

ANALISIS DE LA CALIDAD DEL POLEN EN GENOTIPOS DE PAPA *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* Y REACCIÓN A *Phytophthora infestans* EN PROGENIES

Pollen quality analysis in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* and reaction to *Phytophthora infestans* in progenies

María Carolina Ospina M.¹ y Gustavo Adolfo Ligarreto M.¹

RESUMEN

En el Centro de Investigación Tibaitatá, de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), localizado en el municipio de Mosquera (Cundinamarca, Colombia), con una temperatura media de 13°C y 751 mm de precipitación pluvial anual, se evaluó la viabilidad de polen en cultivares de *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*, caracterizados por presentar resistencia a «gota» (*Phytophthora infestans*) y precocidad. Los materiales en referencia tienen como números de origen los siguientes: 658, 678, 275, 250, 215 y 330 y como identificación los nombres: Monserrate, Lupa, Bogotana, nn, Ojona, y Manpuerra, respectivamente. De los materiales mencionados se colectó polen con el fin de evaluar su viabilidad, mediante la aplicación de los métodos de tinción morfológica y germinación *in vitro*, considerando para el primero como granos fértiles a aquéllos perfectamente teñidos, y, para el segundo, los que presentaron elongación del tubo polínico. En ambos métodos se realizó un conteo del número de granos viables determinando así, el porcentaje de viabilidad de polen. Con el fin de obtener semillas para evaluar la resistencia a «gota», se realizaron cruzamientos controlados entre las variedades, los cuales se distinguieron por la formación de bayas. A partir de la semilla de las progenies se obtuvieron plántulas que fueron inoculadas con el patógeno y se clasificaron dentro de las categorías de resistentes, intermedias y susceptibles. Los resultados obtenidos demostraron que las poblaciones segregantes son útiles como posibles nuevas variedades superando, a la variedad Monserrate cuya resistencia es horizontal.

Palabras Claves: Fertilidad, polen, cruzamientos, resistencia varietal.

SUMMARY

Pollen's viability in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* cultivars has been evaluated, mainly characterized by having late blight resistance (*Phytophthora infestans*) and precocity. The materials were originally referenced like 658, 678, 275, 250, 215 and 330, and their identification names are: Monserrate, Lupa, Bogotana, NN, Ojona, y Manpuerra, respectively. Pollen from these materials was collected in order to evaluate viability. Stain and *in vitro* germination methods were used. Grains completely stained which showed a pollinic tube extension were considered as fertile grains. A count on the number of feasible grains was made for both methods, establishing in this way the percentage of pollen viability. In order

to evaluate late blight resistance, crossing of varieties was carried out, noticing fruit formation. New plants were obtained from seed of these crossings, which were inoculated with *Phytophthora infestans* and classified as tolerant, half tolerant and susceptible plants. Final results showed the utility of new plants as new varieties, because they seem to be better than Monserrate which have horizontal resistance.

Key words: Fertility, pollen, crossing, varietal resistance.

INTRODUCCION

La papa cultivada *Solanum tuberosum*, tiene su origen en los Andes de Suramérica y su centro de diversidad importante en la Cuenca del Lago Titicaca, al sureste del Perú y noroeste de Bolivia. Allí se localiza la mayor variabilidad de formas cultivadas, cuya cantidad no existe en ninguna otra parte del mundo y es el único lugar conocido en donde se encuentran las ocho especies cultivadas. Igualmente, esta región alberga unas 120 especies silvestres del total de las 230 descubiertas (Ochoa, 1991).

La importancia de la especie ha sido bien documentada por los siguientes aspectos: superficie cultivada, valor de producción, número de familias dedicadas al cultivo, por ser la fuente más barata de almidón, por contener vitaminas y minerales, por cultivarse en todas las zonas templadas del mundo, porque su valor económico se incrementa continuamente en proporción del aumento de la población humana, por producir más del doble de proteína que el maíz, el trigo y el arroz y, además, porque contiene los aminoácidos necesarios para una buena nutrición humana (Ochoa, 1991; Smith, 1968).

Las diversas enfermedades causadas por hongos, bacterias, virus, micoplasmas y factores abióticos, afectan a la papa y constituyen un factor limitante en la producción; por lo tanto, es de vital importancia obtener caracteres agronómicos deseables que aunque no conducen al logro de variedades ideales, si permiten aumentar de manera parcial la calidad del tubérculo, producción, resistencia a gota o tizón tardío (*Phytophthora infestans*) y a otras enfermedades como resistencia a virus, heladas y a otros factores que afectan productividad y rendimientos en los cultivos.

En gran medida, la gota de la papa es responsable, de la disminución de la producción a nivel nacional, en especial, debido a que las poblaciones del patógeno tienen una amplia diversidad en términos de virulencia, la cual se expresa en abundancia de razas o patotipos (Gualtero y García, 1998). Por consiguiente, la integración de las medidas disponibles para el control del tizón tardío han sido el me-

¹ Investigadores Programa Nacional de Recursos Genéticos y Biotecnología Agrícola, Corpoica, A.A. 240142, Las Palmas. Bogotá, Colombia.

dio a través del cual se ha manejado esta enfermedad en la papa desde cuando se convirtiera en el factor más limitante en la producción en el Viejo Mundo, hace aproximadamente, 150 años. En Europa y Norte América aún se siembran cultivares antiguos y susceptibles, pese a los grandes esfuerzos de los investigadores en áreas integrales para producir variedades resistentes (Mackay, 1996).

Además, la gran mayoría de las entradas silvestres y cultivadas mantenidas en los bancos de genes, todavía, no han sido evaluadas para esta resistencia. La selección sistemática de las entradas nos permitirá identificar el germoplasma más resistente para usarlo en hibridaciones (Trognitz *et al.*, 1991).

El estudio de la viabilidad de polen, así como del comportamiento de cruces entre líneas, es importante para obtener variedades genéticamente mejoradas y preservadas por medio de la agromonía, ya que, de lo contrario, es imposible obtener semillas viables para la perpetuación de sus características, para su futura propagación y para ofrecer rendimientos económicos que sean excelentes alternativas a favor de la gran mayoría de pequeños y medianos productores de papa. Aunque las especies de papa silvestres y cultivadas producen flores, muchos cultivares tetraploides producen pocas, algunas variedades importantes no las producen, o si lo hacen, los botones caen después de un corto tiempo (Guarín *et al.*, 1998).

Por los factores anteriores y por la sentida necesidad de mantener, conocer y usar la variabilidad genética de la papa, así como promover y acelerar los procesos de fitomejoramiento, se llevó a cabo el presente estudio, para determinar la calidad de los granos de polen con técnicas de tinción y germinación, las cuales permiten evaluar su viabilidad y, por ende, asegurar el éxito de las hibridaciones entre progenitores y poder ofrecer suficientes progenies con genes deseables.

MATERIALES Y METODOS

Para adelantar la presente investigación se utilizaron semillas-tubérculos de *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*, los cuales fueron sembradas en condiciones de campo bajo un diseño experimental de bloques al azar, con tres repeticiones; cada parcela estuvo conformada por un surco de 10 m de longitud. Durante la época de floración, se colectaron flores y se extrajo el polen de éstas con ayuda del vibrador eléctrico.

Para determinar la viabilidad de polen se utilizó el método de germinación *in vitro* planteado por Estrada (2000) y el de tinción morfológica, sugerido por Egusquiza y Virraruel (1980) y White (1981). Los conteos de polen se realizaron en cinco repeticiones en la cámara de Neubauer, colocando unos granos de polen (100-200) y efectuando la tinción con 2 a 3 gotas de la solución de acetato carmín, las cuales posteriormente, se observaron al microscopio con lente 10x. El porcentaje de viabilidad se determinó teniendo en cuenta el número de granos viables en relación con los granos totales encontrados en cada campo microscópico.

En una siguiente fase de campo, se realizaron los cruzamientos de las variedades tomando únicamente como progenitor madre a la variedad Monserrate, la cual, de acuerdo con Estrada (2000), presenta una resistencia horizontal que se ha mantenido hasta el presente y es de ligera infección.

Una vez obtenidas las nuevas plántulas, cuando éstas alcanzaron una altura de 15 cm, se realizó el proceso de inoculación con una raza compleja inoculó mediante aspersión, de *Phytophthora infestans*. La concentración de esporangios / ml utilizada fue de 1x

10⁶. Para la evaluación de la resistencia, se utilizaron las categorías y escalas sugeridas por el CIAT para la evaluación estándar de frijol a patógenos bacterianos y fungos, adaptadas al presente estudio (Cuadro 1) (Schoonhoven y Pastor, 1991).

Los datos se procesaron con el sistema SAS y se realizaron análisis de varianza en un diseño completamente al azar para la viabilidad del polen, y análisis de covarianza para la reacción a gota donde el número de plantas evaluadas por categoría fue la covariable.

Cuadro 1. Categorías para la evaluación de la reacción a patógenos fungos en *Solanum tuberosum*.

Categoría / Calificación	Descripción	Comentarios
Resistente / 1, 2, 3	Síntomas no visibles o poco visibles.	Util como progenitor o variedad comercial.
Intermedia / 4, 5, 6	Síntomas visibles que sólo ocasionan daño limitado.	Util como variedad o fuente de resistencia a gota
Susceptible / 7, 8, 9	Síntomas muy severos que causan pérdidas notables en el rendimiento o muerte de la plantas.	En la mayoría de los casos no útil, ni aún como variedad comercial.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Figura 1, se aprecia que el método de evaluación de fertilidad por tinción es constante para todas las variedades, es decir, que no depende del tiempo, pues a medida que transcurrieron los días de la lectura de polen no disminuyó la viabilidad sino que se mantuvo relativamente estable, o aumentó con el tiempo (Figura 1a). Mientras tanto, para el método de germinación si se encontró una relación con el tiempo, ya que la viabilidad de polen disminuyó gradualmente al paso de éste (Figura 1b); además, resulta lógico pensar que la fertilidad de un grano de polen se reduce con el tiempo y, de acuerdo con Burke y Lauer (1990), ésta se define como el tiempo transcurrido entre la recolección de mismo y la pérdida de la fertilidad bajo ciertas condiciones ambientales.

Teniendo en cuenta que la viabilidad de polen se define más por la elongación del tubo polínico que por el grado de tinción que presente un grano de polen, siempre se observó en la variedad Monserrate (V 658) un buen nivel de germinación (Figura 1c) mientras que para la variedad Manpuerra (V 330) la germinación fue nula, y, por lo tanto, tampoco resultó viable para efectuar los cruces.

En la evaluación de la cruzabilidad, se estableció que ésta fue más representativa en campo que en casa de malla, ya que la viabilidad de polen es favorecida por temperaturas entre 10.2 y 13.2°C, pues de acuerdo con autores como Beasmish (1954) y Estrada (2000), a temperaturas mayores de 18°C se reduce el porcentaje de fertilidad para las variedades de *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*.

Las variedades Monserrate (V 658), Lupa (V 678) y Bogotana

(V 275) produjeron la mayor cantidad de polen en sus anteras. El mayor número de bayas correspondió a los cruzamientos realizados entre las variedades Mon x 678 y Mon x 275.

En relación con el análisis de infección ocasionado por *P. infestans*, entre las variables dependientes plantas resistentes y plantas intermedias hubo una diferencia altamente significativa con respecto a la variable número de plantas totales.

En la prueba de comparación de promedios (Cuadros 2 y 3), para la variable de plantas resistentes el tratamiento, el mayor promedio fue Mon x 250 con 17.37 y el promedio mínimo para esta variable fue para Mon x 678 con 12.38. Sin embargo, se pudo observar que, para el tratamiento anterior el mayor promedio en la categoría de plantas intermedias fue de 14.12; por lo tanto se puede decir que es un cruzamiento en el cual resultaron variedades con una fuente de resistencia a gota. El tratamiento con menor promedio para esta categoría correspondió a Mon x Mon, esto indica que a pesar de ser Monserrate una variedad con resistencia horizontal, en la cual, de acuerdo con Guzmán (1966), aparece la

enfermedad pero de manera muy lenta y limitada, las plántulas de su autofecundación no representaron los mejores promedios dentro de las categorías mencionadas.

Como se puede notar en el Cuadro 2, para la variable plantas resistentes se obtuvo mayor discriminación entre los tratamientos evaluados al nivel de diferencias significativas en relación con la variable de plantas intermedias (Cuadro 3).

Finalmente, como se puede observar en la Figura 2, existen altos niveles de resistencia a *P. infestans* o gota entre las progenies y esto es de gran utilidad para programas de fitomejoramiento, lo cual permite, a su vez, ampliar la base genética existente. El estudio permitió determinar que las variedades Monserrate, Lupa y Bogotana presentaron la mayor producción de polen en sus anteras y mantuvieron la viabilidad por un período de 48 días, resultando ser exitosos padres. De los métodos de evaluación de la calidad de polen la germinación del grano es un hecho seguro y confiable para evaluar la viabilidad, ya que la tinción polínica no disminuyó en relación con los días de lectura después de su colecta.

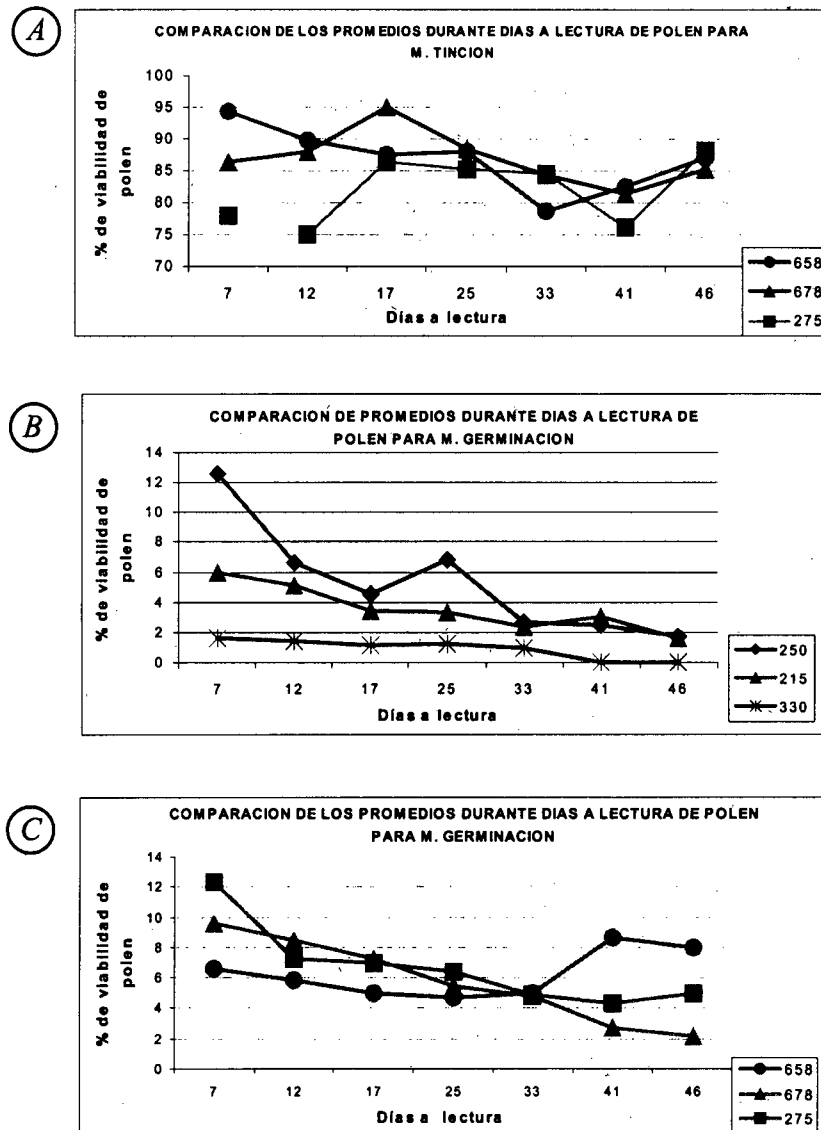


Figura 1. Comparación de los métodos de calidad de polen a) viabilidad por tinción. b) germinación, en los cultivares Ojona (V 215), nn (V 250) y Manpuerra (V 330), y c) germinación en las variedades Monserrate (V 658), Lupa (V 678) y Bogotana (V 275).

Cuadro 2. Comparación de promedios para la variable plantas resistentes ajustados por la covariable número de plantas totales.

Tratamientos	Mon x 215	Mon x 250	Mon x 275	Mon x 678	Promedio
Mon x 215					15,88
Mon x 250	0,6551 **				17,37
Mon x 275	0,8067 n.s.	0,5049 **			15,23
Mon x 678	0,2498 **	0,1633 **	0,1860 **		12,38
Mon ⊗	0,8045 **	0,5540 **	0,8902 n.s.	0,4182 **	14,83

** Altamente significativo, P<0.01, n.s.= no significativo, P>0.05

Cuadro 3. Comparación de promedios para la variable plantas intermedias ajustados por la covariable número de plantas totales.

Tratamientos	Mon x 215	Mon x 250	Mon x 275	Mon x 678	Promedio
Mon x 215					9,83
Mon x 250	0,8785 n.s.				10,19
Mon x 275	0,9294 n.s.	0,8149 n.s.			9,67
Mon x 678	0,0651 **	0,1281 **	0,0130 **		14,12
Mon ⊗	0,9845 n.s.	0,8895 n.s.	0,9571 **	0,0665 **	9,78

** Altamente significativo, P<0.01, n.s.= no significativo, P>0.05

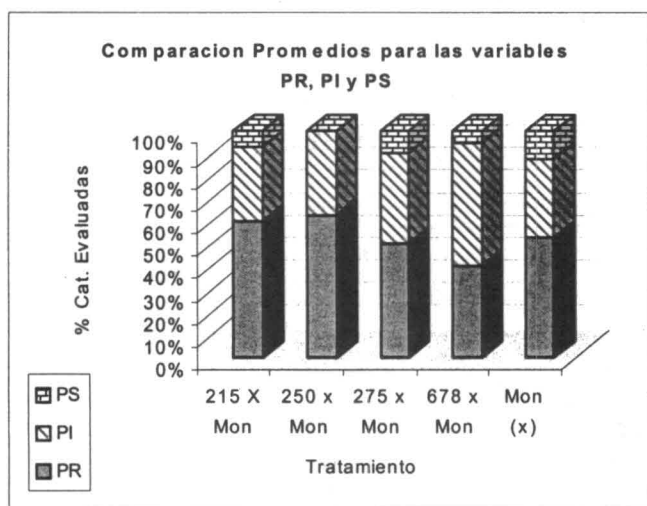


Figura 2. Comportamiento de las poblaciones segregantes de papa a *Phytophthora infestans*.

Los cruzamientos Mon x 215, Mon x 275 y Mon x 250 obtuvieron mayores promedios de resistencia a la raza compleja respecto a la variedad Monserrate, y el cruzamiento Mon x 678 logró el mayor promedio para la categoría plantas intermedias, posiblemente con resistencia horizontal. Las nuevas plantas originadas resultaron tener un buen nivel de resistencia para todos los cruzamientos; por ello serán útiles en calidad de nuevos cultivares para los productores o como progenitores para programas de mejoramiento sostenible.

LITERATURA CITADA

BEASMISH, K. The effect of the pollen aging on seed development in *Solanum*. American Potato Journal 34: 366. 1954.
BURKE, M.C. y S. LAUER. Pollen viability indicators for predicting viability of reduced gametes in *S. tuberosum*. Conference

European Association for Potato Research (EAPR). Edinburgh. 20 pp. 1990.

EGUSQUIZA, R. y J. VILLAROEEL. Teñibilidad polínica y efecto de emasculación en papas indígenas cultivadas en Perú. Anales Científicos. p. 179-186. 1980.

ESTRADA, N. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. PROINPA / CID / CIP. La Paz, Bolivia. 372 pp. 2000.

ESTRADA, N. Utilidad de varias especies silvestres de papa para incorporar resistencia al tizón mediante cruzamientos. Revista Nacional de Papa. Cochabamba. Bolivia. p. 12-13. 1992.

GUALTERO, E.J. y C. GARCIA. Las poblaciones de *Phytophthora infestans* presentes en papa en el altiplano Cundiboyacense en 1996 son monomórficas para la enzima glucosa-6-fosfato isomerasa. Agronomía Colombiana 15 (1): 7-15. 1998.

GUARIN, S., ÑUSTEZ, C. y J. OSPINA. Estudio de la fertilidad en 81 genotipos de la colección colombiana de *Solanum phureja*. Agronomía Colombiana 15 (1): 49-58. 1998.

GUZMAN, J. Herencia de la resistencia de campo al «tizón» *Phytophthora infestans* en variedades cultivadas de papa, subespecies tuberosa y andigena. Revista Papa. p. 89-99. 1966.

MACKAY, G. R. Resistencia: El fundamento del manejo integrado de patógenos para el tizón tardío (*Phytophthora infestans*). CIP Circular 22 (1): 2-5. 1996.

OCHOA, D. Los Andes cuna de la papa. Diversity 7 (1-2):48-50.1991.

SCHOONHOVEN, A.V. y C.M.A. PASTOR. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol. Documento ISBN 84-89206-73-2. Cali, Colombia. 56 pp.1991.

SMITH, O. Potatoes: Production, Storing, Processing. The Avi Publishing Co. INC. Westport. Connecticut. 1968.

TROGNITZ, B., M. GHISLAIN, C. CRISSMAN y B. HARDY. Mejoramiento de papa para resistencia duradera al tizón tardío usando nuevas fuentes de resistencia y métodos de selección no convencionales. CIP Circular 22 (1):6-9.1996.

WHITE, J. Production of true seed. Centro Internacional de la papa. (CIP), Perú. 43 pp. 1981.