

Producción de minitubérculos de papa var. 'Desirée' en casa de cultivo con sustrato zeolita a partir de plantas cultivadas *in vitro*

F. Jiménez-Terry*, D. Agramonte, M. Pérez, M. León, M. Rodríguez, M. de Fera, Alvarado-Capó Y.

*Autor para correspondencia

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. e-mail: felipe@ibp.co.cu

RESUMEN

La producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) por organogénesis ha presentado, entre otros inconvenientes, pérdidas y daños en el traslado desde la fase de aclimatización hasta el campo. Por otra parte, se han demostrado las potencialidades de la zeolita en el cultivo de diferentes especies de plantas. Teniendo en cuenta estos aspectos el objetivo de este trabajo fue producir minitubérculos de papa var. 'Desirée' en casa de cultivo con sustrato zeolita. Plantas en fase de enraizamiento fueron transferidas directamente a la casa de cultivo. Simultáneamente se desarrolló un experimento en campo para comparar los resultados. En este caso las plantas procedían de fase de aclimatización con 15 días de cultivo. Se determinó la supervivencia, el número y la masa fresca de los minitubérculos por planta. Además, se cuantificaron las pérdidas desde la transferencia hasta la cosecha y se determinó el efecto de la altura de las plantas y la distancia de plantación sobre el rendimiento de las plantas en casa de cultivo. Los minitubérculos producidos en ambas condiciones se conservaron en frigorífico durante ocho meses y al final del periodo se compararon los resultados. Además, se plantaron en campo y se determinó su rendimiento. Los resultados demostraron que es posible producir minitubérculos en casa de cultivo con sustrato zeolita 100%. Se comprobó que la supervivencia y el rendimiento neto fueron mayores que en el campo así como las pérdidas desde el traslado hasta la conservación en frigorífico fueron menores. Además, a partir de considerar la altura de las plantas *in vitro* (mayor de 4 cm) y la densidad de plantación (10 x10 cm) puede incrementarse el número de minitubérculos. Adicionalmente, la siembra directa de las plantas cultivadas *in vitro* en la casa de cultivo sin que medie una fase de aclimatización reduce el tiempo de obtención de los minitubérculos.

Palabras clave: semilla biotecnológica, rendimiento

ABSTRACT

The production of potato (*Solanum tuberosum* L.) seed by organogenesis has, among other problems, losses and damages in the transfer from the acclimatization stage to the field. On the other hand, the potential of zeolite in the culture of different plant species has been demonstrated. Taking in account these aspects, the objective of this research was to produce minitubers of potato cv. 'Desirée' in greenhouse with zeolite as substrate. Plants in rooting stage were transferred directly to the greenhouse. Then a field experiment to compare the results was carried out simultaneously. Plants came from acclimatization stage after 15 days of culture. Survival, fresh mass and number of minitubers per plant were determined. Besides, losses were quantified since the transfer until harvest. The effect of plant height and distance of planting on crop yield were determined. Minitubers produced in both conditions were kept in cold storage for eight months and then the results were compared. Besides, the minitubers were planted in field to determine their yield. The results showed that it is possible to produce minitubers in greenhouse with 100% zeolite substrate. Survival and net yield were higher than in field as well as losses from the transfer to cold storage were lower. In addition, after considering the height of *in vitro* plants (greater than 4 cm) and planting density (10 x 10 cm) the number of minitubers increased. Direct planting of *in vitro* plants in the greenhouse without an acclimatization stage reduces the time for obtaining the minitubers.

Key words: biotechnological seed, yield

INTRODUCCIÓN

La micropropagación es una vía eficiente para mantener de forma estable la calidad

fitosanitaria y genética de la semilla así como obtener un elevado número de propágulos en un periodo de tiempo relativamente corto. El Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP)

dedica grandes esfuerzos para producir semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) de forma eficiente mediante esta vía. Inicialmente se plantaban las plantas obtenidas *in vitro* en motas prensadas de suelo y materia orgánica en umbráculos. Posteriormente, se efectuó la plantación directa de las plantas *in vitro* y microtubérculos en campos comerciales para la producción de minitubérculos, lo cual alcanzó buenos resultados.

Las problemáticas fundamentales en la producción de semilla de papa por métodos biotecnológicos se han presentado en la plantación a campo y han estado asociadas a pérdidas en el traslado a campo de las plantas *in vitro*. Ello ha elevado los requerimientos de atenciones culturales por personal altamente calificado, ha incrementado las pérdidas de tubérculos en la cosecha por daños o enfermedades así como en la conservación debido principalmente a la elevada presencia de microorganismos patógenos del suelo (Jiménez *et al.*, 2000).

Para contrarrestar el efecto perjudicial de los microorganismos y mejorar las propiedades del suelo se ha utilizado el sustrato inorgánico denominado zeolita.

Este mineral de origen natural con excelentes propiedades físicas, puede lograr la disminución de pH y mejorar la capacidad de intercambio iónico del sustrato. Por otra parte, la zeolita es capaz de retener los nutrientes y aportarlos lentamente de acuerdo con la demanda de las plantas (Kesraqui-ouki *et al.*, 1994).

Las potencialidades del uso agrícola de este mineral y los problemas presentados en la implementación de la tecnología para la producción de semilla biotecnológica de papa justificaron la presente investigación cuyo objetivo consistió en producir minitubérculos de papa en casa de cultivo con zeolita como sustrato a partir de plantas cultivadas *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron plantas obtenidas por cultivo *in vitro* de papa variedad 'Desirée' (progenitores: 'Urgenta' x 'Depesche') en el Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP) según la

metodología propuesta por Agramonte (2000). Los experimentos se desarrollaron en el periodo comprendido de enero 2008 a diciembre 2009 en la casa de cultivo ubicada en el IBP y un área de campo situada en la empresa de cultivos varios Valle del Yabú, del municipio Santa Clara, provincia Villa Clara, Cuba.

Acondicionamiento de la casa de cultivo

En la casa de cultivo, el suelo fue reemplazado en su totalidad por zeolita del tipo litonita. Este sustrato inorgánico de granulometría <4mm poseía la siguiente composición química (%): SiO₂ 66.2, Al₂O₃ 11.2, TiO₂ 0.5, Fe₂O₃ 0.3, MgO 0.6, CaO 4.5, K₂O 1.3, P₂O₅ 0.07, H₂O 4.7 y se correspondió con la descripción para su comercialización realizada por Corominas (1991). Se realizó la fertilización antes de la plantación con la fórmula NEREA IV; que refiere la utilización de ácido fósfórico, nitrato de amonio, nitrato de potasio, cloruro de calcio, sulfato de magnesio, ácido bórico, sulfato de manganeso, sulfato de zinc, sulfato de cobre y molibdato de amonio (León, 2010).

El riego se efectuó por microaspersión con una frecuencia de uno y medio minutos cada dos horas (la primera semana) y dos minutos cada cuatro horas durante el resto del ciclo vegetativo hasta su suspensión para la cosecha (Jiménez-Terry *et al.*, 2001).

Durante los primeros 15 días se reguló la iluminación solar mediante dos cubiertas, una exterior, consistente en material de polipropileno que reduce al 75% la iluminación solar y una cubierta interior (malla o zarán negro) que la redujo al 25% y mediciones promedio de 58-73 $\mu\text{E s}^{-1} \text{m}^{-2}$. En el resto del ciclo vegetativo no se colocó el zarán lo que permitió el 75% de iluminación y valores entre 107-114 $\mu\text{E s}^{-1} \text{m}^{-2}$.

Las aplicaciones de fertilizantes y estimuladores se efectuaron con dos mochilas manuales de 16 litros capacidad.

La cosecha se realizó mediante un arado manual de paleta metálico diseñado en el IBP. En el campo se utilizó una cosechadora mecánica.

Procesamiento estadístico

Todos los procesamientos estadísticos fueron realizados con el paquete SPSS (PASW

Statistics 18) versión para Windows. Como procedimiento común se realizaron las pruebas de normalidad de los datos y homogeneidad de las varianzas.

Producción de minitubérculos

Con el objetivo de determinar si era posible la producción de minitubérculos de papa variedad 'Desirée' en casa de cultivo con sustrato de zeolita se desarrolló este experimento. Se emplearon plantas cultivadas *in vitro* en fase de enraizamiento, después de seis subcultivos de multiplicación cada 21 días.

Además, simultáneamente se desarrolló un experimento similar en condiciones de campo para comparar los resultados. En este caso las plantas procedían de fase de aclimatización con 15 días de cultivo.

En ambas condiciones de cultivo, se estableció un diseño de bloques al azar con 600 plantas por tratamiento, distribuidas en cuatro repeticiones de 150 unidades y cinco surcos de 30 plantas cada uno. En cada réplica se evaluaron 30 plantas de los tres surcos centrales después de las diez primeras en cada surco, para un total de 120 plantas por tratamiento.

La distancia de plantación establecida fue de 90x20 cm en campo y 20x20 cm en la casa de cultivo. Las labores culturales se realizaron en correspondencia con las normas para cada una de las condiciones de cultivo.

Inicialmente se determinaron las pérdidas de plantas desde la transferencia de la fase de enraizamiento *in vitro* hasta la cosecha y el número de plantas afectadas por enfermedades en cada tratamiento.

A los 45 días de cultivo se determinó la supervivencia a través del conteo del número de plantas vivas y se expresó en (%). A los 90 días de cultivo se determinó el número de tubérculos (u) y masa fresca de estos por planta (g).

Igualmente, se calculó la tasa de rendimiento neto mediante la relación entre el número de tubérculos obtenido por las plantas al final del ciclo y el volumen de plantas que se transfirieron desde la fase de enraizamiento *in vitro*.

A estas las variables se les aplicó un análisis de varianza de clasificación doble. La comparación de medias se efectuó mediante la prueba de Duncan al 5% previa comparación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas.

Influencia de la altura de las plantas in vitro

Plantas cultivadas *in vitro* que procedían de la fase de enraizamiento después de seis subcultivos de multiplicación cada 21 días, fueron transferidas a la casa de cultivo y se conformaron tres poblaciones de acuerdo con su altura (6 -10 cm, 4 – 6 cm, menor de 4 cm). Estas se plantaron en zeolita 100% a una profundidad de 2 cm con el objetivo de determinar la influencia de la altura de las plantas *in vitro* sobre la supervivencia y el desarrollo de estas en la casa de cultivo.

Al inicio y final del ciclo vegetativo (90 días) se calculó el área foliar (cm²). Para ello se tomaron veinte plantas por tratamiento y se realizaron imágenes fotográficas del área total que ocupaban. A través de estas imágenes con escala (1:1) en centímetros, se calculó el área foliar por grupo de plantas mediante el programa Image-Pro Plus versión 4.1 para Windows (Blatt *et al.*, 2004). A los 45 días, se realizó el conteo del número de plantas vivas y calculó el porcentaje de supervivencia. Estas variables se analizaron estadísticamente mediante la prueba de proporciones.

Además, se cuantificó el número de minitubérculos por planta a los 90 días (u) y se determinó su masa fresca (g). A estas las variables se les aplicó un análisis de varianza de clasificación doble. La comparación de medias se efectuó mediante la prueba de Duncan al 5%. A partir de los resultados se seleccionó el tratamiento de mejores resultados en las variables analizadas.

Efecto de la distancia de plantación

Con el objetivo de determinar el efecto de la distancia de plantación sobre el rendimiento en la casa de cultivo se plantaron parcelas de 6 m² en tratamientos constituidos por seis distancias con cuatro repeticiones de cada una. Las distancias de plantación fueron: 10x10 cm, 10x15 cm, 10x20 cm, 15x15 cm, 15x20 cm y 20x20 cm. Los espacios libres

entre las parcelas no fueron ocupados por plantas para lograr la misma densidad de población en los tratamientos.

A los 45 días de cultivo se realizó el conteo de plantas vivas y se calculó el porcentaje de supervivencia. A los 45 días se midió la altura de la planta (cm). La cosecha se realizó a los 90 días de cultivo y se determinó el número (u) y masa fresca de los minitubérculos por planta (g).

Los datos experimentales se procesaron mediante un análisis de varianza de clasificación doble. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Duncan al 5%. Se seleccionó la distancia de plantación de mejores resultados según las variables analizadas.

Conservación en frigorífico

Efecto del origen de los minitubérculos

Con el objetivo de comparar la conservación de los minitubérculos producidos en la casa de cultivo con sustrato zeolita 100% con los minitubérculos obtenidos de la plantación en campo se establecieron dos tratamientos.

Se colocaron los tubérculos en las cámaras del frigorífico del IBP, a 4°C y humedad relativa que varió entre 86 y 90%. Se conformaron diez réplicas constituidas por sacos de *Nylon* tipo envase tradicional con 500 tubérculos en cada uno.

En cada tratamiento se distribuyeron los minitubérculos proporcionalmente por calibres. (minitubérculos desde 10 mm de diámetro inferior y masa fresca 5 g y de 55mm de diámetro superior con 126 g de masa fresca).

Después de 8 meses de conservación se determinó el contenido de masa seca (%) mediante la fórmula:

Contenido de masa seca (%) = $[masa\ seca\ (g) / masa\ fresca\ (g)] \times 100$

Para ello se determinó la masa fresca de los minitubérculos conservados y posteriormente estos se colocaron en una estufa a 60°C hasta peso constante. Además, se determinó el contenido de almidón (%), así como el porcentaje de pérdidas (%). El análisis de

almidón se realizó mediante la técnica propuesta por Sergeeva *et al.* (2000).

Estos datos de porcentajes fueron procesados mediante la prueba de proporciones, en todos los casos después de previa comparación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas.

Respuesta en campo después de la conservación

Después de su conservación durante ocho meses en el frigorífico del IBP los tubérculos del experimento anterior fueron plantados en el campo para determinar su rendimiento en número y masa fresca de los tubérculos por planta a los 90 días.

Los dos tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con 1 000 unidades de cada tratamiento (casa de cultivo y campo) las cuales fueron distribuidas en cuatro réplicas de cinco surcos con 50 plantas cada uno y una distancia de plantación de 0.90 x 0.20 m. Fueron evaluadas 20 plantas por surco en los tres surcos centrales de cada parcela después de las 15 primeras plantas. Las variables evaluadas fueron: supervivencia (se realizó el conteo del número de plantas vivas y se expresó en porcentaje) a los 45 días después de la plantación y el número de tubérculos (u) y masa fresca de los tubérculos por planta (g) a los 90 días de cultivo.

Los datos de número de supervivencia fueron analizados mediante la prueba de proporciones y a los valores obtenidos en las evaluaciones del número de tubérculos y masa fresca por planta se les aplicó un análisis de varianza de clasificación doble. La comparación de las medias fue a través de la prueba de Duncan al 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción de minitubérculos

Se comprobó que es posible producir minitubérculos de papa var. 'Desirée' en casa de cultivo con sustrato zeolita 100% (Figura 1). Las plantas *in vitro* transferidas a la casa de cultivo presentaron mayor supervivencia y menores pérdidas en el traslado y la plantación así como menos afectaciones por

enfermedades que las plantadas en campo (Tabla 1). Las plantas que se llevaron a campo habían tenido un periodo de aclimatización previa, sin embargo, sus índices de pérdidas fueron significativamente mayores.

Estos resultados mostraron las ventajas de la casa de cultivo en cuanto a las condiciones que ofrecen para el cultivo de plantas *in vitro* y las excelentes propiedades de la zeolita como sustrato para la producción de semilla biotecnológica de papa a diferencia de la plantación directa en el campo.

En los campos abiertos las pequeñas plantas procedentes del ambiente *in vitro* son más

susceptibles al ataque de plagas y enfermedades cuyos agentes causales pueden estar presentes en el suelo o el aire y en las casa de cultivo se regulan gradualmente diferentes factores para lograr la adaptación y preparación para el crecimiento y desarrollo (Cassells *et al.*, 1998).

Kowalski *et al.* (1999) informaron diferencias significativas en la supervivencia y sanidad de poblaciones de las plantas *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. en la fase de aclimatización cuando utilizaron bolsas con sustrato zeolita 100%, de forma comparativa con poblaciones de plantas *in vitro* plantadas en un suelo ferralítico rojo típico.



Figura 1. Producción de minitubérculos de papa var. 'Desirée' en casa de cultivo con sustrato zeolita 100% y en campo. a y e plantas *in vitro*, b planta cultivada *in vitro* plantada directamente en sustrato zeolita, c plantación en casa de cultivo, d minitubérculos obtenidos en casa de cultivo, f plantas cultivadas *in vitro* en fase de aclimatización, g plantación en campo, h minitubérculos obtenidos en campo.

Tabla 1. Producción de minitubérculos de *Solanum tuberosum* L. var. 'Desirée' en casa de cultivo y campo. Supervivencia después de 45 días de cultivo y pérdidas desde la siembra hasta la cosecha.

Tratamiento	Supervivencia (%)	Pérdidas en traslado y plantación (%)	Plantas afectadas por enfermedades (%)
Casa de cultivo	97.8 a	9.2 a	3.6 a
Campo	85.6 b	36.4 b	43.2 b
Error estandar.	2.9	5.6	4.7
Coef. var. (%)	17.5	19.7	19.2

(a,b) Medias con letras no comunes en una misma columna, difieren significativamente según la prueba de proporciones n=600.

El cultivo sin suelo presenta como característica diferencial de mayor importancia en comparación con el cultivo en suelo natural el control riguroso de los aspectos relacionados con el suministro de agua y nutrientes para el desarrollo de los cultivos, especialmente cuando se trabaja en sistemas cerrados (Rivas *et al.*, 2005).

El número de minitubérculos por planta en la casa de cultivo fue inferior a la plantación en campo; pero la tasa de rendimiento neto fue superior con diferencias significativas (Tabla 2). Esta respuesta en el rendimiento está relacionada con las pérdidas de plantas en el traslado y plantación, y las pérdidas por afectaciones de enfermedades que fueron significativamente inferiores en la casa de cultivo y por otra parte, esta instalación posee mayor densidad de población en un área menor, lo que repercute en el resultado final del cultivo.

Van Huylenbroeck *et al.* (1998) refieren que con las casas de cultivo se logra una mayor independencia en relación con el clima, pues en ellas es posible controlar los principales parámetros ambientales para el crecimiento de las plantas. El control de la intensidad de la luz que se logra con las casas de cultivo es muy importante para alcanzar una alta

supervivencia, ya que la plantas provienen de un ambiente con intensidad baja (aproximadamente $45-50 \mu\text{E s}^{-1} \text{m}^{-2}$) y son expuestas a uno con alta intensidad (aproximadamente $52-64 \mu\text{E s}^{-1} \text{m}^{-2}$), por lo tanto esta se debe regular para evitar la fotoinhibición del aparato fotosintético.

El desarrollo de las casas de cultivo ha resultado ser ideal para la plantación de las plantas cultivadas *in vitro* y la producción de minitubérculos en estas instalaciones, como solución estratégica a los problemas de pérdidas de plantas cultivadas *in vitro* en el traslado hasta el campo, alto requerimiento tecnológico para la plantación y baja uniformidad de las poblaciones (Jiménez-Terry *et al.*, 2001).

Influencia de la altura de las plantas in vitro

La altura de las plantas *in vitro* influyó sobre el área foliar, el número y la masa fresca de los minitubérculos. Las plantas con altura de 6-10 cm en la fase de enraizamiento *in vitro*, tenían mayor área foliar con diferencias significativas que los restantes grupos de plantas. Sin embargo, ni a los 45 días de cultivo para la supervivencia, ni a los 90 días de cultivo se observaron diferencias para esta variable con el grupo de 4-5.9cm (Tabla 3).

Tabla 2. Rendimiento de plantas *in vitro* de papa var 'Desirée' en casa de cultivo y en el campo.

Tratamiento	Número de tubérculos por planta (u)	Tasa de rendimiento neto (u)
Casa de cultivo	7.05 b	6.40 a
Campo	8.86 a	5.67 b
Error estándar	0.41	0.54
Coeficiente variación (%)	17.36	14.63

(a,b) Medias con letras no comunes en una misma columna, difieren significativamente para $p < 0.05$ según la prueba de Duncan. $n=600$

Tabla 3. Influencia de la altura de plantas de papa var. 'Desirée' cultivadas *in vitro* sobre la supervivencia y crecimiento en casa de cultivo con sustrato zeolita.

Altura (cm)	Área foliar (cm ²)	Área foliar (cm ²)	Supervivencia (%)
	(0 días)	(90 días)	
6 - 10	15.2 a	302.1 a	97.3 a
4 - 5.9	9.64 b	289.4 a	95.5 a
2 - 3.9	6.16 c	223.9 b	90.1 b
Error estandar	0.34	4.82	1.03
Coef. var. (%)	11.7	16.5	12.8

(a,b,c,) Medias con letras no comunes en una misma columna, difieren significativamente para $p < 0.05$ según la prueba de Duncan para área foliar y según la prueba de proporciones para supervivencia

La mejor respuesta en los indicadores de rendimiento evaluados en la casa de cultivo se observó también en estos dos grupos de plantas con adecuado estado de desarrollo vegetativo. Se constataron diferencias significativas en las variables número de minitubérculos por planta y masa fresca de los minitubérculos con el grupo de 2-3.9 cm (Figuras 2 y 3).

Kowalski *et al.* (2003) evaluaron poblaciones de plantas de papa procedentes de ápices y entrenudos con alturas diferentes en la fase de enraizamiento *in vitro*, que presentaron una respuesta dependiente del tamaño y área foliar, plantas con mayor altura y follaje alcanzaron indicadores morfológicos significativamente superiores en la fase de aclimatización y mayor rendimiento en campo.

Por su parte, Hazarika (2006) refirió la influencia del estado de desarrollo de las plantas *in vitro* en su aclimatización. En las investigaciones realizadas, las plantas de mayor altura alcanzaron mayor supervivencia y tuvieron un crecimiento significativamente superior en la casa de cultivo.

Igualmente, Sosa-Rodríguez *et al.* (2009) plantearon que las plantas *in vitro* de mayor altura y mejor estado de desarrollo tienen mayores reservas de nutrientes y órganos más funcionales debido fundamentalmente al desarrollo *in vitro* de las características fisiológicas, estructurales y anatómicas. Señalan, además, que las plantas de menor estado de desarrollo presentan como principal problema en la aclimatización, la deficiente o incompleta conexión vascular entre la raíz y la región foliar lo que produce un mal funcionamiento de estas estructuras.

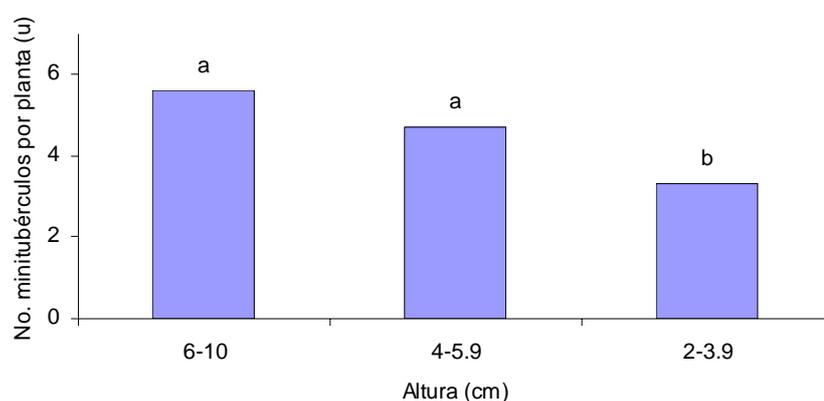


Figura 2. Influencia de la altura de plantas *in vitro* de papa var. 'Desirée' plantadas directamente en casa de cultivo con sustrato zeolita 100% sobre el número de minitubérculos por planta. Letras diferentes sobre barras indican diferencias significativas entre el número de minitubérculos por planta según la prueba de Duncan, $p < 0.05$.

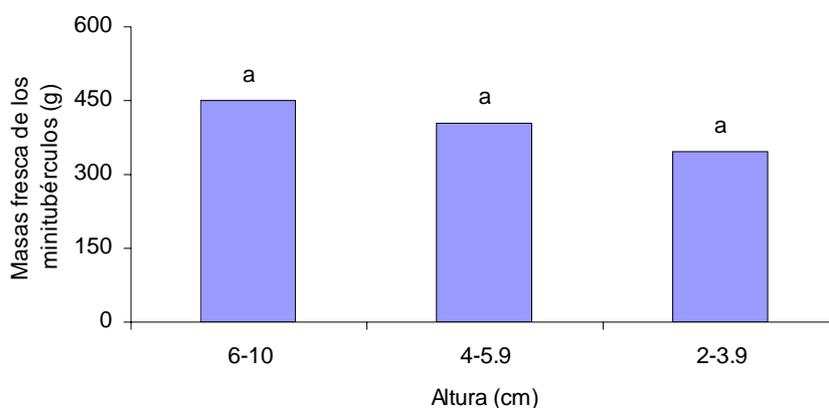


Figura 3. Influencia de la altura de plantas *in vitro* de papa var. 'Desirée' plantadas directamente en casa de cultivo con sustrato zeolita 100% sobre la masa fresca de minitubérculos. Letras diferentes sobre barras indican diferencias significativas entre el número de minitubérculos por planta según la prueba de Duncan, $p < 0.05$.

Otros autores como Kowalski *et al.* (1999), Marulanda *et al.* (2005), Dutta y Bothakur (2009), han prestado especial atención a la directa relación existente entre la altura de las plantas *in vitro* y su respuesta en la fase de aclimatización.

El conocimiento de estas diferencias en el comportamiento de las plantas *in vitro* durante el proceso de propagación comercial, ha sido señalado como necesario para realizar la selección de acuerdo con su desarrollo morfológico antes de transferirlas a condiciones *ex vitro*, lo que permite prestar una atención diferenciada para lograr homogeneidad en las poblaciones en la fase de aclimatización y campo (Agramonte, 2000).

Atendiendo a estos resultados se seleccionó la altura mayor de 4 cm de plantas cultivadas *in vitro* de papa var. 'Desirée' como indicador para la siembra directa en casa de cultivo con sustrato zeolita 100%.

Efecto de la distancia de plantación

Los estudios realizados mostraron la influencia de la distancia de plantación en la variación del crecimiento y rendimiento por planta en la casa de cultivo con sustrato zeolita 100%.

En las mayores distancias de plantación se observaron valores significativamente mayores de altura, número y masa fresca de los

minitubérculos por planta (Tabla 4). Principalmente, se apreció que el número de minitubérculos en las distancias 20 x 20 cm y 15 x 20 cm mostró diferencias significativas con el resto. Sin embargo, aunque con 10 x 10 cm fue significativamente inferior el número y masa fresca de los minitubérculos por planta, se logró mayor densidad de población en el área y se obtuvo un rendimiento superior en el número de minitubérculos total por área de cultivo. Agramonte (2000) señaló que el objetivo principal de estas plantaciones era lograr grandes volúmenes de semilla con calidad en un espacio relativamente reducido.

Autores como Lescay *et al.* (2005) evaluaron diferentes densidades de población en siete variedades de papa para la producción en campo y demostraron que existieron diferencias significativas entre los rendimientos, favorables a las distancias de plantación menores que representan mayor densidad de población.

Por su parte, Van der Veeke *et al.* (2009) plantearon que en los sistemas de producción de semilla de papa el objetivo principal era obtener un elevado número de tubérculos. Estos autores, investigaron los mecanismos relacionados con la producción de tuberculillos a diferentes densidades de siembra y observaron que el incremento de la densidad de siembra favoreció la cosecha de tubérculos por área.

Tabla 4. Influencia de la distancia de plantación para la producción de minitubérculos de papa var. 'Desirée' en casa de cultivo de sustrato zeolita.

Distancias de plantación (cm x cm)	Altura de las plantas (cm)	Número de minitubérculos por planta (u)	Masa fresca minitubérculos por planta (g)	Número total de minitubérculos por área (u)
10x10	33.2 d	3.73 c	324.15 c	746 000 a
10x15	35.6 cd	3.84 c	364.55 c	512 000 b
10x20	36.9 c	5.42 b	408.7 b	542 000 b
15x15	38.3 b	5.85 b	439.15 b	520 000 b
15x20	40.1 ab	6.04 a	466.95 ab	402 666 c
20x20	41.4 a	6.34 a	500.85 a	317 000 d
<i>Error estándar</i>	1.52	1.27	6.43	10 260
<i>Coef. var. (%)</i>	20.39	15.06	24.84	28.63

(a,b,c,d), Medias con letras no comunes en una misma columna, difieren significativamente para $p < 0.05$ según la prueba de Duncan.

Atendiendo a estos resultados se seleccionó la distancia de 10x10 cm para la plantación en casa de cultivo con sustrato zeolita.

Conservación en frigorífico

Efecto del origen de los minitubérculos

En este ensayo se comprobó la calidad de minitubérculos de papa var. 'Desirée' producidos en casa de cultivo con sustrato zeolita 100%. Estos después de transcurridos ocho meses de conservación tuvieron, significativamente, menores afectaciones que los minitubérculos producidos en campo.

Los minitubérculos procedentes de la casa de cultivo presentaron mayor porcentaje de materia seca y menos pudriciones durante la conservación en el frigorífico que los minitubérculos procedentes de campo. La procedencia de los tubérculos no manifestó influencia sobre el contenido de almidón (Tabla 5).

La zeolita 100% en la casa de cultivo favoreció de forma significativa la calidad de los tubérculos que en ella se produjeron. Ello estuvo relacionado con la protección que este sustrato en polvo le ofreció a los minitubérculos cuando quedó adherido a la epidermis.

Según Corominas (1991) este mineral que retiene humedad y la libera fácilmente, posee aluminosilicatos en su constitución y pequeñas partículas que lo convierten en un sustrato semi-inerte que impide la proliferación de microorganismos que ocasionan daños serios a los cultivos y a su vez sirven de barrera física protectora contra daños mecánicos.

Respuesta en campo después de la conservación

Se observó que el número de tubérculos por planta, y el porcentaje de supervivencia de los minitubérculos producidos en la casa de cultivo después de su conservación en frigorífico fue significativamente superior al de los minitubérculos obtenidos de la plantación en campo (Tabla 6).

Tabla 5. Efecto del origen de minitubérculos de papa var. 'Desirée' sobre su conservación en frigorífico (8 meses).

Origen de los minitubérculos	Contenido de masa seca (%)	Contenido de almidón (%)	Pérdidas (%)
Casa de cultivo	25.92 a	14.43	1.45 a
Campo	19.98 b	14.60	8.08 b
Error estándar	0.22	1.35	0.68
Coef. var. (%)	7.34	14.8	14.3

(a,b) Medias con letras no comunes en una misma columna, difieren significativamente según la prueba de proporciones.

Tabla 6. Rendimiento en el campo de minitubérculos de papa var. 'Desirée' después de la conservación en frigorífico durante 8 meses. Supervivencia a los 45 días de cultivo y número y masa fresca de los minitubérculos a los 90 días de cultivo.

Origen de los minitubérculos	Supervivencia (%)	Número de minitubérculos por planta (u)	Masa fresca (g) de los minitubérculos por planta
Casa de cultivo	95.2 a	10.88 a	732.59
Campo	92.6 b	9.31 b	769.41
Error estándar	5.1	1.2	106.4
Coef. Var. %	18.29	20.35	16.54

(a,b) Medias con letras no comunes en una misma columna, difieren significativamente para $p < 0.05$ según la prueba de Duncan.

Kowalski *et al.* (2003) destacan que los minitubérculos de papa ofrecen mayores posibilidades en cuanto a la manipulación, agrotecnia y alcanzan mayor supervivencia en campo que las plantas *in vitro* y como consecuencia logran mayores rendimientos.

La superioridad en los resultados de los minitubérculos producidos en casas de cultivo con sustrato zeolita 100% justifica la utilización de este mineral para la producción de semilla de papa a partir de plantas cultivadas *in vitro*.

CONCLUSIONES

Al momento de iniciarse estos estudios, no existían referencias sobre la producción de minitubérculos de papa en casas de cultivo con empleo de la zeolita 100% como sustrato. Los resultados demostraron que esta puede ser una alternativa viable en el programa de producción de semilla de dicho tubérculo. Se comprobó que la supervivencia y el rendimiento neto fueron mayores que en el campo así como que pueden reducirse las pérdidas desde el traslado hasta la conservación en frigorífico. Además, a partir de considerar la altura de las plantas *in vitro* (mayor de 4 cm) y la densidad de plantación en la casa de cultivo (10 x10 cm) puede incrementarse el número de minitubérculos. Adicionalmente, la siembra directa de las plantas cultivadas *in vitro* en la casa de cultivo con sustrato de zeolita sin que medie una fase de aclimatización reduce el tiempo de obtención de los minitubérculos.

REFERENCIAS

- Agramonte, D (2000) Métodos biotecnológicos para la producción de semilla original de papa (*Solanum tuberosum* L.) var. 'Desirée'. Tesis de Doctorado. IBP. UCLV. Santa Clara, Cuba
- Blatt, RJ, Clark AN, Courtney J, Tully C, Tucker AL (2004) Automated quantitative analysis of angiogenesis in the rat aorta model using Image-Pro Plus 4.1. - Application notes 75 (1): 75-79
- Cassells, AC, Kowalski B (1998) Strategies for the evaluation of variation as a source of resistance to early blight and late blight of potato. En: Khurana P, Chandra R, Mahesh D (eds) Comprehensive Potato Biotechnology, pp. 51-53. Malhotra Publishing House. New Delhi
- Corominas, E (1991) Experiencia comparativa de distintos sustratos para cultivos hortícolas bajo invernadero. Revista Agrícola Vergel 141:492-501
- Dutta, K, Bothakur M (2009) *In vitro* micropropagation of *Bambusa balcoa* Roxb through nodal explants from field-grown culms and scope for upscaling. Current science 96 (7): 962-966
- Hazarika, BN (2006) Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. Biotechnology Laboratory, Division of Horticulture, ICAR Research Complex, Umiam 793 103, Meghalaya, India.
- Jiménez-Terry, F, Agramonte D, Pérez JN, Ramírez D, Gutiérrez O, Pérez M (2001) Aclimatización de plantas *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. variedad 'Desirée'. Biotecnología vegetal 1 (2): 103-108
- Kesraqui-ouki, S, Cheeseman CR, Perry R (1994) Natural zeolite utilisation in pollution control: a review of applications to metals effluents. J. Chem. Tech. Biotechnol. 59: 121-126
- Kowalski, B, Jäger AK, Van Staden J (1999) The effect of a seaweed concentrate on the *in vitro* growth and acclimatization of potato plantlets. Potato Research 42: 131-139
- Kowalski, B, Jiménez-Terry F, Jomarrón I, Agramonte D, Coll F (2003) Efecto de tres análogos de brasinoesteroides sobre caracteres morfológicos y fisiológicos de vitroplantas de papa var. 'Desirée', *in vitro* y en invernadero. Biotecnología vegetal 3 (2): 115-118
- Lescay, E, Estrada JC, Torres N (2005) Evaluation of seven potato varieties (*Solanum tuberosum* L.) in the enterprise Bayamo. Centro Agrícola 1: 45-48
- Marulanda, L, Gutiérrez G, Márquez M (2005) Micropropagation of *Guadua angustifolia* Kunt. Actual Biol. 27 (82): 5-15
- Rivas, F, Ruíz R, Batista E, Santiago R, Leyva H (2005) Evaluación de sustratos para la producción de posturas de tabaco en condiciones de casa de cultivo. Centro agrícola 4: 19-24
- Sergeeva, LI, de Bruijn SM, Koot-Gronsveld EAM, Navratil O, Vreugdenhil D (2000) Tuber morphology and starch accumulation are independent phenomena: evidence from ipt-transgenic potato lines. Physiol Plant 108: 435-443
- Sosa-Rodríguez, F, Ortiz R, Hernández R, Armas P, Guillen D (2009) Propagación *in vitro* de *Heliconia standley* Macbride en Cuba. Revista Chapingo. Serie Horticultura 15 (2): 17-23
- Van der Veecken, AJ, Lommen WJ (2009) How planting density affects number and yield of potato minitubers in a commercial glasshouse production system. Potato Research 52 (2): 105-119
- Van Huylenbroeck, JM, Van Laere IM, Piqueras A, Debergh PC, Bueno P (1998) Time course of catalase and superoxide dismutase during acclimatization and growth of micropropagated *Calathea* and *Spathiphyllum* plants. Plant Growth Regulation 26(1): 7-14