



Guías para la regeneración de germoplasma

Especies de papa silvestre

Alberto Salas, Oswaldo Gaspar, Wilder Rodríguez, María Vargas, Ruth Centeno y David Tay

Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú



Introducción

Los recursos genéticos de papa se conservan principalmente en colecciones de clones, como tubérculos, cultivos *in vitro* y en nitrógeno líquido (crioconservación). La colecta de semilla botánica de papa cultivada se hace sólo en casos especiales, como cuando se identifican accesiones duplicadas en la colección mundial mantenida en fideicomiso por el Centro Internacional de la Papa (CIP). En este caso, se cosecha la semilla resultado de polinización abierta

de los clones cultivados en el campo para conservarla como duplicado de seguridad. Las bayas y semillas se manejan de manera similar a las instrucciones que se describen más adelante.

El germoplasma de especies silvestres de papa se conserva principalmente en colecciones de semilla botánica. Hasta ahora se han reconocido 188 especies de papa silvestre (Spooner y Salas 2006), de las cuales 141 especies se conservan en el banco de germoplasma del CIP. Las variedades de papa silvestre tienen una amplia distribución geográfica: desde el suroccidente de Estados Unidos hasta la parte central de Argentina y Chile, y desde el nivel del mar hasta los 4500 msnm en un amplio rango de ambientes que incluye las zonas de puna y las altas mesetas de los Andes, los bosques secos de México, vegetación de las costas de Chile y los bosques húmedos en la parte oriental de los Andes. Las especies silvestres de papa tienen un número base de cromosomas de $X=12$ que incluye diploides, triploides, tetraploides y hexaploides. Cada especie tiene características de reproducción diferentes; la mayoría presentan diferentes grados de alogamia y algunas pocas podrían ser 100% autógamas (como es el caso de *Solanum acaule* Bitter).

Selección del ambiente y la época de siembra

Condiciones climáticas

- El sitio de regeneración debe tener un clima similar al de la localidad donde se colectó la accesión originalmente
- La selección del lugar de regeneración es mucho más importante para las especies fotosensibles, entre ellas las especies ecuatoriales como *S. colombianum* Dunal y *S. tundalomense* Ochoa.

Época de siembra

- La siembra se hace desde la primavera y hasta el verano. En América del Sur, la siembra se hace desde septiembre hasta fines de mayo.

Preparación para la regeneración

Cuándo regenerar

- Cuando la germinación del germoplasma almacenado descienda por debajo del 85%
- Cuando la semilla esté en malas condiciones, enferma o infestada por plagas
- Cuando se necesite semilla para distribuir a otros bancos de germoplasma
- Para hacer duplicados de seguridad
- Cuando se necesite semilla para siembras en el campo con el objetivo de seleccionar accesiones con atributos específicos

El período entre ciclos de regeneración varía con el genotipo. Cada genotipo tiene diferentes características de reproducción y diferentes grados de viabilidad de la semilla durante el almacenamiento a largo plazo. Haga pruebas de germinación cada 5 años para determinar cuándo regenerar.

Tratamientos previos y monitoreo de la viabilidad

Evalúe la viabilidad de una muestra de 100 semillas. Si la viabilidad promedio es >85%, para conservación a largo plazo almacene las semillas en una cámara fría a -20°C. Si la viabilidad promedio es <85%, es necesario regenerar las accesiones. Antes de la regeneración y en el caso de especies que presenten latencia, trate las semillas con ácido giberélico para romper la latencia.

Selección y preparación del sustrato

- Regenerar las accesiones en casas de malla o en invernaderos en condiciones controladas
- Use un medio de crecimiento a base de turba, la cual acelera el enraizamiento y optimiza la relación agua/aire. Incorpore un agente humectante para mejorar la absorción y distribución del agua.

Preparación del material de siembra

- Transfiera las semillas germinadas y saludables a macetas de 10 centímetros de diámetro, claramente rotuladas
- Después de unos 30 días, cuando las plántulas tengan unos 5 cm de altura (foto 2), transplántelas individualmente a macetas (tipo Jiffy-7) con turba comprimida, rotulando cada genotipo con los datos de la accesión (foto 3).

Método de regeneración

Distribución espacial de las parcelas, y densidad y distancia de siembra

- Use 25 genotipos como tamaño mínimo de población para prevenir la erosión genética
- Agrupe las macetas por especies y accesiones, manteniendo una distancia de 25 cm entre macetas.

Polinización

Las especies silvestres de papa se pueden polinizar usando cualquiera de estas tres técnicas: cruces recíprocos, cruces masales y polinización abierta. La polinización abierta se usa normalmente en especies cleistógamas y autógamas, así como en especies exogámicas. Para otras especies silvestres, se usan cruces recíprocos o cruces masales, dependiendo del número de flores por planta. El método escogido también depende de la cantidad de recursos disponibles y el nivel de integridad genética deseado. El cruzamiento masal es más económico que el cruzamiento recíproco, pero este último asegura una mayor integridad genética de la accesión. La técnica de cruzamiento recíproco se usa cuando hay menos de 5 flores por planta. El número de flores en las papas silvestres es muy variable y, en condiciones de invernadero, depende tanto de la temperatura apropiada como de la luz.

- Cruces recíprocos entre plantas hermanas
 - Use 25 plantas de cada accesión y de 3 a 5 flores por planta, mezcladas para la polinización
 - Extraiga el polen de las anteras de una planta y colóquelo en el estigma de una planta hermana de la misma accesión. El número total de cruzamientos depende del número de flores (desde apenas 1 hasta tantos como 10 cruzamientos)
 - Registre la siguiente información en la etiqueta: número de accesión, número de flores cruzadas, genotipos usados, lugar y fecha.
- Cruzamiento masal
 - Use 25 plantas de cada accesión, 10 flores por planta
 - Mezcle el polen de todas las accesiones y úselo para polinizar cada una de las 25 plantas.
- Polinización abierta
 - Use hasta 25 plantas de cada accesión
 - 30 días después de la polinización abierta, recoja la semilla de las bayas de cada planta; no se usan insectos vectores.

Aislamiento

- Cultive las plantas agrupadas por especie en invernaderos a prueba de insectos y en condiciones controladas (foto 4).

Rotulación de las accesiones

- Use estacas plásticas con etiquetas impermeables
- Registre la siguiente información en la etiqueta: número de la accesión, especie y año de siembra.

Manejo del cultivo

Tutores y limpieza

- Coloque un tutor en cada maceta
- Coloque los tutores cerca del borde de las macetas cuando haga el transplante
- Tres semanas después del transplante, amarre las plantas a los tutores con un alambre recubierto en plástico. Elimine las hojas viejas.

Riego

- Cada 2 días, riegue las macetas de las plantas madre hasta que alcancen la capacidad de campo (la cual depende de la especie y de las condiciones climáticas).

Fertilización

- Después de la siembra aplique en cada maceta 3 ppm de fertilizantes solubles en agua $N-P_2O_5-K_2O$ (20-20-20).
- Antes de la floración aplique en cada maceta 3 ppm de fertilizantes solubles en agua $N-P_2O_5-K_2O$ (20-20-20).

Plagas y enfermedades comunes

- La palomilla de la patata, conocida también como el gusano de la papa (*Phthorimaea operculella*) y los áfidos son las plagas más comunes
- Oidium (que causa la enfermedad del mildew polvoso) es un patógeno común
- Las enfermedades virales más comunes son el Virus T de la papa (*Potato virus T*, PVT), el Viroide tubérculo fusiforme de la papa (*Potato spindle tuber viroid*, PSTVd), el Virus latente de la papa andina (*Andean potato latent virus*, APLV), el Virus del amarillamiento de la papa (*Potato yellowing virus*, PYV) y el Virus B de la arracacha –cepa de oca (*Arracacha virus B -oca strain*, AVB-O)

Control de plagas y enfermedades

Contacte expertos en sanidad vegetal para que identifiquen los síntomas de las plagas y enfermedades y recomienden las medidas de control apropiadas.

- Para el ataque de insectos (como el gusano de la papa), use insecticidas como los piretroides a una concentración de 1 ppm
- Para el ataque de hongos use un fungicida sulfurado a una concentración de 1 ppm
- No use carbamato, pesticidas fosforados o urea pues las especies silvestres de papa son muy sensibles a estos productos
- Realice pruebas para determinar la presencia de virus en la planta madre
- Destruya y deseche las plantas que muestren signos obvios de enfermedad, de manera que no puedan contaminar otros materiales.

Otros

- Cuando las bayas tengan entre 20 y 30 días, embólselas para evitar posibles mezclas y pérdidas.

Cosecha

Cuando la bayas hayan alcanzado la madurez (alrededor de los 45 días) coseche por separado cada inflorescencia, colóquela en una bolsa de papel rotulada y registre el número de bayas obtenido.

Manejo poscosecha

- Extraiga las semillas mediante maceración manual, es decir, separe las semillas de un fruto maduro con agua (foto 5), manteniendo cada población separada, para evitar mezclas
- Una vez haya eliminado los restos de los ovarios y las semillas vanas, extienda las semillas limpias sobre un papel filtro con la etiqueta correspondiente y la fecha de limpieza
- Realice un secado previo de las semillas a la sombra y a temperatura ambiente durante 5 días
- Después de 5 a 10 días, limpie muy bien las semillas, cuéntelas y colóquelas en un sobre de manila rotulado con los datos de la accesión y la cantidad total de semillas obtenidas
- Grape juntas las etiquetas del cruzamiento, los datos de las bayas, las bolsas y el papel filtro, para evitar cualquier error en la identidad de la muestra.

Secado de las semillas

- El proceso de secado de las semillas es la fase más importante para la futura viabilidad de éstas durante la conservación a largo plazo
- Coloque los sobres que contienen las semillas en una cámara de secado con aire caliente a 30°C. Después de más o menos 7 días, la humedad de las semillas debe haber descendido al 5%
- Selle herméticamente las semillas secas en bolsas de aluminio laminado, identificadas con los datos de procesamiento; el número de accesión; la especie; los datos de cruzamiento; la cantidad de genotipos, flores y bayas obtenidos; la cantidad total de semillas; y las fechas de cruzamiento, macerado y cosecha
- Estas semillas, como una nueva población regenerada, representan la accesión y la especie.

Almacenamiento de las semillas

- Analice la viabilidad de las semillas
- Cuando se tenga más de 5000 semillas y el porcentaje de germinación sea superior al 85% se pueden almacenar las semillas a largo plazo en una cámara fría a -20°C.

Monitoreo de la identidad de la accesión

Compare cada accesión con los siguientes datos de caracterización registrados previamente para la accesión:

- Hábito de crecimiento
- Color de la flor
- Color de la semilla
- Forma de la semilla

Prepare especímenes para el herbario para referencia futura.

En la cosecha, caracterice las bayas, para confirmar el taxón de las accesiones regeneradas.

Registro de la información durante la regeneración

Colecte la siguiente información durante la regeneración y regístrela en el sistema de documentación del banco de germoplasma:

- Nombre y datos georreferenciados o mapa del sitio donde se realizó la regeneración
- Nombre de los colaboradores
- Número de la muestra

- Porcentaje de germinación
- Número de plantas establecidas
- Días de la siembra a la floración
- Método de polinización
- Número de flores polinizadas
- Fecha de polinización
- Número de bayas obtenidas
- Fecha de cosecha de las bayas
- Fecha de procesamiento
- Número de semillas obtenidas

Referencias y lecturas adicionales

- FAO/IPGRI. 1998. Technical guidelines for the safe movement of Germplasm, No. 9. Potato. FAO/IPGRI, Roma, Italia. Disponible en <http://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/biodiversity/publications/pdfs/4.pdf>
- Harrington JF. 1963. Practical advice and instructions on seed storage. Proceedings of the International Seed Testing Association 28:989–994.
- Hijmans RJ, Spooner DM. 2001. Geographic distribution of wild potato species. American Journal of Botany 88:2101–2112.
- Hijmans RJ, Spooner DM, Salas AR, Guarino L, de la Cruz J. 2002. Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Genepools 10 - Atlas of wild potatoes. IPGRI, Roma, Italia. pp 4–5. Disponible en <http://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/biodiversity/publications/pdfs/826.pdf>
- Roberts EH. 1973. Predicting the storage life of seed. Seed Science and Technology 1:499–514.
- Roberts EH, Ellis RH 1977. Prediction of seed longevity at sub-zero temperatures and genetic resources conservation. Nature, 268:431-432.
- Spooner DM, Salas AR. 2006. Structure, biosystematics and genetic resources. Handbook of potato production, improvement, and post-harvest management. Gopal J, Paul Khurana SM, editores. Haworth Press Inc., Nueva York, EE.UU. pp. 1–39.

Reconocimientos

El contenido científico de esta guía fue revisado por William Roca, Centro Internacional de la Papa (CIP), Perú, y Andrea M. Clausen, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina.

Cómo citar esta publicación

Salas A., Gaspar O., Rodríguez W., Vargas M., Centeno R. and Tay D. 2008. Guías para la regeneración de germoplasma: especies de papa silvestre. En: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme (SGRP), Rome, Italy. 8 pp.



1 *Solanum hypacarthrum* Bitter.
A. Salas/CIP

2 Plántulas listas para ser transplantadas a macetas de 20 cm de diámetro.
M. Vargas/CIP

3 Rotulación de las plántulas transplantadas.
M. Vargas/CIP

4 Plantas de papa silvestre regeneradas en una casa de malla en Huancayo, Perú.
M. Vargas/CIP

5 Separación de la semilla con agua.
M. Vargas/CIP

