, Kyushu University, 1998, 22, 45-50

Meneley, J. C. Stanghellini, M. E. Isolation of soft-rot *Erwinia spp.* from agricultural soils using an enrichment technique. *Phytopathology*, 1976, 66, 367-370.

Merz, U. y Walsh, J. A. Serological detection of *Spongospora subterranea f.sp. subterranea* in soil. In: Diagnosis and Identification of Plant Pathogens. Ed: Dehne H.W., Adam, G., Diekmann, M., Frahm, J., Mauler-Machnik, A., Halteren, P. van. Proceedings of the 4th International Symposium of the European Foundation for Plant Pathology, Bonn, Germany, 9-12 September 1996, 1997, p. 125-128.

Michel, V. V.; Mew, T. W. Effect of a soil amendment on the survival of Ralstonia solanacearum in different soils. *Phytopathology*, 1998. 88:300-305.

Mills, D.; Russell, B.W. y Hanus, J. W. Specific detection of *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* by amplification of three unique DNA sequences isolated by subtraction hybridization. *Phytopathology*, 1997, 87:853-861.

Mills, W. R.; y Niederhauser, J. S.; Observations on races of *Phytophthora infestans* in Mexico. *Phytopathology*, 1953, 43: 454-455.

Miyajima, K.; Tanaka, F.; Takeuchi, T. y Kuninaga, S. *Streptomyces turgidiscabies* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1998, 48: 495-502.

Molina, J. J. y Harrison, M. D. The role of *Erwinia carotovora* in the epidemiology of potato blackleg 1. Relationship of *E. carotovora* var. *carotovora* and *E. carotovora* var. *atroseptica* to potato blackleg in Colorado. *Am. Potato J*., 1977, 54, 587-591.

Morales, Y. y Suárez, N. Resistencia de variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) a *Erwinia carotovora pv. carotovora*. *Centro Agrícola*, 1989, 16 (2):14-19.

Mordue, J. E. M. *Thanatephorus cucumeris*. CMI. Description of pathogenic fungi and bacteria. No. 406, Kew Surrey. 1974.

Muiño, B. L.; Espino, M.; Almandoz, J. y Monteagudo, V. Evidencia de resistencia de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary a metalaxyl en Cuba. Resúmenes Tercer Seminario Internacional de Sanidad Vegetal. Ciudad de La Habana, 23-27 de junio, 1997, p. 153.

Mukherjee, A.; Cui, Y.; Ma, W. L.; Liu, Y. y Chatterjee, A. K. hexA of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* strain Ecc71 negatively regulates production of RpoS and rsmB RNA, a global regulator of extracelular proteins, plant virulence and the quorum-sensing signal, N-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone. *Environmental Microbiology*, 2000, 2, 203-215.

Mutombo, T.; Phemba, P.; Lutaladio, N.B.y Kidanemariam, H. M. Evaluation of potato genotypes in different agro-ecological zones in eastern Congo. *African Crop Science Journal*, 1998. 6(4):357-366.

Mygind, H. Methods for the detection of resting sporangia of potato wart (*Synchytrium endobioticum*) in infested soil. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 1954, 4, 317-343.

Nachin, L. y Barras, F. External pH: an environmental signal that helps to rationalize pel gene duplication in *Erwinia chrysanthemi*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2000, 13, 882-886.

Nagesh, M.; Chakrabarti, S.K.; Shekhawat, G.S.; Gadewar, A.V. y Gopal, J. Evaluation of potato accessions for their combined resistance to Pseudomonas solanacearum and Meloidogyne incognita. *Pest Management in Horticultural Ecosystems*, 1997, 3: 17-20.

Nasser, W.; Robert-Baudouy, J. y Reverchon, S. Antagonistic effect of CRP and KdgR in the transcription control of the *Erwinia chrysanthemi* pectinolysis genes. *Molecular Microbiology*, 1997, 26, 1071-1082.

Nasser, W.; Shevchik, V.E. y Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. Analysis of three clustered polygalacturonase genes in *Erwinia chrysanthemi* 3937 revealed an anti-repressor function for the PecS regulator. *Molecular Microbiology*, 1999, 34, 641-650.

Natsume, M.; Ryu, R. y Abe, H. Production of phytotoxins, concanamycins A and B by *Streptomyces spp.* causing potato scab. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 1996, 62: 411-413.

Naumann, K. y Zielke, R. Latent infection of potato tubers with the bacterial soft rot pathogen *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*, and its importance to low-loss potato storage. *Nachrichtenblatt fu den Pflanzenschutz in der DDR*, 1977, 31(1):1-3.

Nelson, G. A. y Olsen, O. A. Methods for estimating numbers of resting sporangia of Synchytrium endobioticum in soil. *Phytopathology*, 1964, 54, 185- 186.

Nelson, G. A. y Kozub, A. G. Survival of *Corynebacterium sepedonicum* at freezing and wide fluctuations between freezing and above-freezing temperatures. *American Potato Journal*, 1990, 64, 625-631.

Nelson, G.. A. Persistence of *Corynebacterium sepedonicum* in soil and in potato stems. *American Potato Journal*, 1979, 56: 71-77.

Nelson, G.. A. Long-term survival of *Corynebacterium sepedonicum* on contaminated surfaces and in infected potato stems. *American Potato Journal*, 1980, 57, 595-600.

Nelson, G.. A. Survival of *Corynebacterium sepedonicum* in potato stems and on surfaces held at freezing and above-freezing temperatures. *American Potato Journal*, 1984, 62, 23-28

Nelson, G.. A. Freeing Russet Burbank potato plants from ring rot by stem cutting and tuber propagation. *American Potato Journal*, 1986, 63, 411-414

Niederhauser, J. S. *Phytophthora infestans*: The Mexican connection. En: Phytophthora. Lucas, J. A., Shattock, R. C., Shaw, D. S. y Cooke, L. R., Eds. Cambridge University Press. England, 1991.

Nielsen, L. W. *Erwinia* species in the lenticels of certified seed potatoes. *Am. Potato J*., 1978, 55, 671-676.

Nyangeri, J. B.; Gathuru, E. M. y Mukunya, D. M. Effect of latent infection on the spread of bacterial wilt of potatoes in Kenya. *Tropical Pest Management*, 1984, 30,163-165.

Olsson, K. Overwintering of Pseudomonas solanacearum in Sweden. En: Sequeira L., Kelman A., Ed. Proceedings of the First International Planning Conference and Workshop on the Ecology and Control of Bacterial Wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. North Carolina State University, Raleigh USA, 1976. 105-109.

Oussier, S.; Vandewalle, P. y Luisetti, J. Genetic diversity of African and worldwide strains of Ralstonia solanacearum as determined by pcr-restriction fragment length polymorphism analysis of the hrp gene region. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65, 2184-2194.

Owens, R. G. Organic sulfur compounds. En: Fungicides, vol 2. Ed. Torgeson, D.C. Academia Press, New York. 1969, p. 147- 292.

Padrón, J. Umbrales de lluvia para el pronóstico del tizón tardío en Cuba. Ciencia y *Técnica en la Agricultura, Serie Protección de Plantas*, 1982, 5 (2): 77-85.

Papoyan, F. y Pérez, L. Método de Naumova para el pronóstico de tizón tardío de la papa. En: Manual de Metodologías de Señalización y Pronóstico de Plagas y enfermedades. Ed. Murguido, C. y Pérez, L. Dirección Nacional de Sanidad Vegetal. 1975.

Paradis, E.; Goyer, C.; Hodge, N.C.; Hogue, R.; Stall, R.E. y Beaulieu, C. Fatty acid and protein profiles of *Streptomyces scabies* strains isolated in eastern Canada. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1994, 44:561-564.

Pastrik, K. H. Detection of *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* in potato tubers by multiplex PCR with coamplification of host DNA. *E. J. Plant Path*., 2000, 106:155-165

Pavlista, A.D. How important is common scab in seed potatoes? *American Potato Journal*, 1996, 73:275-278.

Pazos, V. y Hevesi, M. Marchitamiento bacteriano de la papa. *Revista CNIC*, 1974, 5,131-142

Pazos, V.; Cruz, M. y Hevesi, M. Diferenciación de los aislamientos de la bacteria Pseudomonas solanacearum obtenidos de papa. Forum Nacional de Bacteriología, Tomo I. Dirección General de Sanidad Vegetal, La Habana, Cuba. 1976.

Peltzer, S. y Sivasithamparam, K. Sero-groups of *Erwinia carotovora* associated with water, soil, tuber, and stems of potato plants in Western Australia. New Z. *J. Exp. Agri*., 1988, 16, 265-270.

Pérez, L.; Batlle, A.; Hernández, A.; Trujillo, R.; Alvarez, C. y Méndez, A. Evolution of *Mycosphaerella fijiensis* Morelet population sensibility to fungicides in banana in Cuba. Proceedings of the ACORBAT 2000. San Juan, Puerto Rico. July 31-August 4. 2000.

Pérez, L.; Rodríguez, F. y Benitez, M. A. Azoxystrobin, acibenzolar-S-methyl and iprovalicarb, new active ingredients for the control of tobacco blue mold. Abstracts of paper at the 14th. International Plant Protection Congress. Jerusalem, July 24-August 5th. 2000.

Pérez, L. *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary: genética poblacional, migraciones intercontinentales y su implicaciones en el control. Situación en Cuba. Mesa Redonda "Control del tizón tardío; complejidad de la razas A_1 y A_2". Seminario de Refrescamiento para Alumnos del Curso Internacional de la Papa de América Latina y el Caribe. Centro Internacional de Agricultura de Holanda-Ministerio de Agricultura de Cuba. La Habana, Febrero 19-marzo 1ero. 1995.

Pérez, L. Fungicidas y resistencia a fungicidas. Curso en Fitopatología y Manejo integrado de enfermedades. Maestría en Biotecnología Agrícola. Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador. Escuela Politécnica del Litoral. Guayaquil. 2003, 32 p.

Pérez, L. y Aguiar, L. Evidencia de resistencia al metalaxyl en líneas de *Peronospora tabacina* de Nicaragua. *Ciencia y Técnica en la Agricultura Serie Protección de Plantas*, 1982, 5 (2): 7-14.

Pérez, L.; Rodríguez, F.; Almandoz, J.; Muiño, B.L.; Benítez, M. E. y Parra, J. Azoxystrobin and iprovalicarb, new fungicides for the control of *Peronospora tabacina* in tobacco and *Phytophthora infestans* in potatoes. Resúmenes Tercer Seminario Internacional de Sanidad Vegetal. Ciudad de La Habana. 23-27 de junio. p. 154. 1997.

Pérez, L.; Rodríguez, M. E.; Rodríguez, F. y Roson, C. Efficacy of acybenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance against tobacco blue mold caused by *Peronospora hyoscyami* de Bary *f. sp. tabacin*a. *Crop Protection*, 2002, 22, 405-413.

Pérez, S. Variabilidad cultural, patogénica y genética del agente causal del tizón temprano (Alternaria solani Sor.) del tomate (*Lycopersicum sculentum* Mill.) en Cuba. Tesis para optar por el grado de Dr. en Ciencias Agrícolas. CENSA. Universidad Central de Las Villas, 8 de julio del 2003.

Perombelon, M.C.M. Potato blackleg: Epidemiology, host-pathogen interaction and control. Neth. *J. Plant Path.* 1992. 98 (supplement 2), 135-146.

Perombelon, M. C. M. y Burnett, E. M. Two modified crystal violet pectate (CVP) media for the detection, isolation and enumeration of soft rot *erwinias*. *Potato Research*, 1991, 34, 79-85.

Perombelon, M. C. M. y Hyman, L. J. Survival of soft rot coliforms, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *E. carotovora* subsp. *atroseptica* in soil in Scotland. *J. Appl. Bact.*, 1989, 66:95-106

Perombelon, M. C. M. y Kelman, A. Ecology of the soft rot *erwinias*. *Ann. Rev. Phytopathology*, 1980, 18, 361-387.

Perombelon, M. C. M. y Kelman, A. Blackleg and other potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: proposal for revision of terminology. *Plant Disease*, 1987, 71, 283-285.

Perombelon, M. C. M. The role of the seed tuber in the contamination by *Erwinia carotovora* of potato crops in Scotland. *Potato Research*, 1974, 17,187-199.

Perombelon, M. C. M. Ecology of soft rot *Erwinias* in relation to potatoes. En: Developments in Control of Potato Bacterial Diseases, Report of a Planning Conference, CIP, Perú. 1979, p. 94-119.

Perombelon, M. C. M. Blackleg and other potato diseases caused by soft rot *erwinias*: a proposal for a revised definition of the terminology. Report Int. Conf. Potato Blackleg Disease, Potato Marketing Board. 1985, p. 15-18.

Perombelon, M. C. M.; Fox, R.A. y Lowe, R. Dispersion of *Erwinia carotovora* in aerosols produced by pulverization of potato haulm prior to harvest. *Phytopath., Z.*, 1979, 94, 249-260.

Piña, A., 1980. Estudio bioecológicos y control de *A. solani* en papa. Informe final (no publicado). Problema Principal Estatal 04. INISAV. 68 p.

Piplani, S.; Shekhawat, G.. S. y Ansari, M. M. Incipient soft-rot bacterial flora in apparently healthy potato tubers. *Indian Journal of Plant Pathology*, 1983, 1, 27-33.

Platt, H. W.; White, G.. P. y Howard, R. J. Important new problems with and old disease: late blight of potatoes. Agri-info. Potato Program. Fact sheet 93-38. Charlottetown Research Station. Prince Edward Island Canada. 1993.

Poussier, S.; Trigalet-Demery, D.; Vandewalle, P.; Goffinet, B.; Luisetti, J.; Trigalet, A.; Genetic diversity of Ralstonia solanacearum as assessed by pcr-rflp of the hrp gene region, aflp and 16s rrna sequence analysis, and identification of an African subdivision. microbiology (Reading), 2000, 146,1679-1692.

Powelson, M. L. y Apple, J. D. Soil and seed tubers as sources of inoculum of Erwinia carotovora pv. carotovora for stem soft rot of potatoes. *Phytopathology*, 1984, 74, 429-432.

Pradhanang, P. M.; Elphinstone, J. G. y Fox, R. T. V. Identification of crop and weed hosts of Ralstonia solanacearum biovar 2 in the hills of Nepal. *Plant Pathology*, 2000, 49, 403-413.

Pratt, M. A. A wet-sieving and flotation technique for the detection of resting sporangia of Synchytrium endobioticum in soil. *Annals of Applied Biology*, 1976, 82, 21-29.

Priou, S.; Gutarra, L. y Aley, P. Highly sensitive detection of Ralstonia solanacearum in latently infected potato tubers by post-enrichment enzyme-linked inmunosorbent assay on nitrocellulose membrane. Eppo Bull., 1999, 29, 117-125

Priou, S.; Gutarra, L.; Fernández, H. y Aley, P. Sensitive detection of Ralstonia solanacearum in latently infected potato tubers and soil by post-enrichment elisa. CIP Program Report 1997-98. cip, Lima, Perú. 1998. Pp. 111-121

Quinn, C. E. Occurrence of Erwinia bacteria in surface and underground water, rain and snow. Report Int. Conf. Potato Blackleg Disease, Potato Marketing Board, 1985, p.43-45.

Quinn, C. E.; Sells, I. A. y Graham, D. C. Soft rot *Erwinia* bacteria in the atmospheric bacterial aerosol. *J. Appl. Bact.* 1980. 49,175-181.

Rademaker, J. L. W. y Janse, J. D. Detection and identification of *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* and *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* by non-radioactive hybridization, polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *Can. J. Microbiol*., 1994, 40:1007-1018

Robinson-Smith, A.; Jones, P.; Elphinstone, J. G. y Forde, S. M. D. Production of antibodies to Pseudomonas solanacearum, the causative agent of bacterial wilt. *Food Agric. Inmunol*., 1995, 7, 67-69.

Rodríguez, F. Nuevas alternativas de combate contra poblaciones sensibles y resistentes de *Phytophthora infestans* en papa (Solanum tuberosum, L.) Tesis presentada en opción al Grado Científico de Master en Protección de Plantas. Universidad Agraria de La Habana Fructuoso Rodríguez Pérez. 2000, 64 p.

Rodríguez, F.; Muiño, B. L.; Parra, J. y Primelles, N. Control de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary agente causal del tizón tardío de la papa (*Solanum tuberosum*) con diferentes ingredientes químicos. Resúmenes Tercer Seminario Internacional de Sanidad Vegetal. Ciudad de la Habana. 23-27 de junio. 1997, p. 155.

Rodríguez, F.; Pérez, L. y Almandoz, J. Azoxystrobin and iprovalicarb, new active ingredients for the control of potato late blight. Abstracts of paper at the XIVth. International Plant Protection Congress. Jerusalem, July 24-August 5th. 2000.

Rodríguez, F.; Pérez, L.; Muiño, B. L. y Porras, A. Nuevas alternativas de combate para el control de *Phytophthora infestans* en papa (*Solanum tuberosum* L.). Resúmenes al 4to. Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal. Varadero, 11-15 de junio. 2001, p. 288.

Romeiro, R. da S.; Neves, D. M. S. y Leite, R. S. V. A benzothiadiazole derivate promotes experimental control of bacterial speck (*Pseudomonas syringae pv. tomato*) by activating constitutive host defenses. *Revista Ceres*, 2001, 48 277:389-394 .

Ronda B. H. N.; Beuningen, A. R. van; Gorkink, R. F. J.; Zwaardemaker, N. G. y Janse, J. D. Evaluation of a pcr for detection of Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum (race 3, biovar 2) and *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* and comparison with immunofluorescence microscopy, plating on semi-selective smsa medium, pathogenicity test and fluorescent *in situ* hybridization. Mededelingen-Faculteit Landbouwkundige En Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universiteit Gent, 64, 1999. (3b): 583-591.

Rouanet, C.; Nomura, K.; Tsuyumu, S. y Nasser, W. Regulation of pelD and pelE, encoding major alkaline pectate lyases in *Erwinia chrysanthemi*: involvement of the main transcriptional factors. *J. Bacteriol*. 1999. 181, 5948-5957.

Rowe, R. Potato Health Management. APS. Press. St. Paul. 1993. 178 p.

Roy, C.; Kester, H.; Visser, J.; Shevchik, V.; Hugouvieux-Cotte-Pattat, N.; Robert-Baudouy, J. y Benen, J. Modes of action of five different endopectate lyases from *Erwinia chrysanthemi* 3937. *J. Bacteriol*., 1999, 181, 3705-3709.

Schaad, N. W.; Berthier-Schaad, Y.; Sechler, A. y Knorr, D. Detection of *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* in potato tubers by BIO-PCR and an automated real-time fluorescence detection system. *Plant Disease*, 1999, 83, 1095-1100.

Schneider B. J.; Zhao, J. y Orser, C. S. Detection of *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* by DNA amplification. FEMS *Microbiology Letters*, 1993, 109(2-3): 207-212.

Schober, B. M. y van Vuurde, J. W. L. Detection and enumeration of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* using spiral plating and immunofluorescence colony staining. *Can. J. Microbiol.*, 1997, 43, 847-853.

Scholte, K. Netted scab. In: Potato Diseases: diseases, pests and defects. Ed. van der Zaag, D.E. NIVAA, The Hague, 1996. Pp.59-60

Schoolte,K.; Lootsma, M. y Mol, L. Control of *Verticillium dahliae* and *Rhizoctonia solani* by cultural practices. Abstracts of 13th. Triennial Conference of the European Conference for the Potato Research. Veldhoven, the Netherlands, 14–19 July. 1996. p 134-135.

Schwinn, F. y Staub, T. Phenilamide and other fungicides against Oomycetes. In: Modern Selective Fungicides. Ed. Lyr, H. Gustav Fischer, Verlag. New York, 1995. Pp.323–346

Seal, S. E.; Jackson, L. A.; Young, J. P. W. y Daniels, M. J. Differentiation of Pseudomonas solanacearum, Pseudomonas syzygii, Pseudomonas pickettii and blood disease bacterium by partial 16s rrna sequencing: construction of oligonucleotide primers for sensitive detection by polymerase chain reaction. *Journal of General Microbiology*, 1993, 139, 1587-1594.

Seidel, D. Lista preliminar de hongos fitopatógenos de Cuba. Editorial Pueblo y Educación. La Habana. 1976. Pp.186.

Serfontein, S.; Logan, C.; Swanepoel, A. E.; Boelema, B. H.y Theron, D. J. A potato wilt disease in South Africa caused by *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora* and *E. chrysanthemi*. *Plant Pathology*, 1991, 40, 382-386.

Shattock, R. C. Sobrevivencia de las oosporas de *Phytophthora infestans* en suelo *Phytophthora* Newsletter. (traducción). 1995.

Shattock, R. C.; Tooley, P. W. y Fry, W. E. Genetics of *Phytophthora infestans*. Determination of recombination, segregation and selfing by isozyme analysis. *Phytopathology*, 1986, 76, 410- 413.

Sherf, A. Verticillium wilt of tomato fact sheet. In Vegetable MD Online. Vegetable crops. Department of Plant Pathology, Ithaca. Cooperative Extension, New York State Cornell University. 1980.

Shevchik ,V. E. y Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. Identification of a bacterial pectin acetyl esterase in *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Molecular Microbiology*, 1997, 24, 1285-1301

Singh ,U.; Trevors, C. M.; Boer, S. H. de y Janse, J. D. Fimbrial-specific monoclonal antibody-based ELISA for European potato strains of *Erwinia chrysanthemi* and comparison to PCR. *Plant Disease*, 2000, 84, 443-448.

Singh, U. y Trevors, C. Protocol for the detection of *Erwinia chrysamthemi* using Enzyme linked Inmunosorbent Assay (ELISA) and Polymerase Chain Reaction (PCR). Centre for Animal and Plant Health, PEI, Canada, 1999.

Slabbert, R.; Klerk, A. de y Pretorius, E. Isolation of the phytotoxin thaxtomin A associated with *Streptomyces scabies* (common scab) in potatoes. *Journal of the Southern African Society for Horticultural Sciences*, 1994., 4:33-34.

Slack, S. A. Biology and ecology of *Corynebacterium sepedonicum. American Potato Journal*, 1987, 64, 665-670

Slack, S. A.; Drennan, J. L.; Westra, A. A. G.; Gudmestad, N.C.y Oleson, A.E. Comparison of PCR, ELISA, and DNA hybridization for the detection of *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* in field-grown potatoes. *Plant Disease*, 1996, 80, 519-524.

Sledz, W.; Jafra, S.; Waleron, M.; Malinowska, A. y Lojkowska, E. Diagnostics of pectinolytic *Erwinia* isolated from infected potato plants and tubers by PCR. *Petria*, 1999, 9(1/2), 73-76.

Solórzano, E.; Fernández, A.; Peteira, B. y Fernández, E. Inducción de polifenoloxidasas y fenilalanina amonio liasas en hojas de tomate infectadas con *Alternaria solani*. *Rev. de Protección Vegetal*, 1996a, 11 (3): 153-158.

Solórzano, E.; Fernández, A.; Peteira, B. y León, O. Inducción sistémica de peroxidasas y polifenoloxidasas frente a *Alternaria solani* en tomate por acción del NaH_2PO_4. 1996b.

Solórzano, E.; Fernández, A.; Peteira, B. y León, O. Inducción de isoenzimas polifenoloxidasas y quitinasas en plantas de tomate infectadas con *Alternaria solani*. *Rev. de Protección Vegetal*, 1999, 14 (1): 7-12.

Smith, H. C. The morphology of *Verticillium albo-atrum, V. dahliae*, and *V. trichorpus*. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 1965, 8:450-478.

Spencer, E. Y. History of fungicides. In: Antifungal compounds. Vol.1. Discovery, developments and uses. Ed. Siegel, M. and Sisler, H., Marcel Dekker Inc, 1977, p. 1-18

Spletzer, M. E. y Enyedi, A. J. Salicylic acid induces resistance to *Alternaria solani* in hydroponically grown tomato. *Phytopathology*, 1999, 89: 9, 722-727.

Stanchova, J. Investigations on phytotoxic activity of cultural filtrates of different isolates of *Alternaria solani* [with tomatoes]. *Plant Science*, 1989, 26(3): 97-101.

Stefanova, M. y Amat, Z. El marchitamiento bacteriano del tomate (*Lycopersicon esculentum*) y pimiento (*Capsicum annum*) en Cuba. *Agrotecnia de Cuba*, 1978, 10: 71-78.

Stefanova, M. y Amat, Z. determinación de la raza de aislamientos de Pseudomonas solanacearum. *Ciencia y Tec. en la Agricult. Serie Protección de Plantas*, 1982, 5: 35-47.

Stefanova, M. y Marrero, L. O. Supervivencia de Pseudomonas solanacearum en el suelo ferralítico rojo. *Ciencia y Tec. en la Agricult. Serie Protección de Plantas*, 1983, 6: 95-107.

Stefanova, M. y Prior, Ph. Comportamiento de Pseudomonas solanacearum Smith en suelos de Cuba y Guadalupe a diferentes potenciales hídricos. Resúmenes 2do Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal. K-65. Abril 10-14, La Habana, Cuba, 1990. P. 199.

Stefanova, M. y Rodríguez, I. Milleria quinqueflora L. nuevo hospedero de Pseudomonas solanacearum. *Ciencia y Tec. en la Agricult. Serie Protección de Plantas*, 1978, 3: 135-139.

Stefanova, M.; Muiño, B. L.; Espino, M.; y Pérez, I. Efecto de un biopreparado de Pseudomonas sp., sobre patógenos foliares en tabaco, papa, tomate y pimiento. Avances en biotecnología moderna. II 37. Biotecnología, Habana 95. 1995.

Stefanova, M.; Súarez, N. y Iznaga, R. Hospedantes adicionales de Pseudomonas solanacearum en Cuba. *Ciencia y Téc. en la Agricult. Serie Protección de Plantas*, 1986, 9: 117-122.

Strider, D. L.; Jones, R. K. y Haygood, R. A. Southern bacterial wilt of geranium caused by Pseudomonas solanacearum. *Plant Disease*, 1981, 65, 52-53.

Sunaina, V.; Kishore, V. y Shekhawat, G.. S. Latent survival of *Pseudomonas solanacearum* in potato tubers and weeds. *Zeitschrift Für Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz*, 1989, 96, 361-364.

Sutton, B. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. CMI. Kew Surrey, England, 1980. 696 pp.

Sutton, J. C. Predictive value of weather variables in the epidemiology and management of foliar diseases. *Fitopatología Brasileira*, 1988, 12 (4): 304-312.

Tardy, F.; Nasser, W.; Robert-Baudouy, J. y Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. Comparative analysis of the five major *Erwinia chrysanthemi* pectate lyases: enzyme characteristics and potential inhibitors. *J. Bacteriol*., 1997, 179, 2503-2511.

Taylor, M. C.; Hardwick N. V.; Bradshaw N. J. y Hall, A. M. Relative performance of five forecasting schemes for potato late blight (*Phytophthora infestans*) I. Accuracy of infection warnings and reduction of unnecessary, theoretical, fungicide applications. *Crop Protection*, 2003, 22, 275- 283.

Theron, D. J. y Millard, C. P. Chemical control of Fusarium dry rot: postharvest decay. Abstracts of 13th. Triennial Conference of the European Conference for the Potato Research. Veldhoven, the Netherlands, 1996, 14-19 July. p. 134-135.

Tomás, Y. y López, M. O. Estudio de la sobrevivencia de las oosporas y variación de las poblaciones de *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. *Fitosanidad*, 1999, 3 (2): 45-48.

Tomás, Y. y López, M.O. Sobrevivencia de los propágulos asexuales de *Phytophthora infestans* a diferentes temperaturas. *Fitosanidad*, 1999, 3 (3): 27-30.

Tomlinson, J. A. Crook root of watercress. III. The causal organism *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh. *f.sp. nasturtii* f.sp nov. *Transactions of the British Mycological Society*, 1958, 41, 491-498.

Tooley, P. W.; Sweigard, J. A.; y Fry, W. E. Fitness and virulence of *Phytophthora infestans* isolates from sexual and asexual populations. *Phytopathology*, 1986, 76: 1209 - 1212.

Tsror, L.; Livsku, L.; Haznovski, L.; Erlich, M.; Bing, O. y Yaniv, A. Control of black scurf in potatoes. Abstracts of 13th. Triennial Conference of the European Conference for the Potato Research. Veldhoven, the Netherlands, 14-19 July, 1996, p. 81-82.

Turkensteen, L. J. Survey of diseases and pests in Africa: fungal and bacterial diseases. *Acta Horticulturae*, 1987, 213, 151-159.

Turkensteen, L. J. Fungus diseases. In: Potato diseases: diseases, pest and defects. Ed. Van der Zaag, D.E. NIVAA. The Netherlands, 1996, p. 9-52.

Van der Plank, J. E. Plant Diseases Epidemics and Control. Academic Press, New York, 1963, 349 p.

Van der Zaag D. E. La patata y su cultivo en los países bajos. Instituto Consultativo Holandés de la Papa y Ministerio de Agricultura y Pesca. Holanda, 1970.

Van Everdingen, E. Het verband tusschen de weergesteldheid en de aardapelziekte (*Phytophthora infestans*). *Tijdschr. Plantenziekten*, 1926, 32, 129-140.

Verma, R.K. and Shekhawat, G.S. Effect of crop rotation and chemical soil treatment on bacterial wilt of potato. *Indian Phytopathology*, 1991, 44, 5-8.

Verma, R. K.; Shekhawat, G.. S. y Kishore, V. Effect of cultural practices on bacterial wilt of potato in hills of Uttar Pradesh. *Journal of the Indian Potato Association*, 1997, 24 (3/4):166-168.

Vidal, S.; Eriksson, A. R. B.; Montesano, M.; Denecke, J. y Palva, E. T. Cell wall-degrading enzymes from *Erwinia carotovora* cooperate in the salicylic acid-independent induction of a plant defense response. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1998, 11, 23-32.

Villa, P.; Frías, I.; Gutiérrez, I.; Stefanova, M. y Alfonso, I. Fungicida biológico a partir de Pseudomonas aeruginosa cepa PSS, aislada de suelo. XV Congreso Latinoamericano y V Congreso Cubano de la Ciencia del Suelo. Boletín de la Sociedad Cubana del Suelo Nov. 2001. Pag. 67. (En soporte electrónico). 2000.

Vincent, P. G.. y Sisler, H. D. Mechanism of antifungal action of 2,4,5,6-tetrachloroisophtalonitril. *Physiol. Plant*, 1968, 21: 1249-1264.

Walker, J. C. *Synchytrium endobioticum*. C. M. I. Descriptions of Pathogenic fungi and bacteria, 1983. No. 755. Kew, Surrey.

Wallin, J. R. Forecasting tomato and potato late blight in north central region. *Phytopathology*, 1951, 41, 37-38.

Wallin, J. R. Summary of recent progress in predicting late blight epidemics in the United States and Canada. *Amer. Potato J.*, 1962, 39: 306-312.

Wastie, R. L.; Mackay, G.. R. y Carbonell, J. Effect of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on yield of potatoes from cut and uncut seed tubers in Valencia. *Potato Research*, 1994a, 37, 21-24.

Wastie, R. L.; Mackay, G.. R. y Nachmias, A. Effect of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* alone and with Alternaria solani or *Verticillium dahliae* on disease development and yield of potatoes in Israel. *Potato Research*, 1994b, 37:113-120

Waterhouse, G.. M. y Waterston, J. M. *Phytophthora nicotianae var. parasitica*. C.M.I. Descriptions of Pathogenic fungi and bacteria No. 35. Kew, Surrey, 1964.

Waterhouse, G.. M. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycol. Paper 92. C. M. I., Kew, UK, 1963, 22pp.

Weller, S. A.; Elphinstone, J.G.; Smith, N.C.; Boonham N. y Stead D.E. Detection of Ralstonia solanacearum strains with a quantitative, multiplex, real-time, fluorogenic pcr (taqman) assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66, 2853-2858.

Wenneker, M.; Verdel, M. S. W.; Kempenaar, C. y Janse, J. D. Ralstonia (pseudomonas) solanacearum race 3 (biovar 2), causal agent of potato brown rot, in surface water and natural weed hosts. mededelingen - faculteit landbouwkundige en toegepaste biologische wetenschappen, universiteit gent, 1999, 64(3b):573-582

Woodward, E. J. y Robinson., K. An improved formulation and method of preparation of crystal violet pectate medium for detection of pectolytic Erwinia. *Letters in Applied Microbiology*, 1990, 10, 171-173.

Wullings, B. A.; Beuningen, A. R. van; Janse, J. D. y Akkermans, A. D. L. Detection of Ralstonia solanacearum, which causes brown rot of potato, by fluorescent in situ hybridization with 23s rrna-targeted probes. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64, 4546-4554.

Yen, J. H.; Chen, D. Y.; Hseu, S. H.; Lin, C. Y. y Tsay T. T. The effect of plant-parasitic nematodes on severity of bacterial wilt in solanaceous plants. *Plant Pathology Bulletin*, 1997, 6, 141-153

Yuan, L.H.; Su, Q. L.; Yi , Y. H. y Yuan, B. Study on the tomato bacterial wilt disease - suppressive mechanism of soils. *Acta Phytophylacica SINICA*, 1997, 24(2):121-125.

Zadocks J.C. A quarter century of disease warnings 1958-1983. *Plant Disease*, 1984, 68 (4): 352-355.

Zolobowska, L. y Pospieszny, H. Identification of Erwinia carotovora subsp. carotovora by polymerase chain reaction. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 1999, 32, 479-490.

CAPÍTULO XIV

NUTRICIÓN Y FERTILIZACIÓN

J. A. Herrera y V. Moreno

INTRODUCCIÓN

La papa es un cultivo básico en la agricultura de aquellas regiones donde las características climáticas permitan su cultivo, ya que es uno de los pocos cultivos en regiones tropicales, que brinda más de 20 toneladas por hectárea de alimento de mucha aceptación para la población en solo 80-120 días de desarrollo. Por ello y por sus exigencias edafoclimáticas, las áreas de producción generalmente se ubican en los suelos más productivos y en la época más fría del año.

Se caracteriza por una alta demanda de nutrientes para lograr rendimientos económicamente aceptables (por ejemplo, 3.5-0.9-5.3 kg de N, P_20_5 y K_20. t^{-1} de tubérculos), llegándose a aplicar cantidades de hasta 400-200-300 kg de N-P_20_5-K_2O. ha^{-1} (INCA, 1987).

Es un cultivo altamente tecnificado dado sus exigencias fisiológicas intrínsecas, las características de los suelos y del clima donde se cultiva y de los sistemas de producción que le son propios. Mantener estable la producción de papa requiere un gran esfuerzo por parte de las instituciones involucradas en las cadenas productivas, los investigadores y extensionistas. El problema es más serio en áreas tropicales, donde las condiciones climáticas y de los suelos no son totalmente favorables para su cultivo, lo que trae consigo que es necesario utilizar cuantiosos recursos financieros y materiales.

Por ello, en aquellas regiones donde se obtienen altos rendimientos, se desarrollan sistemas agrícolas de altos insumos, especialmente de fertilizantes. Así como la existencia del ser humano y de los animales depende primariamente de un adecuado suministro de alimentos, las plantas requieren nutrientes. (Johnston, 2000). Sin embargo, un análisis realizado por Moreno y Mojena (2001) dio como resultado que no existe siempre una relación directa entre la cantidad de fertilizante suministrado y el rendimiento comercial en las diferentes campañas paperas, y que generalmente cuando se aplican cantidades excesivas de fertilizantes, su eficiencia económica disminuye considerablemente. Además, con el uso de elevadas dosis de fertilizantes pueden ocurrir afectaciones al medio ambiente.

Es una tarea compleja respaldar altos rendimientos desde el punto de vista nutricional. La fertilización de un cultivo trae consigo el manejo de profundos conocimientos científico-técnicos y experiencia práctica; se trata de conocer los fundamentos fisiológicos de la nutrición de la papa, de la dinámica de los nutrientes en los suelos dedicados al cultivo, de su lugar en la rotación, de las particularidades climáticas de cada región, de su entorno socio económico y de la interacción mutua de esos factores, para poder diseñar sistemas tecnológicos que tomen en cuenta los conocimientos anteriores y las particularidades de la agricultura y de la economía de cada región. Un uso eficiente de los fertilizantes es esencial para prevenir contaminación ambiental y ahorrar energía fósil (Smilde, 1988).

Existe una copiosa bibliografía sobre fertilización de la papa, lo que brinda posibilidades para definir sistemas propios para cada región, tipo de variedad (de ciclo corto o largo, temprana media o tardía), en relación con el sistema agrícola general del cultivo y del área en que se desarrolla. Y en menor medida de acuerdo al destino (consumo directo, almacenamiento, elaboración industrial o para producir almidón y otras materias primas).

La historia reciente de la fertilización de la papa en Cuba ha transcurrido por varias etapas. Hasta la década del 60 del pasado siglo se cultivaban áreas pequeñas, en las cuales se aprovechaban los abonos orgánicos en combinación con fertilizantes minerales. A partir de esa fecha, se comenzó a extender el cultivo, a concentrarlo en empresas mayores y a descansar la nutrición del cultivo en el uso de elevadas dosis de nutrientes. En la campaña 1969-1970, a partir de resultados de investigaciones, se decidió disminuir a casi la mitad las dosis de portadores NPK en la plantación, en un proceso de perfeccionamiento de las tecnologías en el cultivo (Tabla 1). Posteriormente se fueron incrementando las dosis, hasta la campaña 1997-1998 en que se definió una estrategia más acorde a las condiciones del país y a las características de los suelos dedicados al cultivo de la papa (Moreno *et al*., 2002).

Lógicamente, los incrementos de rendimiento se deben a la elevación general del nivel tecnológico en el cultivo. Aún existen potencialidades para incrementar la eficiencia de la fertilización, para alcanzar el objetivo de niveles superiores a 40 kg de tubérculo por kilogramo de nutriente aplicado, aún por debajo de las 50 libras de papa por tonelada de nutriente aplicado reportada por la literatura internacional para los principales productores (Moreno, 1994).

Otro elemento a tomar en cuenta son las variaciones en la fertilidad del suelo, de cuyo balance se puede deducir la acumulación de estos por excesos de fertilización y el posible uso de las reservas que se han ido creando (Tabla 2).

Tabla 1. Comportamiento de la aplicación de nutrientes en el cultivo de la papa en Cuba (actualizado de Deroncelé (1983), Medina *et al.* (2001) y Moreno (2000)

Quinquenio	Rendimiento ($t.ha^{-1}$)	Dosis aplicada $kg.ha^{-1}$				kg tubérculo/kg nutriente aplicado
		N	P_2O_5	K_2O	Total	
1971-1975	10.9	195	316	388	899	12.1
1976-1980	15.7	139	196	266	601	26.1
1981-1990	18.2	248	185	229	662	27.5
1991-2001	19.4	260	190	280	730	25.3
Proyección	21.5	185-235	140-275	195-390		> 40

Tabla 2. Cambios de las reservas de P_2O_5 y K_2O en el suelo Ferralítico Rojo con un experimento de siete años de duración (1992-1998) conducido en la Estación Experimental La Reneé

Tratamientos ($kg.ha^{-1}$) de nutrientes			Reserva asimilable en la capa de 0-30 cm								Rendimiento en tubérculo ($t.ha^{-1}$)
			mg/100 g de suelo P_2O_5				mg/100 g de suelo K_2O				
N	P_2O_5	K_2O	1992	1998	Balance	Export. ($kg.ha^{-1}$)	1992	1998	Balance	Export. ($kg.ha^{-1}$)	
0	0	0	101	87	- 14	222	30	24	- 6	728	27,5
226	0	0	101	85	- 16	379	30	22	- 8	1399	27,5
316	0	0	101	83	- 18	347	30	22	- 8	1324	26,4
405	0	0	101	81	- 20	376	30	20	- 10	1401	26,8
226	75	119	101	120	+ 19	374	30	30	0	1367	26,1
316	149	239	101	133	+ 31	379	30	32	+ 2	1394	25,9
405	224	358	101	143	+ 41	387	30	34	+ 4	1415	26,3

La rotación durante los siete años fue de papa-maíz-barbecho y la exportación reportada es la suma de lo exportado por los tubérculos y los granos de maíz en ese tiempo.

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE LA PAPA RELACIONADAS CON SU NUTRICIÓN

El conocimiento de los diversos estadios de desarrollo de las plantas de papa y de la asimilación de nutrientes durante el crecimiento y desarrollo, es de importancia clave para determinar los sistemas de fertiliza-

ción. La papa es un cultivo que requiere asimilar grandes cantidades de nutrientes en un breve período de tiempo, ya que su sistema radical es fibroso, ramificado, poco desarrollado y superficial, lo que limita la intercepción radical de los nutrientes. Presenta un crecimiento acelerado de su follaje que se expande libremente y un período relativamente corto de engrosamiento de los tubérculos, como órgano de reserva (Grüner, 1972 y De Geus, 1967).

El rendimiento del cultivo depende en gran medida de que se forme un follaje capaz de aprovechar intensa y eficientemente la radiación solar, pero que al mismo tiempo la partición de los metabolitos formados favorezca la acumulación de las reservas en el tubérculo y no en el crecimiento excesivo del follaje. Kupers (1985) señala que debe tomarse en cuenta que las plantas de papa necesitan altas cantidades de N y K durante el engrosamiento de los tubérculos y que aparte de las concentraciones de estos elementos en el suelo, la capacidad del sistema radical para tomar esas grandes cantidades de nutrientes hasta la cosecha define en gran medida la longitud de la duración de las hojas activas y por lo tanto el rendimiento del área.

Si se ha desarrollado un follaje excesivo, puede suceder que el débil sistema radical no sea capaz de tomar la cantidad de nutrientes que necesita la planta en la etapa de crecimiento intenso, por lo que comienzan a movilizarse dichos nutrientes desde las hojas viejas que comienzan a senescer (al afectarse el sistema regulatorio de la planta) y causan la muerte de la planta, antes de desarrollar todo su potencial de rendimiento. Esta situación es propia de climas tropicales con alta humedad y temperatura. Esto es importante ya que la productividad de cualquier cultivo, medida como el rendimiento total en materia seca producida por unidad de área, esta directamente relacionada con la intercepción total de luz. Una cobertura foliar cerrada y bien provista de agua, puede usar solamente una limitada cantidad de luz por día para la producción de materia seca, por lo tanto, la productividad final de un cultivo está estrechamente relacionada al número de días durante el cual la cobertura foliar funciona como fuente de energía sintetizada. (Kupers, 1985).

El incremento de rendimientos debido a la aplicación de fertilizantes tiene como límites la posibilidad de aprovechamiento de la radiación luminosa, el suministro de agua, las particularidades de las variedades, la relación entre la tasa de fotosíntesis y la respiración, y cuanto factor influya en la duración del ciclo de vida de las plantas. Al estudiar la acción de cada nutriente, no debe descuidarse la ocurrencia de anta-

gonismos y sinergismos entre ellos y las condiciones del entorno. También debe tomarse en cuenta la acción de la ley de los incrementos de rendimientos no proporcionales, la cual postula que a medida que un cultivo se acerca a sus rendimientos máximos, cada incremento exigirá una tasa mayor de nutrientes por unidad de rendimiento, afectando la rentabilidad del cultivo (Voisin, 1970).

También la fertilización se relaciona estrechamente con la calidad de la papa, que se expresa en el calibre de los tubérculos, contenido de materia seca, almidón y monosacáridos, y tenores de nitratos, elementos que se afectan por la intensidad, calidad y época de fertilización, especialmente potásica.

Durante su período de mayor absorción, una hectárea de papa puede retener hasta 4.3-4.5 kg N, 0.3-07 kg P_2O_5, 7.2 kg K_2O, 1.3-1.8 kg Ca, 0.6-1.1 kg Mg y 0.3 kg S por día. La absorción total de nutrientes dependerá de numerosos factores como el rendimiento obtenido (Tabla 3), la disponibilidad de nutrientes que tuvo la planta y la variedad. La mayor necesidad de nutrientes ocurre en la papa durante el tiempo que transcurre entre el inicio de la tuberización y el final de la etapa de floración, mostrando una estrecha correlación con el engrosamiento de los tubérculos. La absorción de nutrientes en esta primera etapa de desarrollo de las plantas de papa es más rápida que la producción de materia seca.

En el inicio de la tuberización, habiéndose formado solamente 1/5 de la masa seca total final de las plantas, la asimilación de nutrientes minerales puede ascender al 40 % del total. Al final de la floración, con un 45 % de la producción de masa seca, ya la planta ha asimilado el 75 % de los nutrientes (Grüner, 1972 y De Geus, 1967). Como conclusión práctica, es necesario respetar la “ley del anticipo”, ya que los nutrientes deben estar disponibles a las plantas en épocas tempranas y en cantidades suficientes (Van der Zaag, 1990).

Tabla 3. Absorción de nutrientes por las plantas de papa (compendio de varios autores)

Rendimiento ($t.ha^{-1}$)	Absorción ($kg.ha^{-1}$)				
	N	P_2O_5	K_2O	CaO	MgO
18.75	90	43	194		
20	70-90	18-40	106-195	75	15
25	88-120	23-45	133-200	70	
30	105-150	27-60	160-270	90	30
> 30	140-150	36-40	213-250		

Como se observa, los valores presentan un amplio rango, lo que se explica por diferencias varietales, de fertilidad del suelo, de dosis aplicadas, etc. De todas formas, se recibe una idea de la relación entre los distintos nutrientes y la relación entre rendimiento y absorción.

Otra forma práctica de reflejar la absorción de nutrientes es representando la eficiencia en términos de producción de tubérculos por kilogramo de nutriente aplicado. García *et al*. (1999) plantean 3.5, 1.0 y 5.3 $kg.ton^{-1}$ de N, P y K respectivamente. Un ejemplo se tiene con el K (Tabla 4). Como se observa, existen variaciones entre los autores, que se deben a causas diversas, fundamentalmente los niveles de rendimiento y las dosis de K aplicadas.

Tabla 4. Relación entre el K extraído por las plantas de papa y la producción de tubérculos

Extracción de K/tonelada de tubérculo	Autores
2.4-3.0	Deroncelé *et al*. (1983)
7	Tremols (1978a)
6.6	Bezuglaya (1979)
10.9	Sahota *et al*. (1988)

Estudios realizados sobre suelos de diferentes niveles de abastecimiento, muestran que la producción de papa por unidad de fertilizante potásico aplicado, disminuye según aumenta el nivel de potasio en el suelo. Así, por cada kg de fertilizante se pueden obtener 28,7; 10,8 y 0,22 kg de papa en suelos pobres, medios y elevados en K, respectivamente (Tremols, 1978a). Estos resultados responden al modelo típico de respuesta a la fertilización y la posibilidad de ocurrencia de consumo de lujo del K.

La aplicación de fertilizantes influye decisivamente en la extracción de nutrientes, tanto por la ocurrencia de interacciones iónicas internas o externas, como por el aumento lógico de requerimientos al incrementarse la potencialidad de altos rendimientos (De Geus, 1967).

Guerra (1980) encontró que el N y el P aplicado en suelos Ferríticos de la provincia de Camagüey, incrementaban la extracción de los nutrientes, mientras que las dosis de K causaron un efecto depresivo en el consumo de N en dosis por encima de 140 kg $K_2O.ha^{-1}$. Grüner (1972) informa un efecto sinérgico del incremento de las dosis de macroelementos que elevan los requerimientos de Mg. En estos casos, si los suelos no están bien abastecidos con Mg, es necesario incorporar este elemento en la fórmula fertilizante o mediante dolomita si el suelo

es ácido. Tremols (1978 a) plantea que el K antagoniza al Ca, pero no afecta significativamente al Mg. Al aplicarse K se eleva el contenido de K, Ca y Mg en los tubérculos, pero disminuye el contenido de Mg en las hojas peciolos.

Junto a la extracción, que da una indicación de las necesidades de fertilización del cultivo, la exportación de nutrientes con la cosecha permite evaluar una parte del balance de aportaciones y pérdidas de nutrientes.

Venegas (2001) precisa valores de exportación de nutrientes en relación con la producción de tubérculos (Tabla 5).

Tabla 5. Exportación de nutrientes por tonelada de tubérculos (kg.t^{-1}) Venegas (2001)

	N	P_2O_5	K_2O
Tubérculos	3.5	0.9	5.3
Planta	2.0	0.36	5.5

Esto datos indican que con un rendimiento de 30 t.ha^{-1}, se exportan alrededor de 105-120 kg de N, 27-36 kg de P_2O_5 y 159-174 kg de K_2O.

Un factor importante en la fisiología de la nutrición de la papa viene dado por las particularidades de cada variedad. Las variedades se diferencias significativamente en la densidad de la raíz, en la madurez y en su respuesta a los momentos de aplicación de nutrientes y las condiciones medio ambientales, por lo que siempre que sea posible se debe definir el manejo específico para cada una de ellas. El rendimiento óptimo y la calidad deben ser el resultado de utilizar tales practicas y la fertilización es uno de los factores que deben permitir que se manifiesten las características productivas deseadas en cada variedad (Mortvedt *et al*. 2001).

Nutrición nitrogenada. El N es uno de los principales factores que inciden en los rendimientos de la papa en todas las zonas productivas; con una aplicación adecuada de N se pueden producir más de 100 kg de tubérculo por kilogramo de N aplicado (Kupers, 1985), pero si no se aplica adecuadamente como fertilizante limita los rendimientos por su papel en estructuras y procesos vegetales.

La absorción de N por las plantas de papa se realiza en forma de nitrato (NO_3^-) y de amonio ($NH4^+$), sin diferencias importantes entre ellos, debido a las reservas de carbohidratos en los tubérculos que permite utilizar el amonio absorbido y por la rapidez de los procesos de nitrificación en el suelo, que transforma los iones amonio en nitrato.

Con la presencia de suficiente P y K, el N incrementa marcadamente la magnitud del follaje, las ramificaciones y la fotosíntesis, al estimular los meristemos apicales y laterales que determinan la arquitectura de las plantas; incrementa el número de células en las hojas pero no influye en el tamaño celular (Burton, 1966; Deroncelé *et al*., 1983). Estudios anatomorfológicos indican un efecto favorable del N en el área foliar y en los tejidos vasculares del tallo y la raíz. Con incremento de dosis hasta 120 kg $N.ha^{-1}$ aumentan el área foliar, el espesor del floema, del haz y el diámetro de los vasos del xilema; aumenta el número de granos de almidón por célula.

Representa entre el 40 y el 50 % de la materia seca del protoplasma, siendo el nutriente de mayor importancia en la estructura de la clorofila y en la formación de proteínas vegetales, si bien la aplicación alta de N puede afectar el contenido de materia seca en los tubérculos cuando su relación internutriente con el P y K no es adecuada; favorece esta cuando se aplica el N necesario con las correspondientes cantidades de P y K. La producción total de almidón se incrementa al unísono con el rendimiento; por el contrario, un déficit de N da lugar a mayores índices de materia seca en los tubérculos, pero la producción total de almidón también decrece junto con el rendimiento; aumenta el contenido de proteína cruda y digerible y de aminoácidos esenciales en los tubérculos y por lo tanto, el valor biológico de la papa (Burton, 1966 y Grüner, 1972).

Influye en la tuberización, debido a que favorece una gran superficie de fotosíntesis por el follaje y es un valioso constituyente de las enzimas, que participan en la migración del almidón hacia los tubérculos. El N tiene mayor efecto en el peso y tamaño de los tubérculos que en su número (Grüner, 1972). No existe coincidencia con relación a sí este nutriente afecta el momento de inicio de la tuberización, pero al aplicar dosis altas habrá menos materia seca disponible para los tubérculos, al favorecer el desarrollo unilateral del follaje en detrimento de la formación de almidón para los tubérculos, lo que es más evidente con un contenido excesivo de N y deficiencias de P y K. Los cultivos suministrados con altos niveles de N alcanzan la máxima producción de tubérculos más tarde que aquellos que recibieron menores niveles de este nutriente. Si un cultivo madura antes del final del período disponible de crecimiento indica que la cantidad de N aplicado debió ser mayor (Beukema y Van der Zaag, 1990).

El N es necesario en grandes cantidades desde etapas tempranas de desarrollo para poder formar un follaje capaz de una fotosíntesis intensa, que tiene que estar a disposición de las plantas hasta la floración. Luego de esta etapa, la planta sigue necesitando N en menor proporción hasta la fase de pleno engrosamiento de los tubérculos. Existe un máximo en la etapa de crecimiento intenso, a partir de que la planta alcanza 15-20 cm de altura. Los tenores de N disminuyen en el follaje una vez que comienza la tuberización (Van de Zaag, 1990).

Mucho más nitrógeno debe ser absorbido por las plantas para producir una tonelada de tubérculo en las etapas tempranas, en comparación con las etapas tardías de desarrollo. La absorción más rápida de N se necesita cuando las plantas y el sistema radical son pequeñas y menos capaces para extraer N del suelo, lo que sugiere que si en ese momento hay suficiente N, las plantas pueden tomarlo más rápido que lo necesario y preparar reservas dentro de ella (Greenwood *et al*., 1985).

Considerando lo anterior, la influencia del N en el desarrollo de las plantas de papa puede utilizarse para dirigir un cultivo en su desarrollo; por ejemplo, menos nitrógeno se utiliza cuando se quiere acortar el ciclo vegetativo del cultivo (Havekort, 1987).

A diferencia de muchos cultivos, los requerimientos de N de la papa varían grandemente, de acuerdo a las variedades. Variedades de ciclo largo tienden a necesitar más nitrógeno que las de ciclo corto, pero hay otras diferencias propias de las variedades en cuestión. También difieren las variedades en su respuesta al momento de aplicación de N. Muchas de ellas poseen sistemas radicales poco desarrollados, necesitando cantidades altas de nitrógeno en la zona radical, e incluso en la mayoría de los casos, parte de este nitrógeno quedará sin usar. De acuerdo a todo lo anterior, variedades diferentes no responderán igual a un programa de nitrógeno dado. Debido a ello, los productores deben conocer bien la variedad particular de papa que ellos utilizan. Los productores que intenten tratar igual una variedad que otra, van a fallar; ellos tienen que ser los líderes en el diseño de programas de nitrógeno para cada variedad, ya que los investigadores tienen informaciones pero les falta recursos o tiempo para enfrentar todas las variables (Mortvedt *et al*., 2001 y Bennett, 1999).

El efecto del N depende en gran medida del momento en que esté a disposición de la planta y de las condiciones climáticas. El efecto del N en los hábitos de crecimiento de las plantas de papa es mayor con tem-

peraturas altas y alta humedad, pudiendo ocurrir plantaciones muy vigorosas pero con rendimientos bajos (Beukema y Van der Zaag, 1990). ***Síntomas de deficiencias y excesos.*** Los síntomas visuales de carencias de N son: crecimiento achaparrado, tallos finos y débiles; pero verticales por el escaso desarrollo del follaje y la planta toma un porte erecto; hojas angostas, de color verde claro y de menor tamaño. Con el paso del tiempo comienzan a clorotizarse y a secarse por el ápice y los bordes al reducirse la tasa de fotosíntesis y con ello la producción de carbohidratos, hasta caer prematuramente. Los síntomas se inician por las hojas viejas, por ser móvil el N dentro de la planta y trasladarse a las hojas jóvenes (Burton, 1966 y Grüner, 1972).

El exceso de N tiende a alargar el período vegetativo de la planta e incrementar el follaje, un desarrollo exuberante y atrasos en la maduración de la parte aérea. La absorción de P se afecta. Se acorta el período de engrosamiento de los tubérculos y de acumulación de almidón, el tamaño y el número de tubérculos se reduce y con ello el rendimiento, se atrasa la madurez del tubérculo, disminuye la gravedad específica, se debilita la piel, puede ocurrir brotación de los tubérculos por exceso de vigor, puntas gelatinosas y corazón negro, todo lo cual afecta adversamente la calidad del tubérculo y las características para almacenamiento; disminuye el índice de cosecha (relación follaje/tubérculo), con lo que parte de los carbohidratos producidos quedarán en la porción no productiva del cultivo; puede causar un bajo contenido de masa seca, alto contenido de azúcares reductores y de proteínas y nitratos, especialmente si se cosecha antes de completar la madurez natural.

El incremento en el contenido de amidas perjudica el sabor. Estas plantas son más susceptibles al crecimiento secundario y a los daños mecánicos. Provoca un alargamiento del período vegetativo, lo cual puede significar que la cosecha se atrasa y puede llegarse a períodos no propicios para el cultivo, como puede ser el incremento de la temperatura y el comienzo de la lluvia, propios para plagas y enfermedades y perjudiciales para la cosecha o morir la planta antes de la maduración del tubérculo o incluso sin terminar su período de engrosamiento (Bennett, 1999; Canto y Pugliese 2001 y Mortvedt *et al*., 2001).

Las causas de estos problemas se asocian generalmente con desbalances del N con otros nutrientes, por lo que un método para compensar el exceso de N es aplicar mayores dosis de P y K, pero no se resuelve el problema y se encarece el cultivo. Tanto las carencias como los excesos deprimen los rendimientos.

Nutrición fosfórica. Después del nitrógeno, el fósforo es el nutriente que más limita la producción de los cultivos en los suelos de áreas tropicales y es el que más bruscamente manifiesta sus deficiencias (Menon *et al*.,1991). El fósforo se asimila por las plantas como dihidrógeno y monohidrógeno fosfato. ($H_2PO_4^-$ y HPO_4^{2-}).

El papel del P en las plantas de papa se manifiesta en todas las funciones vitales y la mayoría de los procesos metabólicos, especialmente los relacionados con procesos de síntesis de diferentes compuestos como los hidratos de carbonos y grasas, la acumulación de energía, la actividad meristemática, la expansión de las hojas y el índice de área foliar, el desarrollo del sistema vascular y radical, y en dosis altas acelera la madurez, todo lo que puede afectar los rendimientos (Burton, 1966).

Este elemento se encuentra en las plantas tanto en forma orgánica como mineral. En forma mineral como sales potásicas, cálcicas y magnesiales del ácido ortofosfórico, en una proporción menor que los compuestos orgánicos. Entre estos últimos se encuentran los ácidos nucleicos relacionados con la síntesis de albúmina, crecimiento, reproducción y herencia; los nucleótidos, especialmente el ATP, el cual actúa como transportador energético en los procesos metabólicos; los fosfolípidos que forman parte de las membranas celulares y participan en la regulación de la selectividad de la planta en relación con las diferentes sustancias y nutrientes; ésteres del ácido fosfórico y los azúcares, participante en la fotosíntesis, la síntesis de carbohidratos y la respiración, y la fitina (compuestos de acumulación de energía que luego se utilizará en los procesos de brotación) (Deroncelé *et al*., 1983 y Reddy *et al*., 1986).

Se concentra en las zonas de mayor actividad fotosintética del vegetal. Influye más en el número que en el engrosamiento de los tubérculos, en el adelanto del inicio de la tuberización y acelera el desarrollo del cultivo. Se concentra en las zonas de intensa actividad metabólica (Burton, 1966).

Algunos autores plantean que su efecto en el contenido de materia seca de los tubérculos no es significativo, sin embargo, el ácido fosfórico tiene una importante participación en la formación de los azúcares y el almidón y, en general, el metabolismo de los hidratos de carbono es regulado por compuestos fosfatados ricos en energía, influye en el incremento del área fotosintética y la traslocación de los productos de la fotosíntesis hacia los tubérculos (Reddy *et al*., 1986 y Burton, 1966). La calidad de la fécula que se obtiene de la papa depende mucho del

ácido fosfórico contenido en ella, que puede fluctuar ente 0.12 y 0.28 % P_20_5 en la masa seca, con una relación directa a la viscosidad y sus propiedades aglutinantes, ambas deseadas por la industria (Grüner, 1972).

Las cantidades que absorbe son relativamente pequeñas en comparación a sus requerimientos de N y K, entre 13 y 33 kg.ha^{-1} (Burton, 1966). El reducido requerimiento interno puede deberse a que los fosfatos son utilizados tres veces por las plantas a partir de su absorción. Sin embargo, este requerimiento interno difiere de su requerimiento externo, o sea, la concentración óptima de P en la solución del suelo, que correlaciona con un buen crecimiento de la planta, correspondiente con el 95 % de rendimiento máximo.

En la papa el requerimiento externo es de 0.2 ppm de P y con 0.08 ppm P se asegura el 75 % del rendimiento máximo (Van der Zaag *et al*., 1978). Este cultivo acumula una mayor porción del P que necesita en las primeros etapas de su desarrollo y durante su período de crecimiento activo, muchas plantas mantienen entre 0.3 y 0.5 % de P en la masa seca. Para lograr esto, ellas necesitan tomar de la solución del suelo entre 0.5 y 1.0 kg P, como iones fosfatos, por hectárea por día. Pero en cualquier momento, incluso en suelos bien suministrados con P, la cantidad total de P en la solución del suelo pueda estar solamente entre 0.3 y 3 kg.ha^{-1}, y no todo ese P es directamente asimilable, ya que todas las raíces no están en contacto con la solución del suelo. Por lo tanto, el P en la solución del suelo debe renovarse frecuentemente, a veces varias veces en el día, a partir del P directamente disponible (Kupers, 1985; Manrique, 1988; Manschner, 1995 y Johnston, 2000).

Cuando termina de desarrollarse el sistema radical, se detiene prácticamente la absorción de P al no existir intercepción radical, el nutriente se traslada a los tubérculos, por lo que el follaje se empobrece con P y N, decae y con ello la fotosíntesis (Kupers, 1985). Realmente este cultivo es bastante ineficiente para utilizar el fósforo del suelo, lo que explica que se hayan encontrado respuestas a su aplicación como fertilizante en suelos con niveles altos de este nutriente en forma asimilable (Vitosh, 1990).

Síntomas de deficiencias y excesos. Los síntomas visuales de deficiencia consisten en tallos y hojas pequeñas y delgadas con una coloración verde oscuro sin brillo, que se encrespan y comienzan a secarse los bordes. En algunas variedades ocurre clorosis internervial. Al tacto, las hojas parecen compactas, con tendencia a la rigidez y ligeramente diri-

gidas hacia arriba al igual que los peciolos. Las plantas presentan menor desarrollo que las bien nutridas, adoptan un hábito de crecimiento erecto, disminuye la capacidad fotosintética, la intercepción de la radiación solar y se incrementa la respiración, con lo que es menor la asimilación neta. El sistema radical se desarrolla pobre y disminuye el número y tamaño de los tubérculos, los cuales pueden mostrar manchas pardo rojizas en su interior (Grüner, 1972). En estudios anatomorfológicos, se observó que ante un déficit de P, se observan afectaciones en la estructura del xilema y del floema, pequeñas cantidades de tejido vascular en el tallo y membranas finas y poco desarrolladas en los elementos del xilema; su aplicación influyó positivamente en el espesor del xilema y el haz floemático, en el diámetro de sus vasos y en el número de granos de almidón (De Geus, 1967).

El exceso de P también limita los rendimientos al acortar el ciclo vegetativo y alterar el balance de nutrientes dentro de las plantas, causando antagonismos con otros nutrientes esenciales, como por ejemplo el Zn (De Geus, 1967). Las carencias de P alargan el período vegetativo a costa de la tuberización.

Nutrición potásica. El cultivo de la papa es uno de los mayores consumidores de K (en forma de ion K^+), incluso por encima de sus necesidades, pudiendo llegar a extraer hasta 280 kg $K_2O.ha^{-1}$; de ellos se exportan alrededor de 200 con los tubérculos (De Geus, 1967 y Valdés *et al*., 1981); puede ocurrir el llamado "consumo de lujo", sin afectaciones al cultivo en dosis que no sean excesivamente elevadas. Sin embargo, solamente en contadas ocasiones, como cuando su contenido intercambiable en el suelo es inferior a 15 $mgK.100g^{-1}$ de suelo, se encuentra respuesta en rendimiento a su aplicación como fertilizante. La planta, unas cuantas semanas después de su brotación, asimila ávidamente el potasio, y disminuye sensiblemente la asimilación después de alcanzarse la época de follaje máximo (Van der Zaag, 1990).

El papel del K en las plantas es esencial para la economía del agua, por su acción en la turgencia de las células, en la fotosíntesis, la respiración, las síntesis y el transporte de azúcares y almidón hacia los tubérculos, el metabolismo de las grasas y las proteínas, siendo el principal nutriente que regula la activación y la actividad enzimática, lo que explica las altas necesidades de este nutriente por el cultivo.

Incrementa la resistencia al estrés hídrico, facilitando la utilización del agua disponible y coadyuva a la resistencia a plagas y enfermedades, favorece el índice de área foliar y la duración del follaje e incrementa

el índice de cosecha; incrementa el tamaño y peso de los tubérculos e incluso en la producción de papa de semilla, a pesar de que el por ciento de tubérculos pequeños es menor, la producción de propágulos es mayor, ya que aumenta el rendimiento total (Grüner, 1972). No incrementa la ramificación de las plantas ni la producción de hojas como el N y el P, pero incrementa el tamaño de las hojas superiores y favorece su longevidad. Favorece un desarrollo temprano y el vigor de los tallos. Se informa que incrementa el contenido de clorofila en las hojas y favorece la síntesis de proteína y la respiración; al facilitar el traslado, principalmente nocturno, de los carbohidratos hacia los tubérculos y estolones, estas quedan capacitadas para nuevas síntesis (Burton, 1966; Reddy *et al*., 1986 y Venegas, 2001).

El potasio es considerado por Venegas (2001), como sinónimo de calidad en los cultivos, sin embargo, esta es una cuestión debatida en la literatura científica, principalmente cuando la calidad del tubérculo se mide por su gravedad específica, de la cual se deduce el contenido en almidón. Variados autores hasta la década de 1970 planteaban que la disponibilidad de K en el suelo para la papa favorece el contenido de almidón en los tubérculos, pero en suelos bien abastecidos la fertilización no eleva su porcentaje, aunque la producción total puede elevarse al unísono del rendimiento total.

De igual forma, el efecto de la aplicación de fertilizantes potásicos en la producción de almidón debe analizarse con cuidado, pues depende de la dosis, de la fertilidad del suelo y del portador. El contenido de almidón asciende junto con la dosis hasta un punto de inflexión, aunque la producción total de almidón sigue aumentando junto al rendimiento, lo cual indica que si el objetivo es lograr tubérculo con mayor contenido, deben utilizarse dosis inferiores a las necesarias para la mayor producción de tubérculos (Burton, 1966). Un efecto marcado pueden tener los portadores potásicos, de acuerdo con el anión acompañante, lo que se analizará en el epígrafe correspondiente a “Formas de nutrientes y tipos de fertilizantes”.

Las aplicaciones adecuadas de K reprimen la aparición del “corazón vacío” en los tubérculos y favorece la resistencia en condiciones de almacenamiento. Las cualidades de la papa para almacenamiento se refuerzan en los suelos arcillosos en comparación con los arenosos y con niveles adecuados de K.

No forma parte de compuestos estructurales de la planta, por lo que es muy móvil dentro de ella y incluso pudiera perderse de las hojas ante

fuertes lluvias nocturnas, pero es inmediatamente recuperado por las raíces (Grüner, 1972).

Síntomas de deficiencias y excesos. Los síntomas de deficiencia son muy difíciles de encontrar en los campos: las plantas son achaparradas y se marchitan prematuramente. Las hojas viejas parecen quemadas, con un color oscuro mate, verde azuloso y luego bronceado con algunas manchas cloróticas entre las nervaduras y en el envés aparecen manchas pardo oscuras, comenzando a secarse presentando manchas pardas secas por los bordes desde los ápices, apareciendo más tarde manchas necróticas del mismo color sobre la superficie de las hojas, hasta que el follaje muere prematuramente; los entrenudos se acortan. Los síntomas comienzan en las hojas viejas (por su movilidad dentro de las plantas) y luego se extiende el síntoma a toda la planta (De Geus, 1967).

El rendimiento disminuye al afectarse la fotosíntesis y ser menor la intercepción de la luz. El tamaño de los tubérculos se reduce. Una nutrición deficiente en potasio afecta la maduración de los tubérculos y su calidad para la cocción:

- ⇨ redunda en mayores contenidos de azúcares reductores (fructuosa y glucosa), que en el momento de la cosecha influye en las posibilidades de conservación de ellos y en la calidad de las papas crudas o cocidas
- ⇨ incrementa el contenido de compuestos nitrogenados solubles, como los oxifenoles y de hierro, así como una disminución en el contenido de ácido cítrico, creándose condiciones para que se produzcan manchas negras o coloraciones oscuras en el alimento y que el color de las papas fritas sea más oscuro que lo deseado, por la formación de azúcares amínicos a partir de azúcares reductores y aminoácidos
- ⇨ se eleva la susceptibilidad a los golpes y reaccionan con manchas negras en la papa cruda, dado cantidades de tirosina es transformada enzimáticamente en melanina, de color azul negruzco. El extremo basal de tubérculos provenientes de plantas deficientes en K presentan pequeñas lesiones (@ 2-3 mm Æ), que al secarse quedan huecos rodeados por tejidos de apariencia cocosa (Burton 1966; Grüner 1972 y Venegas 2001).

Se plantean diferencias varietales en la susceptibilidad de la papa a las deficiencias de K, siendo más afectadas las de crecimiento y desarrollo del tubérculo rápidos (Burton, 1966).

De haber poco nitrógeno en el follaje, un contenido bajo en K en la hoja afecta menos que en presencia de un contenido alto en N (Van der Zaag, 1990).

No se presentan síntomas visuales directos de excesos de K, posiblemente por la capacidad de las plantas de realizar "consumo de lujo", pero podrían ocurrir antagonismos del K con otros cationes como el Ca.

La capacidad de resistencia del tejido celular y la susceptibilidad a las manchas azules están relacionadas con el contenido de masa seca en los tubérculos, ya que si su contenido es bajo significa que el de agua es mayor y las células muy turgentes son menos sensibles a los choques. Un efecto negativo directo de la aportación de abundante fertilizante potásico sobre el contenido de materia seca tiene que entenderse como una hidratación e hinchazón del citoplasma, lo que se aprecia más cuando se usa cloruro de potasio. Por ello se propone en este caso aplicar las dosis mayores de potasio de una rotación a la papa y en forma de cloruro de potasio (Prummel, 1983).

MACROELEMENTOS SECUNDARIOS Y OLIGOELEMENTOS

Estos nutrientes, que son esenciales para el desarrollo de los cultivos, no se aplican directamente como fertilizantes, porque generalmente existen en los portadores inorgánicos y orgánicos de los macroelementos primarios (NPK) o en las enmiendas al suelo, como iones acompañantes o impurezas y en el caso de los oligoelementos, sus necesidades son escasas y muchos de ellos forman parte de pesticidas que se aplican al cultivo. Pero a medida que los rendimientos y con ello los requerimientos y extracción de nutrientes por la papa se hacen mayores y los fertilizantes más concentrados y puros y por no aplicarse materia orgánica sistemáticamente en áreas dedicadas al cultivo, es necesario prestar atención al surgimiento de posibles deficiencias de ellos que deben resolverse directamente. Especialmente los oligoelementos (Tabla 6) son requeridos en cantidades muy pequeñas e incluso algunos como el cloro pueden, en exceso, causar problemas al cultivo.

***Calcio**:* las plantas lo absorben como ion Ca^{2+} y forma parte de numerosos procesos metabólicos en el vegetal, siendo requerido para el desarrollo y fortalecimiento de los tejidos de sostén e importante para la división celular, encontrándose siempre en los tejidos embrionales; promueve el desarrollo de los cloroplastos y su vitalidad. Los síntomas de deficiencia de calcio, generalmente propias de suelos ácidos, consisten en tallos muy delgados y plantas con un aspecto arbustivo. Las hojas

jóvenes son pequeñas y especialmente en el extremo de los tallos presentan superficies angostas con bordes curados hacia arriba y generalmente aparecen necrosis en los bordes; generalmente se presenta una falta absoluta de tubérculos. Esta deficiencia puede ser agravada con aplicaciones altas de potasio (Grüner, 1972; Burton, 1966).

Tabla 6. Contenido de oligoelementos en los tubérculos de papa (Williams, 1960; tomado de Grüner, 1972)

Elemento	mg/kg de masa seca	Elemento	mg/kg de masa seca
Cobre	6–12	Molibdeno	0.12–0.18
Manganeso	9–13	Zinc	21–28

***Magnesio*.** se absorbe en forma de ion Mg^{2+}, siendo considerado por Van der Zaag (1990) entre los nutrientes de mayor importancia junto al N, P y K, de forma tal que las plantas de papa son consideradas un indicador del aprovisionamiento en Mg. Forma parte del núcleo de los anillos pirrólicos de la clorofila y participa en el metabolismo de los hidratos de carbono, por lo que es importante para la producción de almidón; promueve el desarrollo de los cloroplastos y su vitalidad y una vigorosa síntesis de sucrosa a partir de los monosacaridos y, probablemente debido a esto, acelera el flujo de carbohidratos de las hojas a los tubérculos. La deficiencia de magnesio se presenta como un follaje verde algo más claro que lo normal, inicialmente sobre las hojas más viejas, ya que este nutriente es movible dentro de la planta. Al avanzar la deficiencia, aparecen manchas necróticas que se extienden entre las nervaduras menores hacia la central, sobre la superficie de las hojas más viejas, las que sufren un marchitamiento prematuro y mueren rápidamente. Existen ciertas diferencias entre las variedades en sus síntomas visuales de deficiencia, principalmente en el grado de clorosis de las hojas. Los nitratos pueden facilitar la utilización del Mg por las plantas pero los sulfatos y el potasio favorecen la deficiencia (Grüner, 1972; Burton, 1966 y Van der Zaag, 1990).

Azufre. se asimila por las plantas en forma de ion SO_4^{-2}; es necesario para la producción de proteínas y componente integral de algunas vitaminas y enzimas. Su deficiencia se manifiesta por un amarillamiento general (más notable en las hojas jóvenes, ya que no es móvil dentro del vegetal), enrojecimiento de los tallos y hojas jóvenes, que se enrollan hacia el nervio central (Platou e Irish, 1982).

Molibdeno: lo absorbe la planta como ion molibdato (MoO_4^{2-}), aunque es necesitado en pequeñas cantidades por las plantas de papa, su deficiencia se manifiesta por una clorosis marcada asociada con una reducción en desarrollo y rendimiento.

Hierro: se prefiere por las plantas en forma de ion ferroso (Fe_2^+), su deficiencia se presenta como una clorosis marcada en las hojas jóvenes, pudiendo permanecer verdes las nervaduras (Burton, 1966).

Manganeso: se absorbe por las plantas como Mn_2^+ y Mn_4^+, su deficiencia causa en las hojas de las plantas una pérdida de lustre, pequeño tamaño y tendencia a enrollarse hacia el haz. Pudieran presentarse pequeñas manchas pardo negruzcas a lo largo de las nerviaciones foliares (Burton, 1966).

Boro: las plantas lo toman como BO_3^-, la deficiencia de B retarda la emergencia de las plantas, marchitamiento del follaje, tubérculos con corazón hueco y caída de rendimiento. El B puede ser tóxico por encima de 2 ppm en la solución del suelo, causando un marchitamiento estrecho en los bordes de las hojas (Manrique, 1988; Canto y Pugliese, 2001; Burton, 1966).

Zinc: es tomado por la planta como ion Zn_2^+, se informan incrementos en el contenido de almidón y ácido ascórbico de los tubérculos y del contenido de clorofila en las hojas con aplicaciones de ese nutriente. La aplicación de P disminuye la concentración de Zn en los tejidos vegetales y aunque no aparezcan síntomas visuales, cuando la relación P/Zn es superior a 100:1 ya es posible obtener respuestas a las aplicaciones de este nutriente (Shlavitskaya e Ivimina, 1974, tomado de Deroncelé *et al*., 1983).

Cloro: es tomado por las plantas como ion cloruro (Cl^-), su deficiencia empieza a manifestarse visiblemente en el período de floración, afectándose las porciones terminales de las plantas. La punta de las hojuelas terminales muestra un amarillamiento en los bordes, que se extiende por todo el borde y más lentamente hacia abajo del nervio central. A medida que avanza la deficiencia se intensifica el color amarillo y luego pasa a rojo bronceado, que se convierte en pardo y se vuelven frágiles. Luego de la fase de rojo bronceado, las hojas no se recuperan totalmente ante la aplicación de cloruro, aunque en las nuevas hojas ya no aparecen los síntomas. A medida que los síntomas son más intensos, el área inmediata a la región clorótica se arruga y los bordes de las hojuelas también se curvan hacia arriba, dándole al área clorótica una apa-

riencia ahuecada. En los estados más avanzados las hojas son pardas, deformes y muy reducidas en tamaño.

Sus excesos deprimen los rendimientos y la calidad de los tubérculos de papa expresada en su contenido en masa seca.

Luego de conocer el papel de cada nutriente, es posible resumir la relación entre los nutrientes y los estados fisiológicos del cultivo.

Desde la plantación hasta la emergencia de los brotes, las plantas de papa se alimentan fundamentalmente de las reservas del tubérculo, pues inicialmente no existen las raíces y luego están poco desarrolladas. Sin embargo, debido al reducido movimiento del P en el suelo y la necesidad de tomar en cuenta la Ley del Anticipo, que postula que los nutrientes deben estar en el suelo en el momento en que la planta los necesite, ya se ha realizado la fertilización en el momento de la plantación y debe preverse que por exceso de fertilizante se haya creado una zona de alta presión osmótica cerca del tubérculo, la cual impida que este tome el agua necesaria para los procesos de brotación, esta se demore o se haga irregular.

En la brotación y hasta la tuberización, se manifiesta una intensa actividad metabólica, en la cual se consume mucho fósforo y luego nitrógeno, razón de la primera fertilización (especialmente con P) y de una posible segunda aplicación de N. Es necesario lograr que la planta inicie un crecimiento acelerado del follaje, a partir del cual se formarán los carbohidratos y el resto de los elementos estructurales de la planta hasta los tubérculo, objetivo final del cultivo.

En la etapa de iniciación del tubérculo, el crecimiento radicular se hace más lento, lo que reafirma la necesidad de que en ese momento ya la planta tenga un desarrollo adecuado a los requerimientos de movilizar reservas para dichos tubérculos. La planta necesita entonces mucho potasio, para la síntesis y traslocación de los carbohidratos. Esta situación se mantiene durante el engrosamiento de los tubérculos.

Durante todo ese ciclo, son necesarios en mayor o menor medida los macroelementos secundarios y oligoelementos.

INFLUENCIA DE LA NUTRICIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE SEMILLA

Si bien Grüner (1972) plantea que la nutrición de la papa para la producción de semilla no se ha encontrado importante en la vitalidad del propágulo y el comportamiento de las plantaciones que de ellas se derivan (Scheper, 1976), resume a varios autores y trabajos propios

donde se manifiesta que la fertilización influye en la capacidad productiva de la semilla, al causar cambios fisiológicos y por su efecto en la posible infección por virus. Varios son los efectos de la fertilización en el comportamiento de la progenie: la aplicación de cantidades crecientes de N P y Cl resultan en una brotación y un crecimiento juvenil más rápido y menor producción de tallos principales.

Dosis altas de N y cloro y deficiencia de potasio pueden incrementar la susceptibilidad de las plantas a los áfidos. Una alta relación K/Mg disminuye la tasa de reproducción de los áfidos, mientras que el Ca no influye. En relación con el ataque por virus, una deficiencia de N lleva a una baja tasa de infección, mientras que el exceso de este nutriente causa una infección más severa en la progenie, relacionada con un período vegetativo más largo y el enmascaramiento de los síntomas de virosis en las plantas madres. El efecto del P no es consistente. Los cloruros incrementan la susceptibilidad a infección y también enmascara los síntomas de virosis (Grüner, 1972).

INTERACCIÓN ENTRE LA NUTRICIÓN Y EL ATAQUE DE PLAGAS Y ENFERMEDADES

La nutrición de los cultivos influye en el ataque de patógenos al cultivo y a los tubérculos en el almacenaje. Un efecto directo se refiere a que en plantaciones con un follaje abundante se crean condiciones microclimáticas que facilitan el desarrollo de enfermedades fungosas, mientras que plantas débiles tienen menos capacidad de resistencia por falta de reservas.

Schepers (1976) presenta resultados, los cuales indican que al alargarse el desarrollo de las plantas, el N favorece que se mantenga un estado donde el virus Yn puede multiplicarse fácilmente y moverse desde las hojas infectadas a los tubérculos. Las aplicaciones extras de P tienen un ligero efecto inverso al acelerar la madurez de las plantas de papa. El potasio no manifiesta efecto en la resistencia de las plantas maduras. Este autor resume que la fertilización no es un factor importante en la resistencia al virus, pues el efecto encontrado fue en dosis más elevadas que las usuales en la agricultura.

Aunque no está totalmente demostrado, el exceso de cloro puede incrementar el ataque de pulgones, posiblemente por un incremento de azúcares en las hojas, al disminuir el traslado hacia los tubérculos. De igual forma, se presentan evidencias de que excesos de N agrandan las

lesiones causadas por el mildeu (*Phythophtora infestans*), mientras que aplicaciones de P y K causan un efecto contrario.

Un resumen de la relación entre la nutrición y las enfermedades se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Acción del N y K en diferentes enfermedades (tomado de Venegas, 2001)

Patógeno y enfermedad	Niveles de N		Niveles de K	
	bajo	alto	bajo	alto
Tizón	+	+++	++++	+
Microorganismos (Mildeu)	+	+++	++++	+
Manchas foliares	+++	+	++++	+
Marchitamiento/pudrición	+++	+	++++	+
Mancha bacterial	+++	+	++++	+

Un cultivo sano es importante para usar todo el nitrógeno (y el resto de los nutrientes) aplicado. Incluso, la cantidad de N que puede quedar en el suelo después de una cosecha de papa puede variar ampliamente, en dependencia de cuan sano fue el cultivo y de su habilidad para usar el N aplicado. Algunos productores realizan aplicaciones elevadas de N para corregir otros problemas agronómicos, como ataque de verticilium, falta de humedad en el suelo y pobre control de enfermedades, lo que generalmente no da buenos resultados y el exceso de N puede perderse en la zona radical. No hay dudas de que un sistema radical severamente deteriorado es incapaz de tomar P, incluso de una solución de suelo más concentrada (Kupper, 1988).

CARACTERÍSTICAS DE LOS SUELOS PARA EL CULTIVO DE LA PAPA RELACIONADAS CON LA NUTRICIÓN

Las plantas de papa se desarrollan mejor en suelos sueltos, bien aireados y de buena estructura, principalmente los franco arenosos, franco arcillosos y los arenosos, pero puede cultivarse en cualquier tipo de suelo (orgánicos o minerales), donde se asegure suficiente retención del agua, buen drenaje, adecuada aireación y buena estructura debido a su sistema radical poco profuso y superficial. La intercepción radical de nutrientes, la presencia de oxígeno necesaria para la respiración de las raíces y el suministro de agua pueden estar fuertemente limitados cuando las condiciones del suelo sean desfavorables. En suelos más arcillosos se pueden obtener rendimientos aceptables, cuando se asegure que no se acumule el agua en el suelo por encima de la capacidad de campo o el desarrollo radical sea restringido por capas endurecidas. En

suelos arenosos y en suelos Ferríticos, la principal limitante se encuentra en su baja capacidad de retener nutrientes y agua.

Son importantes aquellas propiedades relacionadas con la textura, y la nutrición de los cultivos; por ejemplo, para una asimilación fácil del P es esencial una buena estructura del suelo (Van de Zaag, 1990). El contenido de nutrientes en el suelo es fundamental para altos rendimientos. Se ha demostrado que un suelo fértil alcanzará mayores rendimientos y con más eficiencia, que en un suelo pobre, no importa la dosis de fertilizante que se aplique (Manrique, 1988 y De Geus, 1967).

El pH adecuado para el cultivo de la papa es ligeramente ácido (5.5-6.5 en KCl), aunque puede tolerar rangos amplios de acidez. Valores superiores afectan la calidad de la piel y pueden favorecer el desarrollo de enfermedades bacterianas en los tubérculos como la Erwinia sp y el *Streptomyces scabies* (costra) y afectar la absorción de N en algunos suelos, ya que intensifica la acción de los microorganismos que inmovilizan el N; en suelos calcáreos y en los muy arcillosos disminuye la asimilabilidad del K y de algunos oligoelementos. En condiciones ácidas, aunque no se considera que este es un cultivo muy sensible a la acidez tóxica cambiable (Al, Fe o Mn intercambiables), su presencia puede antagonizar nutrientes esenciales como el P. Como generalmente la papa forma parte de una rotación de cultivos que pueden tener diferentes requerimientos de pH, es necesario lograr una solución de compromiso, que puede ser entre 6 y 7. Actualmente surge como problema la elevación sostenida del pH en las áreas paperas, lo cual puede convertirse en un problema grave para el cultivo (Grüner, 1972; De Geus, 1967 e IFA, 1992).

La capacidad de un suelo para suministrar nutrientes para el desarrollo de un cultivo depende de su capacidad para retener y liberar iones. Cultivos con un corto período de desarrollo y elevada demanda de nutrientes como la papa, podrían no comportarse bien en suelos con una baja capacidad de intercambio catiónico y será necesario aplicar dosis mayores de fertilizantes. En términos de Capacidad de Intercambio Catiónico Efectiva valores superiores a 4 meq/100 g son suficientes para el cultivo de la papa (Manrique, 1988).

El contenido de materia orgánica en los suelos dedicados a la papa es generalmente bajo, especialmente en regiones donde no se aplican abonos orgánicos y la rotación de cultivos predominante no contempla cultivos altos productores de masa seca, ya que la papa prácticamente no deja residuos orgánicos en el suelo. La materia orgánica es vital para

mantener óptimas condiciones físicas, biológicas, físico-químicas y químicas en el suelo; en uniones orgánicas aparecen las principales reservas de nitrógeno y azufre y gran parte del P y los oligoelementos en el suelo (Smilde, 1985).

Según Kupper (1985), la temperatura del suelo es un factor importante en la diferencia en el desarrollo de las plantas de papa en suelos de regiones tropicales, en comparación con las de regiones templadas, ya que la actividad del sistema radical (medida por la tasa de absorción de nutrientes) depende fuertemente de la temperatura y la disponibilidad oxígeno en el suelo. En regiones de clima cálido como Cuba, se presentan condiciones favorables para que las plantas desarrollen un exceso de follaje y se depriman los rendimientos, principalmente en años con más altas temperaturas.

El agua en el suelo es un factor principal que gobierna la absorción de nutrientes por cualquiera de los mecanismos de transporte: flujo de transpiración, difusión ionica o intercepción radical, por lo tanto, la absorción de nutrientes en suelos secos se reduce, principalmente en el P y K comparándolos con el N (Smilde, 1985).

La papa es considerada como un cultivo moderadamente tolerante a la salinidad (3-5 mmhos.cm^{-1}), generalmente valores por encima de 4 son dañinos para el cultivo. La salinidad afecta la absorción de nutrientes y su utilización debido al estrés por ósmosis (Haging y Tucker, 1982, citados por Smilde, 1985). Canto y Puliese (2001) representan como notable la adaptación de la papa en suelos argentinos con pH 7.3, 11.8 dS/m de salinidad y 5 % de RAS.

El N en los suelos ocurre mayormente en uniones orgánicas, las cuales deben convertirse a formas minerales para poder ser asimilado por las plantas, lo que se denomina mineralización, realizada por microorganismos que para vivir necesitan oxígeno, compuestos carbonados y nutrientes (Feddes, 1987). Pocas regiones paperas de áreas tropicales y subtropicales contienen nitrógeno suficiente para altos rendimientos de un cultivo de papa que no reciba cantidades adicionales de este nutriente. Esta situación existe por las condiciones propicias para la descomposición de la materia orgánica del suelo y las posibilidades para pérdidas de N, tanto gaseosas como por lixiviación o erosión. Greenwood *et al.* (1985) informan que el N aplicado como fertilizante "desaparece" del suelo hasta los 30 días después de aplicado y reaparece más tarde. No se ha comprobado que esto ocurre debido a la fijación del amonio, por desnitrificación o lavado, pero si ha notado un

incremento de la mineralización siguiendo a una aplicación de fertilizante nitrogenado, por lo cual parece probable que el N fue inmovilizado en micrositios donde hay residuos metabolizables del cultivo precedente y luego se libera como ya se ha explicado.

Deroncelé *et al*. (1983) consideran al N como el nutriente más deficiente en los suelos dedicados a la papa en Cuba, demostrado en una respuesta consistente ante las aplicaciones como fertilizante nitrogenado.

El contenido de P en los suelos dedicados al cultivo de la papa depende de su manejo precedente. En suelos que han recibido altas dosis de fertilizantes fosfóricos sistemáticamente por más de 30 años, el contenido de fosfatos movibles es alto, como por ejemplo en la provincia de La Habana, en donde Deroncelé y Guerra (1977) han llegado a reportar 296.9 ppm P por le método de Oniani; por el contrario, en áreas más recientes el contenido de fósforo es bajo o medio, como en la provincia de Ciego de Ávila, pero en esta región ya los suelos están pasando a niveles medios y se encuentran algunos con altos niveles de P.

Estas situaciones son una confirmación de los planteamientos de Deroncelé *et al*. (1983) y Moreno (1994), de que el balance del P en Cuba es positivo y que es necesario y posible reducir las dosis en los suelos que ya se muestran enfosfatados, proceso que se puede observar en la Tabla 2. El balance de la fertilidad de los suelos dedicados al cultivo de la papa de todo el país presentaba en 1994 un 30 % con bajos contenidos de P_2O_5, el 27 % con contenidos medios y el 43 % con elevado contenido del nutriente en forma asimilable. Pero la situación entre provincias es diferente. Sancti Spíritus, Camaguey y Las Tunas tenían más del 60 % de sus áreas paperas con contenidos bajos, Ciego de Avila un 55 % y Matanzas un 75 %, mientras que Cienfuegos tenían un 82 % y La Habana un 100 % de las áreas con categoría de medio a satisfactoria (Moreno, 1994).

Las área de papa, en Cuba, están generalmente bien abastecidas. Esto se debe a las altas dosis de K que llegan al suelo con los portadores compuestos. Todas las provincias del país tienen contenidos de K asimilable de medio a alto.

El pH y textura del suelo afectan la disponibilidad del P (Vitosh, 1990). El P es más asimilable en el rango de 6.5 a 7.5 de pH, pues a valores inferiores es antagonizado por el Fe y otros oligolementos y valores superiores por el Ca y el Mg. Los suelos Ferralíticos y Ferríticos, principalmente los de pH ácido, son altos fijadores de P, por lo que a pesar de aparentemente en algunas regiones sean ricos en P asimilable

una adecuada fertilización fosfórica es esencial para una producción económica y sostenida en tales suelos como plantea Menon *et al*. (1991). También influye el tipo de suelos y las características de las rotaciones en las que participa este cultivo.

A pesar de que este cultivo utiliza grandes cantidades de potasio, existen pocos informes de respuestas a la fertilización con este nutriente (Manrique, 1988). La disponibilidad del potasio es mayor en suelos sin calcio y decrecen en suelos calcáreos y a medida que se incrementa el contenido de arcilla (Burton, 1966). Como sucede con el P, la disponibilidad del K del suelo para la papa depende del manejo del suelo. En muchas áreas el contenido de K asimilable en el suelo es elevado, por encima del índice crítico (11–14 $mg.100g^{-1}$). Una situación interesante se relaciona con la manifestación del efecto residual del K en suelos Ferralíticos Rojos en Ciego de Ávila.

Estudios realizados por más de 10 años, en un experimento estacionario, Borroto (1995) y Rodríguez *et al*. (1993) mostraron que luego de 10 años de someterse uno de estos suelos a una rotación de papa con otros cultivos, sin recibir aplicaciones de K, no encontraron respuesta a las aplicaciones e incluso la disminución del K asimilable en el suelo no respondía a las extracciones de los cultivos, aunque se tomara en cuenta el K que lógicamente reciclaba por una u otra vía. Un elemento adicional a tener en cuenta, es que estudios en columnas indicaron que el movimiento del K en el suelo debido a la lluvia y el riego no era suficiente, para que el nutriente abandonara la zona radical del cultivo. Por su parte, Alfonso *et al*. (2001) encontraron un balance negativo del K al no aplicarse en una rotación con maíz y barbecho durante ocho años, lo que puede responder a diferencias en el comportamiento de los suelos Ferralíticos Rojo de Ciego de Avila y Camagüey presentados por Borroto (1995).

Los macroelementos secundarios y los oligoelementos también son afectados por las condiciones de los suelos y sus variaciones. El azufre del suelo se encuentra fundamentalmente formando parte de la materia orgánica. Con el uso de fertilizantes más concentrados, que contienen poco o ningún S, combinado con menos incorporación de este elemento con las lluvias y la utilización de cultivos con altos rendimientos y con ello absorción de S, los suelos se empobrecen (Platou e Irish, 1982; Tello y Villagarcía, 2001). El Mg se pierde más por lixiviación en suelos ácidos donde se presentan más deficiencias (Grüner, 1972).

Todos los oligoelementos, excepto el molibdeno, son más móviles en suelos ácidos. Deficiencias de manganeso ocurren principalmente en suelos ligeros o aluviales, de pH cercanos a 7 y bajo contenido de arcilla.

La disponibilidad del Zn en el suelo disminuye con el incremento del pH; la mayoría de las deficiencias de Zn se informa en tierras con pH más alto que 7.0. También se encuentran deficiencias de cinc en tierras niveladas para el riego donde el subsuelo ha sido expuesto, en suelos con niveles muy altos de cal libre, suelos arenosos y suelos bajos en materia orgánica. El hierro es más deficiente en suelos ricos en calcio y drenaje libre y también donde se haya alisado el suelo y expuesto el subsuelo (Mortvedt *et al*., 2001). De otros macroelementos y oligolementos no se han encontrado referencia a deficiencias en los suelos.

El 80 % de las áreas paperas de Cuba se encuentran en suelos Ferralíticos Rojos (Oxisoles, Aglisoles, Inceptisoles): muy profundos, de topografía llana, bajo contenido de materia orgánica (2 %), CIC 13-26 meq/100 g de suelo y pH 6-; un 15 % de las áreas sobre suelos pardos con y sin carbonatos (iceptisoles) de fertilidad media a medianamente profundos, drenaje superficial bueno, drenaje interno moderado a deficiente, topografía llana a ondulada, CIC 25-55, pH 6- (Moreno y Mojena, 2001). También se siembra papa en suelos Ferríticos púrpuras (Camagüey), de peores condiciones al ser más degradados, con muy baja capacidad de intercambio catiónico (menos de 5 meq/100 g de suelo); arenosos (Pinar del Río y Villaclara) y aluviales (Gramma).

Se prefieren los suelos Ferralíticos Rojos (típicos o compactados), por su estructura suelta, buen drenaje y aireación. Estos suelos tienen baja fertilidad natural, limitada retención de agua y de nutrientes. En estos suelos, el predominio de óxidos e hidróxidos de Fe y Al en el complejo coloidal y el bajo contenido de materia orgánica, determinan una alta capacidad de retención del P y hacen temer fuertes pérdidas de N y K. Por ello, en estos suelos se han adoptado aplicaciones frecuentes de riego (cada 3-5 días) y se recomiendan altas dosis de fertilizantes, con lo cual se trata de incrementar la productividad de estos suelos, fundamentalmente limitados por los factores antes mencionados. Estos suelos varían en sus propiedades, como es en su contenido de sílice, sesquióxidos y los principales nutrientes, lo cual le permitió a Tremols (1978a) explicar en primera instancia las diferencias en rendimiento observadas en suelos con niveles altos de P y K movible: la papa produ-

jo rendimientos superiores en suelos Ferralíticos Rojos típicos e hidratados y menores en suelos poco profundos y pedregosos; sin embargo, en estos últimos se observó una mayor respuesta a la fertilización nitrogenada, propia de cultivos en suelos con limitaciones. En relación con el P y el K, no encontró respuesta en rendimiento y la mayor eficiencia en los suelos hidratados.

IMPACTO DE LA FERTILIZACIÓN EN EL MEDIO AMBIENTE

Hablar de "sostenibilidad" en el cultivo de la papa, un cultivo con una agrotecnia muy especializada y de altos insumos, parecería un enfoque sin sentido si aceptamos conceptos parciales de agricultura sostenible.

Innumerables publicaciones referidas a la sostenibilidad de sistemas agrícolas estigmatizan a aquellos cultivos, como la papa, donde se utilizan altos volúmenes de insumos, entre ellos los fertilizantes minerales. No es posible considerar a esos sistemas como poco sostenibles sin remedio y luchar por sustituirlos por sistemas menos agresivos para el medio ambiente, sino precisar cuáles son las causas del posible impacto ambiental, y rediseñarlos, para, sin sacrificar significativamente sus resultados productivos, disminuir su impacto sobre el medio ambiente y hacer que los logros de la generación actual no pongan en peligro el futuro. Los fertilizantes no son biocidas, son alimentos para las plantas y mejoradores del suelo. Sin ellos, cualquiera que sea su origen, en correspondencia con un suelo (u otro sustrato apropiado) y la atmósfera, no es posible la vida vegetal.

A menos que los nutrientes removidos sean reemplazados en cantidades adecuadas, la producción de los cultivos no puede sostenerse. Los nutrientes deben venir de fuentes orgánicas e inorgánicas, ya que para los niveles de producción necesarios, las fuentes orgánicas típicas son inferiores a la demanda. Eso implica el uso de fertilizantes minerales a pesar de la imagen pública concerniente a su uso. Glaeser (1987) plantea que buscando una sostenibilidad ecológica, pudieran combinarse métodos tradicionales con otro modernos incluso extremadamente sofisticados. De tal forma, el conocimiento de la dimensión ambiental parte integrante de las bases del diseño de un sistema agrícola.

Al analizar los posibles problemas ambientales provenientes de los fertilizantes en el cultivo de la papa, se destaca la contaminación con nitratos de las fuentes de agua potable y de los tubérculos.

Algunas áreas tienen el manto freático alto y hay posibilidad que parte de este nitrógeno penetre en el acuífero. Éste sería un problema porque es difícil de eliminar los contaminantes en estos lugares. El índice crítico de nitratos es de 10 ppm NO_3^-N; cuando se excede puede provocar metahemoglonemia (bebés azules). Excesos en la dosis de N pueden producir tubérculos inmaduros, pequeños o deformes con pobre capacidad de almacenamiento y susceptibilidad a los daños, rendimiento bajo, y color pobre en papas de piel roja (Arora *et al.*, 1980; Mortvedt *et al*., 2001). Sin embargo, esta situación se presenta cuando se aplican dosis elevadas de N (VPK, 2000). La aplicación excesiva de N constituye una pérdida comercial, un peligro ecológico y una pérdida de energía (Neeteson, 1985). En Cuba se determinaron problemas con los nitratos en papa en la década del 90 del pasado siglo, motivados por altas dosis de fertilizantes nitrogenados, encontrándose valores por encima de los 400 ppm de NO_3 en los tubérculos. Biart *et al*. (2001) encontraron que al incrementarse la dosis de N, junto al incremento en rendimiento, eran mayores los contenidos de nitrato en tubérculos y en las aguas de lavado. Reportan que con dosis inferiores a 180 kg $N.ha^{-1}$ en papa se obtienen rendimientos aceptables y bajos niveles de nitrato.

Otro problema es la eutrofización de los embalses. El término eutrofización se refiere al enriquecimiento en nutrientes y el incremento de la tasa de adición de ellos en cuerpos acuáticos y por extensión las consecuencias problemáticas de la adición de nutrientes en dichos embalses. Este es un proceso natural, que puede ser acelerado a partir de la perdida de nutrientes, especialmente P, desde áreas agrícolas. En términos agronómicos, las pérdidas de P por lixiviación o erosión son pequeñas (2-3 $kg.ha^{-1}$), pero suficientes para causar la eutrofizacion, especialmente cuando ocurre erosión de los suelos y su traslado a los cuerpos acuáticos.

Los nutrientes tienen varias vías para llegar a los embalses: arrastrados por el escurrimiento superficial de los suelos erosionados, con el agua percolada por escurrimiento subterráneo, con agua de la lluvia, que trae cantidades de N y por drenajes artificiales. Estas fuentes, también llamadas difusas, son importantes para el N y el P. También pueden ocurrir fuentes puntuales como son las causadas por limpieza de establos o por un manejo inadecuado de los residuos orgánicos en empresas pecuarias (Jonnston, 2000). En el caso de la papa en Cuba, este problema no se considera importante, debido a la separación física entre áreas paperas llanas y los principales embalses y el relieve llano de la mayoría de ellas.

La contaminación con metales pesados, como el cadmio, aún no es una preocupación en nuestras condiciones (Rodríguez, 2000).

Otro aspecto a considerar es que los sistemas de cultivo normalmente tienden a "minar" el suelo, o sea, aprovechar las reservas y con ello disminuir la fertilidad fosfórica del suelo; por ejemplo: se exportan nutrientes con los productos (incluyendo los cultivos que rotan con la papa) hacia las áreas de mercado que no retornan y también existen pérdidas por lixiviación, erosión, etc, que tienen efecto negativo en el contenido y balance de los nutrientes. Esto trae rendimientos decrecientes y con ello insostenibilidad a largo plazo (VPK, 2000).

Afortunadamente, un manejo proactivo para reducir cualquier posible contaminación del manto freático por N, puede ser una solución a estos problemas productivos. Muchos de los métodos para minimizar la pérdida de nitrógeno son los mismos que producen rendimientos altos y cosechas de alta calidad (Mortvedt *et al*., 2001). Lo mismo sucede con el P para reducir la eutrofización. Se sugiere aplicar los fertilizantes de acuerdo a la demanda del cultivo, mantener un balance adecuado de pérdidas y aportaciones e incorporar al suelo los abonos orgánicos inmediatamente después de esparcidos.

Al evaluar el impacto ecológico del cultivo de la papa, también deben considerarse los efectos ambientales positivos de los fertilizantes: a) se pueden corregir desbalances nutricionales; b) al incrementarse los rendimientos es posible reducir las áreas y c) se controla la erosión al mantenerse cubiertas las áreas (FAO, 1999).

LA FERTILIZACIÓN EN EL CULTIVO DE LA PAPA

La fertilización se realiza para asegurar a las plantas una nutrición mineral acorde a sus necesidades, en correspondencia con las disponibilidades de los nutrientes en el suelo. Normalmente en Cuba en la papa se aplican fertilizantes químicos NPK (completos, granulados TVA) momentos antes de la plantación y aplicaciones de portadores sólidos nitrogenados antes de los 30 días de plantado o en distintos momentos del desarrollo del cultivo por medio de la fertirrigación. No es práctica común la aplicación de abonos orgánicos ni el uso de abonos verdes, tecnologías comprobadas como muy adecuadas para nuestras condiciones.

Los sistemas de fertilización deben ir dirigidos a cada sitio específico y dar solución a situaciones nutricionales y de cultivo en particular (Havekort, 1987). Los factores estresantes a la respuesta del cultivo a la aplicación de fertilizantes deben ser tomados en consideración (Smilde, 1985).

En cada empresa y para cada variedad debe experimentarse para encontrar el plan de fertilizante correcto (Montain Valley Produce, 2001).

FORMAS DE NUTRIENTES Y TIPOS DE FERTILIZANTES

Un aspecto de gran interés para los productores de papa es la fuente de los nutrientes. La ventaja de una u otra están íntimamente relacionadas con su capacidad para responder a las condiciones de suelo, clima y cultivo incluyendo: los iones acompañantes a los nutrientes que se aplicarán, a las facilidades de manejo y almacenamiento, y el costo en fertilizante en relación con la producción que se obtendrá, por lo que pueden ser contradictorios los informes en la literatura (Deroncelé *et al*., 1983 y Smilde, 1987). El costo de comercialización, transporte, almacenamiento y distribución, cuando se utilizan portadores poco concentrados, puede duplicar el costo debido al precio de los fertilizantes, por lo que la tendencia es a utilizar portadores de nutrientes más concentrados.

Nitrógeno. El comportamiento, las ventajas y desventajas de cada portador nitrogenado dependen de múltiples factores (suelo, clima, variedad, disponibilidad, precio), lo que motiva diferencias en los resultados experimentales y en lo que debe hacerse en cada campo de papa. En suelos con condiciones adecuadas para la papa y sin condiciones para la lixiviación del nitrógeno, no es usual encontrar diferencias entre los portadores nitrogenados.

Por un lado se plantea que las fuentes amoniacales pueden utilizarse por el contenido de carbohidratos de los propágulos e incluso que las formas amoniacales son superiores a las nitráticas, pero donde solo se aplica amonio y la nitrificación está limitada, pueden producirse síntomas de falta de nitratos, como es el enrollado de las hojas de los bordes hacia el nervio central; normalmente esto no acontece, ya que por la nitrificación parte del amonio aplicado pasa a nitrato, dando buen resultado del sulfato de amonio (21-0-0), a pesar de sus limitaciones prácticas por el bajo contenido de nutrientes (De Geus, 1967). Por otro lado, se plantea que las fuentes nitráticas son superiores a las amoniacales, ya que los nitratos son antagónicos de los cloruros, y la papa es considerada clorofóbica y son sinérgicos con los iones potásicos. Por su parte, Venegas (2001) propone 20-35 % de portadores nitráticos y 65-80 % de amoniacales en la siembra y el inverso antes del aporque.

En suelos ácidos son preferibles los portadores de residualidad alcalina, pero en suelos de pH neutros o alcalinos, se prefieren los de residualidad ácida (Grüner, 1972) El sulfato de amonio produce un efecto

positivo en la acidez de los suelos relativamente alcalinos y en el control del fusarium sp. En condiciones de Cuba, Deroncelé *et al*. (1983) informaron que el sulfato de amonio fue el portador más eficaz, superior al nitrato de amonio y la urea. Posiblemente una de las causas de la elevación del pH de suelos dedicados al cultivo de la papa esté dado por los cambios en los portadores fertilizantes, disminuyendo el uso de los de residualidad ácida.

En relación con el estado físico, es posible utilizar fertilizantes líquidos (o que puedan disolverse en agua común) directamente en el suelo, tales como amoníaco anhidro o soluciones amoniacales (también llamados amoniacatos), siempre que sean correctamente incorporados al suelo. Algunos de estos portadores se pueden utilizar unidos a aplicaciones de pesticidas y en el fertirriego. En su uso es necesario considerar que generalmente son corrosivos y más difíciles de manejar y almacenar que los portadores sólidos y si se colocan muy cerca de los propágulos pudieran causar toxicidad amoniacal en los brotes o plántulas jóvenes. También se están fabricando algunos portadores de liberación lenta, cuyo problema principal son los altos precios. La mayoría de los fertilizantes sólidos nitrogenados son altamente solubles, por lo que se usan en el fertirriego.

Las normas del Montain Valley Produce (2001) plantean que algunos tipos de fertilizantes secos pueden ser dañinos en las cantidades necesitadas en la producción de la papa, lo que es especialmente cierto con la urea e incluso plantean que nunca se use urea en la producción de papa, pues sus rendimientos sufrirán. Lógicamente, esto es cierto cuando no se utiliza riego adecuado al cultivo.

Fósforo. Cultivos que presentan un sistema radical superficial y poco profuso como la papa, responden claramente a la aplicación de fertilizantes acuosolubles de P, influyendo esta característica en el momento y método de aplicación (Smilde, 1987); por ello es una práctica común usar portadores que contengan una alta proporción de fosfatos solubles en agua aplicados durante o inmediatamente antes de la plantación (Askew, 2001). Los fertilizantes de P más comunes son el superfosfato triple (0-46-0), el fosfato diamónico (DAP, 18-46-0) y polifosfato de amonio líquido (10-34-0). Ellos son ingredientes comunes en los portadores mezclados y en los abonos líquidos tipo “starter” o “de arrancada” de las plantas. Con menos frecuencia se usa fosfato monoamónico (MAP, 11-48-0) para los portadores mezclados debido a su costo (Vitosh, 1990). Por su parte, Venegas (2001) plantea el uso de superfosfato triple en

suelos de pH < 6, DAP en pH 6- 7.5 y MAP en pH > 7.5. El superfosfato en esa condiciones de pH debe manejarse con cuidado en suelos de regiones tropicales. El fosfato diamónico colocado muy cerca del propágulo que germina puede causar toxicidad amoniacal.

Guerra *et al*. (1982), citados por Deroncelé *et al*. (1983) compararon diferentes portadores fosfóricos en suelos Ferralíticos de la región centro oriental de Cuba y no encontraron diferencias estadísticas entre ellos, aunque los mayores rendimientos se obtuvieron con los superfosfatos simple y triple y la calidad de la papa se vio afectada por el polifosfato de amonio (Tabla 8).

Tabla 8. Efecto de algunas fuentes de P sobre la productividad de la papa (Guerra *et al*., 1982, citado por Deroncelé, 1983)

Fuentes de P	Contenido del elemento nutriente (%)			Rendimiento ($t.ha^{-1}$)
	N	P_2O_5	K_2O	
Superfosfato sencillo	-	20.0		23.64
Superfosfato triple	-	46.0		23.30
Polifosfato de amonio	13.0	57.3		21.60
Superfosfato fosfórico	-	40.0		22.10
Polifoska	8.0	24.0	24.0	22.40

Los portadores líquidos tienen la ventaja de permitir la aplicación de dosis más bajas que el fertilizante sólido. El portador líquido 10-34-0 tiene la ventaja de ser fácil de manejar y puede ser fácilmente mezclado con soluciones de N al 28 % para obtener un portador más bajo en P. La desventaja primaria de los fertilizantes líquidos es su incompatibilidad con ciertas fuentes inorgánicas de micronutrientes, tal como sulfato del manganeso y limitaciones para su manejo y aplicación, hasta que se generaliza el fertirriego (Vitosh, 1990).

Los fosfatos naturales son menos efectivos para la papa ya que su composición en fosfatos directamente asimilables para las plantas es mínimo (Van der Zaag, 1987); estos son más adecuados en suelos ácidos y aplicados mezclados con toda la masa de suelo (Smilde, 1987); manifiestan efectividad en rotaciones de cultivo, donde se aprovecha su efecto residual. En suelos poco ácidos no son eficientes, pero nuevas variantes, como son las rocas fosfóricas modificadas o la aplicación conjunta con fertilizantes acuosolubles, pueden ser opciones para suelos menos ácidos que coadyuven a bajar los costos del cultivo.

Deroncelé *et al*. (1983) se refieren a un estudio realizado en suelos Ferríticos de la provincia de Camagüey con roca fosfórica parcialmente

acidulada. Se aplicó 1.5 $t.ha^{-1}$ de roca, correspondiente a 190 kg $P_2O_5.ha^{-1}$ de P como elemento activo. Los suelos elevaron su contenido en P, movible de 10 a 25 ppm P, lo cual debe aceptarse con cuidado, ya que Rodríguez (2000) demostró que el método de Oniani sobreestima el contenido de P movible en suelos que reciben roca fosfórica natural. No se conocen otros resultados en el cultivo de la papa, pero Rodríguez (2000) encontró que la roca fosfórica parcialmente acidulada del yacimiento de Trinidad de Guedes es muy efectiva para incrementar los niveles de P movible en suelos Ferralíticos Rojos, lo cual puede ser promisorio para la papa.

Potasio. Todos los fertilizantes potásicos son solubles en agua e igualmente efectivos para suministrar este nutriente a la papa, por lo que su efecto depende del ion acompañante químicamente o como impurezas (sodio, magnesio, cloruro, sulfato), el precio y la disponibilidad (Smilde, 1987). El cloruro de potasio, también conocido como muriato de potasio (0-0-60), es la fuente más barata y más común de fertilizante de K. Se usa en la mayoría de los portadores mezclados granulados para dosis iniciales y para la aplicación directa. También se utilizan el sulfato de potasio (0-0-50) y en nitrato de potasio (14-0-40) (Vitosh,1990).

Se plantea que los cloruros afectan el contenido de almidón, los sulfatos y nitratos en menor medida por lo que se prefieren para las papas que se dedicarán a la industria o el almacenamiento. El efecto del cloro se explica, ya que este anión restringe la generación de combinaciones orgánicas de P, afectando el metabolismo de los hidratos de carbono y también se ha observado una restricción de la actividad hidrolítica de las enzimas encargadas del traslado del almidón desde las hojas hacia los tubérculos (Prummel, 1983). Cuando es aplicado como sulfato de potasio, se incrementa la tasa de síntesis de almidón por unidad de área foliar, lo que puede estar asociado con una más rápida traslación del almidón de las hojas; mejora la coloración de la papa al cocinarla y protege a los tubérculos contra lesiones por manipulación.

Todos estos materiales reducirán la gravedad específica cuando se aplican en dosis altas. Bajo un manejo correcto del riego y en dosis moderadas, se ha observado muy poca diferencia entre ellos en condiciones de campo (Grüner, 1972 y Burton, 1966).

Davenport (2001) plantea que hasta la década de 1970, investigaciones conducidas en Idaho resultaron en que la gravedad específica de la papa se redujo cuando se incrementaba la dosis de K, de forma más pronunciada cuando se aplicó cloruro de potasio, pero posteriormente

otros estudios no encontraron diferencias entre el cloruro y sulfato de potasio. Los experimentos realizados por este autor dieron como resultado que el cloruro de potasio no afecta la gravedad específica de la papa, cuando la dosis recomendada se basa en los análisis de suelos y que las aplicaciones tardías de potasio pueden tener un efecto negativo en este indicador de calidad. Además, retardar la aplicación del 75 % de K reduce el rendimiento total de los tubérculos. Otro planteamiento provocativo de este autor se refiere a que los mejores rendimientos y la mejor calidad se obtienen cuando se aplica todo potasio en la siembra y no se divide en presiembra y tuberización.

Deroncelé *et al*. (1983) presentan un significativo número de experimentos donde no se encontró diferencia entre el cloruro y sulfato de potasio, tanto en rendimiento como en calidad de los tubérculos, medida en su contenido de materia seca, almidón y comportamiento en conservación.

Como los fertilizantes que contienen cloruro son más baratos que su equivalente en sulfatos de potasio, para papas de consumo generalmente se usan los cloruros; la decisión de usar uno u otro portador dependerá en gran medida de un análisis económico (Rowberry y Ketcheson, 1978). La decisión tiene mucho que ver con el destino de la producción, ya que para la industrialización poscosecha de la papa, se necesita un alto contenido de masa seca y para consumo directo esto no se exige como importante.

Mientras se precisan los efectos de uno u otro ion acompañante al potasio, en las papas que se dedicarán a la industria de la papa elaborada o semielaborada, se prefiere el sulfato o el nitrato, por no afectar marcadamente el contenido de almidón y ser rentable su uso. Cuando se va a almacenar papa, la decisión es económica, aunque se plantea que el cloruro ayuda a reducir los daños por rasponazos en la cosecha (Mortvedt *et al*., 2000).

Un aspecto que debe tomarse en cuenta al hacer una selección de portadores potásicos, se refiere a la variedad y a la dosis que se utilice. Con dosis altas siempre se afectará el contenido de materia seca del tubérculo y el contenido normal de almidón de algunas variedades es tal, que no es rentable utilizar portadores más caros.

Medina *et al*. (2002) estudiaron la eficiencia de diferentes portadores fertilizantes a base de nitratos, informado que esta forma de aportar nitrógeno y potasio era competitiva con las fórmulas normalmente em-

pleadas en Cuba, no encontrándose diferencias en rendimiento debido a la riqueza en K del suelo.

MACROELEMENTOS SECUNDARIOS Y OLIGOELEMENTOS

La adición de Ca se realiza únicamente en suelos muy ácidos, cuando es necesario un encalado, pero debe realizarse con antelación suficiente a la fecha de plantación, para evitar afectaciones como las costras. En Cuba, generalmente los suelos paperos presentan un pH neutro o ligeramente alcalino o están bien provistos de este nutriente y en muchas regiones las aguas de riego son "duras" con un alto contenido de Ca.

La aplicación de Mg en las plantaciones de papa se realiza fundamentalmente con magnesita (carbonato de magnesio), aunque también ha dado resultado el sulfato de magnesio. En Cuba, al igual que con el calcio, los suelos y las aguas de riego suministran suficiente magnesio a las plantas.

Varios fertilizantes portadores de NPK contienen suficiente S para la mayoría de los cultivos; por ejemplo, el contenido en pornentaje de S del superfosfato simple (12) y del sulfato de amonio (24), superfosfato triple (<2), fosfato de amonio (<3), urea, nitrato de amonio y amoniaco (0); Ssin embargo, actualmente se utilizan portadores más concentrados y con poco o ningún S, al igual que los pesticidas órganofosforados, debido a lo cual pueden ocurrir deficiencias de este nutriente. Para aplicaciones directas de S se puede utilizar el S elemental (o flor de azufre), que también es una enmienda para suelos alcalinos pero que antes de ser tomado por la planta, el azufre debe ser transformado a sulfato por los microorganismos del suelo; el sulfato de potasio (22) o el yeso $CaSO_4$ o fertilizantes de liberación lenta como la urea cubierta con S (Platou e Irish, 1982).

Los oligoelementos se aplican generalmente como sales solubles. También pudieran utilizarse compuestos complejos conocidos como quelatos, en los cuales los oligoelementos se mantienen asimilables para las plantas en condiciones del suelo propias para su inmovilización, pero son muy caros para su uso en condiciones de producción.

La fertilización con Zn está basada en el uso de $ZnSO_4.7H_2O$. La aplicación de quelatos de Zn como el ZnEDTA es eficaz, utilizándose 1/3 de la dosis en relación con el sulfato de Zn. La aplicación de fertilizantes de Zn junto a portadores en el momento de la plantación es más eficaz que la aplicación de cualquier portador simple de Zn. Las deficiencias de cinc también pueden ser corregidas mediante una aspersión

foliar de $ZnSO_4$ al 0.5-0.1 %, pudiendo ser necesarias varias aplicaciones. Sin embargo, es difícil de preparar esta solución en el campo, por lo que puede usarse ZnEDTA u otras fuentes solubles. Un humectante incrementa la absorción de Zn. Los fertilizantes de cinc tienen efectos residuales medibles y la repetición de aplicaciones anuales producirán un aumento del Zn asimilable (Burton, 1966 y Mortvedt *et al*., 2001).

El molibdeno se aplica como molibdato de amonio en el suelo, pero cuidando no crear toxicidad, que se ha observado cuando se aplican más de 2 $kg.ha^{-1}$. El hierro se aplica generalmente asperjando sulfato ferroso en el follaje al 0.2-1 % (Burton, 1966). Las deficiencias de manganeso se corrigen asperjando sulfato de manganeso ($MnSO_4.4H_2O$) al 1 %, 100 $L.ha^{-1}$ o 112 $kg.ha^{-1}$ en el suelo (Burton, 1966). La fertilización con B puede realizarse aplicando 20 kg $B.ha^{-1}$ como $Na_2B_4O_7.10H_2O$ o adicionándolo a un portador de macroelementos (Grüner, 1972 y Burton, 1966).

Las aplicaciones de pesticidas llevan al cultivo cantidades suficientes de varios oligoelementos, como Zn, Cu y Mn, por lo que generalmente no es necesario su aplicación directa.

Deroncelé *et al*. (1999) informan un efecto favorable de la aplicación de urea cubierta con zeolita (Tabla 9), posibilitando con ello disminuir la cantidad de N a aplicar al cultivo, aumentando la calidad del tubérculo y disminuyendo los riesgos de contaminación ambiental. También plantean que el empleo de estimuladores de crecimiento produjo efecto beneficioso en el rendimiento. John *et al*. (2001) evaluaron la zeolita como aditivo de fertilizantes minerales y orgánicos en el cultivo de la papa, en condiciones experimentales y validaciones en áreas de producción, sobre un suelo Ferralítico Rojo.

Tabla 9. Efecto de la urea mezclada con zeolita en el rendimiento y lacalidad de la papa (media de dos campañas) Deroncelé *et al*. (1999)

Variantes	Rendimiento ($t.ha^{-1}$)	%				
		Masa seca	almidón	N	P	K
Urea convencional+15 % de zeolita (127.5 kg $N.ha^{-1}$)	22.08 a	24.13	17.47	1.75	0.35	2.34
Urea convencional+20 % de zeolita (120.0 kg $N.ha^{-1}$)	18.9 b	22.95	16.44	1.50	0.30	2.30
Urea convencional (150.0 kg $N.ha^{-1}$)	17.50 c	22.23	16.30	1.57	0.30	2.27
Urea convencional+30 % de zeolita (105.0 kg $N.ha^{-1}$)	15.89 d	21.00	14.55	1.46	0.27	2.25
Testigo absoluto $N_0P_OK_O$	7.613	16.00	11.00	0.91	0.23	7.95
Esx	0.43	-	-	-	-	-

Los mejores rendimientos se encontraron con la aplicación de urea, a la que se le adicionó un 15 % de zeolita del yacimiento La Pita. El uso de zeofert III (estiércol vacuno/zeolita natural 2:1) fue el de mejor comportamiento en el desarrollo del cultivo. Estos resultados fueron reforzados por un estudio con 15 N, demostrándose una mayor acumulación de N en el cultivo. Como resultado se pudo disminuir la dosis de N y hubo menor acumulación de nitratos en los tubérculos.

Un aspecto que se debate en la fertilización de la papa es el tipo de portador fertilizante. En Cuba, hasta la década del 70 del pasado siglo, se producían fórmulas mezcladas de baja concentración, llegándose a aplicar 3 a 3.7 $t.ha^{-1}$. Posteriormente se fabricaron portadores más concentrados y fue posible rebajar las dosis hasta 2.2–2.6 $t.ha^{-1}$, con el consecuente ahorro en transporte, almacenamiento y aplicación (Moreno, 1994). En la segunda mitad del pasado siglo, los fertilizantes para la papa se producían como portadores complejos y como portadores granulados (mezclados), los cuales fueron finalmente los más utilizados. La perspectiva es pasar al uso de portadores granulados de mayor concentración, cuya relación internutriente podrá ajustarse a las condiciones de cada región.

Los portadores compuestos contienen más de un macronutriente (NPK), industrialmente granulado mezclado o en uniones complejas. El mezclado directamente por los agricultores no se aconseja por la posible pérdida de nutrientes y riesgos por falta de uniformidad y calidad del fertilizante (Smilde, 1987). En Ciego de Avila se han realizado pruebas exitosas para el mezclado en instalaciones locales, lo que ha permitido reformular portadores y adecuarlos a las condiciones particulares de cada empresa.

En los portadores compuestos industriales, cada gránulo contiene todos los constituyentes en concentraciones homogéneas y son fáciles de manejar. En su producción se utilizan materias primas cada vez más concentradas, lo cual significa un ahorro de manejo y transporte pero al ser más puro, poseen menos nutrientes acompañantes, por lo que debe cuidarse la necesidad de realizar aplicaciones de macroelementos secundarios u oligoelementos.

Cuando los agricultores tienen acceso al uso de portadores simples, pueden ajustar la fertilización a la relación suelo-planta-fertilizante de sus parcelas y sus posibilidades económicas. El uso de portadores simples es más adecuado cuando el agricultor dispone de diagnósticos de las características de sus suelos, conocimientos del comportamiento de

las variedades que va a plantar y de las cualidades de los portadores con que cuenta y debe contar una infraestructura que le permita aplicar cada portador cuando sea necesario. Generalmente los portadores simples son cada vez más concentrados, lo que disminuye los costos del cultivo pero cualquier error se manifiesta drásticamente.

En Cuba, Monedero *et al*. (2001) evaluaron el uso de los portadores simples: fosfato diamónico, KCl y urea, este último aplicado mediante el fertirriego. Se encontró que con el empleo de estos se redujo considerablemente el costo del fertilizante por tonelada de papa. Estos resultados ofrecieron una alternativa más económica en comparación con la aplicación de fórmula completa en la plantación y adición de urea como segunda aplicación, especialmente cuando las dosis de los nutrientes se ajustaron a la fertilidad del suelo.

ABONOS ORGÁNICOS

Otra opción en con los tipos de portadores, se refiere al uso de los abonos orgánicos. La papa responde extremadamente bien a la aplicación tanto de abonos orgánicos bien descompuestos, compostes o abonos verdes, preferiblemente como aplicación basal, así como a los fertilizantes minerales (Beukema y Van der Zaag, 1990; De Geus, 1967) Los abonos orgánicos fueron prácticamente la única fuente de nutrientes para los cultivos (excepto de algunas cantidades de portadores naturales minerales de N) hasta que se incrementó la fabricación de fertilizantes minerales, de forma que Johnston (2000) plantea que en 1949 de fuentes orgánicas provenía más del 98 % de los nutrientes aplicados al suelo y ahora la proporción es menos de un 38 %. Cuando se introdujo la papa en Cuba, hace más de 200 años, se aplicaban abonos orgánicos (estiercoles) y otros abonos similares como cenizas (Deroncelé *et al.* 1978).

El empleo de abonos orgánicos tiene como finalidad, ante todo, la conservación del suelo en buenas condiciones, especialmente la estructura (Van der Zaag, 1990) y en incentivar la actividad biológica y físico-química del suelo. La descomposición de la materia orgánica da lugar a la formación de humus, el cual contribuye a mejorar, sobre todo en suelos ligeros, la capacidad de retener nutrientes y el agua (Grüner, 1972). Al mejorar las propiedades físicas, físico-químicas, químicas y biológicas del suelo, favorece la circulación del aire y con ello la respiración salina de las raíces, la retención del agua que facilita la difusión iónica de los nutrientes y su movimiento con el flujo de transpiración, hace más eficiente la utilización de los fertilizantes químicos y activa los

ciclos de nutrientes como el P, N y S en el suelo. Se facilita la intercepción radical, al encontrar las raíces un medio favorable para su desarrollo y luego el engrosamiento de los tubérculos, que se deforman menos y es más fácil la cosecha.

En general, los suelos con un adecuado contenido de materia orgánica son más fáciles de manejar, incluso en condiciones de lluvias o sequía, con lo cual no se retrasan las labores de preparación del suelo, plantación, cultivos y recolección. Por todo lo anterior, es imprescindible la aplicación de abonos orgánicos en las áreas paperas.

Todo lo anterior explica por que mediante el uso conjunto de abonos orgánicos con los fertilizantes minerales es posible obtener los más altos rendimientos, permitiendo dosis menores pero sin eliminar la aplicación de fertilizantes minerales. Deroncelé *et al*. (1983) presentan una tabla muy demostrativa del efecto conjunto de los abonos orgánicos con los fertilizantes minerales (Tabla 10).

Tabla 10. Influencia del estiércol y de los fertilizantes minerales sobre el rendimiento de la papa (en porcentaje del testigo sin abonar)

Tratamientos	Según Klapp	Según Serberth
Sin abonar	100	100
Solo estiércol	152	137
Abono completo NPK	162	-
Abono completo NPK + estiércol	196	179

En Cuba, la adición de materia orgánica a los suelos es una labor sumamente importante, ya que a pesar de que el cultivo presenta una extraordinaria capacidad de adaptabilidad a condiciones muy diversas de suelos, la mayor parte se cultiva en suelos con un bajo contenido de materia orgánica (Deroncelé *et al*., 1983).

En la literatura, las referencias a los abonos orgánicos generalmente se tratan de los estiércoles de establo y de los denominados “abonos de granja”, que consisten en estiércol mezclado con materiales (generalmente vegetales) que le sirven de cama. Estos abonos presentan, entre otras características, las que retienen las emisiones líquidas de los animales y mayor contenido de materias de más lenta composición, en dependencia de las características de los materiales que se utilizan en la cama. Si se usa una paja con 75 % de agua en tres años se liberarán 25-30 % del N, 30 % del P y 50-70 % del potasio (Grüner, 1972).

El abono de granja es considerado un abono orgánico, pero 60-80 % del P está en forma inorgánica, ya que gran parte del P que el animal consume no es asimilado Guzmán *et al*. (s/a) no encontraron diferencias significativas con la aplicación de hasta 20 $t.ha^{-1}$ de estiércol, junto a la aplicación de fertilizante mineral en relación con la aplicación única del fertilizante mineral, medido en rendimiento del cultivo.

En Cuba se cuenta con estiércol, turba y cachaza (el más disponible cerca de áreas paperas), no encontrándose diferencias entre ellas en estudios realizados en la Estación Experimental "La Renée" (Deroncelé *et al*., 1983).

Una solución cuando no se cuenta con suficiente abono orgánico está dada en la preparación de composte. El composte es un abono artificial, proveniente de la descomposición de diferentes restos vegetales de poco valor intrínseco directo como abono orgánico, utilizando generalmente como inoculante microbiano el estiércol y pudiendo ser enriquecido con fertilizantes minerales u otros productos. La utilización de composte en el cultivo de la papa ha estado limitada por la disponibilidad y por su escaso contenido de nutrientes. John *et al*. (2000) evaluaron el efecto del Zeofert III (proporción 2:1 estiércol vacuno-zeolita natural) en dosis de 20 $t.ha^{-1}$, para tres años. Esta dosis de Zeofert más 50 % de la dosis de N que se aplica a la papa fue mejor que la variante de producción y se pudo sustituir el 100 % de los fertilizantes fosfóricos y potásicos (aunque no se aclara la reserva de estos nutrientes en el suelo).

El aporte de abonos orgánicos presenta algunas limitaciones aparte de la ya mencionada de poca disponibilidad cerca de las áreas paperas.

De acuerdo con las características climáticas en áreas tropicales, el proceso de descomposición de la materia orgánica es excesivamente acelerado, por lo que su efecto residual es corto, lo cual obliga a sus aplicaciones sistemáticas. A pesar de que en estas condiciones la mineralización ocurre más rápido que en áreas templadas, en relación con los cultivos de ciclo corto, no se liberan todos los nutrientes o mejoran las propiedades del suelo durante el ciclo de vida del cultivo, por lo que la evaluación de estos portadores debe considerar el efecto residual y no llegar a conclusiones con el primer cultivo que se desarrolle después de su aplicación.

Es una labor cara tanto para su transporte a las áreas paperas como para su aplicación, ya que normalmente se plantea la aplicación de 15-20 $t.ha^{-1}$. Sin embargo, en áreas donde exista relativa disponibilidad de estos abonos, independientemente que su manejo sea más laborioso, pueden ser

incluso más baratos que los fertilizantes químicos, incluso debe tomarse en cuenta que los fertilizantes minerales se comportan mejor en suelos con un alto contenido de materia orgánica, lo cual es un factor que incluye económicamente.

Los resultados experimentales no muestran un efecto directo marcado en los rendimientos, como informaran Deroncelé *et al*. (1983), que dosis desde cinco hasta 35 $t.ha^{-1}$ de estiércol fueron superiores al testigo sin fertilizantes, pero no hubo diferencias significativas con la aplicación de fertilizantes minerales. Lógicamente, el efecto de la aplicación de abonos orgánicos debe estudiarse a largo plazo y evaluando no solo las diferencias en rendimiento.

Los abonos orgánicos son muy disímiles en su composición y estado biológico, por lo cual es difícil hacer generalizaciones para su uso. El abono orgánico más disponible en Cuba es la cachaza, que también es una fuente importante de N y P, pero baja en K. Este material tiene como dificultad un alto contenido de Ca, lo cual no es favorable en los suelos donde el pH se está incrementando y ya es cercano a la neutralidad. Similar situación ocurre con las turbas cubanas, muy ricas en marga.

Deroncelé *et al*. (1983) muestran resultados donde no hay diferencias en rendimiento entre el estiércol, la turba, la cachaza y el testigo mineral al aplicarse a la papa sembrada en un suelo Ferralítico Rojo.

También algunos autores plantean que promueve la reducción del contenido de materia seca (gravedad especifica) en los tubérculos (IFA, 1992). Este efecto puede deberse a su contenido en Cl y N, cuando se aplican dosis altas y el contenido de cloro en la materia orgánica también es elevado, pero aplicaciones adecuadas de abonos bajos en cloro no deben causar problemas o incluso mejorar la calidad del tubérculo.

Todo lo anterior puede resolverse en parte con la aplicación conjunta de abonos orgánicos y fertilizantes minerales y el uso de abonos verdes.
Momento de aplicación. El momento y los métodos de aplicación de los fertilizantes afectan sensiblemente la eficiencia de la fertilización. Tradicionalmente, la papa recibe una aplicación antes de la plantación de ½ dosis de N y toda la dosis de P y K mediante un portador compuesto sólido; luego se aplica el resto del N como urea a los 20–30 días de plantado (Askew, 2001) Actualmente, con el montaje de máquinas de riego de pivote central a las que se adiciona un fertirrigador, ha sido posible fraccionar el N en varias aplicaciones de acuerdo con las necesidades del cultivo e incluso hacer algo similar con el K (Saavedra *et al*., 2000a y 2001b).

Los criterios sobre el fraccionamiento del N aplicado con portadores sólidos son variados e incluso en ocasiones controvertidos. Se discute si es necesario el fraccionamiento y cómo realizarlo, tomando en cuenta las posibilidades tecnológicas y las condiciones del entorno. Si el fertilizante completo que se aplica en el momento de la plantación no se corresponde con los requerimientos del cultivo, es muy importante aplicar la cantidad correcta de N posteriormente (Beukema y Van der Zaag, 1990), tomando en consideración que el N aplicado temprano debe ser adecuado para el crecimiento vegetativo (Mortvedt *et al*., 2001). Sin embargo, Deroncelé *et al*. (1983) informaron que, en variedades de ciclo corto e intermedio, no se encontraron diferencias en rendimiento entre la aplicación de todo el N en la plantación y la misma dosis fraccionada en dos ocasiones, utilizando diferentes combinaciones de portadores, coincidiendo con varios autores, planteando que esta práctica obedece más bien a limitaciones de tipo tecnológico (López, 1983 y Herrera *et al*., 2000) no encontraron respuesta al fraccionamiento en la región central de Cuba.

El análisis es algo distinto cuando se poseen condiciones para fertirrigar, pues es posible hacer llegar el N en los momentos de demanda del cultivo y con ello se reducen las pérdidas del nutriente, lo que significa un ahorro y la reducción de la contaminación de las aguas subterráneas y del contenido de N en los tubérculos.

De forma general, los resultados de respuesta en rendimiento de la papa al fraccionamiento del N adolecen de estudios sobre pérdidas de N y su posible efecto contaminante.

Se plantea que el efecto contaminante del N puede disminuirse con una menor dosis inicial e incremento de aplicaciones adicionales, de acuerdo con los requerimientos del cultivo. El nitrógeno aplicado cerca del período de mayor demanda puede reducir el potencial de pérdidas de este nutriente de la zona radical, ya que todo el nitrógeno no se almacena en la tierra sino está sujeto a lixiviación antes de su absorción por la planta, particularmente en suelos de textura gruesa. (Bennett, 1999). Sin embargo, aplicaciones de dosis altas tardías pueden demorar la madurez del tubérculo y con ello una débil piel que afecta el almacenamiento (Mortvedt *et al*., 2001).

En la Figura 1, Venegas (2001) plantea una propuesta que relaciona los requerimientos de fertilizantes de la papa según etapas de desarrollo del cultivo y el uso del fertirriego.

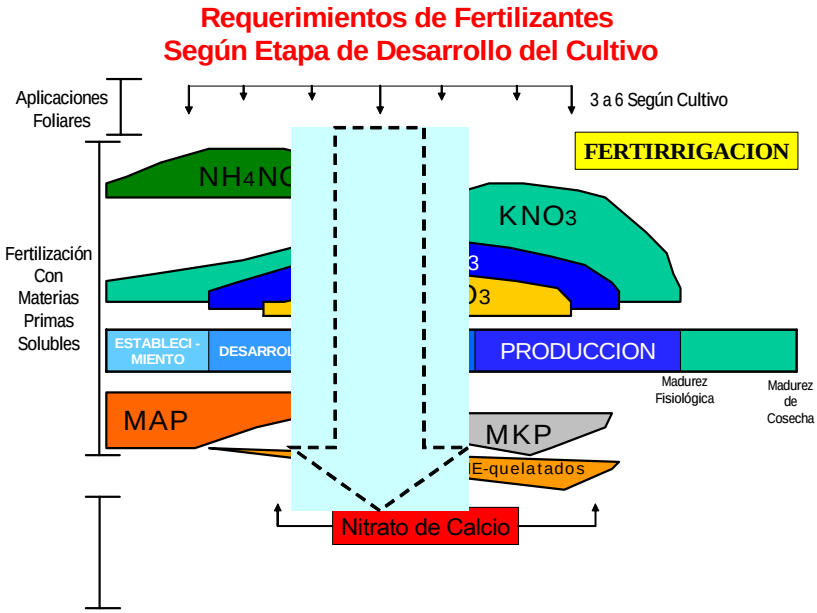


Figura 1. Requerimientos de fertilizantes según etapa de desarrollo (modificado de Venegas, 2001)

Herrera *et al*. (2000) en un estudio realizado en los suelos paperos de la región centro oriental de Cuba (provincia de Ciego de Ávila), estudiaron la no aplicación de N en el momento de plantar la papa. Variados son los argumentos que respaldan este sistema:

a) el nutriente aplicado en este momento no será aprovechado inmediatamente, ya que las pequeñas plantas se alimentarían de las reservas del tubérculo y su sistema radical poco desarrollado no sería capaz de tomar todo el nutriente aplicado; debido a eso, se perdería parte del N aplicado antes de que las plantas estuvieran en condiciones de asimilarlo. Lauer (1986) plantea que cuando todo el fertilizante nitrogenado se aplica antes de la brotación, hay una alta posibilidad de lixiviación por la escasa necesidad de N y agua por las plantas en los primeros períodos y Welch *et al*. (1986) sugieren que por el hecho de que el N es fácilmente lavado, debe aplicarse por lo menos la mitad de la dosis de N después que ha pasado el 30 % del crecimiento de la planta;
b) la exigencia metabólica por el N se presenta alrededor de los 20-30 días de plantado el tubérculo, por lo que es probable que gran parte

del N que se aplica en la plantación se haya percolado con aguas de riego (Guerra,.1982);

c) el N tiende a demorar la iniciación de los tubérculos, lo que sugiere que es posible aumentar la duración de la etapa de engrosamiento de los tubérculos, sin sacrificar la tasa de engrosamiento, mediante la retirada del N o parte de la fertilización nitrogenada hasta la iniciación de los tubérculos y de este modo incrementar el rendimiento final del cultivo (Ivens (1963), citado por Gunasena y Harris, 1968). Estos autores informaron la demora en la aplicación de N dio como resultado su más eficiente utilización por el cultivo. Bennet (1999) recomienda en variedades de madurez tardía no aplicar el N al inicio para que no afecte la tuberización;

d) considerando que la tasa de extracción de nutrientes está relacionada estrechamente con el desarrollo de los tubérculos y como el crecimiento activo de estos ocurre solamente después del desarrollo del follaje, puede concluirse que es más efectivo diferir la aplicación principal del fertilizante nitrogenado hasta el momento justo en que los tubérculos comienzan a diferenciarse (De Geus, 1967). Esto no es apropiado para el P, ya que debe colocarse en el área de desarrollo del sistema radical y esto solo se logra antes de la plantación.

Los resultados de Herrera *et al*. (2000) presentan rendimientos por encima de 30 $t.ha^{-1}$ de papa cuando no se aplica N en la plantación, incluso aplicando solamente 100 $kgN.ha^{-1}$ a los 20 días de plantado (Tabla 11).

Tabla 11. Respuesta en rendimiento de la papa ante diferentes dosis y métodos de aplicación de fertilizantes nitrogenados ($t.ha^{-1}$)

KgN/ha	Momento de aplicación	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
0		16.50 b	18.97 b	20.38 c	11.50 b	22.55 b
100	10 ddp	24.50 ab	26.77 a	28.31 a	16.26ab	31.88 a
100	20 ddp	26.94 a	29.29 a	24.82 b	18.43 a	30.26 a
200	Plantación	26.04. a	28.68 a	28.53 a	10.05 c	31.75 a
200	100 Plant+00 ddp	26.03 a	27.25 a	25.30 b	17.10 a	27.2 ab

ddp: días después de plantado

El diferir la dosis de N y el fraccionamiento en diferentes momentos del ciclo de vida de las plantas, cuando se usan fertilizantes sólidos, tiene un problema práctico. Estos deben aplicarse superficialmente en bandas al lado de la planta e incorporarlos con el aporque o reconstruc-

ción de canteros, siempre antes de los 30 días después de la plantación. Esto en ocasiones no es posible, por dificultades tecnológicas y atrasos en las labores de cultivo. Los resultados del fertirriego presentados por Herrera *et al*. (2000) y Saavedra *et al*. (2001) brindaron el medio adecuado para aplicar el N diferido y en correspondencia con las necesidades del cultivo.

Otro problema de las aplicaciones sólidas diferidas es que las fórmulas fertilizantes generalmente tienen una relación de internutrientes alta en N y K. Esto se ha empezado a resolver con las nuevas formulaciones en el mercado.

El P se aplica todo antes de plantar, pues luego no es posible situarlo en la zona radical y sus compuestos químicos no son móviles en el suelo. Las aplicaciones fraccionadas aprovechando portadores líquidos o el fertirriego pudieran ser una solución, pero no se encuentran informes para Cuba en la literatura revisada. Posiblemente, debido a las pequeñas cantidades que se utilizan y la posibilidad de reutilización por las plantas de papa, no sea necesario recurrir a este método que siempre será más costoso que la utilización de portadores sólidos. Pero es necesario asegurar que las plantas estén adecuadamente suministradas de fosfatos en su etapa de formación de follaje (Kuper, 1985). Las posibilidades del fertirriego pueden facilitar que se difiera parte del P a aplicar, pero es necesario comprobar experimentalmente si esta es la solución más económica y adecuada para cada lugar.

En relación con la fertilización potásica, Gunasena y Harris (1968) plantearon que la aplicación tardía de potasio aumentó el rendimiento en tubérculos de la papa, lo cual se relacionaba con una mejoría en la asimilación del potasio aplicado y sinergismo con el N. Pruebas realizadas por García *et al*. (1999) respaldan estos criterios para las condiciones de Cuba.

En el caso de los abonos orgánicos, la definición del momento de aplicación dependerá de las particularidades de sus transformaciones, necesarias para que se liberen los nutrientes en forma asimilable para las plantas. Esas transformaciones en el suelo están estrechamente relacionadas con el ciclo del N y otros nutrientes en el suelo. Al ser descompuesta por los microorganismos, su aporte fundamental al suelo es de N, dependiendo de la relación C/N del portador. Cuando la relación C/N es superior a 30, los microorganismos presentan una alta necesidad de N para la descomposición de las fuentes carbonadas, para lo cual utilizan el N disponible en el suelo, convirtiéndose en competido-

res de las plantas y se puede producir una carencia de este y otros nutrientes, como la conocida "reversión de los nitratos". También se eleva la temperatura del suelo producto de la actividad microbiana y puede afectarse la viabilidad de los propágulos. Posteriormente, al disminuir la actividad microbiana, cuando se agotan las fuentes de carbono, los microorganismos comienzan a morir y se liberan los nutrientes retenidos. Cuando la relación C/N es inferior a 20, desde el inicio se libera N al suelo. Esta situación debe tomarse en cuenta al aplicar las fuentes orgánicas, lo cual debe realizarse con suficiente antelación a la plantación, para que ya este proceso de inmovilización haya transcurrido. Mientras más corto sea el ciclo de vida de la variedad, más cuidado debe tenerse con esta medida (Smilde, 1987).

Los abonos orgánicos normalmente son aplicados antes de montar el cantero y mezclados con el suelo antes de plantar, para permitir que transcurra la fase inicial del proceso de transformación microbiana.

***Método de aplicación*.** Los fertilizantes pueden ser aplicados a voleo, en bandas o localizados cerca del propágulo, en la superficie del suelo o enterrados. El momento y los métodos de aplicación están estrechamente relacionados por razones prácticas.

Generalmente en el cultivo de la papa, como otros cultivos que se siembran en surcos, la primera aplicación de nutrientes se realiza mediante fertilizantes sólidos NPK en bandas ligeramente debajo y al lado del propágulo, al menos con 5 cm de separación. Es un método aceptado cuando se trabaja con dosis medias o bajas y en suelos fijadores de P y/o K, tomando en cuenta el escaso movimiento del P en los suelos dedicados al cultivo de la papa, poco dotado para realizar intercepción radical.

Un caso especial, no utilizado en Cuba, es concentrar el fertilizante localizado en el fondo del agujero donde se plantará la semilla. Para esta aplicación se aprovecha la etapa alrededor del período de plantación, para lograr la localización correcta.

La aplicación localizada causa elevadas concentraciones de fertilizante cerca de la semilla, siendo necesario evitar que se pongan en contacto directo, ya que se afecta la brotación. Los riesgos de daño a los propágulos aumentan en condiciones de secano, en suelos ligeros, donde se planten propágulos prebrotados o cuando se aplique más de 250 $kg.ha^{-1}$ de N más K_2O juntos y especialmente cuando se utilicen portadores nitráticos (Askew, 2001).

Las siguientes aplicaciones sólidas durante el desarrollo de los cultivos se realizan en el borde de los canteros y se incorporan mediante un aporque o reconstrucción del cantero.

Cuando se realiza la aplicación a voleo, el fertilizante es distribuido parcialmente dentro y parcialmente debajo del cantero. No es un método apropiado cuando se trabaja con dosis medias o bajas en suelos poco fértiles y fijadores de P, pero con dosis altas o en suelos fértiles, son menores las diferencias en relación con la aplicación a voleo. Realmente cuando se concentra el nutriente cerca de las raíces, el desarrollo de estas se dirige al foco de nutriente, mientras que si en todo el cantero existe un adecuado contenido de nutrientes, el sistema radical se desarrollará en todo el cantero y aprovechará más los nutrientes y el agua del suelo. La profundidad de estas aplicaciones debe mantener los nutrientes donde se mantenga una humedad adecuada (Mortvedt *et al*., 2001 y Herrera *et al*., 1993).

Gruner (1972) plantea que en un suelo medio y alto en P y K movible, una aplicación de P y K esparcida e incorporada al suelo antes de la siembra no presentó generalmente desventajas, en comparación con la aplicación cerca del propágulo en el momento de la plantación. Sin embargo, al aplicarse NPK, fue mejor la aplicación localizada cerca del propágulo. Cuando se aporca o se reconstruyen los canteros, se acercan los nutrientes a las raíces de las plantas y se hace menos importante si los fertilizantes se localizan o esparcen en el suelo.

Nitrógeno. Cuando se utilizan portadores sólidos y se adopta una aplicación de N en el momento de la plantación, esta se realiza formando parte de un portador con otros nutrientes, en una banda por debajo y a un lado del propágulo, como se explicó anteriormente. Usualmente se utiliza el 50 % de la dosis.

Aproximadamente un 50 % del nutrientes se aplica durante el desarrollo del cultivo, mediante aplicaciones adicionales que, cuando se utilizan portadores sólidos, tienen que realizarse en el borde superficial del cantero, al lado de las plantas y rápidamente cubriendo el fertilizante con suelo mediante aporque o reconstrucción del cantero.

Este nutriente es particularmente adecuado, para aplicar parte de lo disuelto en las aguas de riego por aspersión o goteo, como fertirriego, pudiéndose realizar aplicaciones de acuerdo con las necesidades del cultivo, mejorando el rendimiento, la calidad de la papa y eficiencia en el uso del N, ya que se reducen las pérdidas, especialmente el lavado hasta las aguas subterráneas. Las aplicaciones se realizan entre 20 y 60

días después de emergidas las plántulas de papa, 10–25 kg.ha^{-1} en cada una. Para facilitar la absorción de nutrientes y proteger los sistemas de riego, la aplicación del fertirriego debe comenzar con 2 mm de agua sin N y terminar con 5 mm también sin el nutriente (Bennent, 1999; Mortvedt *et al*., 2001; Van der Zaag, 1987). En la mayoría de los casos gran parte del nitrógeno se aplica temprano, ya que esperar mucho tiempo puede afectar el rendimiento, pero no debe empezar antes de la iniciación del tubérculo. Hasta entonces, usualmente el sistema radical no se ha desarrollado lo suficientemente como para capturar la mayoría del nitrógeno aplicado por este método y así los nutrientes pueden lixiviarse debajo de la zona de la raíz. Se advierte no hacer aplicaciones repetidas de dosis altas, pues estimulará el crecimiento vegetativo excesivo (Bennett, 1999).

En las campañas paperas 1998-1999 y 1999–2000, se realizó una prueba de riego por goteo de la papa en suelos Ferralíticos Rojos de Ciego de Ávila, pobres en N y P movible y altos en K. en la Empresa Citrícola de Ciego de Ávila, en la cual se incluyó la reducción de la dosis inicial de N y se realizó la aplicación diferida hasta los 60 días de plantada la papa. Este sistema se comparó con la aplicación de fertilizante por el método tradicional, en una máquina de riego de pivote central eléctrica Kuban en la Empresa de Cultivos Varios "Juventud Heroica". Se aplicó 1.38 t.ha^{-1} de 6-18-15 en la plantación, correspondiente a 84 kg N.ha^{-1}, 248 kg P_2O_5.ha^{-1} y 207 kg K_2O.ha^{-1}. El adicional fue de 210 kg N.ha^{-1} como fertirriego en forma de urea en la variante de goteo y 144 kg N.ha^{-1} en el suelo a los 25 días de plantado en la Kuban, de forma que el N adicional fue superior en el fertirriego por goteo.

En la Tabla 12 se muestran las diferencias en eficiencia de la fertilización en diferentes variedades. Como se observa, posiblemente debido a las altas dosis de nutrientes que se aplicaron en la variante goteo, la eficiencia del N fue superior en la variante Kuban, mientras que para el P y el K fue superior el goteo, con algunas diferencias entre variedades.

En las variedades Spunta, Santana y Désirée se manifiesta una mayor eficiencia de los tres elementos en la variante por goteo. En las variedades Chiftain, la mayor eficiencia ocurrió en la Kuban, que recibió la dosis de fertilizante que recomienda el servicio agroquímico, inferior a la aplicada a la misma variedad en la variante goteo y los rendimientos fueron iguales. En relación con el N, en todas las variedades excepto en la Santana, se encontró más eficiencia en la Kuban, donde las dosis de N fueron menores.

Tabla 12. Rendimiento y eficiencia de la fertilización en diferentes variedades de papa

Variedad	kg de papa/kg de nutrientes							
	Nitrógeno		Fósforo		Potasio		Total	
	Goteo	Kuban	Goteo	Kuban	Goteo	Kuban	Goteo	Kuban
Spunta	160	184	190	169	227	202	62.7	61.3
Santana	167	138	198	127	237	152	65.4	46.1
Desirée	119	141	141	130	169	156	46.7	50.8
Chiftain	109	204	129	173	155	207	42.7	52.1
Total	129	203	153	140	183	168	50.6	52.8

También se realizaron investigaciones para hacer la segunda aplicación de N mediante la fertirrigación en máquinas de pivote central, sin variar la dosis en la fórmula completa (Saavedra *et al*., 2001). Los rendimientos y el efecto económico fueron superiores con la fertirrigación. También fueron positivos los resultados del fertirriego en microjet (Saavedra *et al*., 2001). Fernández y John (2000) demostraron que con las máquinas surcadoras fertilizadoras Habana, en su estado actual, generalmente se están aplicando dosis de fertilizante superiores a las necesarias, especialmente en la dosis de urea, lo que se resuelve con el fertiriego, que incluye un ahorro de energía y en general de recursos económicos.

Las primeras validaciones del uso del fertirriego a la papa en condiciones de Cuba, se realizaron en la Empresa de Cultivos Varios Batabanó de 1999 al 2001, en máquinas de riego de pivote central. Se utilizó 223 $kg.ha^{-1}$ de urea, fraccionado entre los 30 y 60 días de plantada, de acuerdo con la fase fenológica en 33, 45, 78.05, 78.05 y 33.45 $kgN.ha^{-1}$, a intervalos de 8-12 días. Los resultados fueron positivos tanto agronómica como económicamente (Moreno *et al*., 2001).

Mortvedt *et al*. (2001) alertan que si bien puede aplicarse fertilizante nitrogenado a través de los sistemas de riego por aspersión, todos los sistemas de riego cerrados deben equiparse con válvulas de prevención de flujo de retroceso si se aplican fertilizantes de N u otros agroquímicos a través del sistema. Solo debe aplicarse fertilizantes de nitrógeno en sistemas de riego por surco, en campos donde exista un sistema de recuperación del agua que sale del campo y esta sea reutilizada. Sin embargo, la aplicación de fertilizantes de N en el riego por surco no asegura una distribución uniforme del N y, por lo tanto, no es aconsejable. Por su parte, Smilde (1987) recomienda no aplicar urea foliar a la papa.

Se recomienda supervisar el estado del N en las plantas mediante el análisis de tejido y usarse la información para ajustar las dosis a fertirrigar. Otras recomendaciones para el fertirriego se refieren al tratamiento diferenciado de las variedades: en variedades que necesitan aplicaciones altas y tempranas de nitrógeno, se realiza una aplicación adicional inmediatamente antes del aporque y se tapa con él. El resto del nitrógeno debe aplicarse mediante el riego. Esta fertirrigación permite la alimentación de la papa a mediados de su ciclo de desarrollo, cuando no es correcto introducir máquinas en los campos y las necesidades nutricionales son altas. En algunas variedades con problemas para fortalecer su piel, es muy importante detener las aplicaciones de nitrógeno temprano, para asegurar la maduración antes de la cosecha. Así, en algunas variedades no se recomienda inyectar el nitrógeno a través del riego. Por ello, el tiempo óptimo de las inyecciones de nitrógeno varían con la variedad (Montain Valley Produce, 2001).

Fósforo. La forma de aplicación del P es vital para el desarrollo de los cultivos, de acuerdo a que el P en la solución del suelo solo puede difundirse a poca distancia. En muchos de los suelos dedicados al cultivo de la papa, la mayoría del fertilizante del P agregado es retenido en formas insolubles por el suelo y solo reducidas cantidades permanecen en solución del suelo. Por esta razón, muchos autores plantean que las aplicaciones en banda en la plantación son más eficaces que las aplicaciones a voleo. Las aplicaciones localizadas deben realizarse en bandas 5 cm al lado y debajo de los tubérculos semilla en el momento de la plantación (Vitosh, 1990).

La mayoría de los productores prefieren aplicar todo el P en bandas para evitar la fijación. Sin embargo, Mortvedt *et al*. (2001) plantean la aplicación de altas dosis de P a voleo en la preparación del suelo, dejando una parte para su aplicación en bandas como dosis de iniciación o arrancada del cultivo. Las aplicaciones del P a voleo en suelos pobres en P son eficaces, porque incrementan la probabilidad de que las raíces entren en contacto con el fertilizante, siendo mayor la absorción del P. Sin embargo, se incrementa la fijación en suelos muy ácidos o muy ricos en Ca. En el caso de suelos bien abastecidos en P, también pudieran realizarse aplicaciones a voleo. No son recomendables las aplicaciones superficiales, pues al P no moverse en el suelo, no penetraría hasta la zona radical.

Una variante probada por Herrera *et al*. (2000) es la aplicación del fertilizante a voleo inmediatamente antes de montar el cantero, con lo cual se concentra el producto en gran parte del volumen de ese cantero. Las ventajas de esta técnica están dadas en que es favorable para que el sistema radical se extienda por todo el cantero y se realice la intercepción radical. Además, aumentan la productividad del trabajo, rentabilidad del cultivo, velocidad de trabajo de la maquinaria y disminuyen la compactación del suelo, los gastos de almacenamiento, transportación y manejo de los fertilizantes. Estudios realizados por Herrera *et al*. (1990) mostraron que las aplicaciones en la papa de la dosis total de P de una rotación eran económicamente apropiadas. Pero en suelos de áreas tropicales, la fijación del P por el suelo puede ser un factor limitante.

Potasio. Es un nutriente cuyas sales portadoras son muy solubles, por lo que se traslada fácilmente hacia las raíces con el flujo de transpiración, dependiendo menos de que exista una alta concentración del contenido en la cercanía de las raíces y por ello del método de aplicación (Kupers, 1985).

Usualmente, el potasio se aplica junto con la fórmula completa en el momento de la plantación, en forma de bandas inmediatamente debajo y a un lado de los propágulos. La aplicación a voleo y enterrada antes de la plantación es el método usual en varios países. Sin embargo, Davenport (2001) plantea que los mejores rendimientos y la mejor calidad se obtienen cuando se aplica todo el potasio en la siembra y no se divide entre presiembra y tuberización.

Cuando existen condiciones para el fertirriego, es efectivo incluir parte del K en el agua de riego. Este método permite llevar el potasio, generalmente en forma de nitrato de potasio, en el momento en que la planta lo necesite o hacer correcciones de defectos en la aplicación de la fórmula completa (Prummel, 1983).

La aplicación de K "a voleo" se debate, ya que independientemente de que muchos autores plantean la aplicación en bandas junto al P, también se considera la aplicación a voleo antes de montar los canteros, dando tiempo a que se laven los cloruros (Vitosh, 1990). En suelos con un alto contenido de K movible no deben ocurrir diferencias entre un método y otro de aplicación.

El fertiriego del K, en concentraciones de solución final < 1 %, es también una opción. Saavedra *et al*. (2001) estudiaron el fertiriego de la papa con K_2SO_4, encontrando un efecto favorable en el rendimiento y desarrollo del cultivo, a pesar de las altas dosis de K en un suelo bien

abastecido con este nutriente. La aplicación no causó quemaduras ni crecimiento anormal de los tubérculos y se ahorró energía para su realización. Cárdenas (2001) plantea una elevada uniformidad del fertiriego con K_2SO_4 y KNO_3 mediante un inyector de pistón con capacidad de 200 $L.h^{-1}$

Macroelementos secundarios y oligoelementos. Generalmente el Ca y el Mg se aplican cuando se encala o no es necesario adicionarlo, pero el magnesio puede ser aplicado junto a portadores NPK o como aspersión foliar, donde la deficiencia ocurre en situaciones como falta de humedad.

Los oligoelementos se aplican en dosis pequeñas y su movilidad es rápida y fuertemente afectada al aplicarse en el suelo, principalmente cuando se emplean sales solubles, corriéndose el riesgo de falta de uniformidad (B, Mo), toxicidades y deficiencias localizadas debido a precipitaciones (Cu, Mn, Zn), por lo que son muy eficientes las aplicaciones foliares, principalmente de los nutrientes que son móviles dentro de las plantas (Smilde, 1987).

Dosis de fertilizantes. Determinar la dosis óptima de cada nutriente es un proceso complejo, de acuerdo con los múltiples factores, como son: los requerimientos de cada variedad, la fertilidad del suelo, la dinámica del nutriente y, en general, todos los elementos de la tecnología agrícola utilizada. Los aspectos económicos también deben considerarse.

El concepto de que los "buenos empresarios usan más fertilizantes" es claramente un mito. Los productores realmente buenos son aquellos que usan solamente el fertilizante necesario. Hasta la década del 70 del siglo pasado, Cuba era uno de los países que más fertilizantes utilizaba en la papa y, sin embargo, sus rendimientos eran de los más bajos (Deroncelé *et al*., 1983, Moreno, 1994). La aplicación de dosis altas de nutrientes para disminuir el efecto negativo de factores no nutricionales puede ayudar a que sea menor la caída de rendimiento, pero no ayuda a eliminar el problema. Es más caro usar fertilizante como paliativo que enfrentar el problema real.(Kupers 1985). A lo anterior se une la existencia de la Ley del Equilibrio de los nutrientes, integrada por Voisin (1970), por la cual un exceso de un nutriente afecta la asimilación de otros y con ellos el desarrollo y lógicamente la producción de los cultivos.

A modo de ejemplo de cómo no existe correspondencia entre la dosis de fertilizante y el rendimiento del cultivo, cuando las dosis no se calculan técnicamente, se muestra en la Tabla 13.

Tabla 13. Promedio de rendimientos, fertilización y eficiencia de la fertilización de las tres campañas de papa 1995-1997 en diferentes provincias de Cuba

Provincia	Dosis de 10 -17-24 ($t.ha^{-1}$)	Rendimiento ($t.ha^{-1}$)	T papa/t NPK
Cienfuegos	1.24	28.4	37.5
Ciego de Avila	1.24	24.3	31.9
Matanzas	1.18	23.2	31.9
La Habana	1.51	21.6	23.6
Resto del país	1.12	19.4	27.9

En ese trienio la eficiencia de la fertilización de la papa a nivel nacional tuvo los valores de 26.7, 31.5 y 23.7 y según datos de la FAO en 1995, Cuba ocupaba el lugar 21 en rendimientos, pero el segundo en fertilización aplicada y en eficiencia (t de papa/ t de fertilizante aplicado) el lugar 50. En el próximo quinquenio, al aplicarse una nueva estrategia de fertilización, se lograron incrementos notables en la eficiencia de la fertilización, como se muestra en la Tabla 14.

Tabla 14. Resultados de la aplicación de una nueva estrategia de fertilización a partir de la campaña 1997-1998

Rendimiento ($t.ha^{-1}$)	Dosis ($t.ha^{-1}$)		Nutrientes aplicados ($kg.ha^{-1}$)			t papa/ t NPK
	9-13-17	Urea	N	P_2O_5	K_2O	
20.4	15.0	3.0	204	145	190	38.2
23.7	17.5	3.0	220	170	222	39.3
=> 27.1	20.0	3.0	237	194	253	40.2

Un elemento que se esgrime para utilizar dosis más elevadas de fertilizantes que las propuestas por los investigadores del cultivo, especialmente en relación con los nitrogenados, consiste en plantear que la eficiencia de las aplicaciones de portadores en condiciones de producción no se corresponde con las de estaciones experimentales (donde se logran altos rendimientos con dosis menores), entre otras razones por el desgaste de las maquinarias y por falta de pericia de los operadores. Si bien es cierto que las condiciones no son iguales, incluso cuando se realizan experimentos en las propias empresas, no se puede afirmar que los problemas ocurran porque lleguen menos nutrientes que los previstos al suelo. Fernández y John (2000) encontraron que por deficiencias técnicas de las máquinas fertilizadoras que se usaban en la provincia Habana, se aplican dosis de fertilizantes superiores a las deseadas y que incluso era posible disminuir a la mitad la dosis que se aplica, lo que

corrobora planteamientos anteriores de que las dosis de N usadas en la producción (260 a 400 kgN.ha^{-1}) eran superiores a las obtenidas por investigaciones y que las máquinas abonadoras no responden a los requerimientos técnicos. (INCA, 1987).

Otro ejemplo se presenta en la Tabla 15, correspondiente a una prueba de fertirriego en la variedad Chieftain (Herrera *et al*., 2000).

Tabla 15. Efecto de diferentes dosis de nutrientes en la variedad Chieftain

	Dosis de nutrientes				Rendimiento (t.ha^{-1})	Kg papa/kg de nutrientes
	En la plantación			Adicional		
Fórmula	N	P_2O_5	K_2O	N		
9-13-17	167	242	317	210	45.7	48.8
6-18-15	84	248	207	228	53.1	70.8

El suelo no es un buen lugar para almacenar nutrientes: pueden sufrir pérdidas por lixiviación, erosión, gaseosas, inmovilizaciones químicas, físico-químicas y biológicas y exportación no productiva con las cosechas. Todas estas pérdidas deben tomarse en cuenta para determinar una dosis, que básicamente considera la extracción por el cultivo para un rendimiento esperado, el posible aporte de nutrientes por el suelo y el porcentaje de aprovechamiento de los nutrientes por las plantas, de acuerdo con sus particularidades y las pérdidas cuando llega el fertilizante al suelo.

Van der Zaag (1987) plantea que la dosis óptima de fertilización y aplicación de abonos orgánicos depende de: a) la fertilidad del suelo y b) el precio de los fertilizantes en relación con el precio esperado por la papa cosechada. En ese análisis debe recordarse la acción de la ley de los incrementos no proporcionales (Voisin, 1970), que postula una menor respuesta en rendimiento por unidad de fertilizante aplicado a medida de que se incrementan las dosis.

Es poco útil hacer referencias particulares a dosis utilizadas en diferentes regiones, excepto para resumir que en regiones tropicales las dosis de nutrientes, como el P, generalmente son mayores que en áreas templadas.(Reddy *et al*., 1986 y De Geus, 1967), debido a la baja fertilidad de esos suelos, especialmente el contenido de materia orgánica y P movible, además de inmovilización potencial de dicho nutriente.

La mayor respuesta de los cultivos a la fertilización, además de la dosis de cada nutriente, dependerá de la proporción en que se encuen-

tran los nutrientes entre sí, favoreciendo interacciones iónicas sinérgicas y evitando los antagonismos. No siempre un alto aporte de nutrientes se traduce en una eficiente producción de papa, debido a desbalances nutricionales mayormente por exceso de N y P. Múltiples son los ejemplos de interacciones, las cuales incluso pueden diferir entre variedades o en diferentes condiciones del entorno. Como ejemplos: debe lograrse una relación adecuada de las dosis de N con las de otros nutrientes, principalmente el fósforo y el potasio, y se eviten excesos de potasio cuando es escasa la disponibilidad de Mg; la adición de N amoniacal afecta la absorción de K, mientras que la de nitratos la favorece; se manifiestan antagonismos entre el potasio con el calcio y el magnesio; se informan sinergismos nitrógeno-fósforo, fósforo-potasio, hierro-potasio (De Geus, 1967; Grüner, 1972). Una regla general para conocer interacciones es que los aniones antagonisan a los aniones y son sinérgicos de los cationes y viceversa. Los iones que reaccionan entre sí generalmente son antagónicos.

Al considerarse las interacciones internutrientes, debe atenderse a los contenidos absoluto y relativo de cada uno de los iones participantes. Por ejemplo, el antagonismo K/Mg se manifiesta en suelos pobres en Mg, pero su efecto es menor en suelos bien abastecidos de este nutriente.

Finalmente, una dosis de fertilizantes no debe estar "equilibrada" en relación con los requerimientos del cultivo sino "equilibrantes" en relación con la fertilidad del suelo y la necesidad del cultivo, para que los cultivos tengan a su disposición los nutrientes en una relación adecuada. Para ello, se considera no solo la disponibilidad de nutrientes en el suelo sino también las posibles interacciones y pérdidas de los nutrientes que se apliquen con los fertilizantes.

Nitrógeno. Mundialmente, entre los países productores de papa, la dosis de fertilización nitrogenada discrepa considerablemente, dada la influencia que sobre este cultivo ejercen las condiciones de suelo, clima, época de siembra, relación entre nutrientes, variedad, etc. Pero se destaca que las dosis usadas en Cuba superan con creces a los demás (Tabla 16).

Existe mucha incertidumbre acerca de las causas de la variación en la respuesta al N en términos de rendimiento (Greenwood *et al*., 1985). Las papas son una cosecha de alto valor pero poco eficientes para utilizar el nitrógeno del suelo. Por ello, para obtener una producción elevada es necesario aplicar todo el nitrógeno requerido. La experiencia ha

mostrado que una cosecha de papa no responde directamente a la tasa de transformación del nitrógeno del suelo, aun cuando el resultado del análisis de suelo indica niveles de nitrógeno movible muy altos; por ello no puede hacerse depender una cosecha del N que se libere del ciclo natural del N. Un ejemplo de esto está en rotaciones de la papa, donde es necesario aplicar casi la misma cantidad de nitrógeno todos los años (Mortvedt *et al*., 2001).

Tabla 16. Rangos de fertilización de la papa en diferentes países y en Cuba

	Niveles de aplicación para altos rendimientos (25-30 t.ha^{-1})		
	N	P_2O_5	K_2O
Cuba	238-1287	134-253	184–368
Otros países	40-300	38-110	70–312

Para determinar la dosis de N a aplicar, hay que conocer previamente cuál es el tipo de crecimiento deseado (variedades tempranas o tardías), el cultivo precedente y cuánto N y materia orgánica aporta al suelo, el tipo de suelo y cuánto N este suministra, lo que depende del contenido de materia orgánica y de las condiciones atmosféricas antes y durante el período vegetativo, entre otros factores (De Geus, 1967; Tasistro, 2001 y Van der Zaag, 1990).

Prácticamente, todas las investigaciones realizadas sobre dosis de N, incluyendo en Cuba, han demostrado que con la aplicación de 160-200 kg N.ha^{-1} se respalda la obtención de rendimientos por encima del promedio nacional e incluso en años con altas temperaturas se corre el peligro de que se afecte el rendimiento del cultivo (Deroncelé *et al*., 1983 y Manrique, 1988). Estos valores coinciden con la porción superior del rango propuesto por Van der Zaag (1990), 100–200 kg N.ha^{-1}, en dependencia de la variedad, la fertilidad del suelo, el clima y la duración del período vegetativo. Venegas (2001) señala de 150 a 240 kN.ha^{-1} desde rendimientos bajos hasta altos. Deroncelé *et al*., (1978) plantearon que en muchas ocasiones no se logra respuesta de la papa con aplicaciones superiores a 160 kg N.ha^{-1}, lo que se relaciona con los valores de absorción de nutrientes por las platas y el porcentaje de aprovechamiento de este nutriente. Como resultado de ensayos de campo realizado en varias localidades y tipos de suelo, Deroncelé *et al*. (1983), plantearon la dosis de 160 kgN.ha^{-1} como promedio para el cultivo con rendimientos hasta 33 t.ha^{-1}. Lógicamente, las dosis a utilizar en condiciones normales de producción deben ser ligeramente superiores a las ob-

tenidas en condiciones de estaciones experimentales o incluso en pruebas controladas en áreas productivas, por lo que en Cuba se incrementan las recomendaciones en un 20–30 %, llegándose a 180–190 kg $N.ha^{-1}$.

Pero no es correcto extrapolar las dosis de fertilizantes entre una región y otra; son múltiples los factores que influyen en la definición de un programa de fertilización nitrogenada y no existen recetas universales. De Geus (1967) resume esta idea al plantear que para estimar los requerimientos individuales de N para su cultivo, el agricultor tiene que realizar un análisis propio a partir de un conocimiento profundo de sus suelos y sus muchos años de experiencia.

Un elemento a tomar en cuenta en la dosis de N se refiere a la duración del ciclo de vida del cultivo. En épocas tardías, después del 30 de diciembre, debe reducirse la dosis de N, al igual que si se espera que pueda acortarse el ciclo vegetativo por alguna causa (Moreno, 1994).

Fósforo. En comparación con las dosis de N, las de P y K dependen en mayor medida de la fertilidad del suelo, e incluso en suelos con un alto contenido del nutriente asimilable para la papa pudieran no aplicarse. Altas aplicaciones de P son particularmente necesarias en áreas tropicales y subtropicales, donde ocurren suelos Ferralíticos y similares, los cuales son generalmente pobres en P movible y se ha informado que las respuestas en rendimiento ante la aplicación de este nutriente son muy lineales hasta 400 kg $P_2O_5.ha^{-1}$ (De Geus, 1967; Peralta, 1991; Van der Zaag, 1987; Venegas, 2001).

El nivel de abastecimiento en P movible en el suelo influye tanto en la respuesta en rendimiento como en la magnitud de la relación entre la dosis de fertilizante y dicho rendimiento. Tremols (1987b) y Peralta (1991) condujeron experimentos que muestran cómo el nivel de abastecimiento de P en el suelo influye notablemente en el rendimiento y que a medida que el suelo es más rico en nutrientes, su eficiencia por kg disminuye (Tabla 17).

Tabla 17. Producción de papa por kg de nutrientes aplicados

Nivel de P movible en el suelo	Kg de papa/Kg de nutrientes aplicados		
	N	P_2O_5	K_2O
Pobre	12.3	62.4	1.9
Medio	58.3	60.1	18.5
Alto	29.8	24.2	10.4

Deroncelé *et al*. (1983) presentan resultados de diferentes autores, que muestran cómo la respuesta a la aplicación de P depende del tipo de suelo y su contenido en P movible (Tabla 18).

Tabla 18. Efecto de la fertilización P sobre los rendimientos de la papa (t.ha^{-1})

Tratamiento	Rendimiento	Diferencia	Suelo	Contenido de P movible	Autor
NK	16.81	0.64	Ferralítico Rojo	50 (Bray Kurtz)	Tremols (1978a y b)
NPK	17.45				
NK	23.5	1.40	Ferralítico Rojo	111.0 (Bray Kurtz)	Batista (1980)
NPK	24.9				
NK	6.24	17.06	Ferrítico púrpura	10 (Oniani)	Guerra (1982)
NPK	23.30				
NK	29.72	0.78	Ferralítico Rojo	296.9(Oniani)	Deroncelé (1977)
NPK	30.50				

Un elemento quizás controvertido se refiere a la recapitalización de los suelos con nutrientes. Según Smilde (1985), cultivos de alta respuesta como la papa no solo demandan una dosis óptima de nutrientes, también necesitan suficientes nutrientes del suelo, o sea, suelos fértiles para lograr una productividad máxima. Cuando tales cultivos crecen en suelos de baja fertilidad, producen menos, no importa la cantidad de nutrientes añadidos.

Cuando el uso de los fertilizantes no está limitado por recursos monetarios, almacenamiento y facilidades para adquirirlos, es recomendado llevar los suelos a una fertilidad suficientemente alta y mantenerla. Herrera *et al*. (2000) estudiaron diferentes rotaciones de cultivo, en las cuales se utilizó el método de incrementar el P en el suelo antes del primer cultivo, que generalmente fue la papa. Encontraron que la eficiencia de la fertilización era superior en suelos enriquecidos previamente en P. En este mismo sentido, Deroncelé *et al*. (1983) plantean que en los suelos pobres en P, pudiera crearse un fondo fosfático elevado en el suelo o solamente en el área de desarrollo de las raíces. En el primer caso, son necesarias altas cantidades de material fosfórico, mientras que la aplicación de fuertes dosis en el área del sistema radical exige maquinarias adecuadas.

***Potasio*.** Según Deroncelé *et al*. (1983), tal vez este sea uno de los nutrientes menos deficitarios en los suelos dedicados al cultivo de la papa en Cuba. Las dosis dependen del contenido de K movible en el suelo, pero por las elevadas cantidades que se exportan con las cose-

chas, su aplicación se realiza para restituir al suelo las diferentes exportaciones (incluyendo la posibilidad de consumo de lujo) y pérdidas y para asegurar la calidad de la cosecha, aunque no se muestran respuestas similares a su aplicación en términos de rendimiento. Su efecto depende no solo de la cantidad aplicada, sino también de la variedad, de las dosis de N y P, del tipo de suelo y su abastecimiento en K, del cultivo precedente y de las condiciones climáticas (Grüner, 1972).

Guerra (1980), Deroncelé *et al*., (1983); Tremols(1978a) y Borroto (1995) y no encontraron respuesta a la fertilización potásica en suelos con contenidos de K movible superiores a 30 mgK.100 g^{-1} de suelo. Barroso *et al*., (1986) tampoco encontraron respuesta en un suelo Ferrítico con contenido medio de K intercambiable (12.6 mgK.100 g^{-1}); Valdés *et al*., (1981) si obtuvieron respuesta estadísticamente significativa hasta 120 y no significativas hasta 200 kgK.ha^{-1}, en un suelo Ferralítico Rojo con un contenido inferior a 15 mgK.100 g^{-1}. Varios de estos autores presentan una disminución en el contenido de materia seca de los tubérculos, a medida que se incrementan las dosis de K, pero sin ser significativos estadísticamente.

En las regiones más importantes de cultivo de papa, las recomendaciones de fertilización potásica oscilan en un margen bastante amplio. En un sumario realizado por Perrenoud (1983), se observa que generalmente exceden los 200 kg de $K_2O.ha^{-1}$ en países con un promedio de rendimientos de 25 t.ha[1], mientras que no superan los 150 kg.ha^{-1} en aquellos con rendimientos promedio menores de 20 t.ha^{-1}. Grüner (1972) resume valores entre 120 y 300 kg $K_2O.ha^{-1}$. Venegas (2001) plantea 200-500.

Macroelementos secundarios y oligoelementos. Generalmente el Ca y el Mg no se aplican directamente en el cultivo de la papa cuando las aguas de riego son “duras”, o sea, los contienen en altas cantidades o los suelos son ricos en ello, como sucede en la mayoría de las áreas del cultivo en Cuba. El S aún no se ha mostrado como deficitario en los suelos paperos, por lo que las dosis se calcularan de acuerdo con las condiciones cuando se muestren necesarias. Sus deficiencias pueden aparecer por debajo de 8 ppm en el suelo.

Los oligoelementos también pudieran ser necesarios en condiciones particulares, pero debe tenerse especial cuidado en las dosis, pues ellos no solo son necesarios en pequeñas cantidades sino que muy rápidamente una dosis puede causar toxicidad aguda (B) o crónica (Cu, Zn), por ejemplo no debe aplicarse más de 15-20 kgha^{-1} (Smilde, 1987). Al

realizarse aplicaciones foliares no debe superarse 0.5 %. A continuación se analizan varios factores que incluyen en la dosis a aplicar a la papa.

REQUERIMIENTOS DEL CULTIVO

Uno de los factores que se tienen en cuenta en la agricultura contemporánea al recomendar dosis de fertilizante para los cultivos, es la extracción y exportación de nutrientes, lo cual permite considerar el balance de nutrientes en la región (Guerra, 1980).

La cantidad de fósforo, potasio y nitrógeno suministrado a un cultivo debe ser adecuada al rendimiento esperado. Es un gasto de dinero y se afecta al medio ambiente, invertir en fertilizantes para 50 $t.ha^{-1}$ de rendimiento cuando la longitud del período de desarrollo u otras razones ecológicas causan que el rendimiento se restrinja a un nivel mucho más bajo. Recuérdese que en condiciones óptimas, la tasa de desarrollo de los tubérculos raramente excede 200 kg de materia seca por hectárea por día. De esta forma, si el período entre la iniciación de los tubérculos y la cosecha es de 30 días, con un contenido de 20 % de materia seca solo se logran 30 $t.ha^{-1}$ (Kupers, 1985).

En el caso del N, es muy importante considerar el rendimiento y la extracción esperada. Para el P, como es posible prever con cierto grado de certeza cuando el suelo tendrá a disposición de las plantas y por el ya explicado alto "requerimiento externo", la extracción es menos importante. En el caso del K, aunque los análisis de suelos dan una idea de las reservas del suelo, la posible ocurrencia de consumo de lujo indica que debe considerarse la posible extracción del cultivo.

En la Tabla19 se presentan las recomendaciones de fertilizantes para Cuba en base al rendimiento esperado y los niveles de fertilidad del suelo.

FERTILIDAD DEL SUELO

Al planificar las dosis de fertilizantes, es imprescindible conocer la capacidad del suelo de aportar cantidades de nutrientes a las cosechas, ya que no es posible lograr sostenibilidad aplicando "fertilizante sobre fertilizante". El factor fertilidad de los suelos es uno de los básicos para determinar las dosis de nutrientes a aplicar a un cultivo. Una fertilidad adecuada del suelo es uno de los requisitos para la producción rentable de papa (Mortvedt *et al*., 2001).

Tabla 19. Recomendaciones de nutrientes en función del nivel de abastecimiento en el suelo P_2O_5 y K_2O para un rendimiento programado (Moreno, 2000)

Rendimiento Programado	N	Niveles de P movible			Niveles de K movible		
		P1	P2	P3	K1	K2	K3
Suelos Ferralíticos Rojos							
17.2	150	120	90	60	170	136	120
20.6	173	140	110	80	200	166	150
24.0	196	160	130	100	230	196	180
27.5	220	180	150	120	260	226	210
30.5	243	200	170	140	290	256	240
34.3	266	220	190	160	320	286	270
> 34.3	289	240	210	180	350	316	300
Suelos Pardos con y sin carbonatos, Fersialíticos y Aluviales							
17.2	125	106	80	53	140	112	98
20.6	148	123	97	70	170	142	128
24.0	171	140	114	87	200	172	158
27.5	195	157	131	104	230	202	188
30.5	218	174	148	121	260	232	218
34.3	241	191	165	138	290	262	248
> 34.3	265	208	182	155	320	292	278
Suelos arenosos, cuarcíticos							
17.2	188	84	63	43	180	144	126
20.6	208	98	77	56	210	174	156
24.0	228	112	91	70	240	204	186
27.5	248	126	105	84	270	234	216
30.5	268	140	119	98	300	264	246
34.3	288	154	133	112	330	294	276
> 34.3	308		157	126	360	324	306

La fertilidad y productividad de los suelos pueden variar ampliamente, dependiendo de varios factores, los cuales deben reflejar las prácticas de producción de alimentos. Mantener y donde sea posible incrementar la productividad de los suelos es esencial para la sostenibilidad de las poblaciones (Johnston, 2000).

El peso de la fertilidad del suelo en la determinación de dosis dependerá de las particularidades de la dinámica de cada nutriente en el suelo. Por ejemplo, en el caso del N, Mortvedt *et al*. (2001) plantean que su manejo apropiado es una de las prácticas más importantes para la producción de la papa con altos rendimientos y calidad, y la dosis dependerá del rendimiento esperado menos el nitrato residual en los suelos que se mineralizará de la materia orgánica del suelo, de los residuos de cosechas anteriores y el nitrato presente en el agua de riego. El cultivo

de la papa, como regla, no aprovecha todo el N del suelo. De igual forma, el nitrato de las aguas de riego es usado ineficientemente. Normalmente, se puede considerar el N tomado del suelo para calcular las dosis, llegando en áreas de temperaturas cálidas a tomar el 50 % del nitrato disponible en la solución del suelo, pero el cálculo debe hacerse con cuidado (Mortvedt *et al*. 2001)

El P se aplica basado en los resultados de los análisis del suelo. Muchos suelos no mejorados contienen demasiado poco P directamente asimilable por las plantas para producir rendimientos óptimos. Por lo tanto, debe adicionarse P adicional al suelo si este debe producir suficiente comida para asegurar una dieta adecuada, tanto ahora como en el futuro. La mayoría de este P adicional debe provenir de fertilizantes, ya que muy poco está disponible de otras fuentes (Johnston, 2000). En el caso de suelos altos en Ca o que las aguas de riego sean ricas en Ca y Mg, las dosis de P deben incrementarse con relación a dónde no exista esa situación con el Ca.

Heredia *et al*. (1997) encontraron una baja eficiencia agronómica de las aplicaciones de P en la papa en suelos Ferraliticos Rojos compactados de La Habana, relacionada con un bajo aprovechamiento de los fertilizantes debido al abastecimiento de los suelos en P, que se refleja en altos tenores de P foliar y bajos de nitratos.

El sistema actual en Cuba para calcular las necesidades de nutrientes para el cultivo de la papa forma parte del servicio de suelos y agroquímica nacional. Este servicio comprende un conjunto de actividades dirigidas a garantizar la protección, el uso correcto, la conservación y la rehabilitación de los suelos. Dentro del servicio se considera establecer las normas de aplicación y calidad de los fertilizantes, abonos orgánicos y materiales enmendantes, con fines agrícolas, o sea, la recomendación y distribución de los fertilizantes, para lo cual se tienen en cuenta los siguientes aspectos:

⇨ análisis de suelo y foliar
⇨ resultados experimentales de nutriciòn vegetal obtenidos en las condiciones edafoclimáticas cubanas y de otros pazíses
⇨ caracterización de los suelos y del cultivo
⇨ condiciones de riego o secano
⇨ rendimientos esperados
⇨ características de cada región.

Para hacer las recomendaciones de dosis en base a la fertilidad del suelo, se procede a la confección de cartogramas de fertilidad de los suelos en las empresas donde se cultiva la papa, los cuales contiene información sobre el pH, P y K movible en dichos suelos, de acuerdo con el método de Oniani (Tabla 18).

De acuerdo con la categoría de cada área dedicada a la papa, se decide la dosis de fertilizante a aplicar. En el análisis se considera el rendimiento potencial de acuerdo con la variedad, el historial y los cambios que han ido ocurriendo en la fertilidad del suelo.

Sin embargo, las recomendaciones deben perfeccionarse. Alfonso *et al*. (2000) realizaron estudios en la provincia de La Habana y demostraron que de acuerdo con la fertilidad de los suelos, era posible disminuir de 20 a 10 $t.ha^{-1}$ la dosis de fórmula completa al cultivo, disminuyendo el contenido de nitratos en los tubérculos, lográndose un marcado efecto económico.

Investigaciones realizadas durante más de 10 años en suelos Ferralíticos Rojos representativos de las áreas de producción de papa de Ciego de Ávila, demostraron que con menos de 15 mg P_2O_5/100g de suelo, es necesario aplicar 180 kg P_2O_5/ha y en suelos medios y bajos 150 y 125 mg $P_2O_5.ha^{-1}$ respectivamente (Peralta, 1991 y Herrera *et al.*1993). Actualmente se encuentran altos valores de P movibles en los suelos, que indican que se están enriqueciendo los suelos, similarmente a lo que ocurre en la provincia de La Habana.

En suelos Ferríticos púrpuras, con una riqueza de 10 de ppm de P movible en la provincia de Camagüey, Guerra (1982) encontró una respuesta de la papa hasta 100-150 kg $P_2O_5.ha^{-1}$. Los suelos arenosos son también pobres en P movible (Deroncelé *et al*., 1983).

En los suelos con alto contenido de P movible, debido a aplicaciones sistemáticas de fertilizantes, las dosis deben realizarse de acuerdo con la extracción posible del cultivo, de forma de devolver al suelo el P exportado y así se mantenga su fertilidad. En esta dosis, debe tomarse en cuenta el porcentaje de aprovechamiento del fertilizante, para evitar un empobrecimiento de la fertilidad del suelo, sino mantenerla en valores adecuados.

En relación con el potasio, numerosos trabajos investigativos han tenido como objetivo encontrar las dosis de fertilizante potásico más adecuadas para el desarrollo del cultivo. Tremols (1978) considera poco probable la respuesta cuando la cantidad de K es superior a 14 mg/100g de suelo y sugiere un índice critico de 11 $mg.100g^{-1}$. En Cuba,

Valdés *et al*. (1981), sobre suelo Ferralítico de 13,5 mg de K.100g^{-1}, lograron elevar los rendimientos de 25 a 32 t.ha^{-1} con dosis de 200 kg.ha^{-1}.

Los suelos de Ciego de Ávila tienen un contenido alrededor de 30 mgK/100g de suelo y se probó que en esas condiciones no se obtiene una respuesta de la papa ante la aplicación de fertilizantes potásicos (Rodríguez *et al*., 1993 y Borroto, 1995).

La relación entre la fertilidad del suelo y la dosis de fertilizante tiene un aspecto económico que no debe soslayarse. A medida que el suelo es más fértil, la respuesta a cada unidad de fertilizante es menor, por lo que la dosis mejor desde el punto de vista económico es inferior a la que ofrece los rendimientos más elevados. Un ejemplo de cómo disminuye la eficiencia de la fertilización a medida que se incrementa la fertilidad se muestra en la Tabla 20.

Tabla 20. Producción de papa por unidad de nutriente aplicado a suelos de diferentes niveles de abastecimiento

Nivel de abastecimiento en K del suelo	Kg de papa por kg de K_2O aplicado
Pobre	28.7
Medio	10.8
elevado	0.22

A pesar de lo planteado anteriormente, las dosis de K que se aplican en las áreas de papa son elevadas, llegando en algunos años a valores superiores a los 400 Kg de K.ha^{-1}. Esto se debe a las altas dosis de fertilizantes que se aplican independientemente de las recomendaciones y que las fórmulas fertilizantes tienen una elevada concentración de K.

ESTADO FISIOLÓGICO DEL CULTIVO

Al programar la fertilización, especialmente la adicional, debe tomarse en cuenta el estado fisiológico del cultivo. La base para el crecimiento del tamaño del tubérculo sin afectar la calidad, está dada en un programa de nitrógeno exacto. Hay muchos aspectos para considerar cuando los productores están haciendo aplicaciones de fertilizante: es importante saber cuándo aumentar al máximo el uso de nitrógeno y cuándo dejar caer los niveles de nitrógeno. El productor debe manejar su programa de nitrógeno, mantener el nutriente en niveles adecuados hasta aproximadamente seis semanas antes de cosecha y luego prever cuándo van a cosechar y asegurar que los niveles de nitrógeno comiencen a caer cuatro a seis semanas antes (Bennett, 1999).

Durante la fase de crecimiento, debe mantenerse el contenido de nitrato en los pecíolos aproximadamente en 15 000 partes por millón. Sin embargo, aproximadamente cuatro a seis semanas antes de la cosecha, debe dejarse caer la concentración de nitrato por debajo de 10,000 partes por millón para reforzar madurez del tubérculo (Bennet, 1999 y Mortvedt *et al*., 2001). Use los resultados de análisis de pecíolo para determinar el estado del N en la plantación y si los valores están por debajo del valor promedio adecuado, puede aplicar N adicional con el próximo riego.

DESTINO DEL TUBÉRCULO

Las papas se utilizan para: consumo directo, ser preelaboradas con vistas al posterior consumo, la producción de almidón y como semillas para próximas cosechas.

En las papas de consumo directo, lo fundamental es la producción de tubérculos, siendo menos importante el contenido de masa seca, pero adquiere significación la susceptibilidad a las manchas azules (cambio de color de las papas como consecuencia de lesiones mecánicas). Las papas dedicadas al consumo directo recibirán las mayores dosis de potasio, en comparación con las que se dediquen a la preelaboración industrial o a almacenamiento prolongado (Prummel, 1983). Esto debe analizarse con cuidado, pues aparentemente en las papas para consumo es mejor utilizar el cloruro de potasio y altas dosis de este nutrientes. Sin embargo, en países como Cuba, donde las papas se almacenan por un prolongado espacio de tiempo, pudieran ocurrir problemas en la calidad final de la papa.

Cuando se cultivan papas para su preelaboración industrial, es fundamental conseguir un contenido de masa seca lo más alto posible (para mayor rendimiento y menor absorción de grasa en la preparación de "chips" y papas a la francesa) y, al mismo tiempo, la menor susceptibilidad posible a las manchas azules y con bajo contenido de azucares reductores. Por lo tanto, las cantidades de potasio deben ser inferiores a las papas con destino al consumo y las con destino a la producción de almidón. Las dosis altas evitan las manchas azuladas en la masa del tubérculo, pero pueden inducir cambios indeseables de color en las papas preelaboradas (Prummel, 1983). Al aplicarse abonos orgánicos, debe cuidarse las dosis de fertilizantes minerales, pues puede ocurrir un exceso y afectaciones en la calidad del tubérculo.

Las papas dedicadas a la producción de almidón reciben dosis menores de potasio, ya que su objetivo es lograr la máxima producción de este. Al incrementarse las dosis de K, al comienzo se obtiene un incremento en la producción de tubérculos y del contenido de almidón, pero rápidamente este último se reduce, tanto más cuanto más alto sea el contenido de K disponible en el suelo. La máxima producción de almidón se obtiene antes de alcanzar la mayor producción de tubérculos, la sustancia adicional que se obtiene al aumentar la cantidad de abono potásico es, por lo tanto, agua. Debe evitarse la utilización de altas dosis de cloruro de potasio en las papas dedicadas a la industria. Pero siempre que se apliquen dosis altas, el contenido de almidón se aumenta, incluso con sulfato de potasio (Prummel, 1983).

En la producción de semillas, se aplican dosis menores de N que en la producción de papa para consumo o industria, para evitar que se oculten los síntomas de virosis y se incremente el tamaño y se atrase la maduración de los tubérculos. En plantas ligeramente deficientes en N, se muestran más claramente los síntomas y facilita el entresaque de plantas enfermas (Havekort, 1987). Mientras más tarde la semilla sea cosechada, menor será la dosis de N. Las papas para semilla generalmente no reciben la segunda dosis de N.

VARIEDADES

La fertilización es uno de los factores primarios para asegurar que se expresen las características productivas de las variedades. Al analizar el efecto variedad, debe tomarse en cuenta que en las condiciones climáticas de Cuba, no existe una clara diferenciación entre las variedades tempranas, medias y tardías, ya que todas tienden a acortar su ciclo de desarrollo similar a las tempranas; por lo tanto, la información de la literatura debe utilizarse con cuidado. Pudiera considerarse que las variedades de ciclo más largo están más cerca de las variedades medias.

Existen variedades de tipo de crecimiento 1, generalmente tempranas, de corto ciclo de vida y poco desarrollo del follaje, en las cuales se utilizan dosis inferiores de N en comparación con las de tipo de crecimiento 2, de mayor follaje y duración del período vegetativo (Van der Zaag, 1990). En las variedades tempranas se utilizan al inicio dosis inferiores, para evitar que se atrase el desarrollo del tubérculo. Para variedades tardías no se recomienda la aplicación de la dosis total de N en la plantación sino fraccionarla (Bennett, 1999).

Algunas variedades toleran niveles menores de N, debido a su tendencia a producir más follaje y relativamente menor desarrollo de los tubérculos bajo la influencia de altas dosis de N. Este efecto se manifiesta incluso en variedades con alta respuesta al N (De Geus, 1967).

La decisión de manejo de la fertilización en cada tipo de variedad dependerá de un análisis económico, o sea, si las cosechas tempranas reciben un precio acorde con los gastos para obtenerlas. En la Tabla 10 se puede observar cómo el efecto variedades determina la eficiencia de la fertilización.

Existe una diferencia en la respuesta de las variedades a los niveles de P. Condori *et al*. (2000) encontraron variedades que se manifestaban superiores a otras en condiciones de suelo pobre en P asimilable, pero que su respuesta a las aplicaciones de P era inferior a otras variedades que, sin embargo, eran inferiores en suelos pobres sin fertilizar. Precisamente esta es una de las causas de algunos problemas surgidos en las regiones donde se adoptaron sin análisis casuístico los sistemas de la Revolución Verde. Generalmente, las variedades más productivas son tan especializadas, que para mostrar su potencial necesitan tenores altos de fertilidad, mientras que variedades más rústicas son capaces de subsistir en suelos pobres, aunque con bajos rendimientos, pero no tienen una potencialidad necesaria ante los niveles adecuados del nutriente.

En la Tabla 21 se muestran los resultados de una prueba de fertirrigación por goteo realizada en Ciego de Avila, donde se observa el efecto varietal en relación con dosis similares de fertilizantes y la diferencia entre dosis. La Santana, una variedad más productiva que la Desirée, respondió más directamente a la diferencia en dosis de fertilizantes que la Desirée, tanto en rendimiento como en eficiencia de la fertilización.

Tabla 21. Diferencias en el comportamiento varietal de la papa ante diferentes dosis de fertilizantes (campaña 1999-2000, Herrera *et al*. (2001)

Variedad	Portador	Dosis de nutrientes en la plantación (kg.ha^{-1})			N Total	Rendimiento (t.ha^{-1})	kg papa/kg de nutrientes
		N	P_2O_5	K_2O			
Goteo							
Santana	9-13-17	167	242	317	377	45.7	48.8
Santana	6-18-15	84	248	207	294	53.1	70.9
Desirée	6-24-14	62	250	146	272	31.4	47.0
Desirée	6-18-15	84	248	207	294	35.4	47.2

Clima. En general, en climas muy húmedos son menores los rendimientos y la respuesta al N (De Geus, 1967). Es conocido por los fisiólogos que la actividad del sistema radical, medida como la tasa de absorción de nutrientes, depende fuertemente de la temperatura del suelo y el suministro de oxígeno. Con altas temperaturas y suelos húmedos, el efecto del N en los hábitos de crecimiento de las plantas de papa es más pronunciado que las bajas temperaturas y poca humedad (Kupers, 1985).

En regiones tropicales, las papas reaccionan favorablemente a una fertilización que le haga llegar el N lenta pero continuamente, lo cual puede venir dado por la utilización de los abonos verdes o los abonos orgánicos (Kupers, 1985). Sin embargo, esta liberación no coincide siempre con los períodos de mayor necesidad de nutrientes por la papa.

Havekort (1987) y Smilde (1985) se refieren a que los efectos de diferentes dosis de N, P y K fueron más marcados en épocas lluviosas que en seca. Para el N, esto se explica por su efecto de atrasar la tuberización a favor del desarrollo foliar, ya que en seca esta se inicia muy tarde para aprovechar las dosis de N. En el caso del P y K, la humedad ayuda a su asimilación. Cuando la lluvia supera a la evaporación, los aniones que no han sido absorbidos en sitios de intercambio ni tomados por las plantas, son lavados de la zona radical (Smilde, 1987).

Uso de abonos orgánicos. Los abonos orgánicos son una fuente pobre de macroelementos, generalmente por debajo del 5 %, siendo considerados "fuentes de nutrientes" y no propiamente fertilizantes. Pero las cantidades que llegan con ellos, deben tomarse en cuenta cuando se calculan las dosis de fertilizantes minerales, que aparte de excepciones, deben aplicarse también. Por ejemplo, cuando se utilizan abonos orgánicos con una relación C/N estrecha, como el aporte de N es mayor, si es necesario utilizar fertilizantes minerales, debe buscarse una relación internutrientes baja en N y más alta en P, siempre dependiendo de los análisis de suelo.

Esos aportes de nutrientes no responden a las necesidades de cultivos de ciclo rápido y alta demanda, por lo que es necesario utilizarlos en conjunto con abonos minerales. A este análisis se une la realidad de que generalmente no existen suficientes cantidades de abonos orgánicos en la cercanía de las áreas paperas, excepto cuando se refiere a áreas de pequeños agricultores

Un elemento importante a tomar en cuenta cuando se utilizan abonos orgánicos, se refiere a que estos influyen positivamente en las propiedades físicas, físico-químicas y biológicas del suelo, componentes

de la fertilidad del suelo y con ello se espera un aprovechamiento mayor de los nutrientes que se aporten con los fertilizantes y posibiliten dosis más reducidas. Esto es así, ya que la materia orgánica del suelo juega un papel en la asimilabilidad de los nutrientes, especialmente del P. Además de la mineralización del P inorgánico, el humus formado, aparentemente brinda sitios de absorción de P de baja energía, incluyendo el proveniente de los fertilizantes, como se observa en la próxima Tabla (Grüner, 1972 y De Geus, 1967).

OTRAS FORMAS DE REFORZAR LA NUTRICIÓN DEL CULTIVO

Abonado verde. En la mayoría de las empresas agrícolas, no se cuenta con fuentes suficientes de abonos orgánicos y la papa es un cultivo que deja muy pocos residuos orgánicos en el suelo y de descomposición acelerada, por lo que debe ser acompañado en las rotaciones con otros cultivos mayores productores de masa seca orgánica. El uso conjunto de fertilizantes minerales promueve mayor producción de follaje y raíces, y con ello se dispone de mayor cantidad de residuos orgánicos. O sea, la solución puede ser la técnica del "abonado verde".

Sharma y Sharma (1989) destacan la importancia de los abonos verdes, especialmente en regiones tropicales y subtropicales donde existen suelos con bajo contenido de materia orgánica. García *et al*. (1999) y Ruiz *et al*. (2000) plantean que el abonado verde cobra cada día más interés, como medida de incremento y conservación de la fertilidad de los suelos, sobre todo en condiciones de los trópicos donde las altas lluvias y temperaturas causan su rápida degradación y aclaran que la producción de papa en Cuba no escapa de dicha problemática, ya que la mayor parte de los suelos Ferralíticos Rojos sobre los que se cultiva están presentando un alto grado de degradación, dado por los bajos contenidos de materia orgánica, compactación, pH altos, fuerte erosión y, en general, baja productividad. El abonado verde fue recomendado en Cuba desde 1969 por el Grupo Nacional de Viandas del Ministerio de Agricultura, pero aún no se generaliza.

Esta técnica consiste en intercalar dentro de una rotación un cultivo cuya finalidad sea ser enterrado en su momento de máximo desarrollo y contenido de nutrientes (generalmente al inicio de la floración) para usarlo como mejorador del suelo, con lo que se incorpora al suelo materia orgánica y nutrientes, aumenta la asimilación de otros nutrientes al reciclarlos del subsuelo hacia el suelo y convertirlo en formas asimilables

para las plantas de papa, además de proteger el área de la erosión (Van der Zaag, 1990, Sharma y Sharma, 1989). La principal contribución de los abonos verdes a la fertilidad del suelo es proteger al suelo y suministrar nutrientes, más que mantener el humus del suelo.

Como abono verde generalmente se utilizan leguminosas, que pueden fijar nitrógeno atmosférico e introducirlo en la rotación; además, los abonos verdes extraen nutrientes de las capas inferiores del suelo y los depositan en la superficie del suelo en forma potencialmente asimilable o al menos toman el nutriente y lo inmovilizan para que no se pierdan como sucedería si el suelo estuviera descubierto. Una incorporación promedio de abono verde en las áreas paperas puede redundar en la incorporación de 20 a 30 $t.ha^{-1}$ de masa fresca con aproximadamente 50 a 100 kg $N.ha^{-1}$, de los que alrededor del 30 % queda a disposición de las plantas de papa durante la primera campaña. (Grüner, 1972). La incorporación del abono verde no debe realizarse a profundidades que impidan la descomposición por falta de aire o exceso de humedad.

Resultados de experimentos realizados en Cuba durante varios años, demostraron la factibilidad de la utilización del abonado verde como sustituto de fertilizantes químicos nitrogenados y para incrementar la productividad del suelo y los rendimientos del cultivo de la papa. Resultados relevantes encontraron con la *Canavalia ensiformis*, sembrada en o antes de septiembre, en cuyo momento pudiera incluirse también la *Crotalaria juncea*. Además, encontraron que con la incorporación de verde, era posible obtener hasta 8 $t.ha^{-1}$ de papa por encima del obtenido, sí se incorporaba la masa verde de un área en barbecho y que era posible incrementar los rendimientos de la papa hasta 4 $t.ha^{-1}$ por encima de la variante con fertilizante mineral, con el uso de solo 40 kg $N.ha^{-1}$ y la incorporación de abono verde, significando que el abono verde aplicó 60-115 kg $N.ha^{-1}$ en unidades de fertilizantes García *et al*. (1999), Sharma y Sharma (1989) encontraron que la *Crotalaria juncea* L. fue más efectiva que la *Sesbania acuelata* Pers. para inducir mayores rendimientos en el próximo cultivo de papa y para incrementar la disponibilidad de P movible en el suelo, con valores de equivalencia en relación con fertilizantes fosfóricos de 65 y 27 kg $P_2O_5.ha^{-1}$ respectivamente. Este efecto puede deberse a que la Crotalaria disminuye el pH del suelo y por la extracción del subsuelo, y luego por deposición en el área de desarrollo del sistema radical de la papa. El millo perla, que es reconocido como que aumenta la composición en P de la papa, fue equivalente a 22 kg $P_2O_5.ha^{-1}$. En relación con el potasio, el abonado verde

con Crotalaria, Sesbania, millo perla y *Vigna radiata* resultaron equivalentes a 158, 176, 54 y 89 kg $K.ha^{-1}$ respectivamente

Un limitante en el uso de los abonos verdes es que para producir suficiente masa verde deben recibir nutrientes y atenciones culturales, mientras que en esa etapa no producen alimento ni materias primas. El análisis correcto debe ser que al mejorarse el suelo, en el futuro se obtendrán cosechas mayores y se ahorrará fertilizantes y, muy importante, se recupera uno de los principales recursos naturales con que se cuenta. Para reforzar el efecto de los abonos verdes, se pudieran combinar estos con el uso de abonos orgánicos en dosis menores que cuando estos se aplican solos y utilizar especies que puedan brindar alimento para el ganado, al mismo tiempo que dejen suficientes cantidades de nutrientes en el suelo.

USO DE INOCULANTES DE ORIGEN MICROBIANO

La utilización de microorganismos que son capaces de movilizar o incorporar nutrientes a los suelos ha ganado importancia en Cuba en la década de los 90. En las áreas dedicadas al cultivo de la papa, aún es necesario realizar más investigaciones y validar los resultados obtenidos en condiciones de producción.

Respecto al N, para la papa son potencialmente utilizables microorganismos que fijan el N libremente. La utilidad de los fijadores libres de N en función de la fuente de N para la papa (por ejemplo, el azotobácter o el azospirillum) aún debe ser comprobada; su efecto positivo como estimulador de crecimiento es más probable. Corbera (1999) planteó que no encontró efectiva la inoculación con *Azospirillum lipoferum* para el cultivo de la papa en la provincia de La Habana.

La utilización de fijadores simbióticos como el Rhizobium es indirecta, como parte de la técnica de los abonos verdes, sobre la cual ya se realizó un análisis en epígrafes anteriores.

En el caso del P, se tienen dos posibilidades: los microorganismos solubilizadores de P (MSP) son capaces de movilizar los fosfatos que se encuentran no disponibles en el suelo, principalmente los fosfatos cálcicos, los cuales pasan a formas asimilables por los cultivos. También, la inoculación de los suelos con microorganismos micorrízicos facilitan la intercepción radical de los fosfatos asimilables y con ellos la eficiencia del cultivo para absorber este elemento. Los MSP también tienen un efecto como estimuladores de crecimiento. La combinación

de ambos es efectiva, pues los MSP liberan los fosfatos y los hongos micorrízicos facilitan la absorción por las raíces.

En ambos casos, su eficiencia dependerá de la existencia de fosfatos no asimilables en el suelo.

Ruiz (1993) informa que la aplicación combinada de fosforina y azotobacter más un 50 % de la dosis NPK dio rendimientos similares al aplicar el 100 % de NPK, según recomendaciones del Servicio Agroquímico en suelos Ferralíticos Rojos y Pardos con carbonatos. También tuvo un efecto positivo en los rendimientos la aplicación de micorrizas.

Díaz y Mayea (2001) no encontraron un efecto beneficioso del uso de micorrizas, Trichoderma o azotobacter en la superficie y la altura de vitroplantas, aplicadas solas o dentro de un composte. En todos los tratamientos en los cuales se incluyo el azotobacter, se afectaron estos indicadores.

CULTIVOS MÚLTIPLES

Es imposible referirse a los sistemas de fertilización y más aún a elementos de sostenibilidad en la nutrición de los cultivos separadamente de los sistemas de cultivo en general.

De acuerdo con su corto ciclo de vida en áreas tropicales y subtropicales, la papa forma o debe formar parte de una rotación de cultivo. Aunque la papa es considerada por Puentes *et al*. (1982), citados por Quintero *et al*. (1989) como uno de los cultivos anuales más tolerantes a la siembra continuada, se plantea la necesidad de lograr una rotación 1:4 y además no es económico ni técnicamente aconsejable dejar el suelo en barbecho después de un cultivo de papa. Son varias las razones, desde el punto de vista nutricional, que se unen a los beneficios económicos y desde el punto de vista fitosanitario.

El desbalance entre los requerimientos internos y externos de nutrientes provoca que queden en el suelo significativas cantidades de nutrientes no utilizados por el cultivo. Estos nutrientes pueden ser aprovechados por cultivos sucesores. Herrera *et al*. (2000) demostraron que en los suelos Ferralíticos Rojos de Ciego de Ávila, las aplicaciones de fertilizantes fosfóricos en el cultivo de la papa enriquecían el suelo en P movible, el cual era aprovechada por los 2-3 cultivos siguientes, entre ellos el maíz, el boniato, la soya, el frijol común, la yuca y el plátano. En el boniato a continuación de la papa, se afectaban los rendimientos si recibía nuevas aplicaciones de P. Situación similar se encontró con

el K, manteniéndose por 10 años una rotación papa-maíz, recibiendo solamente K la papa. (Borroto, 1995). Una cosecha de granos pequeños después de la papa, puede recuperar alguna parte del N que está debajo de la zona radical de la papa, pero dentro de la zona de ese cultivo.

La papa puede aprovechar los nutrientes que quedan en el suelo de los cultivos precedentes. Cultivos antecesores pueden dejar condiciones en el suelo más favorables para la papa, como sucede con el boniato, que disminuye la presencia de malezas y con ello establece competencia con la papa por nutrientes.

La realización de un encalado o la aplicación de fuertes dosis de materia orgánica, puede realizarse en el cultivo precedente a la papa. Con ello se evitan efectos negativos del encalado en el cultivo principal y se mineralizan los portadores orgánicos.

La utilización de los nutrientes residuales disminuye las afectaciones al medio ambiente, especialmente por lixiviación de los nitratos. Después de una cosecha de papa, quedan en los primeros 30 cm de suelo cantidades de nitratos que dependen de la variedad de papa y las condiciones de la cosecha. Una cosecha de granos pequeños, zanahorias, canela y otros cultivos de arraigo profundo, pueden usar este nitrógeno del exceso.

En las rotaciones de cultivo se puede utilizar un abono verde, mejorando las condiciones del suelo y su contenido de nutrientes.

Para evitar los efectos de altas dosis de potasio a la papa, se puede aplicar incluso en forma de cloruro de potasio a cultivos precedentes, ya que el cloro se lavará antes de la papa y además el suelo se enriquecerá y serán necesarias dosis menores directamente a la papa. Esta solución es particularmente importante, cuando se cultiva papa para industria a la cual se le aplica menos potasio que la extracción y no se debe permitir que los suelos pierdan fertilidad.

La tasa de rotación de las áreas paperas en Cuba es generalmente de 2:1, o incluso menos en el caso de que no se utilicen cultivos intermedios. Desde hace algunos años, se ha logrado rotar alrededor del 15-20 % de las áreas, lo cual es insuficiente y ya se manifiesta en el decrecimiento de los rendimientos en algunas áreas. Esta situación no se debe solo a afectaciones de la fertilidad del suelo sino también al incremento de plagas, enfermedades y malezas.

Todos estos argumentos indican que es ilógico y antieconómico obviar que la papa es un cultivo en rotación.

Quintero *et al*. (1989) plantean que en el período primavera-verano, no son muchas las opciones de especies cultivadas tradicionalmente en Cuba que puedan incluirse en un sistema de rotación, tomando como básico un cultivo de invierno, como es la papa. Ellos encontraron que el boniato fue el de mejores resultados como antecedente de la papa, seguido de la soya. El maíz fue el de peores resultados.

Leyva *et al*. (1993) estudiaron de forma multidisciplinaria 10 sistemas para la obtención de tres o más cosechas por año en áreas paperas, donde se consideraban cultivos tradicionales que alternan con la papa (boniato, maíz y pepino), otros cultivos de alto potencial de proteínas y grasas como las viandas, el maní y la soya. Se demostró la factibilidad de introducir en la práctica cualquiera de los sistemas estudiados, lo que permite diversificar la producción e incrementar los rendimientos actuales entre 35 y 50 $t.ha^{-1}$ de alimentos, siempre que se tenga como premisa el laboreo mínimo y el empleo de variedades de cultivo con ciclo vegetativo inferior a 100 días.

En relación con los cultivos intercalados, Moreno *et al*. (1993) plantean que el intercalamiento de quimbombó y maíz cada tres hileras de papa, tiene un efecto positivo sobre el rendimiento y sus componentes en la papa. Se ha demostrado que mayores cantidades de N pueden ser aplicadas al incrementarse la densidad de las plantas (Beukema y van der Zaag, 1990):

MANEJO DEL SUELO

Alfonso *et al*. (2000) plantean que el territorio del sur de La Habana está ocupado por un agroecosistema formado por suelos Ferralíticos Rojos, donde una gran parte de su superficie es potencialmente utilizada por una agricultura mecanizada intensiva. Después de varios años de cultivar la papa, se ha constatado una baja en la productividad, especialmente cuando estos suelos son trabajados de forma inapropiada, como son los sistemas convencionales de laboreo con grada y disco agravados por los sistemas de riego moderno y el uso de agroquímicos, lo que ocasiona una degradación de las propiedades físicas de los suelos. Luego de varios años de investigaciones, comprobaron que la utilización del laboreo mínimo con la introducción de abonos verdes permitió detener el fenómeno de la compactación y mejoró las propiedades físicas del suelo. Esta tecnología es más económica y sostenible por la disminución de las dosis de fertilizantes.

MANEJO DEL RIEGO

Un suministro estable de agua es necesario no solo para mantener la asimilación de masa seca y refrescar las hojas, sino también porque el agua es el principal vehículo para transporte de los nutrientes en el suelo hacia la superficie de las raíces. En el caso de que no se asegure ese suministro de agua, debe tratarse que no se cierre el campo o fertilizar cautelosamente con ese mismo fin (Kupers, 1985). Se incrementa la dosis de N cuando se va a regar el cultivo y solamente un cultivo responde adecuadamente ante una dosis de N alta si hay condiciones de riego (Grüner, 1972).

El manejo apropiado del riego puede reducir la cantidad de agua en exceso aplicada a un campo y con ello la pérdida de N por lixiviación. Un exceso de agua no solo puede llevar a la pérdida de N sino también causar enfermedades. Desde otro punto de vista, una aplicación correcta de nutrientes incrementa la eficiencia del uso del agua (Smilde, 1985).

En la Tabla 11 se muestran datos de una prueba en la provincia de Ciego de Avila, donde se muestra cómo las técnicas de riego utilizadas influyen en la eficiencia de la utilización de los nutrientes por las plantas de papa.

UTILIZACIÓN DE ENMIENDAS QUÍMICAS

La utilización del encalado en los suelos ácidos donde se cultiva la papa es una enmienda que debe emplearse con cuidado. Es un cultivo poco sensible a la acidez tóxica cambiable y que a pHs cercanos a la neutralidad o claramente básicos pueden sufrir el ataque de la *Streptomyces scabies* y ocurrir antagonismo con el potasio. Por ello, De Geus (1967) recomienda un encalado ligero, preferiblemente al cultivo que precede a la papa. Esta acción puede facilitar la asimilación de los fosfatos (Bartlett y Ricarelli, 1973) y facilitar los procesos de transformación de la materia orgánica y la mineralización del N. Este encalado debe calcularse sobre la base de la acidez de cambio y no de la acidez hidrolítica total.

Como material encalante, se puede utilizar carbonato de calcio (calcita) o carbonato de magnesio (dolomita), de acuerdo al contenido de esos elementos en el suelo.

Realmente, en Cuba no se infortman problemas con la acidez del suelo; por el contrario, se incrementa el pH de las áreas dedicadas a este cultivo. La utilización del azufrado no se ha estudiado en estos suelos.

De igual forma, como no se seleccionan suelos con salinidad para la papa, no se conocen informes sobre el manejo de estos suelos y el uso del enyesado en el país.

MANEJO DE LOS PORTADORES

La eficiencia de una tecnología se logra con la observancia de normas de manejo adecuadas en cada fase del cultivo. La industria mejora la calidad del fertilizante que oferta y coloca a disposición de los agricultores nuevos productos.

La transportación del fertilizante debe realizarse con los medios idóneos y su almacenamiento en áreas protegidas, colocándolos adecuadamente identificados y organizados. Nunca debe colocarse el fertilizante a la intemperie hasta el momento de aplicación. Esto es particularmente importante con los portadores nitrogenados. En el caso del nitrato de potasio, es sumamente importante manejarlo como un producto con características explosivas.

La aplicación debe realizarse con máquinas que entreguen exactamente la dosis recomendada y en posición adecuada en relación con los tubérculos, para evitar dañarlo en contacto directo con el fertilizante.

Como resumen de lo plateado anteriormente, se puede citar a Dudal y Roig (1995), quienes proponen un Sistema Integral de Nutrición de las Plantas, que es un enfoque a través del cual el manejo de la nutrición de las plantas y la fertilidad del suelo en sistemas de cultivo y de producción animal se adapta a las características de cada sitio y a las fuentes disponibles localmente; asegura que la nutrición de las plantas sea ambientalmente, socialmente y económicamente viable. Por ello, este sistema impulsa, informa, entrena y organiza a los campesinos, para incrementar la producción de los cultivos mientras que sustenta la productividad de los suelos.

Se promueve una combinación juiciosa de fertilizantes minerales y fuentes orgánicas de nutrientes minerales disponibles localmente. Estas mezclas no son solamente complementarias sino también sinérgicas.

RESUMEN DE TÉCNICAS PARA ESTUDIOS SOBRE FERTILIZACIÓN DE LA PAPA

Para establecer la necesidad de fertilización en un área papera se utilizan diferentes métodos, destacándose los experimentos de campo en condiciones de estaciones experimentales y en condiciones de campos productivos, la caracterización química de las reservas de nutrientes

movibles en los suelos y las observaciones visuales o diagnóstico visual, en caso de deficiencias o excesos extremos de un nutriente. Los análisis foliares o de peciolos pueden utilizarse, si se cuenta con un sistema rápido para conocer el contenido de nutrientes antes de que pase el tiempo posible para hacer modificaciones en la fertilización y con condiciones para llevar a cabo estas modificaciones. La posibilidad de contar con electrodos portátiles para nitrato y condiciones de fertirriego permite asumir esta técnica. Realmente, para realizar un fertirriego adecuado, es necesario seguir los cambios de nitrógeno en los peciolos.

Los análisis químicos de suelo para determinar la necesidad de fertilización de la papa se utilizan para el P, K y pH. En el caso del N, en regiones tropicales como Cuba no son comúnmente utilizados, ya que la movilidad de este nutriente determina que varíe el contenido de N movible entre el momento del muestreo y el momento de la fertilización.

ANÁLISIS QUÍMICOS DE SUELO

Los análisis químicos de suelo constan de tres etapas principales:

El muestreo es la fase definitoria de la calidad del análisis, ya que aproximadamente 500 g de muestra debe representar al menos una hectarea, o sea, en suelos Ferralíticos Rojos, aproximadamente 2 millones de Kg de suelo. El muestreo debe realizarse con suficiente antelación a la plantación, para contar con el resultado de los análisis en el momento de determinar la fertilización y ejecutarla.

Se recolectan 20 submuestras a una profundidad de 0–20 cm., en toda el área del campo, las cuales se mezclan y de ella se seleccionan 0.5–1 kg de suelo. La muestra se rotula claramente para luego conocer a qué lote o área pertenece y se envían a un laboratorio.

Análisis químico para determinar el contenido de nutrientes asimilables y potencialmente movible en el suelo. Esto se realiza en laboratorios especializados, mediante métodos conocidos.

Evaluación de los resultados y establecimiento de las dosis de nutriente a utilizar. En esta fase deben utilizarse todos los conocimientos y experiencias relacionados con el área a fertilizar. Se toma en consideración la extracción del cultivo propia de un rendimiento esperado, aplicándole un coeficiente sobre la base del porcentaje de aprovechamiento de los fertilizantes para cada región y portador. Se pudiera o no incluir el nitrógeno que estaría a disposición del cultivo en el suelo. Prácticamen-

te todos estos indicadores son muy variables y veleidosos, por lo que este método debe utilizarse solamente cuando no se cuente con los modelos de respuesta a partir de los experimentos en el campo. Si el productor recibe los análisis y su evaluación realizada por especialistas territoriales, es aconsejable que revise los cálculos y los ajuste de acuerdo con sus experiencias.

Se considera que los análisis químicos de la fertilidad del suelo solo ofrecen datos aproximados, por lo que se recomienda realizar análisis sistemáticos que den una idea de la dirección en que se mueve la fertilidad del suelo y realizar correcciones. Para el contenido de N es preferible tomar muestras cada año, pero para el resto de los análisis de fertilidad, se puede realizar cada 2-4 años.

Los análisis de suelo para calcular la disponibilidad del N en el suelo no son una práctica común en muchas regiones paperas tropicales, incluyendo Cuba, ya que las variaciones climáticas y las características del suelo son muy cambiantes y es necesario muestrear y analizar los suelos un corto tiempo antes de la fertilización. Una variante es analizar la materia orgánica del suelo y mediante modelos matemáticos previamente validados, pronosticar cuánto nitrógeno se liberará durante la cosecha de papa. De nuevo esta opción está limitada por el corto período vegetativo de la papa y el corto espacio de tiempo entre la cosecha e incorporación de residuos de la cosecha anterior y la aplicación de fertilizantes a la papa.

En Cuba se utiliza la tabla de interpretación para los análisis de suelo realizados por el método de Oniani (SO4H2 1n) (Tabla 22).

Tabla 22. Tabla de interpretación de los contenidos de P y K movibles, por el método de Oniani (valores en mg/100 g de suelo)

	P1	P2	P3
Fósforo	<15	15-30	>30
	K1	K2	K3
Potasio	<15	15-20	>20

ANÁLISIS DE TEJIDOS VEGETALES

Por ser un cultivo de ciclo corto, los análisis del contenido de nutrientes en los tejidos vegetales de las plantas de papa no son comúnmente utilizados para definir dosis de fertilización. Pueden ser útiles para monitorear los resultados de la fertilización realizada y precisar las dosis para próximos cultivos. En el caso de que existan condiciones

para el fertirriego, el análisis de peciolos puede ser útil para realizar ajustes de las dosis que se utilizan en cada aplicación.

El análisis de planta está basado en el concepto de que la concentración de un nutriente, en particular, en un tejido especifico de esa planta, refleja la disponibilidad en el suelo y también se asume que el desarrollo se restringe cuando la concentración de nutrientes cae por debajo de un cierto nivel "critico" (Smilde, 1985). El reto es mantener las concentraciones de nitratos por encima de los índices críticos en suelo y la planta, de acuerdo con la variedad (Tasistro, 2001).

Los pecíolos normalmente se prueban de forma diferente a las plantas enteras, ya que siendo básicamente un tallo que conecta a las hojas, actúa como un conducto a través del cual los nutrientes viajan a las hojas, dando así una idea del flujo de nutrientes (Montain Valley Produce, 2001). La utilización del análisis de pecíolos en el cultivo de la papa debe realizarse con todo el cuidado que amerita cualquier análisis de sistemas biológicos, pues son numerosos los factores que influyen en los resultados.

De Geus (1967) explica que que en experimentos de campo encontraron que un 10 % de K 50 días después de plantado, 8 % a los 65 y 6 % a los 80 días se relacionaban con los índices críticos de deficiencia.

Considerando que la concentración de nutrientes varía con la edad fisiológica del cultivo, debe adoptarse y realizarse un sistema estricto de muestreo, recordando siempre que ningún análisis es correcto si la muestra no fue bien tomada.

El muestreo debe realizarse entre las 9 a.m. y 4 p.m. cuando la planta está activa y seleccionarse entre 20 y 50 plantas (en dependencias del espesor de los pecíolos, hasta lograr un mazo de aproximadamente 2.5 cm de diámetro), en un área representativa del campo: varios metros alejada de bordes, caminos y cualquier otra área anormal. En una máquina de riego de pivote central esto significa en las medio torres. Deben alternarse los surcos para minimizar cualquier influencia le las aplicaciones de fertilizante.

Se colectan las hojas 4ta ó 5ta totalmente extendida, en la mitad de la planta. Esta situación varía en variedades indeterminadas que continúan creciendo. Se arranca la hoja entera y luego se separa el pecíolo. Se procede así hasta tener un mazo de alrededor de 5 cm de diámetro. Estas muestras se colocan en bolsas de papel (nunca plástico), se identifican bien para el laboratorio y se mantienen en lugar un fresco. Se

envían rápidamente al laboratorio. En Cuba se colecta la 4ta hoja a partir del punto de crecimiento y se utilizan los siguientes índices foliares:

N 5.5 % P 0.3 % K 3.9 %

Se realiza un análisis completo al inicio y final de la temporada. Durante el período de crecimiento basta con analizar el contenido de P y nitratos para conocer el progreso de la plantación. Siempre son necesarios al menos dos muestreos para conocer la tendencia en la disponibilidad de los nutrientes (De Geus, 1966 y Vitosh, 1990).

Para evaluar los resultados de los análisis, se utilizan tablas de interpretación, donde están recogidos los índices críticos, por debajo de los cuales las plantas están deficientes en el nutriente y por encima están medianamente o bien abastecidos.

La interpretación de los resultados es compleja, debido a los múltiples factores que influyen en la composición química de una planta. Generalmente no son útiles los análisis de un solo nutriente, sino que deben considerarse las interacciones entre varios de ellos. El efecto de la edad fisiológica del cultivo en su composición química, puede disminuirse si se ajustan los datos a una concentración estándar de nitrógeno (Smilde, 1985).

Experimentos en parcelas experimentales. En experimentos de campo las dosis se calculan luego de obtener curvas de respuesta de rendimiento (y calidad) en relación con dosis de nutrientes y se toman en cuenta las particularidades de los lugares en donde se obtuvieron esos modelos. Estos experimentos deben realizarse en las principales regiones donde se cultiva la papa y durante varios años, para conocer las variaciones debidas a las condiciones climáticas y por la fertilización continuada en el área. Si los estudios consideran el uso de abonos orgánicos y fertilizantes de P y K, se necesita estudiar el efecto residual y acumulativo de las aplicaciones y su efecto en los cultivos que rotan con la papa.

El monitoreo de los rendimientos y el análisis de pecíolo se usan para refinar los planes de fertilidad.

En relación con este tipo, debe tomarse en cuenta algunas características o limitaciones, que pueden provocar que los agricultores obtengan resultados diferentes a los esperados (Haverkort, 1987 y Beukema, 1987).

Las condiciones del campo experimental y el manejo del cultivo en esos campos difieren demasiado de las regiones y las prácticas productivas de los agricultores. Por ejemplo: la influencia de las condiciones

climáticas: ya que puede variar el patrón de lluvias; la influencia de las propiedades del suelo específicas de cada sitio, tales como la profundidad del perfil, la pendiente, la composición granular y el contenido de materia orgánica; la influencia de la forma de realizar las prácticas de cultivo, como el tamaño de la semilla que se utiliza, el momento y la profundidad de plantación; la influencia de la rotación de cultivos, la aplicación de abonos orgánicos y de composte sobre la fertilidad del suelo.

Los sistemas bajo estudio no son siempre adecuados para resolver los problemas (difíciles de aplicar, demasiado caros, los insumos necesarios no están disponibles, etc). Los experimentos son complejos en su diseño y las diferencias no pueden sor notadas fácilmente cuando se observan por agricultores prácticos. Los resultados totales de los experimentos no están a disposición de los agricultores.

Todo lo anterior sugiere que los resultados de las estaciones experimentales deben comprobarse en condiciones de producción y realizar los ajustes necesarios.

Experimentos en áreas de producción. Estos experimentos permiten obtener informaciones en un rango más amplio de condiciones y lleva los experimentos más cerca de los agricultores, crean una relación entre la investigación y las prácticas. De esa forma, los agricultores se familiarizan con métodos alternativos y los científicos aprenden de la experiencia práctica (Beukema, 1987).

El número de pruebas en condiciones de producción dependerá de la heterogeneidad del suelo en el área y la diversidad de prácticas agrícolas. El tiempo necesario para los investigadores en su implementación también juega un papel. Los diseños de las pruebas contienen un limitado número de tratamientos, los cuales deben permitir una comparación convincente de la nueva tecnología con la tradicional en la región. Los tratamientos y las observaciones dependerán de un diagnóstico participativo previo de los principales problemas a resolver y las condiciones del entorno (Beukema, 1987).

El número de pruebas con un efecto positivo (agronómico y económico) es una de las observaciones más cruciales en estos experimentos. En la agricultura de bajos insumos, el incremento en el rendimiento debe ser al menos 20 %, mientras que los beneficios financieros netos (ganancia adicional-costos adicionales) deben ser incluso al menos de 40 %.

Las pruebas en condiciones de producción deben acompañarse con encuestas a los agricultores, para saber su aceptación a algunas de las tecnologías propuestas, pero la conclusión final se darán si los agricultores siguen usando esa tecnología cuando la prueba termine (Haverkort, 1987).

BIBLIOGRAFÍA

Alfonso C.; Monederos, M.; González,B.; Pascual, P. y Uriarte, R. Manejo integrado de los suelos Ferralíticos Rojos de La Habana degradados por compactación cultivados de papa. XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la papa, Cuba, 2000 P 164.

Alfonso, C.; González, W.; Fráser, T.; John, C.; Gómez, L. y Muñiz, O. La fertilización diferenciada del cultivo de la papa en cinco municipios del sur de la Habana. IV Taller Nacional de Producción de Papa en el Trópico, INCA, 2001 p. 24-34.

Alfonso, C. A.; Monederos, M.; Calero, B.; González, B.; Pascual, J.A. y Uriarte, R. Funcionamiento actual de los suelos Rhodic Ferralsol degradados por compactación del sur de la Habana. Boletín No 4. SIN 1609-1876. Cd Rom, 2001b. XV Congreso Latinoamericano de La Ciencia del Suelo.

Arora, R. P.; Savhdev, M.; S.; Sud, Y. K.; Lutara V. K. y Subbiah B. V. Fate of fertilizer nitrogen in a multiple cropping system. Soil Nitrogen as fertilizer on pollutant (Proc. Symp. realizado en Piracicaba, Brasil, IAEA /FAO STI/Pub, 1980 535. p 3-22.

Askew, M. F. MAFF, Agricultural Development and Advisory Service, Wolverhampton, UK, 2001.

Bartlett, R. J. y Ricarelli, J. Availability of boron and phosphorus as afected by liming on acid potato soil. *Soil Sc.*, 1973, 116 (2):77-83.

Barroso, R.; Guerra, A.; Mendoza, A. y Caballero R. Influencia de la fertilización potásica en el rendimiento y calidad de la papa (*Solanum tuberosum*) var. Desirée. *Agrotecnia de Cuba*, 1986, 18(2).89-92.

Bennett, M. How to control nitrogen for good growth university experts give advice potato grower, August, 1999

Beukema, H. P. On-farm trials. Editado por el International Agricultural Center, 1987, 4p.

Beukema, H. P. y Van der Zaag D. E. Introduction to potato production. Pub. por el Center for Agricultural Publishing and Documentation (Pudoc), Wageningen, Holanda, 1990. 208 p.

Bezuglaya, J.M. Aplicación de P y K de fondo en condiciones de cultivo permanente de papa. *Agrojimia*, 197, no. 1 enero.

Biart, M.; Dueñas, G.; Molina, J. y Chong, D. Contaminación con nitratos y balance de N en cultivos de importancia agrícola cultivados a diferentes niveles de N. XV Congreso Latinoamericano y V Cubano de la Ciencia del Suelo, Varadero, Cuba, Libro de resúmenes, 2001, p. 169.

Borroto, M. La dinámica del K en suelos Ferralíticos Rojos compactados dedicados al cultivo de la papa. Tesis en opción al grado Científico de Doctor en ciencias Agrícolas, INCA, 1995 152 p.

Burton, W. G. The Potato. A survey of its history and of factors influencing its yield, nutritive value, quality and storage. 2da Edición, Edit. H. Veenman & Zonen B. V., Wageningen, Holanda, 1966.

Canto, P. y Pugliese, M. Panorama actual de la producción de papa en Argentina con énfasis en prácticas y resultados de la fertilización. II Seminario Internacional de la Papa, organizado por SQM, Chihuahua, Méjico, 2001, 4 p.

Cárdenas, J.; Saavedra, G.; García, S.; Reyes, J.; Fernández, M.; Monedero, M. y Aigdanet, C. Calidad del riego y fertirriego en las maquinas de pivote central y su relación con los rendimientos en el cultivo de la papa. IV Taller Nacional de Producción de Papa en el Trópico, INCA, 2001. p. 101-103.

Condori, B.; Luna, C.; Botello, R; Mamani, P. y Devaux, A. Evaluación del rendimiento y de la respuesta a niveles de fósforo en variedades nativas de papa de Bolivia. XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la papa, Cuba, 2000, p161.

Corbera, J. Evaluación de la inoculación con *Azospirillum lipoferum* sobre el rendimiento del cultivo de la papa. Compendio de Exposiciones del III Taller Nacional "Producción de papa en los trópicos", Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas", 1999, p 16

Davenport, J. El potasio y la gravedad específica de la papa. Informaciones Agronómicas, Instituto de la Potasa y el Fósforo, No 43 abril, 2001, p1-2

De Geus. Fertilizers on potatoes, Fertilizer Guide for the Tropics and Subtropics. Centre détude de l´azote, Zurich, 1967

Del Castillo, J. L.; Ruiz, V. y Martell, R. Estudio de distintos niveles de NPK en el cultivo de la papa (Solanum tuberosum) sobre un suelos Ferralítico rojo. 3er. Seminario Científico Técnico Estación Experimental de fertilizante y pastos Escambray, 1982.

Deroncelé, R.; Caridad y Guerra, A. Estudio de niveles y formas de aplicación del N en el cultivo de la papa var. Red Pontiac. *Ciencia y Técnica de la Agricultura, Suelos* y *Agroquímica*, 1978, Vol.1(1).

Deroncelé, E. y Guerra, A. Efectos de la fertilización NPK sobre los rendimientos de la papa (Solanum tuberosum) var. Red Pontiac. *Agrotecnia de Cuba*, 1977, Vol. 9(1): 81-86.

Deroncelé, R.; Guerra, A.; y Fráser, T. Papel de los fertilizantes potásicos en la productividad del cultivo de la papa. La fertilización de la papa I. Reunión Nacional de Agroquímica. Ponencia A.C.C. Dirección Agrícola, 1983, 38-45.

Deroncelé, R.; Padrón, Elda; Moreno, V.; John, C. y Irigoyen, H. La Fertilización Mineral de la Papa en Cuba. Situación Actual y Perspectivas. Editado por el Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova, 1999, 15 p.

Dudal, D. y Roig, F. Integrated Plant Nutrition System. FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bull 12, 1995.

Feddes, R.A. Soil, Water and Plant Growth. Editado por el International Agricultural Center, Holanda, 1987, 43 p.

Fernández, I.; Herrera, J. L. y Herrera, J. A. Dosis y época de aplicación de fertilizante nitrogenado sobre el cultivo de la papa en suelos Ferralíticos rojos en Ciego de Ávila. Memorias del V Congreso Nacional de papa, Puebla, Méjico, 1992, pag 14-18.

Fernández, M. y John, C. eficiencia de la aplicación de fertilizantes en el cultivo de la papa con las máquinas fertilizadoras Habana. XII Seminario Científico del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 2000, nov 14-17.

Fundora, O.; Espinosa, J.; López, Z. M. y Machado, J. Efecto de la fertilización potásica sobre la papa cultivada en suelo pardo con carbonato (I) y (II). *Centro Agrícola*, 1989, 16(2): 34-43.

García, M.; Treto, E. y Álvarez, M. Estudio comparativo de diferentes especies de plantas utilizadas como abono verde en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*). I. Efecto sobre el rendimiento y sus componentes. Compendio de Exposiciones del III Taller Nacional "Producción de Papa en los Trópicos", Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 1999 p 13-16.

Glaeser, B. The green revolution revisited: critique and alternatives. Unwin Hyman Ltd., London, 1987, 206 p.

Greenwood, D. J.; Neeteson, J. J. y Draycott, A. Response of potatoes to N fertilizer: Quantitative relations for components of growth. *Plant and Soil*, 1985, 85, 163-183.

Grüner, G. La fertilización de la papa. Actualidades de la Ingeniería Agronómica, Universidad de la Habana, 1972, No 28.

Guerra, A. Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio sobre la extracción de nutrientes por la cosecha de papa (Solanum tuberosum) variedad. Desirée. *Cien. Tec. Agric. Suelos y Agroquímica*, 1980, 3(1): 49-56.

Guerra, A. Particularidades de la fertilización fosfórica en la papa en suelos Ferralíticos púrpuras de Camagüey. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, UCLV. 1982.

Gunasena , J. P. y Harris, P. M. El efecto del momento de aplicación del nitrógeno y potasio en el crecimiento de la segunda cosecha temprana de papas variedad Craig´s Royal. *The J. of Agric. Sc*., dic.1968.

Guzmán, J.; Deroncelé, R. y Guerra, A. Estudio de niveles de materia orgánica en el cultivo de la papa. Editado por la Estación Experimental "La Renée", (s/a) 13 p.

Havekort, A. J. Fertilizer experiments. Edit. por el International Agricultural Center, Wageningen, (1987) 10 p.

Heredia, C.; Quite, S. y Menéndez, N. Comportamiento de la papa desarrollada en suelos altamente abastecidos de P. Resúmenes del IV Congreso de la Soc. Cubana de la Ciencia del Suelo y Reunión Internacional de Rhizosfera, Universidad de Matanzas, 1997, p. 87.

Herrera, J. A.; Herrera, C.; Peralta, H.; Fernández, I; Rodríguez, R. y Borroto, M. La fertilización de la papa en suelos Ferralíticos Rojos de la región de Ciego de Ávila. Memorias del XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa, Ciudad Habana, 2000, p. 176.

Herrera, J. A., Herrera, J. L.; Rodríguez, R.; Peralta, A. y Fernández, I. Alternativas para la fertilización NPK de la papa en secuencias de cultivo. Memorias del III Congreso de la Ciencia del Suelo y II Seminario Científico-Técnico de la Estación Experimental "La Renée". 1993.

Herrera, J. L.; Fernández, I. y Herrera, J. A. Fertilización fosfórica en rotaciones de cultivos. Memorias del Séptimo Seminario Científico del INCA, 1990.

Herrera, J. A.; Monguía, R.; Silva, G.; Rodríguez, P.; Crespo, R.; Rodríguez, R. y Echemendía, A. Prueba de tecnologías de producción de papa según técnicas de riego (Ciego de Ávila), Universidad de Ciego de Avila, 2000, 4 pag.

Herrera, J. A.; Monguía, R.; Rodríguez, R.; Diaz, P.; Crespo, R. y Echemendía, A. Sostenibilidad en la fertilización de sistemas de cultivos intensivos: Caso Áreas de Papa (*Solanum tuberosum*). Documento interno del Instituto Superior Agrícola de Cigo de Avila, 2001, 10 p.

IFA IFA World Fertilizer Manual. Editado por la International Fertilizer Industry Association, Paris, 1992, 632 p.

INCA Informe de los resultados del Taller sobre "La fertilización en el cultivo de la papa". Realizado en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 1987, 5p.

John, C.; del Vallín, G.; Arias, E.; Dueñas, G. La producción integrada de la papa a partir de la zeolita como aditivo de los fertilizantes minerales y orgánicos. XV Congreso Latinoamericano y V Cubano de la Ciencia del Suelo, Varadero, Cuba. Libro de resúmenes, 2001, p 125.

John, C.; del Vallín, G..; Dueñas, G..; Arias, E. y Martell, C. Eficiencia del compost Zeofert III como fuente nitrógeno para el cultivo de la papa. XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la papa, Cuba, 2000, p. 171.

Johnston, A. E. The efficient use of plant nutrient in Agriculture. Editado por International Fertilizer Industry Association, 1999, 12 p.

Johnston, A. E. Soil and Plant Phosphate. Púb. Por IFA, París. 2000, 46 p.

Kupers, L Fertilization and crop rotation of potatoes: a theory and recommendation. International Potato Course Holanda. 1985, 7 p.

Lauer, D.A. Russet Burbank yield response to sprinkler applied nitrogen fertilizer. *Am Potato J*., 1986, 63(2).

Leyva, A., Treto, E.; Hernández, L. y Moreno, I. Diversificación e incremento de la producción de alimentos por año, en sistemas de rotación de cultivos de la papa. I Taller Nacional de la Producción de papa en los Trópicos, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. 1993.

López, R. Efecto de diferentes medidas agrotécnicas en el rendimiento y calidad de la papa para consumo en las condiciones de la región central de Cuba. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Universidad Central de Las Villas. 1983.

Manrique, L. A. A review of crop requirements for potato production with emphasis in tropical and subtropical regions. International Potato Course, IAC, The Netherlands. 1988, 38 p.

Manschner Mineral Nutrition of Higher Plants, Second Edition, Academic Press, London, 1995.

Medina, N.; Cabrera, A.; Lugo, L. y Reyes, R. Evaluación de diferentes formulaciones de fertilizantes a base de nitrato chileno en el cultivo de la papa en las condiciones de un suelo Ferralítico Rojo (Ferralsol) de Cuba. 4ta Campaña. Servicio Científico Técnico por encargo de la Sociedad Químico Minera de Chile (SQM)y la Unión Química de Cuba. 2002.

Medina, N.; García, M.; Hernández, A.; Cabrera, A. y Lugo, L. Evaluación de diferentes formulaciones de fertilizantes a base de nitratos chilenos (SQM) para el cultivo de la papa en condiciones de Cuba. II Seminario Internacional de la Papa, organizado por SQM, Chihuahua, Méjico, 2001, 18 p.

Menon, R. G.; Chien, S. H. y Gadalla, A. N. Phosphate rocks compacted with superphosphates vs. partially acidulated rocks for bean and rice. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1991, 55, Pp. 1480-1484.

Monedero, M.; Fernández, M.; Moreno, V.; Saavedra, G.; Alfonso, C.; Cárdenas J.; Carr, A.; Reyes, J.; Aramis, A.; Obregón, R. y García, F. Evaluación de la fertilización con portadores simples y dosis diferenciada de urea como complemento de la fertilización nitrogenada del cultivo de la papa en el Municipio Guira de Melena. Compendio de Exposiciones del III Taller Nacional "Producción de Papa en los Trópicos", Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas", 2001, p 23-26.

Montain Valley Produce Colorado State Potato Fertilizer Guide. Potato Fertility.htm. Revisado 10 de julio del 2001.

Moreno, E.; Montalvo, A.; Cisnero, E.; Lorenzo, N.; Rodríguez, A.; Soca, M.; Hernández, S.; Dueña, G. y Arias, E. El fertirriego en el cultivo de la papa en la Empresa de Cultivos Varios de Batabanó. XV Congreso Latinoamericano y V Cubano de la Ciencia del Suelo, Varadero, Cuba. Libro de resúmenes, 2001, p. 121.

Moreno, I.; Hernández, A.; Leyva, A. y Espinosa, R. Influencia de la asociación de cultivos sobre la producción de papa (*Solanum tuberosum* L.) en plantaciones tardías. I Taller Nacional de la Producción de papa en los Trópicos, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. 1993.

Moreno, V. 15 Años de fertilización y rendimiento del cultivo de la papa en Cuba. Un llamado a reflexión. Documento del Centro Nacional de Suelos y Fertilizantes, MINAG, 1994, 17 p.

Moreno, V. y Mojena, M.(2001) La producción de papa en Cuba. II Seminario Internacional de la Papa, organizado por SQM, Chihuahua, Méjico, 14 p.

Moreno, V.; Pita, E.; Irigoyen, A.; Batte, M. y Cancio, R. Resultados técnico económicos de la estrategia de fertilización aplicada en el cultivo de la papa a partir de la campaña 1997- 1998. Ponencia presentada al XIV Fórum de la Ciencia y la Técnica, 2002, 15 p.

Mortvedt, J. J.; Soltanpour, P. N.; Zink, R. T. y Davidson, R. D. Fertilizing Potatoes. Colorado State University Cooperative Extension. 2001, No. 0.541

Neeteson, J. Assessment of nitrogen fertility requirement, Inst. for Soil Fertility, Harem, Holanda. 1985.

Peralta, H. Sistemas de fertilización fosfórica de la papa en una secuencia de cultivos papa-maíz en un suelo Ferralítico rojo compactado. Tesis para optar por el grado de Dr. en Ciencias Agrícolas, INCA. (La Habana). 1991, 137 p.

Perrenoud, S. Fertilizing for high yield potato. I. P. I. Bulletin No. 8 Bern, 1983, 84p.

Platou, J. S. e Irish, R. The Fourth Major Nutriente. Pub. Por The Sulphur Institute, Washington D. C., 1982, 32 p.

Prummel, J. Abonado potásico y calidad de las patatas. Revista de la Potasa, Sección 11. *Cultivos escardados*, 1983, 25, No. 2, 1983, p. 1-8.

Quintero, E.; Martín, D. y Pérez, C. Análisis de algunos cultivos antecedentes para primavera - verano en las áreas de papa. Universidad Central de las Villas, 1989, 9 p.

Reddy, E. V.; Arora, P. N. y Sharma, R. P. Effect of different doses of P and K on the growth and tuber yield of potato varieties. *Indian J. Agric. Sc*. 1986, 56 (7): 497–502.

Rodríguez, R. Fertilización del Frijol con Roca Fosfórica Parcialmente Acidulada en Suelos Ferralíticos Rojos compactados de pH Neutral. Tesis en opción al Grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Universidad de Ciego de Ávila, 2000 104 p.

Rodríguez, R.; Borroto, M.; Sotuyo, C.; Herrera, J. L. y Herrera, J. A. Fertilización potásica en el cultivo de la papa. Memorias del XI congreso Latinoamericano y II Congreso Cubano de la Ciencia del Suelo. Eds. Villegas y Ponce de León, 1993, vol. III p: 773-776.

Rowberry, R. G. y Ketcheson, J.W. Sources of potassium in potato fertilizer and times of application. *Can. J. Plant. Sc*.,1978, 58: 779-782.

Ruiz, A Uso combinado de las micorrizas, el Azotobácter, la fosforina y dosis de NPK en el cultivo de la papa. I Taller Nacional de Producción de Papa en los Trópicos, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. 1993.

Ruiz, J.; García, M.; Treto, E. y Álvarez, M. Los abonos verdes: una alternativa para la economía del N en el cultivo de la papa. II. Efecto de la interacción abonos verdes- dosis de N. XII Seminario Científico del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 1999, nov. 14-17.

Saavedra, G..; Castellanos, A.; Domínguez, M. y Roque, R. Fertirrigación en papa (*Solanum tuberosum*, var. Bartina) con la máquina de riego por aspersión de pivote central XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la papa, Cuba. 2000a, p 177–178.

Saavedra, G..; Castellanos, A.; Domínguez, M. y Roque, R. Fertirrigación en papa con urea utilizando el riego localizado (microjet). XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa, Cuba. 2000b, p. 181-182.

Saavedra, G..; Monedero, M.; Cárdenas, J.; Padrón, E.; Carabia, J.; Carr, A.; Aramis, A.; Obregón, R.; González, P.; Reyes, J.; Hernández, M.; Rubio, Y. y Ricardo, J. Ensayo de fertilización con Sulfopotasse (K_2SO_4) mediante fertirriego en maquinas de pivote central eléctrica en el cultivo de la papa en la E. C. V. "Guira de Melena" finca Ignacio Brito II. Compendio de Exposiciones del III Taller Nacional "Producción de Papa en los Trópicos", Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas", 2001, p 19-22.

Schepers, R. Effect of Fertilizers on the susceptibility to virus infection of the potato with special reference to mature-plant resistence. Proc. 12th Colloquium of the International Potash Institute: Potassium and Plant Health, Turkia, 1876, p. 201-210.

Sahota, T. S;. Singh, H.; Cheema, S.; y Grewal, J. S. Potassium nutrition of potato in India. Rev. De la Potasa Sec 3 No.3. 1988.

Sharma, R. C. y Sharma, H. C. Fertilizer phosphorus and potassium equivalents of some green manures for potato in alluvial soils of Punjab. *Trop. Agric*., 1989, 67(1): 74-76.

Smilde, K.W. Establishment of fertilizer recommendations on the basis of soil tests. Inst. Bodemvruchtbaarheid, Rapp. 1985, 17–85, 24 p.

Smilde, K.W. Fertilizer Formulation. Soil Organic Matter and Organic Manuring. Editado por el International Agricultural Center. 1987, 24 p.

Tello, L. D. y Vilagarcía, S. Efecto del azufre de los fertilizantes y dela materia orgánica bajo diferentes condiciones agroclimáticas del Perú. XV Congreso Latinoamericano y V Cubano de la Ciencias del Suelo, Varadero, Cuba. Libro de Resúmenes, 2001, p. 120.

Tasistro, A. Panorama actual de la producción de Papa en Estados Unidos con énfasis en prácticas y resultados delos fertilizantes. II Seminario Internacional de la Papa, organizado por SQM, Chihuahua, Méjico, 2001, 12 p.

Tremols, J. La fertilización de la papa en los suelos Ferralíticos rojos de la provincia de la Habana. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, INCA. 1978a.

Tremols, J. Respuesta de la papa a la fertilización mineral sobre diferentes subtipos de suelos Ferralíticos. *Agrotecnia de Cuba*, 1978b, 10 (2): 79-85.

Valdés, C. y Deroncelé, R. Influencia de distintos niveles de NPK y densidades de siembra sobre el rendimiento en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) var. Red Pontiac. *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Suelos y Agroquímica*, 1979, 2(11).

Valdés, C; Guerra, A.; Deroncelé, R. y Fráser, T. Influencia de diferentes niveles de K sobre los rendimientos y la calidad de la papa (*Solanum tuberosum*) var. Desirée. *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Suelos y Agroquímica*, 1981, 4(3): 19-32.

Van der Zaag, D.E. Planting, Manuring and Weed Control in Potatoes (2). Editado por el Netherlands Potato Consultive Institute, Holanda. 1987, 24 p.

Van der Zaag, D. E. La papa y su cultivo en los países bajos. Publicado por el Instituto Consultivo Holandés sobre la Papa, 1990, 76 p.

Van der Zaag, P.; Fox, R. L; de la Pena, R.; Laughliny, W.M.; Ryskamp, A.; Villagarcía, S. y Westerman, D.T. The utility of phosphate sorption curves for transfering soil management information. *Tropical Agric*., 1978, 56: 153-160.

Venegas, C. Nutrición vegetal aplicada a la producción de papa para obtener altos rendimientos y buena calidad. Énfasis en potasio. II Seminario Internacional de la Papa, organizado por SQM, Chihuahua, Méjico, 2001, 14 p.

Vitosh, M. Potato Fertilizer Recommendations Extension Bulletin E-2220, April 1990. Michigan State University Extension, 1990.

Voisin, A. Leyes Científicas en la Aplicación de los Abonos. Editado por TECNOS SA, Madrid, 1970, 65 p.

VPK, The role of nutrients and input management unsustainable world food production and food security. Vereninging van Kunstmest Producentent Position Paper, Holanda. 2000.

Welch, N. C.; Tiller, K. B. y Chirrié, D. D. Split nitrogen applications best for cauliflower. *California Agric*., 1986, 41 (11-12).

CAPÍTULO XV

EL RIEGO EN CUBA

P. A. González y R. Roque

INTRODUCCIÓN

Es reconocida ampliamente la importancia del riego para el cultivo de la papa en las condiciones edafoclimáticas en que se desarrolla en Cuba, dado principalmente por realizarse su cultivo en la época de seca donde las precipitaciones solo aportan el 20 % de la lluvia total del año y en muchas ocasiones de forma irregular, por lo que el productor nunca debe arriesgarse a realizar una plantación de papas si no dispone de un sistema de riego confiable y la cantidad de agua suficiente con la calidad requerida, que garantice entre los 5 000 y 8 000 $m^3.ha^{-1}$, según la técnica de riego disponible.

Por ser este un cultivo muy exigente a un manejo cuidadoso del agua, con su máxima demanda de agua en las fases de tuberización y engrose del tubérculo, siempre se han utilizado en Cuba las tecnologías de riego más avanzadas para poder garantizar dichas exigencias.

Actualmente, alrededor del 90 % del área total de papa plantada en el país se benefician con el riego por máquinas de pivote central (hidráulicas y eléctricas), que garantizan una eficiencia de aplicación media entre 0.75 y 0.85. Las máquinas con bajantes y boquillas colocadas por encima y próximas al follaje de la planta han demostrado su efectividad en el riego de la papa y otros cultivos al garantizar una aplicación uniforme por tener menor influencia del viento. Esta tecnología por su productividad, baja presión de trabajo, ahorro de combustible, factibilidad para la fertirrigación y alta eficiencia de aplicación, es considerada como la de mayor perspectiva para el cultivo en áreas mayores a las 13.42 ha.

El riego por aspersión portátil también es utilizado fundamentalmente en áreas pequeñas, la eficiencia de aplicación diminuye en estos sistemas con el incremento de la presión de trabajo según el aspersor que se utilice. Los sistemas de alta presión ("cañones" con más de 4 $kg.(cm^2)^{-1}$) suelen ser aspersores de gran tamaño y caudales superiores a los 40 000 $L.h^{-1}$, su eficiencia de aplicación es baja (0.6-0,65) al ser fácilmente afectados por el viento. Este tipo de aspersor no es recomendado para el riego de la papa.

Los de media presión (2.5 a 4 kg $(cm^2)^{-1}$) suelen ser aspersores con dos boquillas de diámetro comprendido entre 4 y 6.5 mm que aplican caudales entre 1 000 y 3 500 $L.h^{-1}$; su eficiencia de aplicación está entre 0.7 y 0.75. En Cuba, el aspersor de este tipo más utilizado es el MAR 90 Z, con el que se garantiza una uniformidad aceptable al colocarse en un marco entre laterales y aspersores de 12 m x 12 m. Los sistemas de baja presión (menos de 2.5 $kg.(cm^{2)\,-1}$) suelen ser emisores de una sola boquilla; con diámetros menores a 4 mm y caudales inferiores a los 1 000 $L.h^{-1}$, pueden garantizar una eficiencia entre 0.75 y 0.80 y una aceptable uniformidad cuando se colocan en marcos inferiores a los 12 m. Las máquinas de desplazamiento frontal, ya sean laterales rodantes con autopropulsión central o máquinas de accionamiento eléctrico, pueden alcanzar eficiencias de aplicación entre 0.7 y 0.75; por sus características en cuanto a longitud y desplazamiento son factibles para el riego de la papa.

Los sistemas de riego por gravedad o superficial son empleados a menor escala en áreas muy localizadas, son los menos eficientes en cuanto a la eficiencia global de aplicación (conducción, distribución y aplicación) y solo alcanza entre 0.45 y 0.50 en dependencia de las características del sistema, trabajos de nivelación previos, tipo de suelo y obras de conducción del agua. Actualmente, la modalidad de riego intermitente o por impulsos se presenta como una alternativa efectiva para reducir los costos de consumo de agua e incrementa la eficiencia global de aplicación, al poder conducir el agua hasta el surco por mangueras o tuberías con compuertas regulables y controlar las entregas de agua de forma intermitente a través de una válvula que puede gobernarse automáticamente.

Aplicaciones de riego con intervalos de tres a cuatro días en las fases de máxima demanda y totales superiores a los 20 riegos en el ciclo, han permitido la obtención de altos rendimientos y se corresponden con los resultados de las investigaciones realizadas hasta la fecha.

En los últimos años la introducción de tecnologías de riego más productivas y eficientes en la aplicación del agua unida al empleo de una agrotecnia correcta, han permitido que las variedades expresen en los rendimientos sus altos potenciales productivos. Rendimientos nacionales que superan las 29 $t.ha^{-1}$ están muy relacionados con la aplicación del riego con máquinas de pivote central, utilizando bajantes y boquillas difusoras ubicadas en más del 80 % del área cultivada.

1. MANEJO DEL RIEGO EN EL CULTIVO DE LA PAPA EN LAS CONDICIONES DE CUBA

El uso eficiente del riego se consigue cuando a través de él se ponen a disposición de las plantas las cantidades de agua que ellas demandan en el momento oportuno y en la cuantía necesaria.

El régimen de riego de los cultivos se define como el conjunto de normas parciales y total de riego, la cantidad e intervalo de riegos durante el ciclo vegetativo y tiene como finalidad mantener en la capa activa de suelo donde se desarrolla el sistema radicular, un balance de agua y aire capaz de propiciar al cultivo en combinación con las restantes labores culturales las condiciones adecuadas, que permitan obtener rendimientos altos y estables. En la práctica se establecen dos tipos de regímenes:

- Régimen de riego de. proyecto
- Régimen de riego de explotación.

Régimen de riego de proyecto: representa un pronóstico que surge del análisis estadístico de una serie de años anteriores, tiene utilidad en el diseño de sistemas de riego y en la planificación del agua a largo plazo. ***Régimen de riego de explotación*****:** toma en cuenta las variaciones climáticas del año en curso, por lo que no se puede hablar de «recetas», pues se trata de aplicar el agua que realmente necesita el cultivo, en la cantidad y en el momento precisos, requiere de un control técnico esmerado para su aplicación exitosa, además de comprobaciones gravimétricas que permiten verificar la humedad existente en el suelo.

En Cuba, por lo general, se fijan los intervalos de riego y se varía la norma parcial, de acuerdo con el criterio de los productores. Otra variante es fijar la norma y el intervalo durante todo el ciclo vegetativo. La norma parcial neta, en algunos casos, se establece de forma «visual», tratando de saturar al suelo y en otros aplican lo indicado en los instructivos técnicos (normas entre 190 y 220 $m^3.ha^{-1}$ e intervalos entre cuatro y cinco días).

La aplicación óptima del agua al cultivo de la papa se logra mediante una buena programación del riego. El método bioclimático o "Pronóstico de riego", como es conocido en Cuba, toma en cuenta las variaciones climáticas para aplicar la cantidad de agua en el momento oportuno.

2. INDICACIONES PARA EL MANEJO DE RIEGO EN EL CULTIVO DE LA PAPA EN CUBA

- Es imprescindible efectuar un riego humedecedor (MINE), tres o cuatro días antes de la siembra, para reducir al mínimo los daños mecánicos en la colocación del tubérculo semilla; además, para crear un ambiente fresco y húmedo que evite su deshidratación y facilitar así un rápido brote. La norma parcial neta a aplicar será entre 250 y 400 $m^3.h^{-1}$ en dependencia del grado de humedad existente en el suelo
- El primer riego después de la siembra deberá hacerse entre uno y tres días de efectuada, antes de que se pierda la humedad del suelo, cuidando de que no se produzcan excesos de humedad que puedan ocasionar pérdidas por la pudrición de la semilla. Los sucesivos riegos hasta el día 15 después de la siembra, deberán manejarse según la humedad existente en el suelo, teniendo en cuenta el tipo de semilla, picada o entera, la variedad, procedencia, etc. Este intervalo deberá oscilar si no llueve, entre los cuatro y seis días. Las decisiones tomadas para el manejo del riego en este período y en el resto del ciclo del cultivo serán colegiadas siempre por el jefe del cultivo o productor responsable y los frentes de riego y sanidad vegetal de la unidad de producción
- A partir de los 16 días de sembrada y hasta los 30 días se comenzará a aplicar el régimen de riego que corresponde. Durante esta etapa la profundidad a humedecer será de 25 cm y los intervalos de riego podrán oscilar entre los cuatro y cinco días, en dependencia de las variaciones climáticas
- Entre los 30 y 60 días de la siembra, el tubérculo comienza a formarse y a partir de ese momento debe asegurarse más que en otra ocasión que la planta disponga de la humedad requerida, ya que un déficit de humedad en este período trae como consecuencia una afectación en el desarrollo de los futuros tubérculos. La norma neta a aplicar en esta fase se calcula para una profundidad a humedecer de 30 cm. Los intervalos entre riegos serán entre cuatro y cinco días, no descartando la posibilidad de que estos intervalos se reduzcan a tres días debido a un aumento de la evaporación
- Pasados los 60 días, los riegos deberán efectuarse con mucho cuidado, para evitar pudriciones de los tubérculos y el tallo (esto ocurre cuando se inicia el encamado del cultivo), pero sin dejar de suminis-

trar el agua con la frecuencia y cantidad necesarias. La profundidad a humedecer en este período es de 30 cm y los intervalos de riego oscilaran entre cuatro y cinco días, excepto en los últimos 15 días antes de la cosecha en que se manejarán los riegos para evitar pudriciones, los intervalos serán entre cinco y siete días

- En el caso de que el destino de la producción sea para semilla, se suspenderán los riegos a los 65 días después de la siembra para lograr menor tamaño, mayor consistencia y solidez del tubérculo
- Es importante señalar que entre los 30 y 80 días el cultivo de la papa es muy sensible al atraso o alargamiento del intervalo de riego; cada día que la humedad desciende del LIMITE PRODUCTIVO, se afectan significativamente los rendimientos, por lo que las labores culturales han de organizarse, de modo que no prolonguen el intervalo que exige el cultivo. De producirse un atraso, es necesario incrementar el horario y la norma de riego en el próximo ciclo, hasta que se restablezca la humedad óptima; de lo contrario, se arrastraría al ciclo siguiente la afectación anterior
- Cuando ocurren lluvias que eleven la humedad del suelo y sea necesario parar el riego, el arranque o puesta en marcha del riego deberá tener en cuenta el tiempo que demora en dar un ciclo. Se presenta a continuación los parámetros para aplicar él "Pronóstico de riego" (Tablas 1 y 2).

Tabla 1. Régimen de riego en el cultivo de la papa en suelos Ferralíticos Rojos (determinados por el IIRD)

Período vegetativo (días)	Profundidad a humedecer (cm)	Intervalo de riego (días)	Norma neta parcial ($m^3.h^{-1}$)	ETR promedio (mm/día)
Mine	-	-	250-400	-
Siembra-brote 0-15	20	Manejo (4-6)	130	2.2-3.3
Brote-crecimento 16-25	25	4-5	160	3.2-4.0
Crecimiento-tuberización 26-60	30	3-5	190	3.8-6.3
Maduración 60 hasta final	30	4-7	190	2.7-4.8

En la siguiente figura se presentan los diferentes estados de humedad, que se pueden alcanzar de acuerdo con los criterios que se apliquen los riegos (Figura 1).

El valor de la norma parcial neta está representado por la diferencia entre los límites superior e inferior de agua disponible en el suelo; cuando el valor de la humedad desciende del límite productivo o límite inferior de agua disponible, el cultivo comienza afectarse por déficit hídrico.

Tabla 2. Datos necesarios para determinar la dinámica de humedad, en la papa (determinados por el IIRD)

Período Vegetativo (días)	Profundidad a humedecer (cm)	Coeficientes bioclimáticos (Kb)	Límite productivo (% de la Cc)
Siembra-brote 0-15	20	0.8	85
Brote-crecimento 16-25	25	0.8	85
Crecimiento-Tuberización 26-60	30	0.9	85
Maduración 60 hasta final	30	0.8	85

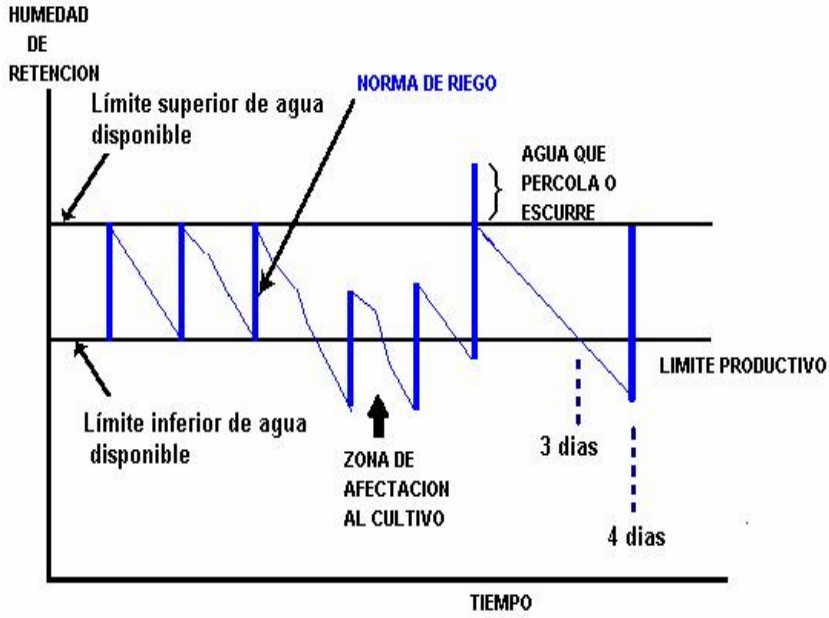


Figura 1. Dinámica de la humedad

Cuando se aplican normas de riego que superan los límites de humedad deseado, el agua en exceso percola o escurre, lavando los fertilizantes.

Se explica, además, un caso que ocurre con mucha frecuencia en la práctica, el de aplicar normas de riego con intervalos fijos. En la figura se aprecia cómo al tercer día se debía haber aplicado un riego y no se regó, la humedad entonces descendió del limite productivo; si al cuarto día se aplica la misma norma de riego, la humedad no alcanzará el limite superior (capacidad de campo). Si la evaporación sigue siendo alta y se continua aplicando la norma de días anteriores, el cultivo se verá afectado por déficit hídrico. Lo correcto es aplicar una norma superior

para recuperar la humedad del suelo, pero cuando esto se hace de forma sistemática estaremos sometiendo al cultivo a estrés hídrico continuado, provocando afectaciones significativas en los rendimientos.

Un buen manejo del riego consiste en aplicarle al cultivo la cantidad de agua necesaria el momento oportuno. Los recursos necesarios para lograr este objetivo son la instalación de un evaporímetro clase A y una red pluviométrica, además de personal técnico capacitado.

3. SISTEMAS DE RIEGO POR PIVOTE CENTRAL

En el 2002, Cuba regaba más del 85 % de las áreas plantadas con papa con máquinas de pivote central. Antes de 1998, los productores de papa en Cuba no estaban satisfechos con la calidad del riego de estas máquinas, ellos asociaban (muy certeramente) la uniformidad del riego con la uniformidad de la producción, y entonces para lograr una uniformidad aceptable aplicaban dotaciones mayores a las necesarias, incrementando los consumos de agua y energía y, por consiguiente, el costo del riego. En los estudios y evaluaciones realizados por el IIRD, se determinó que los principales problemas que afectaban la uniformidad del riego en los pivotes se encontraban los siguientes: el funcionamiento defectuoso de los aspersores, el efecto distorsionador del viento y la incorrecta instalación de la carta de aspersores, por lo que el coeficiente de uniformidad (CU) no superaba el 70 %.

Un grupo de investigadores y especialistas del IIRD desarrolló y evaluó la tecnología de los bajantes y boquillas de baja presión, utilizada en el 100 % de las máquinas de pivote central que riegan papa, lo cual ha permitido mejorar considerablemente la calidad del riego al obtenerse valores del CU entre 80 y 85 %, con lo que se pueden obtener rendimientos superiores a las 30 $t.ha^{-1}$; esta tecnología hizo cambiar totalmente la opinión de los productores de papa respecto a los pivote y hoy es la mas acertada por ellos.

El objetivo de este apartado es proporcionar al productor de papa los conocimientos mínimos indispensables acerca de las máquinas de pivote central, tecnología que ha recibido una gran aceptación dentro de la «familia papera en Cuba».

DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO

Los sistemas de pivote central hoy en día son más avanzados, pero los principales conceptos son iguales. En realidad, por ser más avanzados son más sencillos en cuanto a su funcionamiento y mucho más

confiable. Antes solamente se movían por propulsión hidráulica utilizando alta presión, hoy la gran mayoría de los equipos que se comercializan en el mundo son eléctricos, utilizando microinterruptores y motores eléctricos mucho más eficientes, sencillos y confiables que los diseños anteriores, aunque requieren de personal más capacitado para garantizar una explotación más eficiente.

- ⇨ ***Longitud de los pivotes***. Existe una amplia gama de longitudes, que permiten la fácil adaptación de los pivotes al tamaño y la forma de la superficie a regar. Las longitudes pueden cubrir una amplia gama desde 50 a 800 m, aunque los modelos más frecuentes no suelen superar los 500 m. Las longitudes más frecuentes en Cuba oscilan entre 300 y 450 m. Es importante tener muy en cuenta que la superficie aumenta con la longitud y la inversión por hectárea disminuye; es por ello que desde el punto de vista económico sea preferible la instalación de grandes longitudes.
- ⇨ ***Separación entre torres***. Las distancias entre torres varía de acuerdo con los diferentes tipos de marcas y modelos. Por lo general, las separaciones míninas son del orden de los 24 m y las máximas de 76, aunque es frecuente encontrar las de 30, 38, 52 y 54 m. Los modelos de tramos largos resultan más económicos, debido a que la torre es uno de los elementos más costosos del sistema. La utilización de un menor número de torres nos puede resultar ventajoso, debido a que disminuyen las pérdidas de superficie productiva, al disminuir los carriles de las ruedas y reducir además los gastos por mantenimientos técnicos y averías; sin embargo, esta situación solo es válida para terrenos llanos.
- ⇨ ***Movimiento de los pivotes***. Las torres no solo sirven de apoyo a la tubería, sino que son las que proporcionan el movimiento al sistema, para lo cual cada una de ellas está dotada de un mecanismo de propulsión. La velocidad de desplazamiento de las torres, y por consiguiente, del pivote, depende de la velocidad de la última torre (la más alejada del punto fijo), la cual puede ser regulada por el agricultor para entregar la cantidad de agua requerida. Los pivotes poseen un mecanismo de alineación, el cual actúa acelerando o reduciendo el movimiento de las torres, con lo cual el sistema se mantiene alineado; en caso que este mecanismo falle, existe un dispositivo de seguridad que detiene el funcionamiento de la unidad, cuando la no alineación supera los limites previstos; de esta forma se evita que ante determinadas circunstancias se produzcan importantes daños al sistema.

⇨ ***Mecanismo de propulsión*:** Los más conocidos y utilizados a nivel mundial son los hidráulicos y los eléctricos. ***Sistemas hidráulicos****:* Son los que utilizan un cilindro o pistón y son accionados por la presión del agua, que mueve un conjunto de barras que a su vez trasmiten el movimiento a las ruedas. Los modelos con sistemas hidráulicos son menos costosos que los eléctricos, debido a su sencillez de funcionamiento y a la simplicidad de sus mecanismos, el propio regador puede atender su mantenimiento y reparación. El modelo Fegrat de fabricación rusa ampliamente difundido en Cuba desde 1977, utiliza el sistema hidráulico para su movimiento. ***Sistemas eléctricos***: Los modelos eléctricos poseen en cada torre un motor eléctrico de pequeña potencia (de 0.373 a 0.746 Kw), la energía eléctrica puede ser suministrada por medio de un generador eléctrico situado junto al pivote o bien de la red eléctrica nacional; la reducida potencia utilizada por los motores determina que el consumo eléctrico sea mínimo. Estos sistemas son máqs costosos que los hidráulicos, y requiere personal calificado para el mantenimiento y la reparación de averías; no obstante, ofrecen las siguientes ventajas:

- trabajan más fácilmente en topografía irregular
- la velocidad de giro puede ser regulada con mucha precisión y admite una amplia variación; esta cualidad permite aplicar una amplia gama de normas parciales de riego (muy superior a las de accionamiento hidráulico), que le permite al productor adaptar las conveniencias de cada caso
- pueden trasladarse sin aplicar agua
- pueden invertir el sentido de giro automáticamente, lo que le permite resolver determinados casos prácticos
- utilizan menos presión para su funcionamiento y, por consiguiente, consumen menos energía, se estima entre un 15 y 20 % menos que los pivotes hidráulicos
- son más asequibles a la automatización.

⇨ ***Ruedas* :** Los sistemas de pivote central pueden utilizar dos tipos de rueda, las metálicas y los neumáticos. Las de tipo metálica (similar al modelo Fregat) se plantea que poseen una larga vida útil y que los gastos de mantenimiento son mínimos; sin embargo, la experiencia en Cuba con este tipo de rueda no ha sido favorable. Las ruedas de neumáticos consumen menos energía, la huella es menos profunda y produce menos «atascamientos». Los sistemas eléctricos modernos utilizas neumáticos de alta «flotación» que tienen mayor tamaño y

superficie de contacto con el suelo, con lo cual disminuye la compactación, se mejora la tracción y se consigue una huella menos profunda.

⇨ ***Emisores para la aplicación del agua*:** Existe una variada gama de emisores de riego para aplicar el agua con los pivotes centrales (Enríquez y Grevenson, 2000); en los últimos 10 años se ha generalizado en el mundo la utilización de las boquillas de baja presión que trabajan entre 10 y 18 m.c.a., lo cual significa un ahorro considerable de energía si lo comparamos con la presión, de operación de los aspersores de impacto, que anteriormente se utilizaban en estas máquinas que oscilaban entre 30 y 60 m.c.a.. El mercado hoy dispone de diferentes emisores para variadas condiciones de suelo, cultivos y clima; los principales modelos que hoy se ofertan son:

- Spray
- Rotator
- Spinner
- Wobbler
- LDN
- LEPA

El modelo **Spray** o rociador es un emisor fijo de baja presión, donde el agua al salir por la boquilla choca contra un plato estático que está ranurado, formando chorros de agua a una presión que oscila entre 4 y 18 m.c.a. Existen varios tipos de platos que pueden proporcionar diferentes chorros de salida del agua (chorros finos, medianos y fuertes). Debido a que la entrega del agua es fija, la aplicación instantánea es alta y se recomiendan en suelos de poca pendiente y alta velocidad de infiltración. El Spray es el que utiliza Cuba en las máquinas Fregat y en algunos modelos eléctricos, y tiene la ventaja que puede ser fabricado en Cuba. El comportamiento de este emisor en las condiciones cubanas ha sido bueno; más del 90 % de las máquinas que regaron papa en las últimas campañas lo hicieron con este dispositivo, lográndose en algunas fincas rendimientos sobre las 40 $t.ha^{-1}$. Este tipo de emisor es el más difundido en el mundo pues resulta mas barato que los ultima tecnología.

Otros modelos de última tecnología disponibles en el mercado internacional es el **Rotator** (Figura 2)**,** muy similar al **Spinner,** solo que gira a una velocidad mucho más lenta, debido a un freno en el plato que no tiene el Spinner, por lo que necesita una presión de operación superior. Este emisor tiene un radio de alcance de más de 8 m (el Spray alcanza 5 m y el Spinner 6.5 m), riega con una gota más grande y maneja el

viento mejor que todos los emisores de baja presión, con una aplicación instantánea menor que el Spray y algo superior al Spinner. El Rotator es el que tiene instalado los Pivotes Valmont que han sido adquiridos recientemente. El IIRD efectuó pruebas pluviométricas a cuatro máquinas con este dispositivo y obtuvo coeficientes de uniformidad de 86, 87, 88 y 94 %, lo que demuestra la eficacia de estos emisores. Este tipo de emisor se recomienda para suelos con bajas velocidades de infiltración.

Figura 2. Rotator, utilizado en las máquinas Valley

El **Wobbler** (Figura 3) es un emisor que posee un cuerpo, que el agua al salir lo hace girar de forma loca, tiene un radio de alcance entre 6 y 8 m y una aplicación instantánea muy baja y sus gotas son más gruesas que las del Spray y el Spinner. Funciona con presiones entre 7 y 18 m.c.a., es recomendado en todos los suelos, pero funciona mejor en suelos pesados para prevenir los encharcamientos. Este emisor trabajó solamente en dos máquinas del tipo Valmont en la Empresa de Cultivos Varios Guira de Melena, el Coeficiente de Uniformidad obtenido por el IIRD en esta maquinas fue de 91 %.

El **LDN** (low density nozzle), boquilla de baja intensidad. El principio de funcionamiento es muy similar al del Spray, con un plato que aplica chorros de agua fijos, la diferencia es que el LDN utiliza hasta tres platos en un mismo emisor aplicando cada uno un volumen igual, con lo cual obtienen una aplicación instantánea mucho menor que la del Spray. Funciona bien en suelos arenosos hasta francos arenosos con presiones entre 7 y 18 mca y radios de alcance entre 6 y 7 m y riega con una gota mediana.

Figura 3. Wobbler, utilizado en las máquinas Valley

El **LEPA** (low energy precision application), o sea, baja energía y aplicación precisa; es un emisor para aplicaciones especiales y tiene que estar instalado muy cerca del suelo (40 cm) y por esto alcanza la mayor eficiencia entre todos los emisores, aplica el agua muy próxima al cultivo siendo la más precisa; sin embargo, la aplicación instantánea es muy alta, se necesitan hacer diques para acomodar el agua. Se considera que es el emisor más eficiente, incluso que el riego por goteo (Enríquez y Grevenson, 2000).

Todos los emisores mencionados son fabricados en plásticos especiales y son resistentes a la corrosión y a los productos químicos, pueden durar según Enríquez y Grevenson (2000) entre siete y 10 años.

⇨ ***El cañón final***. La utilización o no del cañón final ha sido un tema muy discutido en los últimos años. Las razones que obligan a los productores a defender la utilización del cañón es la pérdida de área que se deriva de su no utilización. Está demostrado en las evaluaciones pluviométricas realizadas en máquinas que utilizan aspersores finales (cañones), que los últimos metros reciben menos cantidad de agua. La utilización de cañones presupone un aumento de los requerimientos de presión en el pívot, lo que implica una mayor potencia del motor y consumo energético superior. Por lo regular, estos cañones necesitan presiones del orden de los 5 kg/cm². Los vientos fuertes distorsionan el chorro de los cañones con la consiguiente falta de uniformidad en el riego, por lo que en aquellas zonas donde los vientos alcanzan altas velocidades no cabe esperar que los rendimientos de los cultivos sean altos en el área regada por el cañón.

Tarjuelos (1999) opina que la razón de utilizar el cañón en el extremo de la tubería del pivote es el bajo costo de la inversión por hectárea regada que se alcanza; sin embargo, las características hidráulicas de los pivotes con cañón en el extremo introducen implicaciones practicas significativas, tanto en su diseño como en el funcionamiento y en el consumo de energía.

El hecho de lograr menos uniformidad en el reparto de agua en el extremo de los pivotes que utilizan cañón final, facilita la entrada de enfermedades, lo que obliga más tarde a demoler el área afectada; esta situación ha hecho que muchos productores a nivel mundial e incluso en Cuba no quieran utilizar el cañón final.

⇨ ***Consideraciones de topografía y suelo***

- ***Suelo***: La determinación de la velocidad de infiltración del suelo resulta ser una de las consideraciones más importantes en el diseño de un pivote central; esto se hace más trascendental en suelos con bajas velocidades de infiltración, como ocurre en los suelos pesados, en los cuales puede ocurrir que la intensidad de precipitación supere la capacidad de infiltración, lo que dará lugar a encharcamiento y pérdidas por escorrentía con el consiguiente peligro de erosión del suelo. La precipitación máxima es directamente proporcional a la longitud del pivote y, por tanto, el riego de encharcamiento es mayor en la medida que se incrementa la longitud del sistema. Este aspecto debe ser tenido muy en cuenta por los proyectistas, especialmente cuando los suelos son pesados, pues pueden presentarse casos en que sea necesario prescindir de las ventajas económicas que representa el empleo de pivotes de grandes longitudes, con el objetivo de evitar encharcamiento y problemas de erosión del suelo.
- ***Topografía***: Es imprescindible distinguir dos tipos de pendiente, la radial (en dirección al radio regado) y la tangencial (en dirección al movimiento de la máquina). Actualmente, se fabrican modelos hidráulicos capaces de trabajar en pendientes tangenciales superiores al 20 % y sistemas eléctricos capaces de hacerlo en terrenos con un 30 % de inclinación. No obstante, es importante tener en cuenta que en terrenos con pendientes excesivas, las altas intensidades de precipitaciones que producen los pivotes pueden provocar importantes erosiones en el suelo. Por tal motivo, es conveniente que las pendientes (tangencial y radial) no superen el 15 %. En los sistemas con topografía irregular, es importante tener presentes los siguientes aspectos:

1. Los modelos eléctricos funcionan mejor, pues no utilizan la presión del agua para su movimiento.
2. Los modelos con tramos cortos se adaptan mejor que los de tramos largos
3. Los modelos diseñados con baja presión serán más afectados por la diferencia de nivel con la consiguiente pérdida de uniformidad, comparados con otros que utilizan presiones mayores.

CARTA DE DISTRIBUCIÓN DE EMISORES EN LAS MÁQUINAS DE PIVOTE CENTRAL

Uno de los aspectos más importantes que debe conocer un productor que disponga de unidades de pivote central, es que la uniformidad en la distribución del agua y, por consiguiente, la calidad del riego depende de la correcta ubicación de los diámetros de los emisores, los autoreguladores de presión o reguladores de flujo y de la presión de trabajo que indica la carta de distribución de emisores; si esto no se garantiza tal y como lo indica la carta el riego, será deficiente. Es por ello que antes de comenzar una siembra, se recomienda se revisen los emisores y se corrijan los posibles problemas antes de iniciar el riego.

La Figura 4 muestra el resultado de una evaluación pluviométrica realizada a una máquina de pivote central Fregat, en la cual estaban mal instaladas las boquillas difusoras y los reguladores de flujo y se obtuvo un coeficiente de uniformidad (CU) de 59 %. Después de colocar correctamente carta de boquillas y reguladores de flujo calculados por el programa de computación Pívot, se logró obtener un CU de 82 %, mejorando notablemente la calidad del riego. Esto coincide con las investigaciones de Montero *et al*. (2000), que señalan que el factor principal que determina sobre la uniformidad de riego en equipos de pivote central es el correcto diseño de la carta de emisores. La uniformidad en la distribución del agua es determinante en e porcentaje de población del cultivo y tiene una incidencia muy directa en la obtención de altos rendimientos.

AVANCES DEL RIEGO EN EL CULTIVO DE LA PAPA EN CUBA

A principios de la década del 90 existían en Cuba alrededor de 1200 máquinas de pivote central modelo Fregatde procedencia rusa. Debido a la crisis económica ocurrida por el derrumbe del campo socialista y al acentuado estancamiento tecnológico de estas con altos consumos ener-

géticos, deficiencias en la uniformidad de aplicación del agua, unido a limitaciones objetivas en la adquisición de piezas y componentes de repuesto, afectaron significativamente la eficiente explotación del parque activo. Un estudio realizado en la provincia de La Habana arrojó que el coeficiente de uniformidad (CU) oscilaba entre 45 y 68 %, muy por debajo de los parámetros adecuados para esta técnica (80 %). Los resultados de este estudio identificaron como problemas principales los siguientes: funcionamiento defectuoso de los aspersores, efecto distorsionador del viento así como la colocación incorrecta del módulo de aspersores y reguladores de flujo; hasta ese momento, no existía en el país una metodología o herramienta de trabajo que permitiera a los técnicos hacer una adecuada carta de distribución de los aspersores, por lo que unido al efecto del viento y el deterioro de los aspersores, no se lograba una distribución uniforme del agua en la parcela.

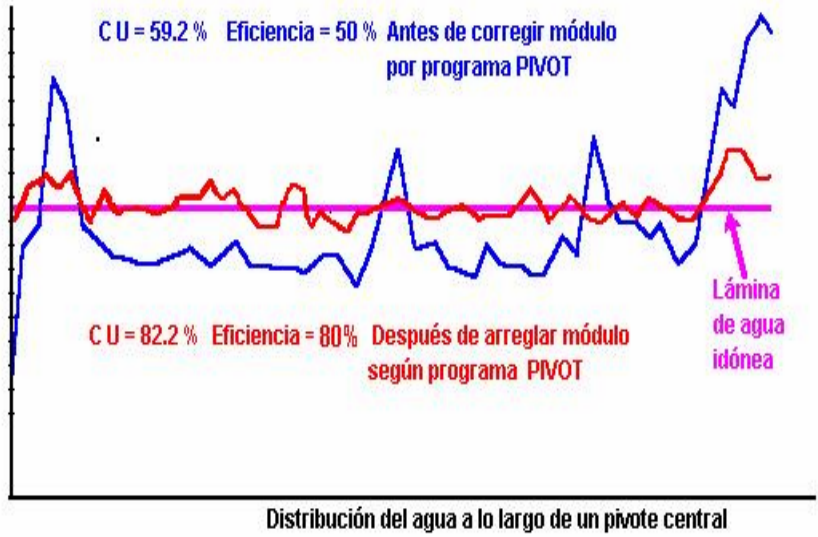


Figura 4. Evaluación antes y después de corregir la carta de emisores

A través de un sistema de cómputo (Pivot) desarrollado por el IIRD, fue factible calcular la ubicación correcta de la carta de aspersores y reguladores de flujo que hasta ese momento se hacía sin un criterio técnico. En sus inicios, los productores no confiaban en las cartas de distribución de aspersores que el IIRD le suministraba para mejorar la calidad del riego; fue preciso hacer evaluaciones pluviométricas y dis-

cusiones técnicas para demostrar las mejoras en la calidad del riego. No obstante las mejorías alcanzadas, estas no fueron suficientes, los problemas provocados por el efecto del viento continuaban y la situación se tornaba m´ss crítica por el deterioro continuado de los aspersores. Se procedió entonces al desarrollo de una boquilla difusora de baja presión de 360° con dos nervios y difusor estriado de 2° de concavidad que estuviera próxima al suelo, para evitar el efecto distorsionador del viento y sustituir los aspersores de impacto por boquillas difusoras de producción nacional. Los estudios se realizaron en Ciudad de La Habana, en áreas del Laboratorio Hidráulico del Instituto de Investigaciones de Riego y Drenaje (IIRD) y en la Finca de Transferencia Tecnológica en el Municipio de Alquízar, provincia de La Habana. Se evaluó el gasto de la boquilla difusora cubana «IIRD» para diferentes diámetros del orificio de salida del agua, a partir de 2.5 mm con incrementos de 0.5 mm hasta los 9.0 mm a las presiones de 50, 100, 150, 200, 250 y 300 kPa. Posteriormente, se realizaron evaluaciones pluviométricas a una boquilla difusora «IIRD» plástica de dos nervios con 360° de sector de riego, de forma invertida, con deflector estriado, 46 ranuras y 2º de concavidad, como se puede apreciar en la Figura 5. El caudal entregado por la boquilla deflectora osciló entre 0.034 l/s hasta 1.394 L/s, cubriendo un espectro amplio, el coeficiente de gasto osciló desde 0.79 hasta 0.91 estando dentro del rango permisible para las boquillas difusoras que es de 0.80 a 0.91; esto permitió diseñar los módulos de las máquinas de riego con el programa Pivot con una gran exactitud. Se evaluaron además tres platos deflectores, uno liso con 2º de concavidad, otro liso también pero con 2º de convexidad y el otro estriado con 2º de concavidad; se escogió el último debido a que logra un diámetro mojado mayor, alcanza una menor intensidad de precipitación y logra una lámina más estable.

A los pivotes hidráulicos marca «Fregat». se les efectuaron las siguientes variaciones constructivas: a los tubos de 9 754 mm de largo, se le perforaron cuatro orificios y dos en los de 4878 mm. Soldándole en cada uno de ello nudos de tubería galvanizada de Æ 25 mm, los cuales cumplen la función de tomas para enroscar la «U» de Æ19 mm y 400 mm de longitud de PVC. Los bajantes son de plásticos (PEAD) de 1"x¾» (25x19 mm) con rosca exterior por ambos lados y se enroscan a la «U» por medio de un nudo de 3/4" de poliacetal. La longitud de los bajantes varía con el modelo de la máquina, para la Fregat es de 1.25 m y para las Kuban de 2.40 m. Los reguladores de flujo plano se colocan en el nudo de 3/4"donde enrosca la boquilla difusora.

Figura 5. Spray, fabricado en Cuba por el IIRD

Se logró incrementar el CU a valores entre el 80 y 86 % y disminuir el consumo energético en un 15 %; esto se pudo constatar en las evaluaciones realizadas en las empresas de cultivos varios de la provincia La Habana.

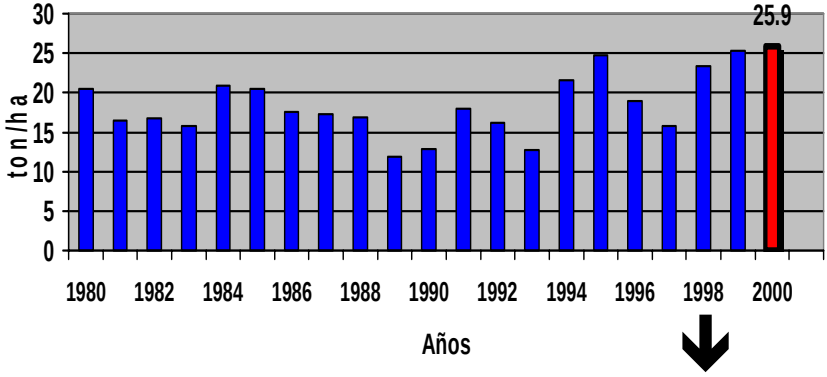
Durante la campaña 1999/2000 regaron con boquillas y bajantes 6 919 ha (47 % del área cosechada) y en la campaña 2000/2001, 7 520 ha (57 % del área cosechada), cabe destacar que en solo tres años se logró extender la tecnología cubana de boquillas y bajantes al 100 % de las máquinas que riegan papa y esto determinó que se obtuvieran los rendimientos más altos de la historia en este cultivo.

Durante la campaña 1999/2000, se logró un incremento de 2.4 $t.ha^{-1}$ en el cultivo de la papa, en comparación con similares máquinas pero con aspersores; algunos sistemas lograron alcanzar rendimientos del orden de 40 $t.ha^{-1}$, similares a los de países con tradición y resultados en este cultivo.

Los mejores rendimientos históricos a escala nacional en el cultivo de la papa se han logrado en las dos últimas campañas, en la 1999 / 2000 con 25.3 $t.ha^{-1}$ y la 2000/2001 con 25.9 $t.ha^{-1}$, considerando todas las técnicas de riego, en el caso de las boquillas y bajantes los rendimientos alcanzados superan las 30 $ton.ha^{-1}$. Es de destacar que el único cambio que ha existido en la tecnología del cultivo ha sido la introducción de las boquillas y bajantes, producidos por el IIRD, lo cual corrobora que los saltos productivos en este cultivo han estado unidos a la introducción de nuevas tecnologías de riego.

«De igual forma, el 85 % de la papa se regó con máquinas que poseen bajantes con boquillas, y para que tengamos una idea de lo que representó eso en esta Campaña, hasta las Fregat con bajantes rindieron más que las Kuban sin bajantes; por tanto, consideramos que existen elementos más que suficientes para establecer obligatoriamente que nadie podrá plantar papa en una máquina de pivote central que no posea los bajantes con boquillas» (Informe Final de la Campaña de Papa 2000-2001).

Rendimientos de la papa obtenidos en Cuba.



Introducción de las boquillas y bajantes en el riego de la papa

PROGRAMACIÓN DE LOS RIEGOS CON MÁQUINAS DE PIVOTE CENTRAL

La programación del riego tiene como objetivo principal ahorrar agua y energía sin disminuir los rendimientos agrícolas, dando respuesta a su vez a los siguientes aspectos:

★ Cuándo se debe regar
★ Qué cantidad de agua es necesario aplicar
★ Cuánto tiempo es necesario para aplicar un riego.

***Ejemplo práctico*.** Se desea regar un área de papa sembrada el día 1 del mes diciembre, con una máquina de pivote central modelo Valmont, en un suelo Ferralítico Rojo, en la provincia de La Habana.

Datos del pivote:
- ☞ longitud: 320 m
- ☞ longitud del alero = 19.4 m
- ☞ alcance aspersor final = 0 (No utiliza aspersor final (cañón))
- ☞ área Bruta:32.2 ha
- ☞ caudal : 39 L/seg
- ☞ presión de trabajo: 23 m
- ☞ hidromódulo : 1.20 L/seg
- ☞ salida unidad propulsora central: 34 r.p.m.
- ☞ frecuencia del Motor: 60 Hz.
- ☞ relación de la caja de engranaje de la rueda: 52:1
- ☞ tamaño de la rueda: 14.9 x 24 (alta flotación) (radio=0.57 m para una presión de inflado de 18 p.s.i.)

(a) Cálculo de la norma parcial neta (Mn = m³ /ha)

Mn= 100 x H x Da x(Cc-Lp)

Donde :

H= Profundidad de las raíces en metros

Da= Densidad aparente del suelo en g/cm³

Cc= Capacidad de campo, expresado en porcentaje de suelo seco

Lp= Límite productivo expresada en porcentaje de la capacidad de campo

(b) Cálculo norma parcial bruta (Mb = m³ /ha)

Mb = Mn / Ef

Donde :

Ef = Eficiencia de aplicación (para el riego de la papa utilizaremos 0.8)

(c) Cálculo de la Evapotranspiración (Etr = m³ /ha)

Etr = Ev x Kb

Donde:

Ev: Evaporación decenal (m³ /ha)

Kb: Coeficiente bioclimático

(d) Intervalo de riego (Ir)

Ir= Mb/Etr (días)

Si no se conocen los datos de suelo para el cálculo de Mn, se puede utilizar las Tablas 1 y 2 así como los de Evaporación (Tabla 3). Además, es necesario utilizar los "parámetros para calcular la dinámica de humedad". Con estos datos se conforma la tabla con el régimen de riego.

Tabla 3. Régimen de riego

Indicador	Decena	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
Evaporación (m³/ha/día)	1	42	42	48	56
	2	42	41	49	63
	3	45	48	43	70
Coeficiente bioclimático (Kb)	1	0.8	0.9	0.8	0.8
	2	0.8	0.9	0.8	-
	3	0.8	0.9	0.8	-
Evapotranspiración (m³/ha/día)	1	34	38	38	45
	2	34	37	39	-
	3	36	43	34	-
Norma parcial neta ($m^3.ha^{-1}$)	1	Mine✶ 350 m³/ha	178	178	178✶✶
	2	149	178	178	-
	3	149	178	178	-
Intervalo de riego (días)	1	5	5	5	4✶✶
	2	4	5	5	-
	3	4	4	5	-

* En esta etapa (después de la siembra) el riego se maneja, según lo dispuesto en el Capítulo I

** En esta última decena el riego se maneja como se indica en el Capítulo I

En la tabla anterior dimos respuesta de cuándo y qué cantidad de agua aplicar; el siguiente paso consiste en cómo suministrarle esos datos a la máquina para que nos aplique el riego deseado, para lo cual se debe proceder de la siguiente manera:

(a) Cálculo de la velocidad de avance en la ùltima torre cuando el temporizador funciona al 100 % (máxima velocidad)

Este es un dato que suministra el fabricante, pero en su defecto se puede determinar por dos formas:

No.1- Midiendo directamente en el terreno:

- Poner a funcionar el temporizador al 100 %
- Marcar dos puntos (10 m uno del otro) en la huella de la última rueda (la más alejada del pivote); se comienza a medir el tiempo cuando una de ellas comience a rebasar el primer punto y finaliza la medición cuando pasa por el último. Este procedimiento se hace al menos dos veces y se promedia la velocidad. Es recomendable cuando comienza una temporada de riego comprobar la velocidad de avance al 100 %, esto nos puede alertar si la presión de inflado de los neumáticos es correcta o no de acuerdo con las especificaciones técnicas que da el fabricante.

No.2- Calculando según datos que suministra el fabricante:

(a) Cálculo de la velocidad con el temporizador al 100 %

$V_{100\%}$ = (r.p.m. / R.ce) x 2p x Rr

Donde:

Vs = velocidad de salida (m/ min)

r.p.m.= r.p.m. del motorreductor.

Rr. = radio de la rueda (m)

R.ce = Relación de la caja de engranaje de la rueda

$V_{100\ \%}$ = (34 / 52) x 2(3.1416) x 0.57x 60 = 139.57 m/h

(b) Cálculo de la velocidad de avance para una norma de riego dada

V = ((0.377 x Q x .Rt) / (A x Mb)) = m/min

Donde:

Q= Caudal de la máquina (L/seg.)

Rt= Longitud hasta la última torre (Rt= longitud de la máquina (R)-longitud del alero) = Rt= 320-19.4=300.6 m

A= área bruta = A= p x ((R)²/10000)) = A =32.2 ha

Norma neta parcial (m³/ha)	Eficiencia (%)	Norma bruta parcial (m³/ha)	Velocidad de avance m/min
350	0.8	438	0.313
149	0.8	186	0.738
178	0.8	223	0.615

(c) Tiempo para dar una vuelta (horas)

T= 2π x (Rt)/x60=(horas)

Velocidad de avance m/min	Velocidad (%)	Mb (m³/ha)	T (horas)
2.33	100	58	13.5
0.313	13	438	100.6
0.738	32	186	42.7
0.615	26	223	51.2

Régimen de trabajo de la máquina

Indicador	Decena	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
Norma parcial bruta	1	438	223	223	223
(m^3/ha)	2	186	223	223	-
	3	186	223	223	-
Velocidad de trabajo (%)	1	13	26	26	26
	2	32	26	26	-
	3	32	26	26	-
Tiempo de riego para	1	101	51	51	51
efectuar un giro (horas)	2	43	51	51	-
	3	43	51	51	-
Tiempo de riego diario	1	20	10	10	13
(horas)	2	11	10	10	-
	3	11	13	10	-
Intervalo de riego (días)	1	5	5	5	4
	2	4	5	5	-
	3	4	4	5	-

QUIMIGACIÓN EN EL CULTIVO DE LA PAPA

La quimigación es la aplicación de químicos agrícolas (fertilizantes, fungicidas, herbicidas, insecticidas, nematicidas, mejoradores de suelo, reguladores de crecimiento, agentes biológicos y aguas residuales) dentro del flujo de agua a través de los sistemas de riego.

La quimigación puede ser utilizada en sistemas de riego de goteo, microaspersión, inundación, surcos y aspersión.

Es de significar que cuando utilizamos la quimigación existe *el riesgo de contaminar la fuente de abasto de agua* debido al efecto de retrosifón, retropresión o sobreriego. Para minimizar estos riesgos el sistema de riego debe ser equipado y operado adecuadamente, con el objetivo de garantizar la seguridad ambiental.

Retroflujo. Cualquier mecanismo temporal o permanente, que sea capaz de invertir el sentido del flujo y contaminar con el producto químico la fuente de abastecimiento de agua, se conoce como *retroflujo*. Es muy importante evitar que exista el retroflujo. Las medidas para que esto no ocurra deben estar garantizadas antes de comenzar a aplicar la quimigación, el peligro potencial que se corre es grande y las consecuencias pueden ser nefastas. La fuente de abasto está sujeta a dos procesos de retroflujo, cuando se está aplicando la quimigación y son: retrosifonaje y la retropresión.

Retrosifonaje. El retrosifonaje es causado por una baja presión o una presión reducida en la tubería de suministro de agua. Las causas principales que causan estén fenómeno son:

- Falla en la válvula de check de la tubería en la línea principal de riego por la parada de la bomba, una avería del equipo de bombeo, o la falta de energía
- Formación de un elevado gradiente hidráulico por la reducción del diámetro en las líneas de suministro
- Disminución de la presión en la línea principal, debido a una elevada tasa en la reducción del caudal de agua tales como un derrame o fuga en la línea principal.

Retropresión. La retropresión ocurre cuando el sistema para inyectar los químicos trabaja a una presión muy superior que la del sistema de riego. Hay que tener cuidado no excederse mucho y trabajar con la presión necesaria para la inyección.

REGLAMENTACIÓN PARA LA APLICACIÓN DE PRODUCTOS QUIMICOS A TRAVÉS DE LOS SISTEMAS DE REGADÍO

Los aspectos que a continuación se relacionan son de ***estricto cumplimiento*** para cuando se apliquen químicos a través del sistema de riego. Las personas que violen los mecanismos de seguridad establecidos en este instructivo técnico serán sancionados por las leyes establecidas, por atentar contra la salud y la protección del medio ambiente, y serán responsables de las afectaciones que puedan ocurrir.

Mecanismos para prevenir el retroflujo. Existen muchos mecanismos para prevenir el retroflujo a continuación se exponen cuatro variantes de instalación para el caso de máquinas de pivote central. No se admiten otras variantes de instalación que no sean las que aparecen en este documento.

VÁLVULA DE DOBLE CHECK ENSAMBLADA

La válvula de doble check ensamblada (Figura 6) consiste en dos válvulas de check, internamente instaladas, ya sea por rosca o cementada, la cual está instalada como una unidad entre dos válvulas de cierre hermético. Esta válvula es efectiva contra el retroflujo causado por el retrosifonaje o la retropresión; esta debe ser instalada antes del sistema de inyección, de forma tal que sea fácilmente accesible para su mantenimiento. Este mecanismo es válido para la aplicación de fertilizantes, productos químicos y biológicos.

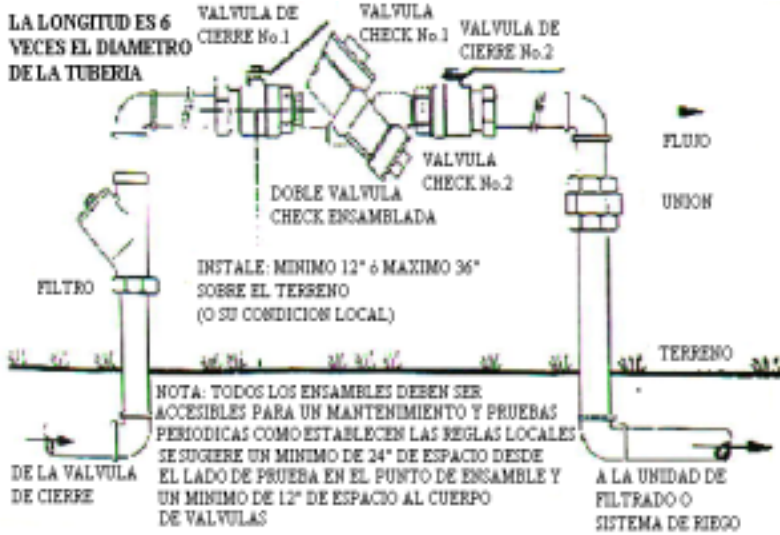


Figura 6. Válvula de doble check ensamblada

MECANISMO DE RETROFLUJO BAJO EL PRINCIPIO DE REDUCCIÓN DE PRESIÓN

Este mecanismo (Figuras 7 y 8) consiste en dos válvulas de check instaladas internamente y de acción independiente, separadas por una zona de presión reducida. El mecanismo debe ser instalado como una unidad entre dos válvulas de cierre hermético, está diseñado para ser usado en situaciones muy riesgosas. Este mecanismo es válido para la aplicación de fertilizantes y productos químicos y biológicos.

1. Mecanismo para prevenir el retroflujo utilizando electroválvula sostenedora o reductora de presión. Esta variante de instalación es muy sencilla y segura (Figura 9) consiste en la instalación de una válvula de check en la línea de riego sobre el terreno con un adecuado espaciamiento para efectuar fácilmente los mantenimientos, a continuación va conectada la electroválvula (Figura 10), la cual tiene una doble función, mantener la presión adecuada en el pivote y no permitir el retroflujo cuando ocurre una falla en el fluido eléctrico. El grifo se instala con una manguera para drenar el residuo del químico que queda en la máquina, esta operación se hace lejos de la fuente de abasto para evitar derrames del producto en ella. Este mecanismo será instalado antes del sistema de inyección. Este mecanismo es válido para la aplicación de fertilizantes y productos químicos y biológicos.

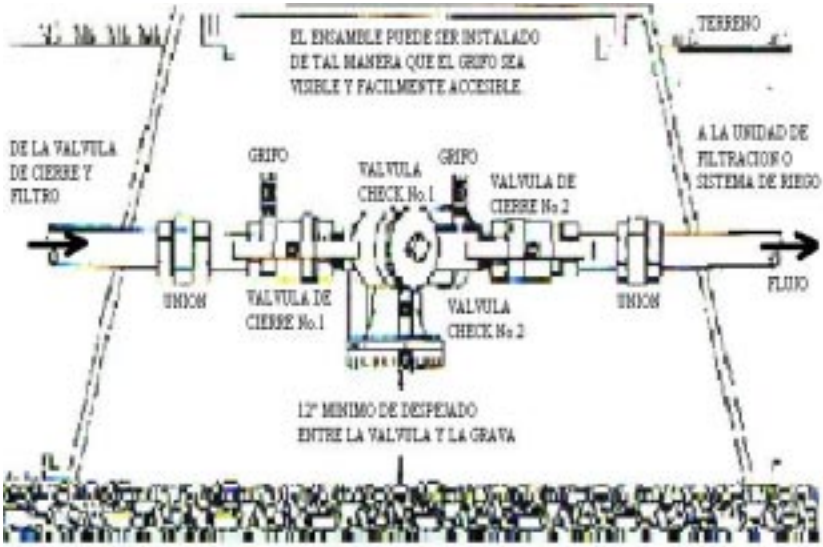


Figura 7.

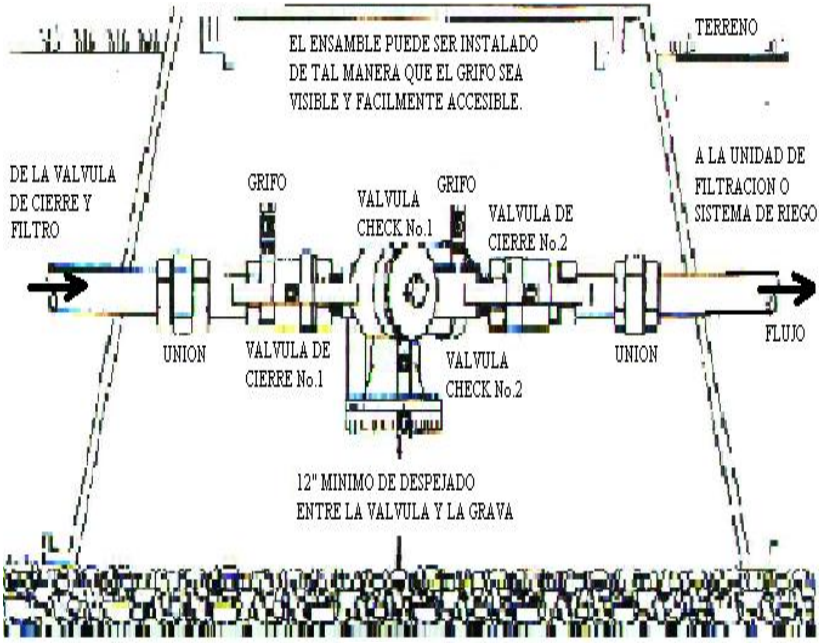


Figura 8.

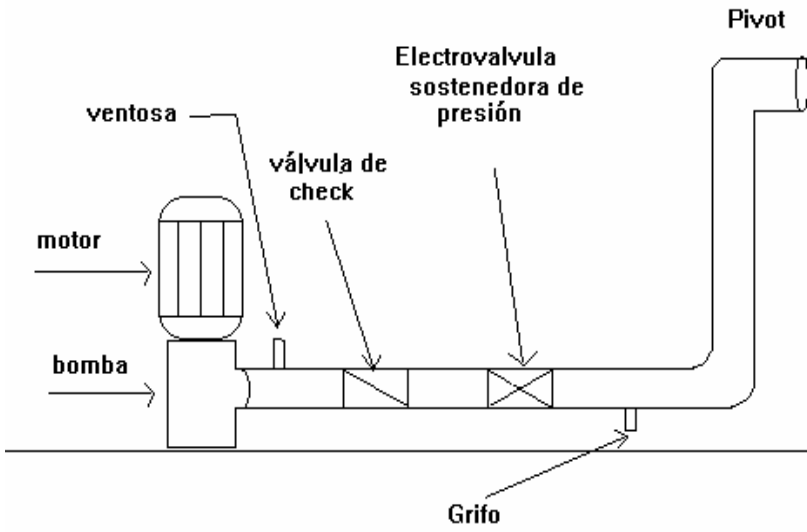


Figura 9.

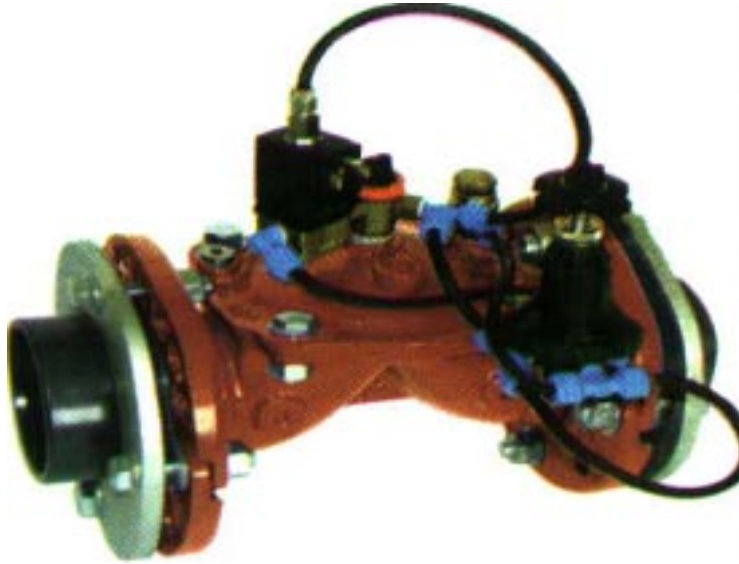


Figura 10

2. ***Mecanismos para prevenir el reflujo utilizando una válvula de compuerta.*** Es el mecanismo más simple que podemos utilizar pero a la vez el menos seguro; se diferencia del mecanismo anterior en que en vez de utilizar una electroválvula se utiliza una válvula de compuerta. El operador deberá cerrar inmediatamente la válvula cuando ocurra un fallo en el fluido eléctrico. El grifo se instala con una manguera para drenar el residuo del químico que queda en la máquina; esta operación se hace lejos de la fuente de abasto, para evitar derrames del producto en ella. Este mecanismo será instalado antes del sistema de inyección. Este mecanismo sólo es válido para aplicar fertilizantes.

3. ***Colocación de avisos en el área.*** Se situarán carteles que digan: «**PELIGRO NO TOMAR AGUA», VENENO,** en los alrededores del área que se está aplicando el producto químico, ya que muchas personas pueden estar tentadas a tomar agua del sistema de riego. Los carteles deben estar situados en aquellos puntos por donde transiten personas. Los carteles deben colocarse antes de la aplicación y permanecer hasta que no exista peligro para la salud humana.

Los responsables del área en cuestión (jefes de finca, presidente UBPC, CPA, campesino privado, etc.) son los encargados de informar y advertir a las escuelas, comunidades, centros de trabajo, personal que laboran en el campo, etc. de los peligros por la aplicación de productos químicos o biológicos (fertilizantes, herbicidas, pesticidas, insecticidas, etc.).

Las letras de los carteles serán por lo menos 2½ pulgadas de alto y deben tener un color que contraste con el fondo.

OTRAS INSTRUCCIONES

- ⇨ Queda prohibida la aplicación de productos químicos (herbicidas, plaguicidas, insecticidas) sin la APROBACIÓN del Instituto de Sanidad Vegetal y la Dirección Nacional de Sanidad Vegetal.
- ⇨ Verificar antes de la aplicación de los productos químicos y biológicos el funcionamiento del mecanismo de prevención de retroflujo. No se podrá aplicar ningún producto si algunos de los mecanismos no garantizan el sellado y hermeticidad del agua hacia la fuente de abasto.
- ⇨ Antes del comienzo de la campaña es obligatorio dar mantenimiento al mecanismo instalado, en el caso de las válvulas check hay que abrirlas, engrasarlas y verificar el sellado y hermeticidad adecuado. En caso necesario se pintarán con pinturas anticorrosivas para mantenerlas conservadas.

⇨ El operador de la máquina de riego debe estar capacitado y advertido sobre los problemas ambientales que traería una incorrecta operación; además, deben dotarse con los medios de protección necesarias, tales como capa, guantes, botas de goma, etc.

LA APLICACIÓN DE FERTILIZANTES CON PIVOTE CENTRAL

Para lograr una fertirrigación de manera segura, eficiente y uniforme en máquinas de pivote central, deben tomarse las siguientes precauciones:

⇨ asegurar la protección del personal
⇨ tomar las medidas para proteger el medio ambiente
⇨ garantizar una buena uniformidad en la distribución del agua
⇨ calibrar el equipo de inyección
⇨ aplicar la cantidad correcta del fertilizante en el tiempo establecido
⇨ aplicar la concentración correcta
⇨ lavado de la máquina.

Uniformidad en la distribución del agua. Para operar satisfactoriamente la fertirrigación a través de los pivotes centrales, el obstáculo más difícil de vencer es garantizar una buena uniformidad en la aplicación. Para lograr esto, se requiere que el módulo de boquillas esté instalado de acuerdo con las especificaciones de la carta de distribución de emisores que debe poseer cada máquina, y que el pivote funcione con la presión calculada. Es conveniente al inicio de la campaña de riego hacer determinaciones del coeficiente de uniformidad; para ello consulte el instructivo técnico, serie operación de sistemas No.1, Máquinas de Pivote Central del IIRD.

Calibrar el equipo de inyección. Para la calibración del equipo de inyección, son necesarios un cronómetro y una probeta graduada. La probeta debe ser transparente y lo suficientemente larga para contener el volumen para cinco minutos de inyección, calibrada en mililitros. La bomba inyectora bombea hacia un recipiente calibrado para períodos de tiempos medidos con el cronómetro. Este método es aceptable solo para la aplicación de fertilizantes; para inyectar pesticidas se requiere un conocimiento preciso de la dosis de inyección.

Aplicar la cantidad correcta del fertilizante en el tiempo establecido. Ejemplos. Una adecuada operación de un sistema de fertirrigación requiere la calibración del riego y del sistema de inyección, el cual involucra los siguientes aspectos:

⇨ determinar el área que va a ser tratada
⇨ determinar la cantidad de fertilizante que va será aplicado por hectárea
⇨ calcular la cantidad total de fertilizante que va ser aplicado
⇨ determinar el tiempo de inyección en horas
⇨ seleccionar la composición química a utilizar y la concentración de la mezcla
⇨ fijar la dosis de flujo en el inyector.

La dosis de inyección puede ser calculada utilizando la siguiente fórmula, si todos sus parámetros son conocidos:

$$Ic = \frac{Qc \times A}{C \times T}$$

Donde:
Ic= Dosis de inyección del fertilizante (L/min.)
Qc= Cantidad de fertilizante aplicar en el área ($Kg.ha^{-1}$)
A= Area (ha)
C= Concentración de la solución inyectada. ($kg.L^{-1}$)
T= Duración de la inyección. (min.)

Ejemplo: (utilizando la bomba dosificadora).

En el área de una máquina de pivote central sembrada de papa se aplican 224 $kg.ha^{-1}$ de urea en cuatro aplicaciones a razón de 15, 35, 35 y 15 %. La norma parcial bruta a aplicar durante ese período es de 190 $m^3.ha^{-1}$. La máquina de pivote central tiene las siguientes características:
⇨ longitud desde el pivot hasta la ultima torre = 474 m
⇨ longitud de la consola final =27.2 m
⇨ radio de alcance de la última boquilla = 2 m
⇨ velocidad de recorrido del pivot en la última torre = 129,6 $m.hora^{-1}$
⇨ caudal del sistema = 70 litros/segundo = 252 000 $L.hora^{-1}$

$$Ic = \frac{Qc \times A}{C \times T}$$

Area a ser tratada
Donde :
A_t = área a ser tratada (área bruta) (ha)
R= longitud desde el pivot hasta la ultima torre (m)
a= radio de alcance de la última boquilla (m)

Cantidad de fertilizante a ser aplicado por hectárea

Del anexo No. 1 se obtuvo la información sobre la urea

⇨ 46 % de nitrógeno

⇨ Solubilidad de 108 g/100g H_2O a 20º (1.08 $Kg.L^{-1}$)

⇨ Dosis total = 224 $kg.ha^{-1}$

No. de aplicación	Momento de la aplicación	Dosis a aplicar $t.cab^{-1}$	Dosis a aplicar $kg.ha^{-1}$	Dosis (%)
1	30 -35 días	0.45	33.53	15
2	35 -40 días.	1.05	78.24	35
3	40-45 días.	1.05	78.24	35
4	45-50 días	0.45	33.53	15
TOTAL		3.0	223.54	100

Cantidad total de fertilizante a ser aplicado

No. aplicación	Dosis a aplicar $kg.ha^{-1}$	Area a tratar.ha	Cantidad total de fertilizante (kg.)
1	33.53	71.18	2386.7
2	78.24	71.18	5569.1
3	78.24	71.18	5569.1
4	33.53	71.18	2386.7
Total	223.54	-	15911.6

Capacidad del depósito para almacenar el fertilizante. A la solubilidad de 1.08.

$$= Volumen\,de\cdot la\cdot solución\,(35\%) = \frac{Cantidad\,total\cdot a\cdot ser\cdot aplicada}{Valor\cdot de\cdot la\cdot solubilidad} = \frac{55691}{1.08} = 51566\cdot litros$$

$kg.L^{-1}$, la cantidad total de solución que se necesita es:

$$= Volumen\,de\cdot la\cdot solución\,(15\%) = \frac{Cantidad\cdot total\cdot a\cdot ser\cdot aplicada}{Valor\cdot de\cdot la\cdot solubilidad} = \frac{2386.7}{1.08} = 2209.9\cdot litros$$

Se necesita un tanque de 5156.6 litros para fertirrigar toda el área de la máquina. Una variante puede ser fertirrigar por cuadrantes, entonces el volumen del tanque será: 1290 litros, resultado de dividir 5156.6 entre 4.

Régimen de trabajo de la máquina

Velocidad	Tiempo de giro (h)	Tiempo de rotación (días)	Vueltas/mes	Norma bruta (m^3/ha)
5	433.23	18.05	1.66	1533.8
10	216.62	9.03	3.32	766.9
15	144.41	6.02	4.99	511.3
20	108.31	4.51	6.65	383.4
25	86.65	3.61	8.31	306.8
30	72.21	3.01	9.97	255.6
35	61.89	2.58	11.63	219.1
40	54.15	2.26	13.30	191.7
45	48.14	2.01	14.96	170.4
50	43.32	1.81	16.62	153.4
55	39.38	1.64	18.28	139.4
60	36.10	1.50	19.94	127.8
65	33.33	1.39	21.61	118.0
70	30.95	1.29	23.27	109.6
75	28.88	1.20	24.93	102.3
80	27.08	1.13	26.59	95.9
85	25.48	1.06	28.25	90.2
90	24.07	1.00	29.91	85.2
95	22.80	0.95	31.58	80.7
100	21.66	0.90	33.24	76.7

La norma bruta a aplicar corresponde con el 40 % de la velocidad de la máquina. La metodología para calcular la tabla anterior, puede obtenerla en el instructivo técnico, serie operación de sistemas no.1. Máquinas de Pivote Central del IIRD.

El tiempo que demora regar la máquina un cuadrante es 13.53 horas (54.15/4)

***Dosis de riego*.** La dosis de inyección puede calcularse de la siguiente forma:

$$Ic = \frac{Qc \times A}{C \times T} = \frac{78.24 \times 17.8}{1.08 \times 13.54} = 95.3 \cdot L/hora \cdot (para \cdot el \cdot 35\% \cdot de \cdot la \cdot dosis \cdot fraccionada)$$

$$Ic = \frac{Qc \times A}{C \times T} = \frac{33.53 \times 17.8}{1.08 \times 13.54} = 40.8 \cdot L/hora \cdot (para \cdot el \cdot 15\% \cdot de \cdot la \cdot dosis \cdot fraccionada)$$

Donde:

Qc= 78.24 kg/ha
A=17.8 (71.18/4)
C=1.08 kg/L
T=13.54 horas (54.15/ 4)

Qc= 33.53 jg/ha
A= 17.8
C=1.08 kg/L
T=13.54 horas

Otro método de cálculo es el siguiente:

$$Ic = \frac{Qc \times A}{C \times T} = \frac{33.53 \times 17.8}{1.08 \times 13.54} = 40.8 \cdot L / hora \cdot (para \cdot el \cdot 15\% \cdot de \cdot la \cdot dosis \cdot fraccionad\ a)$$

$$Ic = \frac{Qc \times A}{C \times T} = \frac{33.53 \times 17.8}{1.08 \times 13.54} = 40.8 \cdot L / hora \cdot (para \cdot el \cdot 15\% \cdot de \cdot la \cdot dosis \cdot fraccionad\ a)$$

Concentración de la solución en el riego (*Cs*)

$$Cs \cdot (0.0378 \cdot \%) = \frac{Dosis \cdot de \cdot Inyección}{Caudal \cdot de \cdot lsistema} = \frac{95.3}{252000} = 0.000378$$

Para evitar daños a las raíces de las plantas (por altas concentraciones de fertilizantes), la concentración de fertilizante en el agua de riego no debe exceder del 5 %. Generalmente una concentración de 1 a 2 % en el agua de riego es aceptable.

***Lavado de la máquina*.** Después de cada aplicación, la máquina debe lavarse. El tiempo de lavado después de cada riego, como mínimo ha de ser de 10 min. (Tablas 4, 5 y 6).

Tabla 4. Propiedades hidrofísicas promedio de los suelos cubanos agrupados por igual comportamiento hídrico

Grupo físico de suelo	Capacidad de campo (Cc) (% PSS)	Densidad aparente (Da) (g/cm³)
1	24.4	1.33
2	30.5	1.30
3	37.8	1.20
4	46.3	1.01
5	31.9	1.28

Tabla 5. Tipos de suelos según la clasificación genética de los Suelos de Cuba

Grupo	Suelos
1	Ferralítico Púrpura, Ferralítico Cuarcítico Amarillo Lixiviado, Ferralítico Cuarcítico Amarillo Rojo Lixiviado, Gley Ferralítico, Arenoso Cuarcítico.
2	Ferralítico Rojo, Ferralítico Amarillento, Fersiálitico Pardo Rojizo, Pardo Grisáceo.
3	Fersialitico Pardo Rojizo, Pardo con Carbonato, Gley Amarillento.
4	Húmico Carbonático, Oscuro Plástico Gleyzado, Oscuro Plástico Gleyzado, Oscuro Plástico no Gleyzado, Gley Húmico.
5	Ferralítico Rojo, Fersialitico Pardo Rojizo, Aluvial, Gley Amarillento.

Tabla 6. Evaporación promedio decenal por provincia (m³/ha/día)

Provincia	Decena	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic.	Total
	1	40	46	55	65	71	52	55	55	50	46	42	40	617
Pinar del Rio	2	42	50	61	71	67	52	54	54	50	47	44	44	634
	3	50	42	69	73	67	59	57	57	50	50	42	44	622
	Total	132	138	186	199	205	163	167	167	150	143	128	128	2908
	1	42	48	56	72	72	60	60	62	51	50	45	42	660
Habana	2	41	49	63	77	68	56	62	60	54	51	42	42	665
Matanzas	3	48	43	70	77	69	62	70	53	50	52	41	45	680
	Total	131	140	189	226	203	178	192	175	155	153	128	129	1999
Cienfuegos	1	42	50	57	67	73	53	61	53	50	48	42	42	648
Villa Clara	2	44	50	65	77	71	51	63	59	53	44	40	42	659
Santi Spíritus	3	50	46	71	79	65	57	67	61	46	46	42	44	674
	Total	136	146	194	224	208	162	192	184	149	138	124	128	1985
Ciego Avila	1	57	64	77	89	90	68	84	90	72	65	57	55	868
Camagüey	2	56	64	79	92	87	71	87	90	76	57	56	55	870
Las Tunas	3	66	62	92	97	79	79	92	85	64	83	53	57	907
Granma	Total	179	190	248	279	156	219	261	265	212	206	166	167	2548
	1	40	44	53	62	62	49	60	57	51	46	40	39	563
Stgo Cuba	2	38	44	55	64	60	54	60	57	53	40	38	39	602
Guantánamo	3	46	44	64	68	57	55	64	60	46	44	37	40	625
	Total	124	132	172	194	180	158	185	174	150	130	116	118	1833
	1	45	54	60	71	71	57	62	64	56	51	47	51	695
Isla de la	2	49	58	66	77	69	54	64	64	58	56	49	47	648
Juventud	3	58	77	75	79	69	64	71	62	57	54	51	51	738
	Total	152	189	202	227	213	175	197	190	171	161	149	150	2177

BIBLIOGRAFÍA

Allen, G..; Keller, J.; Martin, D.; Center Pivot System Design, The Irrigation Association.,Second Edition, November 1999, web site: www.irrigation.org.

Cárdenas, J. F. Estudio del uso de la boquilla difusora cubana en la máquina de riego de pivote central, Tesis presentada en opción a Maestro en Ciencias. C. de La Habana. 2000.

Deroncelé, R.; Salomón, J. L.; Manso, F.; Guía Técnica para la Producción de Papa en Cuba, MINAGRI, La Habana 2000.

Dillon, R. C. /*et al.*/. Center pivot sprinkler design based on intake characteristics. Trans. ASAE, 1972.

Domínguez, G.. M.; Roque, R. R.; Pérez, L. R. y Cárdenas, J. F. Máquina de riego por Aspersión de Pivote Central Hidráulica de baja presión con colgantes. *Revista Ciencia Técnica Agropecuaria*, 1998,. vol. 7 no. (1/98), p. 56-58.

Enríquez, E.; Grevenson, W. Jr. Memorias 5to. Simposio Internacional de Fertirrigación, 4ta. Conferencia Regional panamericana ICID, Mérida, Yucatán, México del 4 a la de Octubre del 2000.

García, A. C. Estudios de factores que limitan la eficiencia técnica y económica de los pivotes centrales. Tesis presentada en opción a Maestro en Ciencias. C. de LaHabana. 1996.

Gonzalez, P. y Navarro, F. Programa de Computación "Pivot" para el cálculo de la distribución de boquillas y aspersores en las máquinas de pivote central, *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 1999, vol. 8, No.2/99 p. 33-35.

González, P.; Alemán, C. y Placeres, Z. Instructivo Técnico Riego y Drenaje serie Operación de Sistemas, No1. Máquinas de Pivote Central, IIRD, Ciudad de La Habana, 1999.

González, P.; Stincer, J. y Roque, R. Algunas consideraciones para el diseño, explotación y adquisición de máquinas de pivote central; *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 2001.

Howell, T. A. y Phence, C. J. Distribution of irrigation water from a low pressure lateral moving irrigation system . Transactions of the ASAE 1983.

MINAGRI. Informe Final Campaña de Papa 1998-1999.

MINAGRI Informe Final Campaña de Papa 1999-2000.

MINAGRI Informe Final de la Campaña de Papa 2000-2001.

Roque, R.; Herrera, J. y Alvarez, P. Respuesta de la papa a diferentes niveles de humedad mediante el diseño de la línea central de aspersores. Resultados preliminares. *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Serie Riego y Drenaje*, 1990, 13 (1).

Roque, R. Respuesta de la papa al riego en los suelos Ferraliticos Rojos del occidente de Cuba. Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas, 1996.

Rollan, L. La mecanización del riego por aspersión, riegos y drenajes, *Boletin FAO* no.35, 1984.

Scaloppi, E. J y Allen, R. G,. Hydraulics of Center Pivot laterals, *Journal of Irrigation and Drainaje Engineering*, 1993, Vol 119,.

Tarjuelos, J. M. El riego por aspersión y su tecnología. Ediciones Mundi Prensa, Madrid, 1999.

Tarjuelos, J. M, Carrión, P. y Valiente, M. Simulación de la distribución del riego por aspersión en condiciones de viento. *Revista de Investigación Agraria, Producción y protección vegetal*, 1994, Vol. 9 No. 2.

Tarjuelo, J. M. El riego por aspersión. Diseño y funcionamiento. Edt. Universidad de Castilla-La Mancha. Albacete. 1992.

El cultivo de la papa en Cuba

Este cultivo ocupa el primer lugar entre las raíces y tubérculos; cada año se plantan entre 10 000 y 15 000 ha y se obtiene un rendimiento medio entre 18 y 25 $t.ha^{-1}$ así como una producción anual de 300 000 t. Es de gran importancia alimenticia; superior a otros en la producción de proteínas por unidad de tiempo, superficie y producción de energía..

Su proteína es muy valiosa, debido a su alto contenido de aminoácidos esenciales, lo cual no es común en otras plantas; en ello se asemeja a la proteína de la leche y es sobresaliente la forma en que se complementa con otras como la soya.

Constituye un alimento de suma importancia en la dieta de la población cubana, por lo que es necesaria la producción de este cultivo y la obtención de variedades con mayor cantidad de masa seca, con bajos contenidos de azúcares y que soporten mejor la conservación en cámaras refrigeradas, sin perder sus atributos organolépticos. Cuba tiene un reto por delante, lograr incrementos en la producción y calidad de la papa, como uno de los principales alimentos, línea en la que deben trabajar los científicos y productores.

Este libro se realizó con el objetivo de aumentar el conocimiento sobre este cultivo, tratándose de forma general diferentes temas, tales como los recursos fitogenéticos y el mejoramiento genético; la introducción, el desarrollo y la evolución; la obtención y el uso de semilla sexual; la aplicación de técnicas biotecnológicas para el mejoramiento; la transformación genética de variedades comerciales; algunas aplicaciones de los marcadores moleculares en el estudio del germoplasma cubano; las enfermedades virales, fungosas y bacterianas: su descripción, epidemiología y manejo, así como la nutrición, fertilización y el riego. Se muestran importantes resultados en Cuba.

ISBN 959-7023-32-6

EDICIONES INCA