

# Efecto del PECTIMORF® en la germinación *in vitro* del polen de papa (*Solanum tuberosum*).

## Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de una mezcla de oligogalacturónidos, en la germinación *in vitro* del polen en un grupo de genotipos de papa (*Solanum tuberosum*). Los experimentos fueron realizados en el área central del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) en el Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Genética y Mejoramiento de Plantas. La colecta de las flores se realizó en horas tempranas de la mañana en el momento de la antesis, los genotipos utilizados fueron: Atlantic, Sebastian y 11/18/96. Se puso de manifiesto que al añadir el Pectimorf® se logró la germinación *in vitro* de los granos de polen y aumentó la longitud del tubo polínico dando un estimado más confiable de la viabilidad.

Palabras clave: Papa, *Solanum tuberosum*, polen, germinación *in vitro*, oligogalacturónidos.

## 1. Introducción

La Papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los cultivos más importantes después de los cereales, ocupando un lugar preferencial en muchos países con un gran número de habitantes (1, 2).

En Cuba, el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas desde hace décadas viene desarrollando un Programa de Mejora Genética con vistas a lograr variedades cubanas de Papa adaptadas a nuestras condiciones tropicales (3).

En el cultivo de la Papa, los estudios de fertilidad del polen son de considerable valor en los trabajos

de mejoramiento genético, pues permiten conocer la viabilidad y germinación del polen de los diferentes genotipos, aspectos de gran importancia para los trabajos de hibridación (4). Se han utilizado diferentes métodos de análisis de calidad del polen, que se pueden agrupar en: tinciones morfológicas, germinación *in vitro* y los basados en el desarrollo del tubo polínico (7).

El éxito de las hibridaciones depende en gran medida de la capacidad del polen para germinar y de las condiciones ambientales durante la formación, el desarrollo y la maduración del polen (5), por lo que se hace necesario desarrollar métodos de evaluación de la fertilidad del polen confiable, de rápida ejecución y económico.

A nivel mundial se conoce de la presencia de un grupo de sustancias activas que influyen en el crecimiento y la diferenciación celular de las diferentes especies vegetales, los oligogalacturónidos (OGs) es un ejemplo de ellas (8); el Pectimorf®, es una mezcla de oligogalacturónidos obtenido en el Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), La Habana, Cuba. Según Cabrera (2002), el Pectimorf® se obtiene a partir de la pectina cítrica, el cual se caracteriza por presentar un grupo carboxílico terminal que define su grado de polimerización entre 7 y 16.

Por esta razón, el trabajo se realizó con el objetivo de evaluar el efecto del Pectimorf® en la evaluación de la fertilidad del polen, principalmente mediante el método de germinación *in vitro* del polen de papa (*Solanum tuberosum*).

## 2. Materiales y Métodos

### Colecta de las flores y extracción del polen.

Se recolectaron flores frescas de tres genotipos de papa (Atlantic, Sebastián y 11/18/96) (Tabla 1). La colecta de flores se realizó alrededor de las 10:00 am, en el momento de la antesis. Las flores se dejaron secar a temperatura ambiente; con ayuda de un vibrador eléctrico se procedió a la extracción del polen.

Varietal y/o clones	Procedencia
Atlantic	Canadá
Sebastián	Inglaterra
11 - 18 - 96	Clon Cubano

TABLA 1. VARIETALES COMERCIALES Y CLONES UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO

### 2.3. Germinación “in vitro”.

Se utilizó como medio de germinación control: sacarosa 12 %,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  300  $\text{mgL}^{-1}$ ,  $\text{MgSO}_4$  200  $\text{mgL}^{-1}$ ,  $\text{KNO}_3$  100  $\text{mgL}^{-1}$ , ácido bórico 100  $\text{mgL}^{-1}$ , pH=6 y las variantes experimentales según muestra la Tabla 2. Se colocaron en eppendorf 100 ul del medio líquido, se añadió el polen fresco de los genotipos con la punta de una aguja y se pusieron inmediatamente en agitación en zaranda a 100 rpm a temperatura ambiental por un período de 2 horas. Transcurrido ese tiempo a las muestras se les agregó de una a dos gotas de acetocarmin al 1 %, con el objetivo de detener el proceso de crecimiento de los tubos polínicos.

Los conteos se efectuaron en un total de cinco campos por preparaciones realizadas y sólo se consideraron aquellos granos de polen que emitían un tubo con una longitud mayor o igual al diámetro del polen (9), además se midió la longitud del tubo polínico en micrones ( $\mu\text{m}$ ) y el área del grano de polen ( $\text{mm}^2$ ). Para las observaciones, conteo y fotografiado de los granos de polen germinados se empleo un microscopio óptico Motic con aumento de

Medios	Combinaciones
<b>MEDIO 1 (Cotrol)</b>	sacarosa 12 %, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 300 $\text{mgL}^{-1}$ , $\text{MgSO}_4$ 200 $\text{mgL}^{-1}$ , $\text{KNO}_3$ 100 $\text{mgL}^{-1}$ , ácido bórico 100 $\text{mgL}^{-1}$ , pH=6
<b>MEDIO 2</b>	sacarosa 12 %, PECTIMORF 5 $\text{mgL}^{-1}$ , ácido bórico 100 $\text{mgL}^{-1}$ , pH=6
<b>MEDIO 3</b>	sacarosa 12 %, PECTIMORF 10 $\text{mgL}^{-1}$ , ácido bórico 100 $\text{mgL}^{-1}$ , pH=6
<b>MEDIO 4</b>	sacarosa 12 %, PECTIMORF 15 $\text{mgL}^{-1}$ , ácido bórico 100 $\text{mgL}^{-1}$ , pH=6

TABLA 2. MEDIOS EMPLEADOS EN LA GERMINACIÓN *IN VITRO* DE LOS GRANOS DE POLEN DE LOS DIFERENTES GENOTIPOS DE PAPA. FATIAM NOSSIL TRUM

100x, acoplado a una cámara fotográfica con visualización en la computadora mediante el programa Motic Imagen.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con tres repeticiones. Los datos de germinación de los granos de polen, se les aplicó un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA), realizado mediante el paquete estadístico SPSS 11.5. En caso de existir diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, se compararon a través del Test de Rangos Múltiples de Duncan.

## 3. Resultados

Al analizar el efecto del Pectimorf® en la germinación *in vitro* del polen en cada medio (Tabla 3), se pudo observar un efecto similar en todos los genotipos empleados siendo el Medio 2 favorable para la germinación del polen en las diferentes variedades ya que posee la menor cantidad de elementos en su composición. Este resultado pudo estar dado porque las dosis empleadas del Pectimorf® fueron capaces de provocar el balance hormonal endógeno adecuado para inducir el incremento del proceso de división celular y finalmente la germinación *in vitro* del polen.

En sentido general, el tipo de medio empleado no influyó de manera significativa en la germinación de los granos de

Medios	Variedades		
	Atlantic	Sebastián	11/18/96
Medio 1	18.63a	69.23b	95.24a
Medio 2	16.02b	71.05a	95.00a
Medio 3	16.63b	73.22a	96.24a
Medio 4	15.71b	72.55a	94.83b
ESX	1.23*	2.04*	0.89*

\*\*\* Significativo para  $p < 0.001$

Medias con letras en común no presentan diferencias significativas según prueba de Duncan para  $p < 0.05$

TABLA 3. EFECTO DEL PECTIMORF® EN EL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN *IN VITRO* DEL POLEN EN LOS DIFERENTES GENOTIPOS DE PAPA.

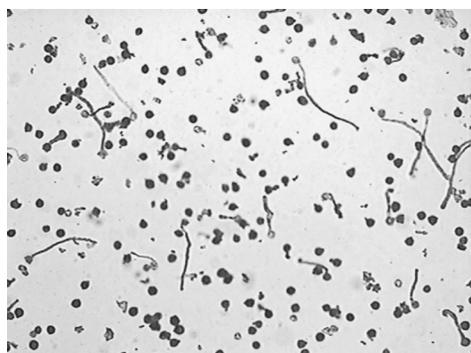
Medios	Área del grano de polen (mm <sup>2</sup> )	Longitud del tubo polínico (μmm)
<b>Atlantic</b>		
Medio 1	0.0165	0.42006
Medio 2	0.0154	0.73808
Medio 3	0.0160	0.67724
Medio 4	0.0165	1.01422
<b>Sebastián</b>		
Medio 1	0.0148	0.71668
Medio 2	0.0139	0.60058
Medio 3	0.0156	0.52962
Medio 4	0.0145	0.25806
<b>11/18/96</b>		
Medio 1	0.0154	0.68002
Medio 2	0.0135	0.72838
Medio 3	0.0140	0.46588
Medio 4	0.0157	0.67226

TABLA 4. MEDICIONES DEL DIÁMETRO DEL POLEN Y LONGITUD DEL TUBO POLÍNICO DE LOS GRANOS DE POLEN DE PAPA GERMINADOS EN LOS DIFERENTES MEDIOS.

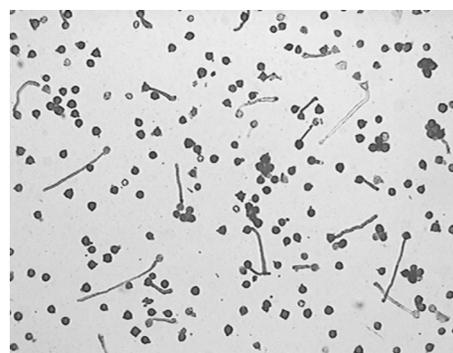
polen de Papa, lo cual demuestra que el producto utilizado no favorece la germinación por lo que podemos emplearlo como sustituto de las sales inorgánicas empleadas comúnmente en el establecimiento de esta técnica.

En la Tabla 4, se aprecian las mediciones del diámetro

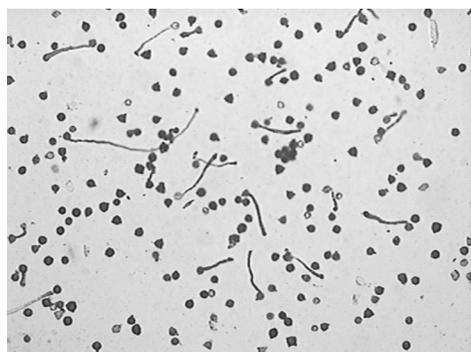
del polen y longitud del tubo polínico de los diferentes genotipos de papa. En sentido general, los genotipos sugieren un comportamiento similar en los diferentes medios (Figura 1), los valores superiores de longitud del tubo polínico fueron encontrados en el Medio 1 y Medio 2,



Medio 1 (Control)



Medio 2 (5 mgL<sup>-1</sup> de Pectimorf®)



Medio 3 (10 mgL<sup>-1</sup> Pectimorf®)



Medio 4 (15 mgL<sup>-1</sup> Pectimorf®)

FIGURA 1. EFECTO DEL PECTIMORF® EN LA GERMINACIÓN "IN VITRO" DEL POLEN EN PAPA (SOLANUM TUBEROSUM VAR. 11/18/96).

este último corresponde al medio que posee el Pectimorf® en la concentración más baja (5 mgL<sup>-1</sup>) como sustituto de las sales inorgánicas que se importan en el país.

En todos los casos la longitud del tubo polínico es mayor que el diámetro del grano de polen, lo cual coincide con (5, 10), quienes señalan como granos de polen germinados sólo aquellos que emitan un tubo con una longitud mayor o igual al diámetro del polen. El genotipo Atlantic mostró el mayor valor de longitud del tubo polínico en el medio 4 (15 mgL<sup>-1</sup> Pectimorf®), al parecer en la mayoría de los casos este producto favorece notablemente el crecimiento de los tubos polínicos.

El método más usado para determinar la viabilidad del polen es la germinación *in vitro* (11, 12), pues es un método más directo y aporta resultados confiables en los estudios de fertilidad del polen.

Se puede decir, que por primera vez en Cuba se emplea Pectimorf®, mezcla de oligogalacturónidos GP 7- 16, en la germinación *in vitro* del polen de papa (*Solanum tuberosum*). El empleo de esta sustancia en los medios de germinación del polen de papa favorece los procesos de división celular favoreciendo el crecimiento del tubo polínico factor vital en los estudios de estimación de la viabilidad de polen, además, al emplear esta sustancia de producción nacional se pueden sustituir las sales de importación comúnmente empleadas. Se recomienda utilizar para la estimación de la germinación del polen en papa el medio que contiene: Sacarosa 12%, Acido Bórico 100 mgL<sup>-1</sup>, Pectimorf® 5 mgL<sup>-1</sup>, PH 6. 

**Lorenzo Suárez<sup>1</sup>, Yanelis Castilla<sup>2</sup>, Ma. Margarita**

**Hernández<sup>3</sup>, Jorge L Salomón<sup>4</sup>, Ana Estévez<sup>5</sup>,**

**Odalys Céspedes<sup>6</sup> y Beatriz Araujo<sup>7</sup>.**

<sup>1y3</sup>Investigador Agregado, <sup>2</sup>Investigador,

<sup>3y5</sup>Investigadora Titular, <sup>6y7</sup>Técnica Agrónoma.

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba.

## Bibliografía

Estévez, A

2001. AJIBA: una nueva variedad de papa para la agricultura cubana. Cultivos Tropicales, 2001, vol. 22, no. 3, p. 85- 88.

Castillo, J.

2003. Behavior of crosses among potato (*S. tuberosum* L) tetraploid parents to be used in a Cuban true potato seed program. Cultivos Tropicales. 2003, vol. 24, no. 2, p. 71- 75.

Estévez, A

1985. Estudio de la viabilidad del polen en cinco variedades de papa (*S. tuberosum*). Cultivos Tropicales. 1985, vol.7, no. 3. p. 75-80.

González, M.E.; Estévez A.

1991. Porcentaje de fertilidad del polen en especies y variedades de la papa. Cultivos Tropicales. 1991, vol. 12, no. 1. p. 5-7.

González, M. E.

1999. Métodos para la evaluación de la calidad del polen en Papa (*Solanum tuberosum* L). Cultivos Tropicales. 1999, vol 20, no. 2. p. 63- 67.

Salomón, J. L.

2004. Estudio de diferentes progenitores para la obtención y evaluación de progenies híbridas de Papa (*Solanum tuberosum*, L.). Cultivos Tropicales. 2004, vol. 25, no. 4. p. 83-88.

González, M.E.; Estévez A. ; Rodríguez T.; Álvarez M

1992. Estudio de la fertilidad del polen en especies de papa. Cultivos Tropicales. 1992, vol.3, no. 1. p. 70-73.

Cabrera, J. C.

1999. Obtención de una mezcla de (1- 4)- D Oligogalacturónidos activos a partir de subproductos de la industria citrícola. Tesis de Grado. (Dr. en Ciencias Químicas). INCA. 99p.

Singh, I.; Shono, M.

2003. Effect of 24- epibrassinolide on pollen viability during heat- stress in tomato. Indian Journal of Experimental Biology, vol. 41, February 2003, pp. 174- 176.

Ramanna, M. S.; Hersen J.G.

1974. Unilateral Sterility in reciprocal crosses. Euphytica. 23: 417- 421.

Porta, N.; Roselli G.

1991. Relationship between pollen germination *in vitro* and fluorochromatic reaction in cherry clone F(121) (*Phumus avium* L.) and some of its mutants. Journal of Horticultural Science. 66(2): 171-175.

González, M.E.

1999. Métodos para la evaluación de la calidad del polen en Papa (*Solanum tuberosum* L). Cultivos Tropicales. 1999, vol. 20, no. 2. p. 63- 67.