

Producción de vitroplantas de papa en medio de cultivo líquido bajo sistema estático

Agustín Fariña*

Dayana Niño

Susan Duque

Juan Maldonado

Sara Roa

José Lucas Peña

INIA. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Estado Táchira.

*Correo electrónico: agustinf80@hotmail.com.

En las investigaciones que se han realizado en el cultivo de la papa, la producción de semilla es una actividad que requiere de una evolución hacia técnicas más eficientes y de menor costo, el objetivo fundamental es el de producir un material de siembra con pureza varietal, calidad fitosanitaria comprobada, con recursos y materiales accesibles en el país.

El término cultivo de tejidos vegetales se refiere al cultivo *in vitro* de cualquier estructura viva de una planta, sea esta una célula, tejido u órgano, bajo condiciones asépticas (Mejía, 1988), en el cual se debe proveer al explante de un ambiente apropiado y un medio de cultivo artificial que proporcione los nutrientes necesarios para la planta.

En Venezuela, el cultivo de tejidos *in vitro*, es una alternativa para la producción comercial de semilla de papa con alta pureza varietal y libre de virus, pero está fuertemente limitado por los elevados costos de los reactivos y por la dificultad de obtenerlos, especialmente los agentes gelificantes, debido a que la mayoría de los reactivos y componentes usados para la preparación del medio son importados y representan entre el 70 y 90% de los costos del medio de cultivo (Prakash *et al.*, 2004; Orellana, 1998).

En el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Estación Local Pueblo Hondo del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del estado Táchira (INIA), se evaluó la producción de vitroplantas de papa en medio líquido, utilizando el medio de cultivo Murashige y Skoog (1962;MS), en sistema estático (sin agitación) en las etapas de multiplicación y crecimiento (medio de cultivo 1), comparado con el medio donde se utilizó fertilizante SOLUB® 13-40-13, empleado en riegos hidropónicos (medio de cultivo 2).

Producción de vitroplantas en medio de cultivo líquido y sin agitación

Preparación del medio de cultivo

Medio de cultivo 1

Se preparó 1 litro de medio, para lo cual, en un vaso de precipitado con 500 mililitros de agua destilada se agregaron 30 gramos de azúcar y las sales del medio Murashige y Skoog, sin hormonas, agitando constantemente y enrazando a 1 litro con agua destilada, regulando el pH a 5,8. Luego se dispensó a razón de 15 mililitros en frascos de vidrio con capacidad de 200 mililitros, que fueron tapados y llevados al autoclave para esterilizarlos por 15 minutos, a 121 grados centígrados. Una vez transcurrido este tiempo, los frascos con el medio de cultivo fueron colocados a enfriar en estantes a temperatura ambiente.

Medio de cultivo 2

En un vaso de precipitado con 500 mililitros de agua se disolvieron 30 gramos de azúcar comercial y 2 gramos de SOLUB® 13-40-13, luego se enrazó a 1 litro con agua destilada y se realizaron los mismos pasos indicados para el medio de cultivo 1.

Siembra de las vitroplantas

En la cámara de flujo laminar se extrajeron las vitroplantas de los frascos de vidrio en condiciones estrictas de asepsia, luego sobre una cápsula de petri y con la ayuda del bisturí y pinzas quirúrgicas se eliminó la raíz y todas las hojas mayores o igual a 2 milímetros de largo para poder seccionar el tallo en porciones (segmentos o trozos) de 3 o 4 nudos (Fotos 1 y 2).



Foto 1. Vitroplantas utilizadas para seccionarlas en trozos o segmentos.

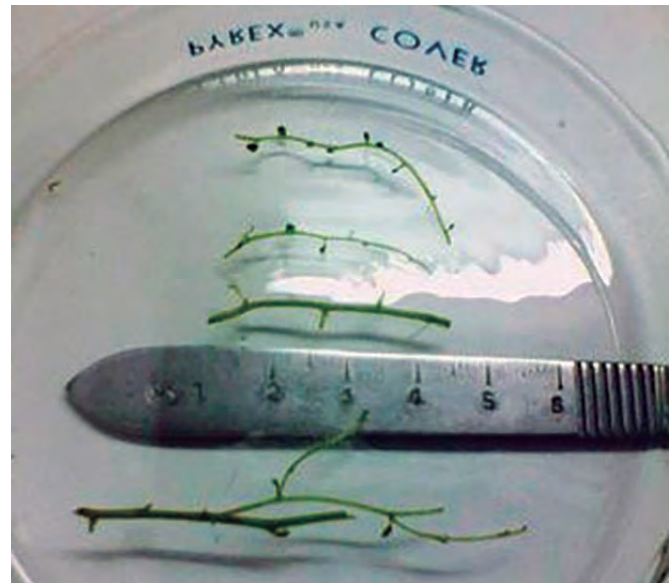


Foto 2. Segmento o trozos de vitroplantas listos para siembra en medios de cultivos.

Por cada frasco, se introdujeron 3 a 4 porciones de tallo en posición horizontal en el fondo del frasco, se taparon e identificaron para luego colocarlos en los estantes del cuarto de crecimiento con una temperatura entre 18 a 22 grados centígrados y un fotoperíodo de 16 horas luz, y a los 21 días las plantas estuvieron listas para volver a ser multiplicadas. Cabe destacar que estas plantas se mantuvieron en estantes sin ningún tipo de agitación.

Para estos ensayos se emplearon vitroplantas de las variedades comerciales Andinita, Amarilis, Granola y Montañita. Se sembraron 5 frascos de vitroplantas por cada variedad a evaluar para un total de 20 frascos por tratamiento, se utilizaron como testigo, 5 frascos por variedad de medio de cultivo Murashige y Skoog adicionando el agar, para un total de 60 frascos a evaluar en el ensayo.

Hallazgos

A los 7 días después de la siembra (DDS), se pudo observar que en los frascos con medio líquido, las yemas de los tallos empezaron a crecer, produciendo brotes laterales, mientras que en el método convencional (medio MS con agar), los explantes no presentaron ningún cambio.

Independientemente del tratamiento y de la variedad evaluada, a los 14 días después de la siembra empezaron a brotar las primeras raíces y las plantas

siguieron creciendo mostrando una diferencia bien marcada en cuanto a altura y desarrollo, comparadas a aquéllas sembradas en medio líquido.

A los 21 días después de la siembra, en los frascos con medio de cultivo Murashige y Skoog líquido, se obtuvieron vitroplantas bien formadas con 5 a 7 yemas y con el sistema radicular desarrollado, independientemente de la variedad, seguidas en tamaño y desarrollo por las plantas sembradas en el medio de cultivo Murashige y Skoog con agar. Las plantas sembradas en medio con SOLUB® 13-40-13 presentaron menor crecimiento. (Foto 3).



Foto 3. Vitroplantas de papa obtenidas en medio MS líquido a los 21 DDS.

Consideraciones finales

El uso de del fertilizante comercial SOLUB® 1340-13 se puede recomendar para la multiplicación masiva de vitroplantas de papa, ya que, representa la alternativa más económica y fácil de conseguir, y podría evaluarse el uso de concentraciones más altas de producto.

El mejor resultado, independientemente de la variedad, se logró con el medio de cultivo Murashige y Skoog líquido, con el que se obtuvieron más y mejores vitroplantas en cuanto a tamaño y desarrollo en menor tiempo.

El empleo de los medios de cultivo líquidos, permite reducir los costos de producción, lo que representa un avance para la micropropagación comercial de papa.

Las vitroplantas de papa no expresaron diferencias entre variedades, la diferencia fue entre los medios de cultivo, por lo que podemos recomendar al medio de cultivo Murashige y Skoog líquido para la producción de vitroplantas de cualquiera de las variedades evaluadas.

Este proceso de multiplicación de plantas *in vitro* en medio líquido es más rápido, solo hay que seccionar la vitroplanta en menor cantidad de segmentos o trozos, y al momento de la siembra se toman tres trozos y se introducen horizontalmente en el frasco de vidrio con el medio líquido.

Adicionalmente, en el medio de cultivo líquido, la contaminación registrada fue menor reduciendo las pérdidas.

Glosario

Agente gelificante: consiste en un medio no nutritivo, semisólido que se utiliza en el cultivo de tejidos vegetales que mezclado con sustancias nutritivas, y hormonas, sirve para dar soporte a las vitroplantas.

Explante: tejido vivo separado de su órgano propio

In vitro: el término *in vitro* es de origen latín que significa “dentro del vidrio”. En consideración de lo anterior, *in vitro* es la técnica que se realiza fuera del organismo, dentro de un tubo de ensayo, en un medio de cultivo, o en cualquier otro ambiente artificial.

Pureza varietal: parámetro de calidad de la semilla que certifica que pertenece a la especie y cultivar deseados, asegurando que no hay mezclas ni dudas acerca de su identidad.

Bibliografía consultada

- Murashige, T y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497 pp.
- Wetherell, D. 1982. Introduction to *in vitro* propagation. Wayne N.J Avery publishing. 89 p.

Descarga
NUESTRAS
PUBLICACIONES
Digitales

INIA
Instituto Nacional
de Investigaciones
Agrícolas

www.inia.gob.ve