



Concentraciones de 6-Bencilaminopurina en la propagación *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Cochacina, en sistemas líquidos estacionario y en agitación

Concentrations of the 6- Benzylaminopurine in the *in vitro* propagation of *Solanum tuberosum* var. Cochacina, in stationary and agitation liquid systems

Segundo E. López-Medina¹; José Mostacero-León^{1*}; Armando E. Gil-Rivero¹; Angélica López – Zavaleta¹
Anthony J. De La Cruz-Castillo¹; Luigi Villena-Zapata²

1 Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n. Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

2 Facultad de Ciencias Naturales y Aplicadas. Universidad Nacional Intercultural Fabiola Salazar Leguía de Bagua

*Autor correspondiente: jmostacero@unitru.edu.pe (José Mostacero-León).

ID ORCID de los autores

S.E. López-Medina: <https://orcid.org/0000-0001-7719-8607>

J. Mostacero-León: <https://orcid.org/0000-0003-2556-3013>

A.E. Gil-Rivero: <https://orcid.org/0000-0002-4521-5588>

A. López – Zavaleta: <https://orcid.org/0000-0001-8935-2683>

A.J. De La Cruz-Castillo: <https://orcid.org/0000-0002-5409-6146> V. Zapata, Luigi: <https://orcid.org/0000-0001-9430-0028>

RESUMEN

Es conocido que *Solanum tuberosum* "papa", es un recurso promisorio para el poblador altoandino, y por consiguiente de relevante importancia para la economía de muchos pueblos en particular y del Perú en general; destacando de ellas las "papas nativas", especies conservadas de manera tradicional desde épocas inmemoriales, poseedoras de un preciado acervo genético que les confiere una acción nutricional y medicinal aprovechado por las comunidades altoandinas sobretodo; y que lamentablemente hoy en día, se encuentran en peligro inminente de extinción. Ante lo expuesto, esta investigación se avocó a determinar la concentración de BAP (6-bencilaminopurina) y el tipo de sistema líquido (estacionario o agitación) más adecuado para la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* var. Cochacina "papa nativa". La fase experimental se desarrolló en laboratorio, donde se sembraron esquejes de *S. tuberosum* "papa nativa" en un medio basal MS, suplementado con diferentes concentraciones del BAP (6-bencilaminopurina), dispuestos en los sistemas líquido estacionario y agitación. Se empleó un diseño completamente al azar, no existiendo diferencias significativas para los parámetros altura y número de tallos promedios; siendo el tratamiento estacionario a 0 ppm de BAP, aquel que obtuvo los mejores resultados en cuanto a altura (5,8 cm) y número de tallos (15). Se concluye que el BAP a 0 ppm y el sistema de cultivo líquido estacionario es el más adecuado para la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* var. Cochacina "papa nativa".

Palabras clave: *Solanum tuberosum*; 6-Bencilaminopurina; sistemas líquidos; *in vitro*

ABSTRACT

It is known that *Solanum tuberosum* "potato" is a promising resource for the high Andean population, and therefore of relevant importance for the economy of many peoples in particular and of Peru in general; highlighting of them the "native potatoes", species traditionally conserved since time immemorial, possessing a precious gene pool that gives them a nutritional and ethnomedicinal action taken advantage of by the high Andean communities above all; and that unfortunately today, are in imminent danger of extinction. Given the above, this research focused on determining the concentration of BAP (6-benzylaminopurine) and the type of liquid system (stationary or stirring) most suitable for the *in vitro* propagation of *S. tuberosum* var. Cochacina "native potato". The experimental phase was developed in the laboratory, where cuttings of *S. tuberosum* "native potato" were sown in a basal MS medium, supplemented with different concentrations of BAP (6-benzylaminopurine), arranged in the stationary and shaking systems. A completely randomized design was used, not existing significant differences, for the parameters height and number of average stems; being the stationary treatment at 0 ppm of BAP, the one that obtained the best results in terms of height (5.8 cm) and number of stems (15). It is concluded that the BAP at 0 ppm and the stationary liquid culture system is the most suitable for the *in vitro* propagation of *S. tuberosum* var. Cochacina "native potato".

Keywords: *Solanum tuberosum*; 6-benzylaminopurine; liquid systems; *in vitro*

Recibido: DD-MM-2020.

Aceptado: DD-MM-2020.

INTRODUCCIÓN

Perú cuenta con más de 5000 variedades de *Solanum tuberosum* “papa”, poseedoras de una gran diversidad genética, distribuidas a lo largo de los diferentes pisos ecológicos del país y que vienen siendo cultivadas desde épocas inmemoriales por el poblador andino sobretodo (Inostroza *et al.*, 2017).

Su génesis, data desde hace más de 7000 años en el lago Titicaca, donde a partir de *S. andigena* se originó la gran diversidad de variedades existentes hoy en día (Rodríguez, 2010). De ellas, las “papas nativas”, destacan por su valor nutricional y medicinal; saber etnobotánico aprovechado de manera sustentable en un inicio por los pequeños agricultores andinos; pero que lamentablemente hoy en día vienen siendo desplazadas por las variedades comerciales, al ser consideradas más “precozes” y/o de “elevada producción”, lo que genera una mayor demanda de estas; relegando a las “papas nativas” a un pequeño sector de la población, quienes aún las cultivan para el consumo familiar (Seminario *et al.*, 2017; Tirado y Tirado, 2018; Tirado *et al.*, 2018).

Cabe destacar que muchas de estas variedades nativas han sido catalogadas como alimentos funcionales, por la presencia de antioxidantes y polifenoles, reflejado en el hecho de poseer “pulpas” y “cáscaras” de colores, por lo que su consumo, reduce la posibilidad de desarrollar cáncer, entre otras enfermedades degenerativas, por no mencionar el hecho que retrasan el envejecimiento (Salas y Tovalino, 2018; Suárez *et al.*, 2014).

Por lo descrito; actualmente se busca revalorar estas variedades promisorias; a partir de investigaciones del tipo básicas, que permitan aprovechar sustentablemente estos recursos, a la par de promocionar su cultivo y consumo; por lo que la implementación de protocolos de propagación son alternativas viables e indispensables para tal fin (Gil *et al.*, 2019; Rajarathnam *et al.*, 2013).

De las múltiples formas de propagación asexual existentes en *S. tuberosum*; son las técnicas de cultivos *in vitro*, las más idóneas de aplicar; toda vez que garantizan una mejor calidad fitosanitaria y productividad, además de permitir la conservación del germoplasma de estas variedades promisorias, a fin de ser empleados ante futuros

escenarios adversos producto del cambio climático (Araque *et al.*, 2018; Galindo *et al.*, 2015; Pradel *et al.*, 2019; Tonconi, 2015).

Dentro de las técnicas de cultivo *in vitro*, desarrolladas en “papa”, se tienen al cultivo de meristemas, micropropagación, embriogénesis somática y tuberización *in vitro*, como las más empleadas; y donde, dependiendo del objetivo a alcanzar, se emplean fitohormonas del tipo auxinas, giberelinas y citoquininas (Hernández y Díaz, 2019).

Ahora bien, el medio de cultivo más empleado para la propagación *in vitro* de “papa”, es el sólido; que está constituido por sales MS (Murashige y Skoog, 1962), sacarosa (3,0%), fitohormonas y agar (0,8 %) (García *et al.*, 2015; Lopéz, 2012; Lopéz *et al.*, 2019).

Cabe destacar, que también existen investigaciones que mencionan el empleo de un medio líquido; caracterizado por estar constituido por sales MS, sacarosa (3%) y fitohormonas, pero en ausencia de agar; y que según lo reportado por Albany *et al.* (2015), este medio es más sencillo y satisfactorio que el sólido, ya que existen altas posibilidades de automatizar el proceso a partir del empleo de sistemas estacionarios o en agitación.

En el primer sistema, es decir, en el estacionario, aumenta el crecimiento y regeneración de los brotes, reduciendo los costos de energía, fitohormonas y sales de MS en el medio de cultivo, constituyéndose en una alternativa económicamente rentable para el sector agrícola, pues genera una tasa interna de retorno del 73,64% y una relación beneficio costo del 1,67% (Alamilla *et al.*, 2019). Por otro lado, en el sistema en agitación se emplea un rotador orbital que garantiza la oxigenación y distribución uniforme de nutrientes (Albany *et al.*, 2015). Siendo la hiperhidratación y vitrificación las principales dificultades, que son remediadas al emplear los sistemas de inmersión temporal (Rivera *et al.*, 2008).

Ante lo expuesto, en los párrafos anteriores, esta investigación se avocó a determinar la concentración de BAP (6-bencilaminopurina) y el tipo de sistema líquido (estacionario o agitación) más adecuado para la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* var. Cochacina “papa nativa”.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

El material biológico, estuvo constituido por plántulas *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. Cochacina, “papa nativa”, procedente del banco de germoplasma del Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos (IPACA) de la Universidad Nacional de Trujillo. La especie en estudio se reporta para Chugay, Sánchez Carrión, La Libertad, Perú; caracterizada por evidenciar tubérculos con cascara negra y pulpa de color morado con alto contenido en antocianinas (Gil *et al.*, 2019).

Tabla 1

Diseño para la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* var. Cochacina. “papa nativa”, en medio líquido estacionario y en agitación

Tratamiento	Medio líquido	MS (1962)	Sacarosa (%)	6-Bencilaminopurina (ppm)
T1	Estacionario	1x	3	0
T2	Agitación	1x	3	0
T3	Estacionario	1x	3	0,25
T4	Agitación	1x	3	0,25
T5	Estacionario	1x	3	0,5
T6	Agitación	1x	3	0,5

Preparación de medio líquido

Se empleó el medio basal de MS, suplementado con sacarosa y diferentes concentraciones de BAP (Tabla 1). Luego se dispuso 20 ml de medio de cultivo en frascos de vidrio de 250 ml, sellados con papel aluminio y esterilizados en autoclave a 120 °C y 14,7 libras por pulgada cuadrada (PSI) por 30 minutos.

Siembra de esquejes en medio líquido

Para ello, se seleccionaron plantas madre de *S. tuberosum* var. Cochacina procedentes del laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos-UNT, en base a su estado de desarrollo, tomándose como parámetro la presencia de 5-6 nudos por plántula. Seguidamente, en la cámara de flujo laminar, previa esterilización del ambiente y del instrumental, se procedió a tomar los esquejes, directamente del material vegetal sin necesidad de desinfectarlos por ser de procedencia *in vitro*, a los cuales se eliminó el ápice y raíz de cada planta madre, para luego ser introducidos en los frascos de vidrio de 250 ml que contenían el medio líquido.

Acondicionamiento y evaluación

Los frascos con los esquejes fueron llevados al cuarto de incubación, donde los tratamientos T1, T3 y T5 fueron colocados en el sistema estacionario mientras que los tratamientos T2, T4 y T6 en el sistema en agitación sobre el rotador orbital a 81 revolución por minuto. Al área del experimento se acondicionó con fluorescentes luz de día, con una intensidad de flujo de fotones fotosintéticos de 30-

40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad, a una temperatura de $18 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ y humedad relativa del 85 %. Para la evaluación del parámetro altura, se empleó vernier con una escala de medición comprendida entre 0 a 150 mm; mientras que para el parámetro número de tallos, se contabilizó su número a los 20 días después de la siembra.



Figura 1. Plántulas de *S. tuberosum* var. Cochacina “papa nativa”, en medio cultivo líquido estacionario y 0 ppm de BAP, a los 20 días de siembra.

Análisis estadístico

El diseño estadístico fue completamente aleatorizado con 60 esquejes (unidades experimentales) distribuidas en 2 repeticiones por tratamiento.

Para el análisis de los parámetros altura y número de tallos, en relación con los factores medio líquido estacionario y en agitación, se empleó la prueba ANOVA de dos factores con replicas, mediante el software estadístico R.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Referente a los resultados del Anova Bifactorial, el medio de cultivo líquido estacionario o en agitación en presencia o en ausencia de la 6-bencilaminopurina, no demostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas, debido a que el valor p de significancia de los parámetros altura y número de tallos es mayor que 0,05 (Tablas 3 y 4).

Tabla 2

Resultados de la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* var. Cochacina “papa nativa”, en medio líquido estacionario y en agitación

Tratamiento Medio/ BAP (ppm)	Número de tallos promedio	Altura promedio (cm)
Estacionario/0	15,00	5,80
Agitación /0	11,33	3,70
Estacionario/0.25	13,00	5,10
Agitación /0.25	13,67	4,47
Estacionario/0.5	11,00	4,67
Agitación /0.5	11,33	4,20

En el caso del medio de cultivo líquido en agitación, a pesar de que se brindó aireación adecuada a los tejidos y células se evidenció plántulas con apariencia vidriosa, hojas traslucidas y una leve distorsión en el tallo, lo cual es indicador de cierto grado de hiperhidratación y vitrificación en los

tejidos, como producto de la necesidad de regular el pH y el balance hormonal (Albany *et al.*, 2015; García *et al.*, 2019; Igarza *et al.*, 2012; Jáuregui y Chávez, 2006).

Tabla 3

Anova Bifactorial, para la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* “papa nativa”, en medio líquido estacionario y en agitación sobre el número de tallos

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Concentración	2	17,44	8,722	0,588	0,571
Medio	1	3,56	3,556	0,240	0,633
Concentración: Medio	2	17,44	8,722	0,588	0,571
Residuales	12	178,00	14,833		

Tabla 4

Anova Bifactorial, para la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* L. “papa nativa”, en medio líquido estacionario y en agitación sobre la altura promedio

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Concentración	2	0,448	0,224	0,088	0,916
Medio	1	5,120	5,120	2,018	0,181
Concentración: Medio	2	2,423	1,212	0,477	0,632
Residuales	12	30,453	2,538		

El tratamiento T1, referente al medio de cultivo líquido estacionario y 0 ppm de BAP obtuvo el mayor número promedio de tallos (15) y la mayor altura promedio de plántula (5,8 cm) en *S. tuberosum* var. Cochacina “papa nativa” (Tabla 2 y Figura 1). Estos resultados se corroboran con la investigación de Igarza *et al.* (2012) y Tapia *et al.* (2017), quienes afirman haber obtenido plántulas vigorosas respecto a la altura y número de segmentos nodales en variedades comerciales de *S. tuberosum*. De la misma manera Albany *et al.* (2015), afirman haber obtenido plántulas de mayor longitud en menor tiempo. Sin embargo, Igarza *et al.* (2015), sostienen haber obtenido plántulas de *S. tuberosum* var. “andinita” con una altura superior a los 25 cm y 10 entrenudos por plántula al emplear medio de cultivo líquido combinado la condición estacionaria y en agitación en un biorreactor.

Por otro lado, los resultados obtenidos para la propagación de *S. tuberosum* var. Cochacina en medio de cultivo líquido nos permiten afirmar que no es necesario la incorporación de fitohormonas; hecho que concuerda con lo reportado por Araque *et al.* (2018), quienes informaron lo mismo en variedades comerciales de *S. tuberosum*. Mientras que López *et al.* (2019), empleando *S. tuberosum* var. Maria Reich reportaron que el efecto de fitohormonas es débil, pudiendo propagarse sin la necesidad de la misma. Por lo contrario, López (2012), informa que el empleo de 0,25 ppm ácido giberélico en el medio de cultivo permite obtener una diferencia mínima en el parámetro altura de plántula. Siendo importante considerar el factor temperatura y genotipo de la variedad al momento de la evaluación, debido a la existencia de diferentes repuestas (García *et al.*, 2015).

CONCLUSION

La 6-Bencilaminopurina a 0 ppm y el sistema de cultivo líquido estacionario es el más adecuado

para la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* var. Cochacina “papa nativa”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araque, E.; Bohórquez, M.; Pacheco, J.; Correa, L.; Urquijo, J.; Castañeda, S.; Pacheco, J. 2018. Propagación y tuberización *in vitro* de dos variedades de papa. Ciencia en Desarrollo 9(1): 21-31.
- Albany, N.; Vilchez, J.; León, S.; Nava, A.; Martínez, L.; Molina, M. 2015. Medios de cultivo líquidos: un avance para la micropropagación comercial de zábila (*Aloe barbadensis* Mill.). Revista Colombiana de Biotecnología, 17(1): 24-31.
- Alamilla, J.; Caamal, J.; Criollo, M.; Vera, J.; Reyes, J. 2019. Biofábricas y biorreactores de inmersión temporal: Propagación *in vitro* de *Anthurium andreaeanum* L., y su viabilidad económica. Agro Productividad 12(10): 23-29.
- Galindo, L.; Alatorre, J.; Reyes, O. 2015. Adaptación al cambio climático a través de la elección de cultivos en Perú. El Trimestre Económico 82(327): 489-519.
- García, J.; Azofeifa, J.; Solano, F.; Orosco, R. 2019. Effect of two cytokinins and a growth inhibitor on the *in vitro* tuberization of two genotypes of *Solanum tuberosum* L.cvs. Atlantic and Alpha. Uniciencia 33(2): 1-12.
- García, L.; Rodríguez, M.; La, O.; M.; Pérez, M.; Alvarado, Y.; De Fera, M.; Veitía, N.; Mirabal, D.; Castillo, J. 2015. Propagación *in vitro* de variedades cubanas de *Solanum tuberosum* L. ‘Yuya’, ‘Marinca’, ‘Grettel’ e ‘Ibis.’ Biotecnología Vegetal 15(2): 75-83.
- Gil, E.; López, E.; Mostacero, J.; De la Cruz, J. 2019. Papas nativas con potencial antioxidante, cultivadas en el norte del Perú. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 18(3): 289-324.
- Hernández, A.; Diaz, H. 2019. Inducción *in vitro* de callo embriogénico a partir del cultivo de anteras en “papa amarilla” *Solanum gonocalyx* Juz. & Bukasov (Solanaceae). Arnaldoa 26(1): 277-286.
- Igarza, J.; Agramonte, D.; Alvarado, Y.; De Fera, M.; Pugh, T. 2012. Empleo de métodos biotecnológicos en la producción de semilla de papa. Biotecnología Vegetal 12(1): 3-24.
- Igarza, J.; De Fera, M.; Alvarado, Y.; Pugh, T.; Jaime, J.; Pérez, M.; San Roman, M.; Agramonte, D. 2015. Efecto del tipo de explante y la frecuencia de inmersión en la producción de microtubérculos de papa cv. ‘Andinita’ en Sistemas de Inmersión Temporal. Biotecnología Vegetal 15(2): 105-114.
- Inostroza, J.; Méndez, P.; Espinoza, N.; Acuña, I.; Navarro, P.; Cisternas, E.; Larrain, P. 2017. Manual del cultivo de la papa en Chile. Santiago, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) (Eds.).
- Jáuregui, J.; Chávez, N. 2006. Glosario de Biotecnología. México: Universidad Autónoma de Aguascalientes (Eds.).
- López, S.; Mostacero, J.; Gil, E.; López, A.; De la Cruz, J. 2019. Efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche. Rebiol 39(1): 1-9.
- López, S. 2012. Conservación *in vitro* de germoplasma de papas nativas de pulpa de color de la Región La Libertad. Rebiol 32(1): 11-16.
- Rajaratnam, E.; Narpinder, S.; Shagun, S.; Amritpal, K. 2013. Beneficial phytochemicals in potato - a review. Food Research International 50(2): 487-496.
- Rivera, Á.; Valbuena, R.; Hidalgo, R.; Moreno, J. 2008. Microtuberización *in vitro* de siete accesiones de papa de la colección central colombiana. Acta Agronómica 57(3): 175-180.
- Rodríguez, L. 2010. Origen y evolución de la papa cultivada. Una revisión. Agronomía Colombiana 28(1): 9-17.
- Pradel, W.; Gatto, M.; Hareau, G.; Pandey, S.; Bhardway, V. 2019. Adoption of potato varieties and their role for climate change adaptation in India. Climate Risk Management 23(1):114-123.
- Salas, D.; Tovalino, S. 2018. Obtención de antocianinas de papa nativa “yawar wayku” (*Solanum stenotomum*) para la elaboración de un colorante natural aplicable a alimentos. Tesis para optar el título Profesional de Ingeniero Agroindustrial y Agronegocios, Universidad San Ignacio de Loyola. Lima, Perú.
- Seminario, J.; Seminario, A.; Domínguez, A.; Escalante, B. 2017. Rendimiento de cosecha de diecisiete cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.) del grupo Phureja. Scientia Agropecuaria 8(3): 181-191.
- Suárez, S.; Neptalí, A.; Trabucco, J.; Sanabria, O. 2014. Polifenoles, micronutrientes minerales y potencial antioxidante de papas nativas. Revista de la Sociedad Química del Perú 80(2): 108-114.
- Tapia, M.; Lorenzo, J.; Mosqueda, O.; Escalona, M. 2017. Obtención de microtubérculos y minitubérculos como semilla pre-básica en tres cultivares peruanos de papa. Biotecnología Vegetal 17(3): 161-169.
- Tirado, R.; Tirado, R.; Mendoza, J. 2018. Interacción genotipo x ambiente en rendimiento de papa (*Solanum tuberosum* L.) con pulpa pigmentada en cutervo, Perú. Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences 34(3):191-198.
- Tirado, R.; Tirado, R. 2018. Comportamiento de parámetros biométricos de clones para la obtención de papa baby con pulpa pigmentada. Scientia Agropecuaria 9(3): 401-410.
- Tonconi, J. 2015. Producción agrícola alimentaria y cambio climático: un análisis económico en el departamento de Puno, Perú. Idesia 33(2): 119-136.