Por: A. Guzmán*, E. Díaz**, T. Tirado** y P. Urbano*

INTRODUCCIÓN

En numerosos países en desarrollo la expansión del cultivo de la papa (Solanum tuberosum L.) tiene un factor limitante que es la producción o adquisición de papa de siembra (PRECODEPA, 1995). El precio de los tubérculos y el coste de los fletes, unido a las condiciones requeridas para un transporte sin pérdidas de poder germinativo, han llevado a establecer programas de producción de semilla botánica para lograr un abastecimiento de la misma en aquellos lugares donde hay poca disponibilidad de simientes de calidad o en los que sus precios son muy

La utilización de la semilla botánica en este cultivo como material de propagación, también conocida con el término TPS (true potato seed), representa una verdadera innovación en el sistema de cultivo, si se compara con el método de siembra tradicional a partir de tubérculos. Además, el sistema presenta algunas ventajas:

- 50 gramos de Semilla Botánica (TPS) sustituyen a 2,5 toneladas de simientes necesarias para sembrar una hectárea de papa. Esto permite una importante reducción en los costos del cultivo.
- TPS reduce la transmisión de enfermedades.
- La semilla tiene fácil transporte y almacenamiento.

(*) Dpto. Producción Vegetal: Fitotecnia. ETSIA. UPM

• El método permite gran flexibilidad de uso en los diferentes sistemas de producción.

Como hasta hace pocos años sólo se consideraba la vía asexual como forma de propagación para este cultivo, y la semilla solamente era estudiada con fines genéticos, dentro de las Reglas Internacionales para el Análisis de Semillas (ISTA) no están establecidas las condiciones necesarias para analizar el proceso de germinación de las semillas de papa, ni la metodología a seguir en los estudios relativos a este material de propagación.

En los Laboratorios de Germinación de la Oficina Española de Variedades Vegetales del INIA, nos hemos dedicado, desde 1997, a estudiar el proceso de germinación de esta semilla y las condiciones necesarias para llegar a obtener plántulas vigorosas para su posterior trasplan-

MATERIAL Y MÉTODOS

Con el cultivar Cara, se realizó un estudio inicial para estandarizar las condiciones óptimas de germinación de las semillas de papa (Solanum tuberosum L.). Para ello, se tomaron 400 semillas, cuatro repeticiones de 100 semillas cada una, contadas mediante un equipo contador de vacío con 100 orificios, y se realizaron seis tratamientos en cabinas de germinación que mantienen su temperatura por circulación de agua. Las semillas se sometieron a una prerrefrigeración durante siete días a 7 °C y todos los tratamientos se realizaron en condiciones de alternancia de luz, 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad.

Los tratamientos estudiados se reseñan en la tabla Nº 1.

Con el fin de evaluar la metodología propuesta, que solamente consideraba como variables las condiciones de temperatura y del sustrato, se realizó un se-

TABLA 1. Tratamientos en el análisis de germinación de semillas de papa, cv. Cara

Tratamiento No.	Designación	Características de los tratamientos
1	T1 T P	20 °C, sobre papel (top of paper)
2	T1PP	20 °C, papel acordeón (planted paper)
3	T1S	20 °C, arena (sand)
4	T2TP	8h a 30 °C y 16h a 20 °C, sobre papel (top of paper)
5	T2PP	8h a 30 °C y 16h a 20 °C, papel acordeón (planted paper)
6	T2S	8h a 30 °C y 16h a 20 °C, arena (sand)

^(**) Oficina Española de Variedades Vegetales.





Cultivares de papa estudiados (1 Maika; 2, Hermes; 3, Cara)

gundo ensayo con otros dos cultivares, Maika y Hermes. Para este nuevo análisis se utilizaron cuatro repeticiones con 100 semillas de cada uno de los cultivares: Maika (V1), Hermes (V2) y Cara (V3).

Para cada caso, se determinó el día del primer y último conteo, y se señaló también un conteo intermedio para el caso que fuera necesario. En los conteos se separaron semillas germinadas, frescas, anormales y muertas. A las semillas no germinadas se les practicó un análisis de viabilidad mediante el Test de Tetrazolio, para lo cual se utilizó una solución incolora al 1 % de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio como indicador para revelar los procesos de reducción que tienen lugar dentro de las células vivas. Por hidrogenación del cloruro se forma, en las células vivas una sustancia roja, estable y no difusible, el trifenil-formazán. De esta forma se pueden distinguir las partes vivas de las semillas, que toman un color rojo, de las muertas no coloreadas.

Además de las semillas que son viables, completamente coloreadas y de las que están muertas, sin colorear, pueden aparecer semillas parcialmente coloreadas, encontrándose diversas proporciones de tejido necrótico en diferentes zonas de estas semillas parcialmente teñidas. La localización y el tamaño de las superficies necróticas, y no necesariamente la intensidad de la coloración, determinan si tales semillas deben clasificarse como viables o como no viables. Sin embargo, las diferencias de color junto al te-

jido en buen estado se consideran decisivas porque permiten el reconocimiento y la localización del tejido sano, débil o muerto.

En cada una de las repeticiones se determinó el número de semillas consideradas viables y se expresaron los resultados como porcentajes de semillas viables.

Todos los ensayos se realizaron siguiendo las normas generales de germinación para semillas establecidas por las reglas de la ISTA (1996) y para el análisis de los resultados se tomó como referencia la semilla de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) que consideramos como la más parecida en forma, tamaño y estructura a la de *papa*.

Para las semillas que demostraron más retraso en la germinación y menor porcentaje de semillas germinadas, se realizó una prueba con promotores de germinación comparando los convencionales, como el ácido giberélico (GA₃) y el nitrato de potasio (KNO₃), con la N-6-bencilaminopurina (BAP), además de su combinación con la prerrefrigeración. Para estos nuevos ensayos se utilizaron semillas de los cultivares Hermes (V2) y Maika (V1).

La comparación de los porcentajes medios de germinación obtenidos en los diferentes ensayos, se hizo utilizando el test Z (Zar, 1984).

RESULTADOS

En los ensayos iniciales, realizados con el cultivar Cara para determinar las condiciones óptimas de germinación, se observan diferencias significativas entre el tratamiento TPT1 y el resto de los tratamientos estudiados, resultando ser aquél el que obtuvo los mayores porcentajes de semillas germinadas (95,5 %) (Fig. 1). Los menores valores se obtuvieron en todos los tratamientos realizados en los diferentes sustratos con alternancia de temperaturas de 20-30 °C y de ellos, el de menor valor fue el tratamiento que com-

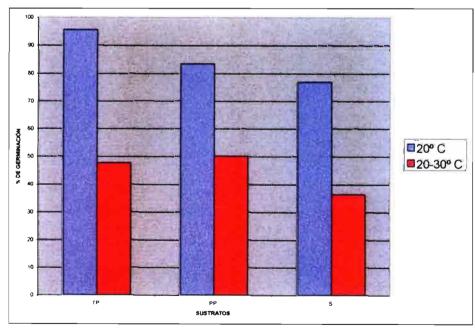


Figura 1: Análisis de germinación sobre diferentes sustratos y diferentes temperaturas. Estudio realizado con el cultivar Cara.

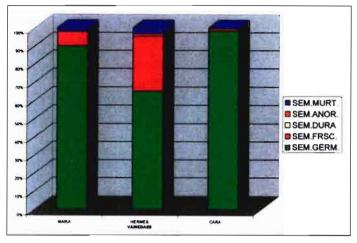


Figura 2: Porcentaies de germinación en los cultivares estudiados.

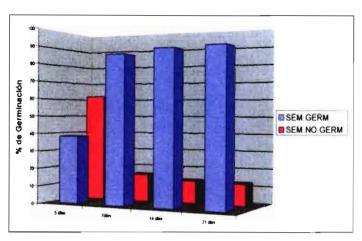


Figura 3: Germinación media de los cultivares estudiados en difeentes días de conteo

binó la alternancia de temperaturas con el sustrato de arena.

En las observaciones realizadas durante el desarrollo del ensayo se pudo apreciar que las plántulas obtenidas a 20 °C y en el sustrato TP, eran más vigorosas que en los demás tratamientos estudiados, diferenciándose perfectamente en esta combinación las plántulas normales del resto.

En la Figura 2 se puede apreciar, para cada cultivar, el porcentaje de semillas germinadas, frescas, anormales, duras y muertas obtenidas en estos análisis. Los mayores valores de semillas germinadas se obtuvieron en el cultivar Cara (98,8%) y el mayor porcentaje de semillas frescas en el cultivar Hermes (30,25%).

De acuerdo con los valores medios de germinación obtenidos para cada cultivar, se pueden estimar los días recomendables para hacer los conteos. A los siete días del ensayo se alcanzaba una media de germinación de 84,25 % entre las variedades estudiadas (Fig. 3). En las observaciones realizadas se pudo detectar que a partir de este día la radícula alcanzaba más de 3 mm de longitud en la mayoría de las semillas, considerándose los catorce días suficientes para el segundo conteo, ya que no se encontraron diferencias significativas entre los 14 y 21 días de conteo (Tabla 1).

Asimismo, se puede apreciar que el cultivar Hermes ha presentado porcentajes elevados de semillas no germinadas y, de ellas, el porcentaje de semillas frescas alcanzó el 30,25 %. Cuando se realizó la prueba del tetrazolio (Tabla 2) se observó que este cultivar difiere significativamente de los otros dos estudiados, pero que alcanza valores por encima del 90 % de viabilidad en sus semillas, lo que hace pensar que sus bajos porcentajes de germinación con respecto a los otros dos cul-

tivares, sobre todo con Cara, que hasta el momento es el que mejor se ha comportado, no se debe a que sus semillas no sean viables sino a que éstas necesitan algún tratamiento especial para acelerar su proceso de germinación y aumentar el porcentaje de semillas germinadas.

En el estudio realizado con los cultivares comparando sus porcentajes de germinación en semillas sometidas a una prerrefrigeración durante siete días a 7 °C (Tabla 3) se puede apreciar que existe diferencia significativa entre los trata-

mientos y entre los cultivares, aumentando el porcentaje de germinación en los tres estudiados, sin que Hermes (V2) pudiera llegar aún al valor mínimo aceptado que, tomando como referencia la semilla de tomate, es de un 75 % (ISTA, 1996).

Al analizar los ensayos realizados con los promotores de la germinación y su combinación con la prerrefrigeración, se observa que el cultivar Hermes es capaz de aumentar su porcentaje de semillas germinadas en un 20 % y, más aún, este cultivar es capaz de llegar a un 86 % de

TABLA 2.

Porcentajes de germinación en los diferentes días de conteo. Los valores con letras iguales no presentan diferencias significativas para un nivel del 5%

		DÍAS PARA	CONTEOS	
VARIEDADES	5	7	14	21
MAIKA	49,5 _d	89,25 _b	91,25 _b	91,5 _b
HERMES	0,0 _e	67,75 _c	71,75 _c	73 _c
CARA	65,5 _c	$95,75_{ab}$	98,25 _a	98,5 _a

TABLA 3.

Resultados del test de Viabilidad. Los valores con letras iguales no presentan diferencias significativas para un nivel del 5%

	% DE SEMILLAS	% DE SEMILLAS
VARIEDADES	VIABLES	NO VIABLES
MAIKA	97,75 a	2,25 b
HERMES	91 _b	9 a
CARA	99,75 a	0,25 _b

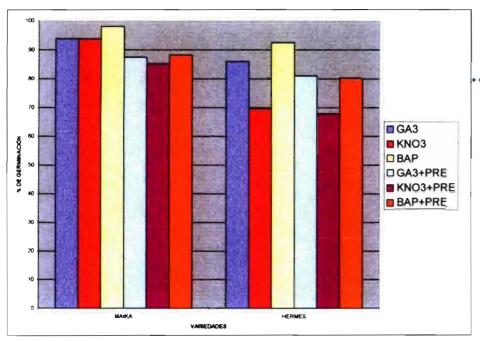


Figura 4: Evaluación de promotores sobre la germinación de los cultivares de papa, Maika y Hermes

TABLA 4.

Porcentajes de germinación de las semillas de *papa* sometidas a prerrefrigeración durante siete días a 7°C. Letras iguales en los valores medios no presentan diferencias significativas para un nivel del 5%.

TRATAMIENTOS	SEMILLAS GERMINADAS (%)
V1 SIN PRE	83 bc
V2 SIN PRE	53 _d
V3 SIN PRE	92 _b
V1 CON PRE	91,75 ь
V2 CON PRE	73 c
V3 CON PRE	98,75 a

TABLA 5.

Porcentajes de germinación de las semillas sometidas a tratamientos con promotores de la germinación. Letras iguales en los valores medios no presentan diferencias significativas para un nivel del 5%

TRATAMIENTOS	SEMILLAS GERMINADAS (%)	
V1GA ₃	93,75 _{ab}	
V2GA ₃	86 _b	
V1KNO ₃	93,75 _{ab}	
V2KNO ₃	69,75 _{de}	
V1BAP	98 a	
V2BAP	92,5 ab	
V1GA₃+ PRE	87,5 _b	
V2GA₃+ PRE	81 _{cd}	
V1KNO ₃ + PRE	85,25 _∞	
V2KNO ₃ + PRE	67,75 _d	
V1BAP + PRE	88,25 _ь	
V2BAP + PRE	80,25 _{cd}	



semillas germinadas cuando se le aplica ácido giberélico. Además, este estimulador del crecimiento es el que mejor resultados proporciona en los dos cultivares analizados, demostrando que solamente con la aplicación del ácido giberélico se aumenta en más de un 15 % la germinación en semillas de papa.

Los ensayos realizados con N-6-Bencilaminopurina (BAP) dieron muy buenos resultados para los dos cultivares estudiados aumentando su porcentaje de germinación con respecto a los tratamientos con ácido giberélico en más de un 5 % (Fig. 4) y, en el cultivar Hermes que había mostrado en todos los casos los valores más bajos de germinación, se obtuvo un 92,5 %, no diferenciándose significativamente de Maika (Tabla 4).

En el análisis comparativo que se realizó entre estos promotores de la germinación y su combinación con la prerrefrigeración, se pudo comprobar que los resultados son más bajos cuando se combinan ambos métodos que cuando se utilizan sólo los promotores (Figura 4).

Haciendo un resumen general de los análisis realizados (Tablas 3 y 4), se demuestra que las semillas responden siempre positivamente a la prerrefrigeración elevando el porcentaje de semillas germinadas. El tratamiento con GA₃ y BAP, también eleva el porcentaje de germinación siendo especialmente eficaz el tratamiento con BAP. La combinación de tratamientos prerrefrigeración y promotores de la germinación es menos eficaz que el tratamiento con promotores solamente.

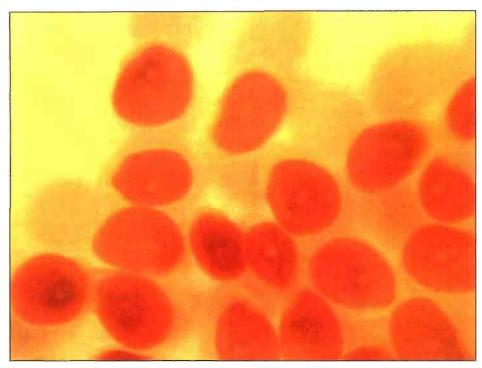
CONCLUSIONES

1. La metodología que se propone para los ensayos de germinación en semillas de papa (*Solanum tuberosum* L.) es la siguiente:

- Sustrato: TP, sobre papel
- Pretratamiento: aplicación de una solución de 500 ppm de GA3 en el sustrato de germinación.
- Temperatura de germinación: 20 °C.
- Luz: Alterna, 8 horas de luz y 16 de oscuridad.
- · Primer conteo: 7 días.
- Conteo final: 14 días.

Se ha comprobado que el Test del Tetrazolio es también muy efectivo en el estudio de semillas de *papa*. Mediante esta prueba se puede predecir el porcentaje real de semillas viables de un lote, cualquiera que sea la variedad.

El comportamiento de las semillas es muy variable en función de los cultivares analizados. El tratamiento con BAP



Semillas de la variedad Hermes totalmente teñidas durante la prueba de viabilidad (Test de Tetrazolio)

permite estimular la germinación de las muestras con un porcentaje elevado de semillas frescas no germinadas y alcanzar porcentajes de germinación satisfactorios. Los tratamientos combinados, BAP más prerrefrigeración o GA3 más prerrefrigeración son menos eficaces que los realizados con BAP solamente.

BIBLIOGRAFÍA

- ISTA (1996). International rules for seed testing. Seed Sci. & Technol., 24, Suplemento. Reglas internacionales para ensayos de semillas. Anexos. MAPA.
- PRECODEPA (1995). Informe anual de proyectos. Programa Regional Cooperativo de Papa. Chile.
- Zar, J. (1984). Bioostatistical Analysis. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 718 p.



