

Efecto del sustrato sobre la producción de minitubérculos de papa en casa de cultivo a partir de plantas *in vitro*

Felipe Jiménez-Terry*, Daniel Agramonte, Martha Pérez, Mileidy Pons, Mayelín Rodríguez, Mariana La O, Ortelio Hurtado, Amado Pérez, Michel Leiva-Mora. *Autor para correspondencia.

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830. e-mail: felipe@ibp.co.cu

RESUMEN

La utilización de sustratos orgánicos e inorgánicos no ha sido suficientemente abordada en Cuba para la tecnología de producción de semilla biotecnológica de papa a partir de plantas obtenidas por cultivo *in vitro*. Con el objetivo de definir un sustrato adecuado para la producción de minitubérculos de papa en casa de cultivo se realizó esta investigación, en la cual se utilizaron cinco formulaciones constituidas por humus de lombriz y zeolita. Se evaluó la respuesta del crecimiento y desarrollo de plantas de papa cv. 'Desirée' que fueron obtenidas por cultivo *in vitro*. Los tratamientos fueron: 1) Humus de lombriz 100%, 2) Humus de lombriz 85% + Zeolita 15%, 3) Humus de lombriz 70% + Zeolita 30%, 4) Humus de lombriz 55% + Zeolita 45%, 5) Zeolita 100%. Se determinaron variables asociadas a índices del crecimiento en plantación (0 días), a los 15, 30 y 45 días del ciclo vegetativo. Se determinó el número de minitubérculos y masa fresca de los tubérculos por planta en la cosecha a los 90 días de cultivo. Los sustratos compuestos por zeolita 100%, humus de lombriz 55% + 45% de zeolita y humus de lombriz 70% + zeolita 30% permitieron la formación de minitubérculos de papa en la casa de cultivo a partir de plantas cultivadas *in vitro*. La combinación de humus de lombriz 85% + zeolita 15% presentó la respuesta más favorable al crecimiento caracterizada por los índices fisiológicos TCA, TCR y TAN lo cual favoreció la producción de materia seca en las plantas de papa.

Palabras clave: crecimiento, humus de lombriz, índices fisiológicos, rendimiento, zeolita.

Effect of substrate on potato minitubers production in greenhouse using *in vitro* plants

ABSTRACT

The use of organic and inorganic substrate has not been completely developed in Cuba for biotechnological potato seed production using *in vitro* plant. In order to define a suitable substrate for the production of potato minitubers in greenhouse this research was conducted, for which five formulations with casting and zeolite were used. The response of growth and development of potato plants cv. 'Desiree' obtained through *in vitro* culture was determined. The treatments consist of the following formulations: 1) 100% Casting, 2) 85% Casting + 15% Zeolite, 3) 70% Casting + 30% Zeolite, 4) 55% Casting + 45% Zeolite, 5) 100% Zeolite. Physiological indexes: Net Assimilation Rate (NAR), Relative Growth Rate (RGR) and Absolute Growth Rate (AGR) were determined in three stages of the crop: 0, 15, 30 and 45 days after plantation. The number of mini-tubers and the average weight of tubers were determined at 90 days. The response to the growth and performance of minitubers weight per plant and the quality of tubers over 45 g was higher in the 100% Casting substrate and substrate combination 85% Casting + 15% Zeolite. The best results in the number of tubers per plant were achieved with formulations of 100% zeolite substrates, 55% Casting and 45% Zeolite, without significant deference to the formulation of 70% Casting and 30% Zeolite.

Keywords: Casting, growth, physiological indexes, yield, zeolite.

INTRODUCCIÓN

El Instituto de Biotecnología de las Plantas de la Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas, ha trabajado desde 1983 en la producción de semilla biotecnológica de papa en Cuba. Como resultado de las investigaciones, se han logrado avances en la aplicación de la tecnología, aunque

los rendimientos netos no son los esperados (Pérez *et al.*, 2000; Leiva-Mora *et al.*, 2011).

Los problemas fundamentales en la implementación de los métodos biotecnológicos consisten en las pérdidas de plantas en la fase de Aclimatización, en el traslado a campo, la calidad fisiológica requerida para lograr un

trasplante eficiente, poca uniformidad inicial en las plantaciones y bajos rendimientos (Agramonte, 2000).

La solución a esta problemática condujo a la construcción de casas de cultivo para la producción de minitubérculos de papa en condiciones semicontroladas. En ellas, la formulación de sustratos apropiados para el sostén y desarrollo de las plantas es uno de los factores importantes para obtener el rendimiento apropiado de las plantas obtenidas por cultivo *in vitro* (Igarza Castro *et al.*, 2012).

Los estudios de sustratos utilizados en la fase de aclimatización para diferentes especies obtenidas por cultivo *in vitro* en Cuba, señalan al humus de lombriz y la zeolita como los de mejores resultados, aunque la información sobre la producción de minitubérculos de papa en ellos es insuficiente (Jiménez-Terry *et al.*, 2012).

El presente trabajo se realizó con el objetivo de definir un sustrato para la formación de minitubérculos de papa en la casa de cultivo a partir de plantas cultivadas *in vitro*. En tal sentido se determinaron índices fisiológicos relacionados con el crecimiento de las plantas en la casa de cultivo así como el número de tubérculos por planta y el rendimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron 250 plantas de papa cv. 'Desirée' obtenidas por cultivo *in vitro* según la metodología propuesta por Agramonte (2000), procedentes de la fase de enraizamiento con 28 días de cultivo y con una masa fresca promedio que varió entre 0.065 y 0.087 g. La longitud promedio del tallo fue de 6.9 cm y con seis hojas como promedio.

Sustratos

Para realización del experimento, se utilizaron las siguientes formulaciones de sustratos a base de la combinación de humus de lombriz y zeolita:

- 1- Humus de lombriz 100%
- 2- Humus de lombriz 85% + Zeolita 15%
- 3- Humus de lombriz 70% + Zeolita 30%
- 4- Humus de lombriz 55% + Zeolita 45%
- 5- Zeolita 100%

El humus de lombriz utilizado en la investigación fue elaborado a base de cachaza con seis meses en descomposición. Este material recibió el tratamiento de secado, disgregado y finalmente fue tamizado a 4 mm acorde con lo descrito por Kowalski *et al.* (2003). La zeolita utilizada fue del tipo litonita de granulometría <4mm que correspondió a la descripción referida por Veitia *et al.* (2006).

Diseño experimental y condiciones de cultivo

Se utilizó un cantero de una casa de cultivo con las condiciones técnicas generales requeridas en cuanto a riego y regulación de la iluminación de las plantas obtenidas por cultivo *in vitro*. El cantero tenía las siguientes dimensiones: 15.0 m de longitud, 1.0 m de ancho y 0.8 m de profundidad. En este se dosificaron los sustratos de las formulaciones anteriormente señaladas hasta el nivel superior del cantero y de este modo se conformaron cinco parcelas de 3 m de longitud con un diseño de bloques al azar.

La distancia de plantación utilizada fue de 0.2 m entre planta y 0.3 m entre hileras y se realizaron las labores agrotécnicas y fitosanitarias establecidas por el Protocolo para la producción de semilla biotecnológica de papa (IBP, 2005). La profundidad de plantación fue de 0.02 m y se apretaron las raíces al sustrato mediante una paleta de madera.

Las plantas se mantuvieron las primeras dos semanas de cultivo con reducción de la iluminación solar mediante dos cubiertas de sarán en la primera semana y en la segunda semana se retiró el cobertor interior. La cubierta exterior, consistió en un material de polipropileno que reduce al 75.0% la iluminación solar y como cubierta interior se utilizó una malla o sarán lumínico que redujo al 25.0% la iluminación solar que penetró y se registraron mediciones promedio de 58-73 $\mu\text{E s}^{-1}\text{m}^{-2}$ durante el montaje del experimento. En la fase de cultivo posterior no se colocó el sarán lo que permitió una iluminación con valores de aproximadamente 107-114 $\mu\text{E s}^{-1}\text{m}^{-2}$ durante todo el ciclo vegetativo hasta los 90 días.

El riego se efectuó por microaspersión con una frecuencia de treinta segundos cada una hora (la primera semana) y 45 segundos cada tres horas la segunda semana en la casa de cultivo.

Posteriormente, se efectuaron riegos de 20 segundos de duración cada 30 minutos durante las tres primeras semanas. Posteriormente, se varió la frecuencia y duración del riego a 30 segundos cada una hora y media durante las siguientes cuatro semanas mientras las dos restantes semanas se varió el tiempo y la frecuencia de riego a 1 minuto cada dos horas.

La fertilización y el plan de defensa fitosanitario en la casa de cultivo se efectuó según lo

descrito en la tabla 1 y la tabla 2. Se utilizó una mochila manual de 16 litros de capacidad.

Se efectuaron labores de desyerbe manual para eliminar las malezas que invadieron el cultivo y promover la aireación del sustrato. A los 80 días se eliminó el follaje con un machete y se extrajeron manualmente los restos de plantas. A los 90 días se cosecharon los minitubérculos con un arado metálico manual.

Tabla1. Fertilización realizada a las plantas de papa en la casa de cultivo.

Fertilizante	Dosis de aplicación	Forma y momento de aplicación
Fórmula completa N, P, K (9-13-18)	0.5 t ha ⁻¹	A voleo
Nitrato de amonio	40 kg ha ⁻¹ 10 g l ⁻¹ de agua	A los 30 días mediante fertirriego por el goteo
Sulfato de Magnesio	80 kg ha ⁻¹ 20 g l ⁻¹ de agua	A los 45 días mediante el fertirriego
Superfosfato simple P ₂ O ₅ (0-20-0)	25 kg ha ⁻¹ 5 g l ⁻¹ de agua	A los 55 días de la plantación a razón de mediante el fertirriego

Tabla 2. Plan de protección fitosanitaria en la casa de cultivo para el control de plagas y enfermedades en la producción de minitubérculos de papa.

Productos	Dosis de aplicación	Momento de aplicación
Confidor GD 70	0.5 l.ha ⁻¹	En el momento de la plantación
Carbaryl PH 80	1.6 kg.ha ⁻¹	A los 15 días de la plantación
Bi - 58 48 EC	1.6 l.ha ⁻¹	A los 35 días de la plantación
Dicofol 18 5 EC	2.0 l.ha ⁻¹	A los 47 días de la plantación
Nuvacrón 40 SC	0.4 l.ha ⁻¹	A los 58 días de la plantación
Tamarón 60 SC	1.6 l.ha ⁻¹	A los 66 días de la plantación
Monceren PH 25	3.0 kg.ha ⁻¹	Presiembra, durante tres minutos
Oxicloruro de Cobre PH 35	3.6 kg.ha ⁻¹	10 días
Maneb PH 80	3.2 kg.ha ⁻¹	15 días
Zineb PH 75	3.2 kg.ha ⁻¹	22 días
Mancozeb PH 80	3.2 kg.ha ⁻¹	28 días
Ridomil MZ PH 72	2.0 kg.ha ⁻¹	35 días
Tilt. CE 25% EC	0.2 l.ha ⁻¹	42 días
Benomyl (Fundazol) PH 50	0.4 kg.ha ⁻¹	48 días
Silvacur Combi 30 EC	0.32 l.ha ⁻¹	55 días

Leyenda: Polvo humedecible (PH). Emulsión concentrada (EC), Solución concentrada (SC).

Variables asociadas con el crecimiento de las plantas

Para determinar el efecto del tipo de sustrato sobre el crecimiento de las plantas de papa obtenidas por cultivo *in vitro* se realizaron evaluaciones a los 45 días de la plantación. Las variables evaluadas fueron:

- Supervivencia (%): se cuantificó el número de plantas vivas del total de plantas iniciales y se calculó el porcentaje de supervivencia.
- Altura de las plantas (cm): se midió desde la inserción de la base del tallo con las raíces hasta la yema apical de las plantas.
- Área foliar de las plantas (cm²): se determinó mediante el software Image Pro-Plus versión 4.1. Para ello se realizaron fotos del área foliar de las plantas en diez muestras y se realizaron las determinaciones correspondientes para el cálculo del área foliar en cada tratamiento.
- Masa fresca de las plantas (g): se determinó la masa mediante una balanza analítica (modelo SCALTEC spb 54).
- Masa seca de las plantas (g): las plantas se colocaron en la estufa (Sakura) a 70°C hasta que la masa se mantuvo constante.
- Contenido de materia seca de las plantas (%): se determinó a partir de la diferencia entre las variables masa fresca y masa seca de la planta a los 45 días multiplicada por cien.

En el caso de las variables masa fresca y masa seca, se determinaron al momento de la plantación y a los 45 días. El número de muestras utilizadas fue diez plantas por tratamiento. A partir de los resultados de área foliar, masa fresca y masa seca de las plantas se determinaron los índices fisiológicos: tasa de asimilación neta (TAN), tasa de crecimiento relativo (TCR) y tasa de crecimiento absoluto (TCA) según lo descrito por Vázquez y Torres (1995). En el procesamiento estadístico de estas variables se utilizó la prueba de proporciones.

Efecto sobre el rendimiento

Para conocer la composición del rendimiento de las plantas de papa obtenidas por cultivo *in vitro* en las diferentes formulaciones de sustratos con humus de lombriz y zeolita en la casa de cultivo se tomaron al azar 20 plantas por tratamiento a los 90 días de la plantación. Se cuantificó el número de tubérculos por planta y se determinó la masa fresca de tubérculos

(g) por planta. Por otra parte, se determinó el índice de cosecha (IC o K) mediante la fórmula propuesta por Mackerron y Heilbronn (1985), la cual señala que K es igual a la biomasa total de los tubérculos por planta en el momento de la cosecha entre la biomasa total del follaje y tubérculos formados en el momento que se inicia la senescencia del follaje (75 días) y se expresó en unidades. Además, se determinó el rendimiento (kg ha⁻¹) y el porcentaje tubérculos (%) mayores de 26.0 mm de diámetro (con masa fresca superior a los 45.0 g).

Procesamiento estadístico

Todos los procesamientos estadísticos fueron realizados con el paquete SPSS versión para Windows. Como procedimiento común para todas las variables, se analizó la normalidad de los datos y la homogeneidad de las varianzas. Para la comparación de las medias entre tratamientos se usó la prueba de proporciones para el porcentaje de supervivencia, mientras que para el resto de las variables, se utilizó la prueba de Dunnett C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La supervivencia de las plantas fue superior en los sustratos que contenían humus de lombriz y este en combinaciones con zeolita, los cuales tuvieron diferencias significativas con la zeolita 100%.

La formulación de sustrato a base de humus de lombriz 100% y 85%, favoreció significativamente el crecimiento vegetativo de las plantas de papa caracterizado por una mayor altura y área foliar de las plantas (Tabla 3).

El porcentaje de materia seca fue superior en las formulaciones compuesta por: zeolita 100%, Humus de lombriz 55% + zeolita 45% y Humus de lombriz 70% + zeolita 30%. Sin embargo, los menores valores de esta variable, se registraron en las plantas que crecieron en los sustratos compuestos por Humus de lombriz 100% y Humus de lombriz 85% + zeolita 15%.

Mayea (1995) señaló que el humus absorbe agua y nutrientes en su superficie que son utilizados por las plantas para su crecimiento y desarrollo. En este sentido, Santos *et al.*

Tabla 3. Indicadores del crecimiento de plantas *in vitro* de papa cv. 'Desirée' a los 45 días de plantadas en casa de cultivo con diferentes formulaciones de sustratos.

Tratamientos	Supervivencia (%)	Altura de las plantas (cm)	Área foliar de las plantas (cm ²)	Contenido de materia seca de las plantas (%)
Humus de lombriz 100%	93.7 b	32.3 a	237.1 a	17.9 c
Humus de lombriz 85% + zeolita 15%	97.5 a	31.8 ab	228.7 ab	19.5 bc
Humus de lombriz 70% + zeolita 30%	95.2 ab	30.5 b	221.5 bc	22.1 ab
Humus de lombriz 55% + zeolita 45%	94.5 ab	30.2 b	216.4 c	25.6 a
Zeolita 100%	91.8 c	28.9 c	203.6 d	24.2 a
Error estándar	0.16	0.07	2.15	1.28
Coefficiente variación (%)	19.4	15.1	14.2	11.6

Medias con letras no comunes difieren para $p < 0.05$ según la prueba de Dunetts C.

(2010) demostraron que el humus de lombriz aporta nutrientes que favorecen un crecimiento rápido de las plantas que en él se cultivan.

Las formulaciones de sustratos con componentes orgánicos e inorgánicos favorecen la absorción de nutrientes. Sobre lo anterior, Jiménez-Terry *et al.* (2012) señalaron que la mezcla de materiales orgánicos e inorgánicos en la formulación de sustratos favoreció el crecimiento y desarrollo de plantas proveniente del cultivo de tejidos de diversas especies tropicales durante la fase de aclimatización. Estos autores argumentaron que esta respuesta se debe a un mejor aprovechamiento de las plantas de los nutrientes que aporta el humus de lombriz y a una mejora en la absorción de nutrientes y aireación del sistema radical con la adición de zeolita. Asimismo, Salas-Barbosa *et al.* (2010), informaron de una respuesta favorable en el crecimiento y desarrollo de las plantas de morera (*Morus alba* L.) obtenidas por cultivo *in vitro* en la formulación de sustrato a base de humus de lombriz (85%) y zeolita (15%).

La zeolita es un sustrato inorgánico de origen natural, posee excelentes propiedades físicas que pueden contrarrestar la disminución de pH, mejorar los contenidos de fósforo y potasio asimilable y la capacidad de intercambio iónico

del sustrato. Por otra parte, es capaz de retener los nutrientes y aportarlos lentamente de acuerdo con la demanda de las plantas (Mayea, 1995).

Además, la zeolita mejora la aireación de los sustratos, que es una de las condiciones necesarias para lograr una respuesta adecuada al crecimiento de las plantas *in vitro* en las casas de cultivo. Durán y Henríquez (2007), expresaron que la aireación contribuye a que los minerales disponibles en el sustrato orgánico sean tomados por las plantas a través de una mejor relación agua-oxígeno en los coloides del sustrato y permita un mayor desarrollo de las raíces.

Efecto sobre el crecimiento de las plantas

Tasa de Asimilación Neta (TAN)

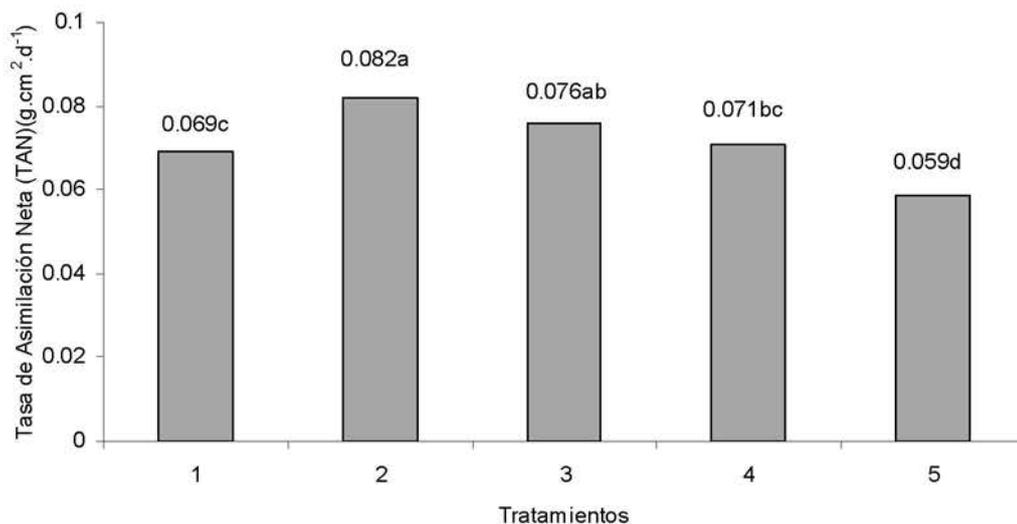
La producción de materia seca por unidad de área en un intervalo de tiempo determinado constituye la tasa de asimilación neta de una planta y su valor está determinado fundamentalmente por el balance existente entre la fotosíntesis y la respiración; el CO₂ fijado en la fotosíntesis menos la pérdida causada por la respiración. La tasa de asimilación neta indica un valor aproximado de la fotosíntesis neta (Leiva-Mora *et al.*, 2006).

Esta variable fue superior en los tratamientos donde se emplearon las combinaciones de humus de lombriz: zeolita (85:15 y 70:30) (Figura 1). El sustrato zeolita 100% tuvo una respuesta inferior de este índice relacionado con el crecimiento. El incremento de la TAN en las formulaciones con menor contenido de zeolita pudo deberse al incremento en la retención del agua y en por aportar mayor cantidad de nutrientes. Las plantas que crecieron en estos sustratos pudieron tener una mayor ganancia de materia seca debido tanto a la disponibilidad de agua como nutrientes lo cual favorece la eficiencia de la fotosíntesis. Asimismo el incremento de la aireación en el sistema radical de las plantas que crecieron en sustratos con mayor contenido de zeolita y por ende con menor contenido de agua, pudieron tener una tasa respiratoria superior, lo cual implica una disminución en el contenido de materia seca del tejido y con ello una menor TAN.

El humus de lombriz es el sustrato orgánico por excelencia de mejores resultados en el crecimiento y desarrollo de las plantas, sus características generales permiten un desarrollo integral, caracterizado por altos contenidos de nitrógeno y otros elementos minerales que garantizan la asimilación y acumulación de sustancias de reserva. En este sentido, Rodríguez-Fuentes y Montes (2011)

refirieron que la mezcla de sustratos orgánicos con zeolita favorece la asimilación de nutrientes por las plantas que se cultivan en macetas en condiciones de casa de cultivo. Describieron además, que proporciones adecuadas de zeolita mejoraron la absorción de nutrientes por las plantas ya que se incrementó el intercambio catiónico del sustrato y las propiedades físicas, estas condiciones favorecieron el desarrollo del sistema radical y por ende el intercambio con la masa aérea vegetal, lo cual incrementó la producción de materia seca. Vázquez y Torres (1995) plantearon que entre los índices de crecimiento del cultivo de la papa adquieren mayor importancia la determinación de materia seca y área foliar a los 45 días del ciclo vegetativo, por ser estos los más representativos del rendimiento biológico y agrícola.

A medida que las plantas de papa cultivadas en las diferentes formulaciones utilizadas, logran producir una cantidad de materia seca similar con una menor área foliar en un intervalo de tiempo dado, esto es indicativo de una mayor eficiencia fotosintética y por ende de una mayor tasa de asimilación neta. Muchos de estos fotoasimilatos pueden ser utilizados en la respiración celular o transportados hacia raíces, estolones y tubérculos (Bedwell, 1990; Kooman y Spitters, 1995).



Medias con letras no comunes difieren por la prueba Dunetts C $p < 0.05$

Figura 1. Efecto de combinaciones de humus de lombriz y zeolita sobre la tasa de asimilación neta de plantas de papa cv. 'Desirée' obtenidas por cultivo *in vitro* a los 45 días de plantas en casa de cultivo. Tratamientos: 1- Humus de lombriz 100%, 2- Humus de lombriz 85% + Zeolita 15%, 3- Humus de lombriz 70% + Zeolita 30%, 4- Humus de lombriz 55% + Zeolita 45%, 5- Zeolita 100%.

Quispe *et al.* (1997) refirieron que el proceso fotosintético lo realizan las partes verdes de la planta y depende de factores genéticos y del medio como son los nutrientes y el aporte de agua que están directamente vinculados al sustrato donde se realiza el cultivo. La producción y acumulación de materia seca en los tubérculos depende del balance entre los procesos productores (fotosíntesis) y procesos consumidores (respiración y fotorespiración), así como del reparto de la biomasa en la planta, lo cual depende de la relación fuente (hojas)-sumidero (tubérculos). Varios factores ambientales (termoperiodo, humedad) así como el manejo agronómico del cultivo pueden afectar el balance y reparto de la biomasa.

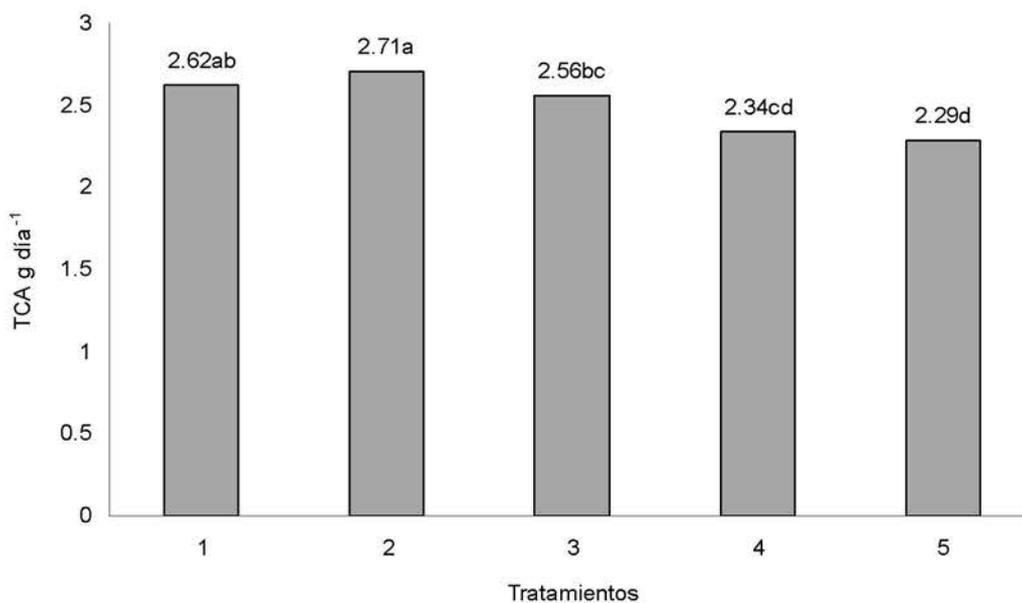
Tasa de Crecimiento Absoluta (TCA)

En el sustrato formulado con humus de lombriz 100% así como humus de lombriz 85% y zeolita 15%, se observaron los mayores valores de la Tasa de Crecimiento Absoluta (Figura 2). El resto de las combinaciones con mayores proporciones de zeolita (30, 45 y 100%) no tuvieron diferencias significativas entre ellas. Este resultado mostró el comportamiento de la producción de masa seca diaria, aspecto importante para la producción potencial de tubérculos por planta. Por el contrario, el Humus de lombriz 55% + Zeolita

45% y la Zeolita 100% mostraron los menores valores de este índice fisiológico.

La determinación de la tasa de crecimiento absoluta de acuerdo con la etapa fisiológica del cultivo permitió valorar la absorción de nutrientes y acumulación de materia seca por la planta directamente relacionada con la fotosíntesis. La tasa de crecimiento absoluta debe evaluarse en la etapa de crecimiento logaritmo del cultivo y por ello la selección de los momentos en lo que se realiza la evaluación, así como las etapas fenológicas que representan; pueden influir en los valores de este índice fisiológico y su interpretación. Núñez *et al.* (2009), describieron que la tasa de crecimiento absoluta es un índice fisiológico relacionado con el crecimiento de las plantas que no expresa la intensidad con que se produce el cambio pero estima el ritmo de producción de materia seca por planta por unidad de tiempo.

Las menores tasas de crecimiento absoluta se correspondieron con los sustratos con altas proporciones de zeolita, lo cual pudo deberse a que las plantas en estos sustrato tuvieron menor disponibilidad de agua y nutrientes, con lo cual la actividad fotosintética y el crecimiento se afectaron.



Medias con letras no comunes difieren por la prueba de Dunetts C para $p < 0.05$

Figura 2. Efecto de combinaciones de humus de lombriz y zeolita sobre Tasa de crecimiento absoluta de plantas de papa cv. 'Desirée' obtenidas por cultivo *in vitro* a los 45 días a los 45 días de plantadas en casa de cultivo. Tratamientos: 1- Humus de lombriz 100%, 2- Humus de lombriz 85% + Zeolita 15%, 3- Humus de lombriz 70% + Zeolita 30%, 4- Humus de lombriz 55% + Zeolita 45%, 5- Zeolita 100%.

Rodríguez-Fuentes y Montes (2011) refirieron que cuando disminuye la humedad y la disponibilidad de los nutrientes en los sustratos al prevalecer el contenido de zeolita, no se logra un transporte eficiente de agua y nutrientes hacia las partes verdes de la planta para sustentar el proceso fotosintético. Estos autores argumentan que el aumento del oxígeno en sustratos elaborados con zeolita en altas proporciones, puede favorecer el proceso respiratorio del sistema radical y con ello se pierden productos elaborados en la fotosíntesis.

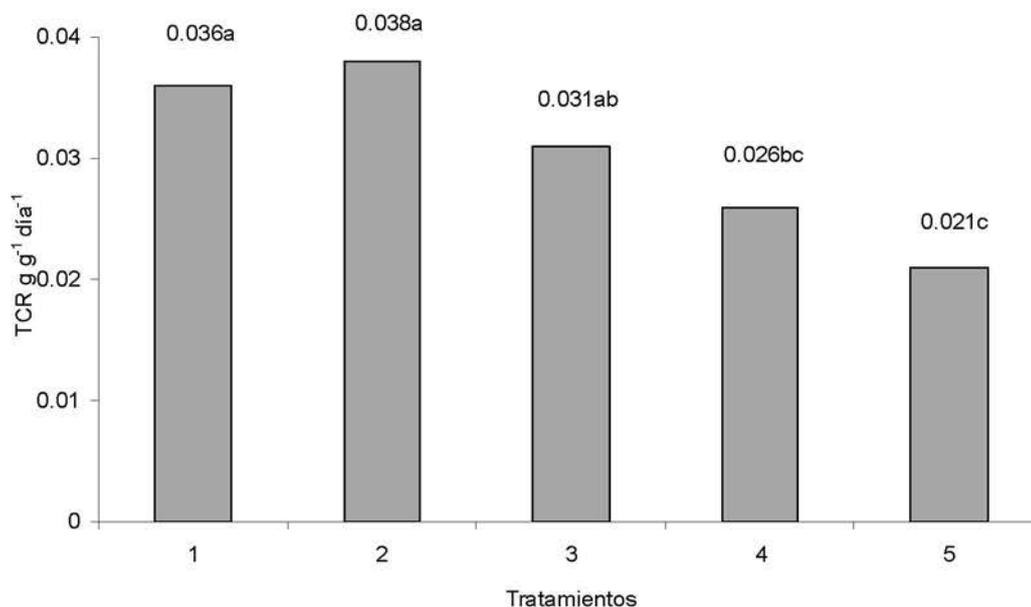
Por su parte, Fundora *et al.* (1995) señalaron que las concentraciones de oxígeno elevadas en el sustrato o en el suelo, pueden afectar el proceso de fotosíntesis cuando no se varían las condiciones de humedad y este suceso está vinculado directamente a la absorción de nutrientes por las plantas a través del agua y en presencia del oxígeno.

Lira (1994) y Arvanitoyannis *et al.* (2008) expusieron que el oxígeno puede competir con el CO₂ y sufrir una reducción en lugar del CO₂, además de poder competir por la enzima rubisco bifosfato (RUBP) y dar lugar a la

fotorrespiración. Las plantas que crecieron en sustratos enriquecidos con zeolita, pueden haber sufrido estrés hídrico, lo cual pudo incrementarse la difusión del oxígeno hacia el interior de los cloroplastos. Asimismo, en este escenario pudieron ocurrir alteraciones a nivel de membrana celular, lo cual provoca pérdida de fotoasimilatos ya sea por el aumento de la tasa respiratoria o de la fotorrespiración, porque la Rubisco podría tener un entorno con mayor concentración de oxígeno.

En tal sentido fue importante la valoración de la cuantía de mezcla de cada uno de los sustratos que se utilizan de conjunto con otros factores como el agua y los nutrientes. La adición de materiales inorgánicos como la zeolita puede mejorar la relación de intercambio gaseoso necesario para la absorción de nutrientes y el consiguiente desarrollo de las plantas.

La selección del sustrato adecuado para el crecimiento de las plantas permitirá lograr el equilibrio necesario entre la absorción de nutrientes, la respiración y la fotosíntesis; procesos fisiológicos fundamentales que determinan el rendimiento de las plantas.



Medias con letras no comunes difieren por la prueba de Dunetts C para $p < 0.05$

Figura 3. Tasa de crecimiento relativa de las plantas de papa obtenidas por cultivo *in vitro* en los sustratos formulados con humus de lombriz y zeolita a los 45 días del ciclo vegetativo en la casa de cultivo. Tratamientos: 1- Humus de lombriz 100%, 2- Humus de lombriz 85% + Zeolita 15%, 3- Humus de lombriz 70% + Zeolita 30%, 4- Humus de lombriz 55% + Zeolita 45%, 5- Zeolita 100%.

Tasa de Crecimiento Relativa (TCR)

Las mayores tasas de crecimiento relativas se obtuvieron en las formulaciones Humus de lombriz 100%, Humus de lombriz 85% + Zeolita 15% y Humus de lombriz 70% + Zeolita 30%, mientras los menores valores de este índice se observaron en los sustratos Humus de lombriz 55% + Zeolita 45% y Zeolita 100%.

Este resultado significó que para estos sustratos existió una producción similar de materia seca por masa total de la planta en la etapa de crecimiento hasta los 45 días de cultivo, lo que evidenció una adecuada absorción y asimilación de nutrientes. Por otra parte, en los sustratos con menor proporción de humus de lombriz (55%) y mayor de zeolita (45% y 100%) la tasa de crecimiento relativa fue significativamente inferior.

La respuesta al crecimiento de las plantas de papa obtenidas por cultivo *in vitro* observada a través de los índices fisiológicos evaluados en estos sustratos, indicaron que 15% de zeolita es la proporción adecuada para obtener la máxima producción diaria de masa seca por planta. Cuando la proporción de zeolita en el sustrato fue superior al 30% no se logró una respuesta adecuada al crecimiento para las condiciones de cultivo a que se sometieron las plantas.

Acorde a lo referido por Leiva-Mora *et al.* (2011), las plantas de papa obtenidas por cultivo *in vitro* que tenían una mayor producción de masa seca y área foliar alcanzaron mayor rendimiento. Según Núñez *et al.* (2009) las plantas de papa que tienen mayor producción de materia seca en las etapas iniciales hasta que comienza la tuberización; potencialmente pueden alcanzar mayor rendimiento si otros factores inductores y condiciones ambientales no afectan el desarrollo normal de este cultivo.

Efecto sobre el rendimiento

Los resultados en la cosecha tuvieron una respuesta diferente a la obtenida en las etapas de crecimiento hasta los 45 días. El número de tubérculos por planta de los sustratos humus de lombriz (55%) + zeolita 45% y zeolita 100% fueron significativamente superiores a los restantes. Por otra parte, la masa fresca de los tubérculos por planta, el rendimiento y los

minitubérculos para ser utilizados como semilla en campo (masa fresca superior a 45 g) no tuvieron diferencias significativas con los sustratos humus de lombriz 85% y zeolita 15% y el humus de lombriz 100%. El resultado en la masa fresca de los tubérculos por planta en la cosecha coincidió con la mayor producción de masa seca de las plantas en la etapa de crecimiento anteriormente descrita, lo cual confirmó los resultados obtenidos por Leiva-Mora *et al.* (2011) al evaluar diferentes variedades de papa en casa de cultivo. En tal sentido, señalaron se logró una mayor masa seca de los minitubérculos por planta en las variedades que mayor masa seca por planta produjeron durante la etapa de crecimiento hasta los 45 días.

Estas variables fueron inferiores con diferencias significativas en el sustrato zeolita 100%, pero es importante la observación del número de tubérculos superior en este tratamiento; factor elemental en un sistema de producción de semilla. Los resultados obtenidos indicaron que es necesario profundizar en el estudio de factores agrotécnicos (riego, iluminación y fertilización) para el manejo de estos sustratos a fin de obtener el máximo de minitubérculos y mayor calidad de los mismos. Sobre estos aspectos, Agramonte (2000) sugirió una interpretación integral de las variables e índices relacionados con el crecimiento y el rendimiento de las diferentes alternativas biotecnológicas para la producción de semilla de papa.

Índice de cosecha (K)

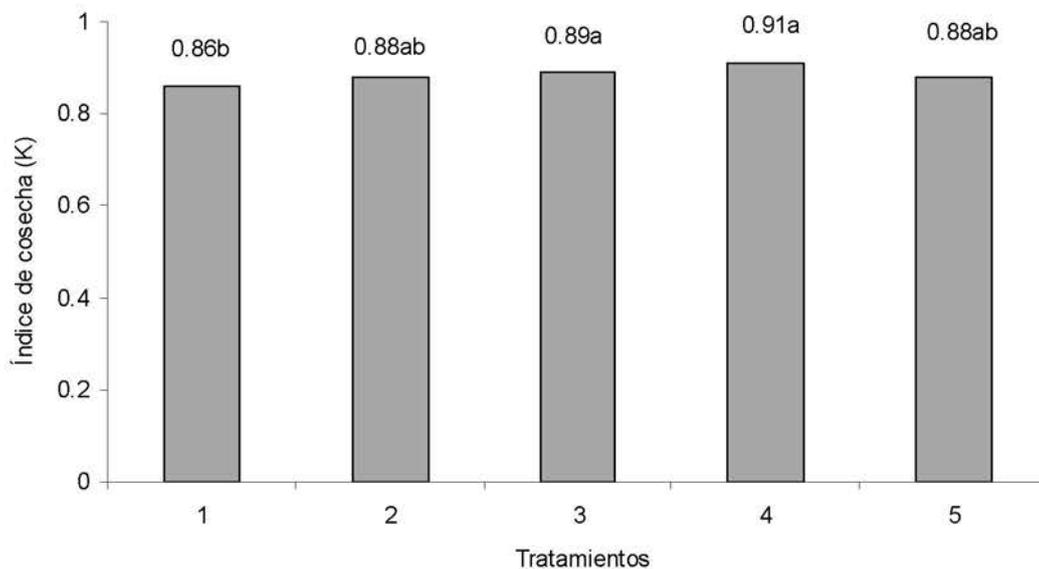
El índice de cosecha fue similar en los tratamientos de sustratos con zeolita (15, 30, 45 y 100%) lo que advirtió que la producción de masa seca del follaje y la del tubérculo no tuvo diferencias significativas (Figura 4).

Estos resultados coincidieron con los informados por Aguilar *et al.* (2006), los cuales observaron valores de índices de cosecha 0.85 como promedio en tratamientos donde utilizaron semilla botánica de diferentes variedades de papa en condiciones de campo. De igual forma, en estudios realizados por Santos *et al.* (2010) en otras variedades se observaron índices de cosecha similares (0.87 y 0.89) a los valores entre 0.86 y 0.91 determinados en este trabajo.

Tabla 2. Indicadores del rendimiento de las plantas de papa obtenidas por cultivo *in vitro* a los 90 días el ciclo vegetativo en la casa de cultivo.

Tratamientos	Número de minitubérculos por planta (u)	Masa fresca tubérculos por planta (g)	Rendimiento (kg ha ⁻¹)	Tubérculos de diámetro ≥ 26 mm (45 g masa fresca promedio) (%)
Humus de lombriz 100%	5.92 d	278.6 a	23.8 a	74.6 a
Humus de lombriz 85% + zeolita 15%	6.24 c	276.5 a	22.6 a	72.8 b
Humus de lombriz 70% + zeolita 30%	6.73 b	268.9 b	20.7 b	70.3 c
Humus de lombriz 55% + zeolita 45%	7.16 a	263.4 b	19.9 b	70.1 c
Zeolita 100%	7.18 a	256.7 c	17.2 c	67.4 d
Error estándar	0.37	0.62	0.31	0.23
Coficiente variación (%)	14.3	17.8	16.4	18.6

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren significativamente para $p < 0.05$ según la prueba de Dunetts C.



Medias con letra común difieren por Dunetts C para $p < 0.05$

Figura 4. Índice de cosecha de las plantas de papa obtenidas por cultivo *in vitro* en los sustratos formulados con humus de lombriz y zeolita en la casa de cultivo.

Sin embargo, los índices de cosecha obtenidos para todos los tratamientos fueron elevados en comparación con los referidos por López *et al.* (1995) para las variedades 'Timate' y 'Baraka' cultivadas en la zona central de Cuba. Diversos autores señalan que el índice de cosecha en papa fue 75-80% de lo absorbido durante la

estación de crecimiento del cultivo y estos valores de índices de cosecha son elevados (Giletto *et al.*, 2003; Ciampitti y García, 2007; Núñez *et al.*, 2009).

La respuesta al crecimiento durante los primeros 45 días del ciclo vegetativo de las plantas de papa

obtenidas por cultivo *in vitro* y su número de tubérculos en la cosecha a los 90 días fueron totalmente opuestos: Los sustratos con mayor proporción de humus de lombriz tuvieron mejor crecimiento pero menor rendimiento de tubérculos por planta en similares condiciones agrotécnicas de cultivo, lo que indicó la necesidad de profundizar en el estudio de los diferentes factores, tales como el riego y la fertilización, atendiendo además a que cada tipo de sustrato que debe ser valorado individualmente.

CONCLUSIONES

Los sustratos compuestos por zeolita 100%, humus de lombriz 55% + 45% de zeolita y humus de lombriz 70% + zeolita 30% permitieron la formación de minitubérculos de papa en la casa de cultivo a partir de plantas cultivadas *in vitro*. La combinación de humus de lombriz 85% + zeolita 15% presentó la respuesta más favorable al crecimiento caracterizada por los índices fisiológicos TCA, TCR y TAN lo cual favoreció la producción de materia seca en las plantas de papa. Además, las plantas de papa cultivadas en los sustratos humus de lombriz 100% y humus de lombriz 85% + zeolita 15% tuvieron un rendimiento por planta superior al resto de los sustratos.

REFERENCIAS

- Agramonte, D (2000) Métodos biotecnológicos para la producción de semilla original de papa (*Solanum tuberosum* L.) var. 'Desirée'. Tesis de Doctorado. Instituto de Biotecnología de las Plantas, UCLV.
- Aguilar, RM, Cereceres JO, Peña AR (2006) Índices de eficiencia de genotipos de papa establecidos en condiciones de secano. Revista Chapingo. Serie Horticultura 12 (1): 85-94
- Arvanitoyannis, IS, Vaitis O, Mavromatis A (2008) Physico-chemical and sensory attributes in conjunction with multivariate analysis of two potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars after 90 days of storage: an exploratory authentication study. International Journal of Food Science & Technology 43 (11): 1960 - 1970
- Bedwell, R (1990) Fisiología Vegetal. Editorial Calipso, México D.F.
- Ciampitti, IA, García FO (2007) Requerimientos nutricionales Absorción y Extracción de macronutrientes y nutrientes secundarios, ICSA Santa Fe. Agronómicas 37: 103-108
- Durán, L, Henríquez C (2007) Caracterización química, física y microbiológica de vermicompostes producidos a partir de cinco sustratos orgánicos. Agronomía Costarricense 31(1): 41-51
- Fundora, O, Arzola N, Cairo P (1995) Suelos y Agroquímica. Segunda edición, pp.126-204. Editorial Pueblo y Educación. La Habana
- Giletto, CM, Echeverría HE, Sadras V (2003) Fertilización nitrogenada de cultivares de papa (*Solanum tuberosum*) en el sudeste bonaerense. Ciencia del suelo 21: 44 - 51
- IBP (2005) Protocolo para la producción de semilla de papa con el uso de métodos biotecnológicos. 1ra (ed.) Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas. Santa Clara.
- Igarza Castro, J, Agramonte D, Alvarado-Capó Y, de Feria M, Pugh T (2012) Empleo de métodos biotecnológicos para la producción de semilla de papa. Biotecnología vegetal 12 (1): 3-24
- Jiménez-Terry, F, Agramonte D, Ramírez M, Pérez M, La O C M, Pons M, Collado R (2012) Uso de humus de lombriz en la formulación de sustratos para la aclimatización de cultivos tropicales. Centro Agrícola 39 (3):37-44
- Kooman, PL, CJ Spitters (1995) A coherent set of model to simulate potato growth. En: P. Kabat, Marshall, B Van der Broek, BJ J Vos, H van Keulen (Eds.). Modelling and parameterization of the soil - atmosphere system. A comparison of potato growth models, pp. 253- 274. Wageningen Press, Wageningen.
- 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 cv. 'Desirée', *in vitro* y en invernadero. Biotecnología vegetal 3 (2): 115-117
- Leiva-Mora, M, Portela Y, Torres S, Veitía N, Jiménez-Terry F, Agramonte D, León M, Alvarado-Capó Y, Acosta-Suárez M, Cruz-Martín M, Sánchez C, Roque B (2011) Índices fisiológicos asociados al crecimiento de variedades de papa obtenidas por métodos biotecnológicos. Biotecnología Vegetal 11(2): 119 - 120
- Lira, SR (1994) Fisiología vegetal. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Editorial Trillas, México. pp. 213
- López, M, Vázquez E, López R (1995) Raíces y tubérculos, pp.225-255. Editorial Pueblo y Educación. Segunda edición. La Habana

- Mackerron, DKL, Heilbronn TD (1985) A method for estimating Harvest indices for use in surveys of potato crops. *Potato research* 28: 279-282
- Mayea, S (1995) Evaluación del rendimiento de plantaciones de papa en suelos con aplicaciones de humus de lombriz. *Centro Agrícola* 2 (1): 24-29
- Ñústez CE, Santos M, Segura M (2009) Acumulación y distribución de materia seca de cuatro variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Zipaquirá, Cundinamarca, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 62 (1): 26 - 38
- Pérez JN, Suárez M, Orellana P (2000) Posibilidades y potencial de la propagación masiva de plantas en Cuba. *Biotecnología Vegetal* 1: 3-12
- Quispe, C, Devaux A, Gonzalez S, Tourneux C, Hijmans R (1997) Evaluación Comparativa del Desarrollo y Crecimiento de Papa. *Revista Latinoamericana de la Papa* 9 (10):140-155
- Rodríguez-Fuentes, G, Montes A (2011) Selección, modificación y caracterización de zeolitas naturales y sintéticas. Curso XVIII Escuela Internacional de Verano en Ciencia y Tecnología de Materiales. Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales (IMRE) de la Universidad de La Habana, La Habana.
- Salas-Barbosa, JE, Agramonte D, Jiménez-Terry F, Collado R (2010) Caracterización morfoagronómica de plantas *in vitro* de *Morus alba* L. variedad 'Criolla'. *Centro Agrícola* 37 (1): 17-21
- Santos, M, Segura M, Nustez C y López E (2010) Growth analysis and source-sink relationship of four potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) in the Zipaquirá Town, Cundinamarca, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 63 (1): 253-266
- Vázquez, E, Torres S (1995) *Fisiología Vegetal*. 2da (Ed.), pp. 290-314. Editorial Pueblo y Educación. La Habana
- Veitía, N, Pérez J, Bermúdez-Carabaloso I, García L, Acosta-Suárez M (2006) Rendimiento agrícola de líneas de papa plantadas fuera de época de siembra en una zona montañosa *Biotecnología vegetal* 6(1): 41-43

Recibido: 11-2-2013

Aceptado: 9-5-2013