

PRODUCCION DE MICROTUBERCULOS IN VITRO DE TRES
VARIETADES DE PAPA (Solanum tuberosum L.).
"SANTA CATALINA" - INIAP

JAIME EDUARDO ESTRELLA ENGELMANN

TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCION
DEL TITULO DE INGENIERO AGRONOMO

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS

Quito - Ecuador

1990

VII. RESUMEN

INIAP ha desarrollado un modelo de producción de semilla de papa de alta calidad y libre de virus, a partir de plantas propagadas *in vitro*, las mismas que se someten a multiplicación acelerada en invernadero para obtener una gran cantidad de esquejes, los cuales son luego trasplantados al campo.

En consideración a las cualidades especiales de los microtubérculos *in vitro*, tales como su capacidad para producir plántulas vigorosas y su facilidad de transporte y manejo en invernadero, se estimó conveniente incorporar la tuberización *in vitro* para optimizar el esquema de producción acelerada de semilla de papa, libre de virus.

La presente investigación se realizó en la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), con el propósito de evaluar la producción de microtubérculos y el periodo de dormancia que éstos atraviesan.

En este estudio se probó tres tipos de recipientes: matraces de laboratorio, magentas y frascos Gerber, con

miras a determinar las mejores condiciones para la elongación de yemas y la tuberización in vitro; igualmente, se empleó tres tipos diferentes de medios, los cuales contenían CCC, Coumarina y ABA como inductores, respectivamente. Las variedades en estudio fueron INIAP-Santa Catalina, INIAP-Esperanza e INIAP-María.

Además, se pretendió determinar los procedimientos más idóneos para interrumpir la dormancia a voluntad, para lo cual se aplicó los siguientes métodos: Método de Corte de Microtubérculos, que consiste en una incisión en la superficie de los mismos; Método F-F-C, que incluye dos periodos de frío, uno de ellos con fotoperiodo de 4 000 lux, y luego un periodo de calor; y, el Método F-C que es el más sencillo e incluye un periodo de bajas temperaturas y luego uno de calor.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 3 x 3 para las fases de Elongación y de Ruptura de Dormancia, y 3 x 3 x 3 para la de Tuberización, con tres repeticiones. Se realizó Comparaciones Ortogonales entre los niveles de los factores en estudio; se aplicó la Prueba de Tukey al 5% a variedades, medios, recipientes y a sus interacciones; y, se aplicó los conceptos de correlación y regresión a las variables de la Elongación de Yemas y de la Tuberización in vitro.

Las variables analizadas en esta investigación fueron: número de tallos antes de la inducción a tuberización y longitud media de tallos, para la fase de Elongación de Yemas; número de microtubérculos por recipiente, peso de microtubérculos por recipiente y porcentaje de tuberización, para la fase de Tuberización; y, días a la brotación, vigor del brote y porcentaje de brotación para la fase de Ruptura de Dormancia.

De los resultados obtenidos se pudo establecer las siguientes conclusiones:

En la fase de Elongación, los frascos Gerber permiten obtener la mayor cantidad de tallos y los de mayor longitud, al cabo de tres semanas. Esto se debe a la existencia de un mayor volumen de oxígeno en el recipiente y a un eficiente intercambio de O₂ y CO₂ con el ambiente exterior.

El Medio de Inducción con Coumarina presenta las mejores respuestas para la tuberización *in vitro*, en cuanto a número y peso de microtubérculos por recipiente y porcentaje de tuberización (16.67, 0.93 gramos y 59.90% de promedios, respectivamente).

Los Matraces Erlenmeyer son los recipientes óptimos para producir microtubérculos *in vitro*, ya que su uso

determina los más altos valores promedios en todas las variables de la fase de Tuberización

En la fase de Ruptura de Dormancia, el Método de Corte de Microtubérculos estimula la emisión de los brotes más vigorosos y provoca los más altos porcentajes de brotación. Igualmente, dicho método estimula la brotación más precoz al inducir un desbalance hormonal y la producción de etileno que interrumpen rápidamente la dormancia.

En la variable Porcentaje de brotación, las diferencias estadísticas detectadas para cada factor en estudio y su interacción se desvanecen conforme transcurre el tiempo.

El Porcentaje de brotación y el Vigor del brote se incrementan en los microtubérculos con el tiempo.

En atención a todo lo dicho, se recomendó emplear el Medio de Inducción con Coumarina y los Matraces Erlenmeyer, por ser los factores que propician los mejores rendimientos. Sin embargo, el uso de frascos Gerber y del Medio de Inducción con CCC representan una opción más económica en el caso de una producción masiva de microtubérculos.

Finalmente, se sugirió la aplicación del Método de Corte de Microtubérculos para incorporarlos rápidamente al esquema de producción acelerada de semilla de papa, o bien para reciclarlos como material de micropropagación para la reserva del laboratorio.

SUMMARY

INIAP has developed a methodology of high quality virus-free potato seed production, starting from in vitro propagated plantlets. These plantlets are propagated under greenhouse conditions using rapid propagation methods, in order to get enough cuttings to be trasplanted into the field.

It is known that in vitro tubers have the capacity of producing vigorous plantlets which are easily handled in greenhouses. Therefore, it was thought convenient to incorporate in vitro tuberization, in order to get an optimum method of producing virus-free ootato seed.

The experiment was carried out at the Santa Catalina Experimental Station of the National Agricultural Research Institute (INIAP). The objective of this trial was to assess in vitro tuber production and its dormancy period.

Three different recipients (Erlenmeyer flasks, Magenta vessels and Gerber glasses) were used to determine the best conditions for leaf-bud elongation and in vitro tuberization. Likewise, three kinds of media containing

CCC, Coumarin and ABA were used as inductors. Three improved potato varieties were used: INIAP-Santa Catalina, INIAP-Esperanza and INIAP-Maria.

On the other hand, it was intended to determine proper proceedings for dormancy breakage. With this purpose, three methods were analysed: Cutting *in vitro* tubers; the F-F-C Method, which includes two low temperature periods, one of them with a 4 000 lux intensity, and then a high temperature period; and finally, the F-C Method which has a low and high temperature periods.

A completely randomized design with a 3 x 3 factorial experiment and three replications was used for the leaf-bud elongation stage. The same design with a 3 x 3 x 3 arrangement was used for the tuberization stage. Orthogonal Comparisons among levels of the factors in study were done. The Tukey at 5 percent probability level was done for the factors varieties, media, recipients and their interactions. Correlations and regression analysis were also done for the variables in study.

The variables measured and statistically analysed were: elongated shoots number, average shoot length for the leaf-bud elongation stage; *in vitro* tuber number and weight per recipient, and tuberization percentage for the tuberization stage; days to dormancy breakage,

sprout vigor and sprouting percentage for the dormancy breakage stage.

Based on the results, the following conclusions were reached:

Gerber glasses gave more and longer tillers after a three-week period of elongation. This is due to the high amount of oxygen inside of the recipient and the efficient interchange of O_2 and CO_2 with the outside environment.

The induction media containing Coumarin showed the best response for *in vitro* tuberization since it produced more microtubers (16.67) per recipient, which had a mean weight of 0.93 g and a mean tuberization percentage of 59.90.

Erlenmeyer flasks are the best recipients for *in vitro* tuber production. They gave the highest mean values for all the variables during the tuberization stage.

In the dormancy breakage stage, cutting *in vitro* tubers helped the emission of the most vigorous sprouts and stimulated the highest sprouting percentages. This method gave the fastest dormancy breakage, too. It seems

that it produced an imbalance in the tuber hormones and the production of ethylene helping the dormancy breakage.

For each factor and their interactions, the statistical differences for the variable sprouting percentage disappeared with time. On the other hand, the mean values for the sprouting percentage and the sprout vigor increased with time.

Based on this trial, it may be recommended the use of the coumarin inducing media and Erlenmeyer flasks, which demonstrate to be the highest yielding factors. However, the use of Gerber glasses, as well as the CCC induction media, showed to be the cheapest alternative in case of massive *in vitro* tuber production.

Finally, it is suggested cutting as the fastest method of breaking dormancy, in order to rapidly incorporate *in vitro* tubers to seed production models, or to recycle them as a micropropagation material for the laboratory stock.