

Efecto del intercambio gaseoso sobre el crecimiento y tuberización de vitroplantas de papa

Gaseous exchange effect on growth and tuberization of potato vitroplants

J.G. Lugo G^{1.}, N. Mogollón^{1.}, Z.F. Rodríguez G.^{2.} y J.G. Díaz^{1.}

¹Fitotecnia, Decanato de Agronomía, UCLA. Apdo. 400. Barquisimeto, Venezuela.

²Departamento de Agronomía, Facultad de Agronomía de LUZ. Apartado Postal 526, Maracaibo, Venezuela.

Resumen

La incorporación de microtubérculos de papa es una alternativa importante en los programas de producción de semilla en Lara, Venezuela. Para estudiar los factores que afectan la obtención de microtubérculos, se evaluaron vitroplantas de papa, sometidas a tres condiciones de intercambio gaseoso: alta (tapas de gasa), media (tapa plástica) y baja (tapa sellada con envoltura plástica), sembrando bajo condiciones estériles dos microesquejes uninodales con una yema axilar, de las variedades Andinita y Kennebec. El diseño fue completamente al azar bajo arreglo factorial 2 (variedades) x 3 (intercambio gaseoso), 10 repeticiones y dos unidades experimentales (vitroplantas). Las variables evaluadas fueron: 30 días posterior a la siembra se evaluó: longitud de vitroplantas, número de entrenudos y biomasa fresca y 60 días posterior a inducción de tuberización: número, biomasa y distribución porcentual en tamaño de microtubérculos. Las condiciones de intercambio gaseosos no afectaron la longitud de vitroplantas. El mayor número de entrenudos en ambas variedades se observó en condiciones de bajo intercambio gaseoso. Al favorecer las condiciones de intercambio se incrementó la biomasa, Andinita presentó un mayor promedio de masa fresca (442,15 mg). En condiciones de bajo intercambio gaseoso no hubo formación de microtubérculos en ninguna variedad, la mayor cantidad de microtubérculos (1,62) se observó en Kennebec bajo alto intercambio y en esta misma variedad más del 60% de los microtubérculos producidos fueron clasificados en la categoría de 5 a 10 mm, en condiciones de medio intercambio gaseosos. La mayor biomasa de microtubérculos lo registró la variedad Andinita

Recibido el 20-6-2007 • Aceptado el 21-4-2009

Autor de correspondencia e-mail: zulrodriguez@luz.edu.ve; zuliro@hotmail.com

(0,683 g) en condiciones de alto intercambio. Las vitroplantas presentaron reducido crecimiento de las hojas y epinastía en condiciones de bajo intercambio gaseoso.

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, intercambio gaseoso, microtuberización, CO₂.

Abstract

Potato microtubers incorporation offers an important alternative to the seed programs in Lara state, Venezuela. To determine factors affecting microtubers production, two uninodal micro-cuttings with an axillary bud of "Andinita" and "Kennebec" varieties were sowed under sterile conditions, with the aim of evaluating potato vitroplants submitted to three conditions of gaseous exchange: high (gauge top), medium (plastic lid) and low (plastic lid sealed with a clear plastic paper). The design was a complete randomized factorial design 2 (varieties) x 3 (gaseous exchange), 10 replications and two experimental units (vitroplants). The evaluated variables were: 30 days after sowing: vitroplants length, internodes number and fresh biomass; and 60 days after tuberization induction: number, biomass and percentage distribution of the micro-tubers size. Gaseous exchange conditions did not affect the vitroplants length. The higher inter-nodes number in both varieties was observed in low gaseous exchange conditions. When favoring exchange conditions, biomass increased, "Andinita" showed a higher fresh mass average (442.15 mg). In conditions of low gaseous exchange there was no micro-tubers formation any variety, the higher micro-tubers quantity (1.62) was observed in "Kennebec" under high exchange conditions and in this same variety, more 60% of produced micro-tubers were classified into 5 to 10 mm category, in gaseous exchange media. The higher micro-tubers biomass was registered in "Andinita" variety (0.683 g) in high exchange conditions. Vitroplants showed a reduced leaves growth and epinasty in low gaseous exchange conditions.

Key words: *Solanum tuberosum*, gaseous exchange, microtuberization, CO₂.

Introducción

En América Latina la papa (*Solanum tuberosum* L.), ocupa el sexto lugar en términos de producción entre los cultivos alimenticios (Scott *et al.*, 2000). Comercialmente la papa se propaga vegetativamente por tubérculos-semillas; sin embargo, emplear el material vegetativo por ciclos repetidos puede ocasionar degenera-

Introduction

In Latin America, potato (*Solanum tuberosum* L.), occupies the sixth place in production between food crops (Scott *et al.*, 2000). Potato is commercially propagated in a vegetative way through tubers-seeds; however, to use the vegetative material by repeated cycles can cause crop degeneration because disease

ción del cultivo por la acumulación de enfermedades, especialmente virales (Scherwinski y Luces, 2004).

Uno de los problemas a los que se enfrentan los productores de papa en Venezuela es la limitación en la disponibilidad de semilla de buena calidad, por lo que la producción de semilla, a través de la micropropagación permite una multiplicación rápida de clones en un tiempo relativamente corto, libres de plagas y enfermedades y en un ambiente controlado (Barquero *et al.*, 2001) lo que podría constituir una alternativa viable para resolver la demanda de semillas. Este método de propagación ha sido utilizado en forma creciente los últimos años especialmente para la obtención de material de propagación de alta calidad fitosanitaria y por el consecuente beneficio para los productores, asociado con el consecuente aumento en la productividad del cultivo (Pereira y Fortes, 2003). Para tales fines se cultivan segmentos de tallos con dos o tres nudos en medio líquido o semisólido pudiéndose multiplicar varias veces hasta obtener el número de plántulas requeridas (Mejia y Vitorelli, 1988).

Las vitroplantas provenientes de microestacas nodales, tienen la capacidad de producir microtubérculos, los cuales se originan en forma aérea, (Lago, 1991; Martínez y Tissio, 1991; Harvey *et al.*, 1992; Ahloowalia, 1994). La microtuberización es considerada un proceso complejo por estar controlada por varios factores (Pereira *et al.* 2005), entre ellos, los componentes del medio de cultivo, reguladores del crecimiento y suplenencia de carbohidratos

accumulation, especially viral ones (Scherwinski and Luces, 2004).

One of problems that Venezuelan potato producers confront is limitation in seed availability of good quality that is why seed production through micropropagation permits a rapid multiplication of clones in a relative short time, pest and diseases free and in a controlled environment (Barquero *et al.*, 2001) that could constitute a viable alternative to resolve seeds requirement. This propagation method has been used in growing way the last years especially to obtain a high healthy quality propagation material and for the subsequent benefit for producers, associated to the later increase on crop productivity (Pereira and Fortes, 2003). Stems pieces with two or three nodes in liquid or semi-solid were cultivated, could be multiplied several times until obtaining the number of seedlings required (Mejia and Vitorelli, 1988).

Vitroplants coming from nodals micro cuttings, have the capacity to produce microtubers, which are originated in aerial way, (Lago, 1991; Martínez and Tissio, 1991; Harvey *et al.*, 1992; Ahloowalia, 1994). Microtuberization is considered a complex process by being controlled by several factors (Pereira *et al.*, 2005), among them, components of crop medium, growth regulators and carbohydrates supply as energy sources (Vespaciano and Campos, 2003). Other factors to be considered are the effective environment control in the *in vitro* culture (Zimmerman, 1995; Desjardins, 1995), light (Simmons *et al.*, 1989), photoperiod (Fujiwara *et*

como fuentes de energía (Vespaciano y Campos, 2003). Otros factores a considerar, son el control efectivo del medio ambiente en el cultivo *in vitro* (Zimmerman, 1995; Desjardins, 1995), luz (Simmons *et al.*, 1989), fotoperíodo (Fujiwara *et al.*, 1995) y temperatura (Harvey *et al.*, 1992).

Tradicionalmente los envases para el cultivo *in vitro* son diseñados para prevenir la entrada de contaminantes, ocasionando una restricción en el intercambio gaseoso entre el interior y exterior del envase; este bajo intercambio disminuye la concentración de CO₂ en el frasco durante el fotoperíodo como resultado de la fijación del mismo por el cloroplasto de los tejidos fotosintéticos; la baja concentración de CO₂ ocasiona poca fotosíntesis neta *in vitro* (Desjardins, 1995). La concentración de gases especialmente el CO₂ en los envases, tiende a cambiar rápidamente en el tiempo, dependiendo de la tasa de ventilación del mismo y de otros factores (Niu y Kosai, 1997).

En envases sellados con envoltura plástica transparente las vitroplantas presentan crecimiento irregular, alto porcentaje de vitrificación, así como, alta condensación debido a la alta humedad relativa dentro del envase (McClelland y Smith, 1990). Como consecuencia de esta situación es evidente que existe una respuesta del crecimiento de las vitroplantas con relación al sellado o no de los envases de cultivo. Considerando la importancia del cultivo y la poca información sobre el tema, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el crecimiento y la tuberización de vitroplantas de papa cultivadas en tres condiciones de intercambio gaseoso.

al., 1995) and temperature (Harvey *et al.*, 1992).

Traditionally, bottles for *in vitro* culture are designed to prevent the contaminants entry, causing a restriction in the gaseous exchange between interior and exterior of bottle; this low exchange diminish the CO₂ concentration in flasks during photoperiod as a result of fixation by the chloroplast of photosynthetic tissues; the low CO₂ concentration causes net *in vitro* photosynthesis (Desjardins, 1995). Gases concentration especially CO₂ in bottles, rapidly changes on time, depending on ventilation rate and other factors (Niu and Kosai, 1997).

In bottles sailed with transparent plastic wrapper, the vitroplants shows irregular growth, high vitrification percentage, likewise high condensation because the high relative moisture inside the bottle (McClelland and Smith, 1990). As a consequence of this situation is evident that there is a response of vitroplants growth in relation to the crop bottles sailed. Considering the crop importance and the little information about it, this research had as objective to evaluate growth and tuberization on potato vitroplants cultivated in three gaseous exchange conditions.

Materials and methods

This phase was carried out in the *In vitro* culture Laboratory, Agricultural Head Department, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", where there is a potato vitroplants group, pathogens-free of

Materiales y métodos

Esta fase se realizó en el Laboratorio de cultivo *in vitro* del Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", donde existe un plantel de vitroplantas de papa libres de patógenos de las variedades Andinita y Kennebec, procedentes del Laboratorio de cultivo *in vitro* del INIA-Lara. Se procedió a multiplicar el material inicial en frascos de 175 mL, colocando 10 microesquejes uninodales por frasco en medio semisólido (6 g L⁻¹ de agar) de Murashige y Skoog (MS) (Murashige y Skoog, 1962), sin reguladores de crecimiento bajo condiciones de fotoperíodo largo (16 horas) con luz artificial fluorescente (8000 lux) y temperatura de 24 ± 2°C en el día y 22 ± 2°C en la noche según la metodología de Harvey *et al.* (1992) y Orellana (1995), para mantenerlos en estado juvenil hasta obtener aproximadamente unas 400 vitroplantas.

Para evaluar el crecimiento de las vitroplantas y su tuberización bajo tres condiciones de intercambio gaseoso. Se utilizaron tubos de ensayos de 25 x 150 mm con tres diferentes tapas (de gasa, plástica "Bellco autoclavable" y plástica "Bellco autoclavable" + una envoltura plástica transparente con osmosis positiva), de manera que resultaran los siguientes tratamientos:

- Alto intercambio gaseoso (tapas de gasa)
- Mediano intercambio gaseoso (tapas plásticas)
- Bajo intercambio gaseoso (tapas plásticas selladas con envoltura plástica transparente)

varieties "Andinita" and "Kennebec", coming from the *In vitro* culture laboratory of INIA-Lara. The first material was multiplied into flasks of 175 mL, by placing 10 unimodal micro-cuttings by flask in semi-solid medium (6 g.L⁻¹ agar) of Murashige and Skoog (MS) (Murashige and Skoog, 1962), without growth regulators under long photoperiod (16 hours) conditions with artificial and fluorescent light (8000 lux) and temperature of 24 ± 2°C in day and 22 ± 2°C in night according to the Harvey *et al.* (1992) methodology and Orellana (1995), to keep them in youth stage until obtaining around 400 vitroplants approximately.

To evaluate vitroplants growth and its tuberization under three gaseous exchange conditions, essay tubes of 25 x 150 mm with three different lids (gauze, plastic "Bellco autoclavable" and plastic "Bellco autoclavable" + a transparent plastic wrapper with positive osmosis) were used:

- High gaseous exchange (gauze lids)
- Medium gaseous exchange (plastic lids)
- Low gaseous exchange (plastic lids sailed with transparent and plastic wrapper)

Variables evaluated during the essay were:

Vitroplants growth

Two unimodal micro-cuttings of 0.5 to 1 cm length with an axillary bud each were sowed in sterile conditions in essay tubes with 20 mL of semi-solid and modified medium to growth of "Andinita" and "Kennebec" varieties. The different lids were put

Las variables evaluadas durante el ensayo fueron:

Crecimiento de las vitroplantas

En tubos de ensayo con 20 mL de medio semisólido modificado para crecimiento, se sembraron bajo condiciones estériles dos microesquejes uninodales de 0,5 a 1 cm de longitud con una yema axilar cada uno, de las variedades Andinita y Kennebec. Se colocaron las diferentes tapas, que luego se ubicaron en una cámara de crecimiento con luz artificial fluorescente bajo fotoperíodo de 16 horas, con intensidad de 8000 lux y temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ en el día y $22 \pm 2^\circ\text{C}$ en la noche. Transcurridos 30 días se procedió a evaluar las siguientes variables de crecimiento:

Longitud: se midió tomando como referencia las cuadrículas de una lámina de papel milimetrado, la longitud desde el callo hasta la última yema terminal, en dos plantas tomadas al azar por tratamiento y por repetición previamente marcadas.

Número de entrenudos: se cuantificó el número de entrenudos por planta, empleando las mismas plantas a las cuales se les midió la longitud.

Biomasa fresca: se realizó un muestreo, para determinar el contenido de humedad de toda la planta, utilizando para ello todas las vitroplantas.

Tuberización

A los 35 días de crecimiento se procedió a inducir tuberización en vitroplantas desarrolladas bajo fotoperíodo de 16 horas e intensidad de luz de 8000 lux, adicionando medio de cultivo MS líquido con 80 g de

on and after they were placed on a growth chamber with fluorescent artificial light under photoperiod of 16 hours, with intensity of 8000 lux and temperature of $24 \pm 2^\circ\text{C}$ at day and $22 \pm 2^\circ\text{C}$ at night. The following growth variables were evaluated 30 days later:

Length: Taking as reference the graph paper grid, length was measured from callus to the last terminal bud, in two at random plants previously marked, by treatment and by replication.

Internodes number: It was quantified per plant, by using the same plants in which length was measured.

Fresh biomass: A sampling was carried out to determine the moisture content on the whole plant, by using all the vitroplants.

Tuberization

At 35 growth days, tuberization was induced in vitroplants developed under a photoperiod of 16 hours and light intensity of 8000 lux, adding liquid MS as a culture medium with 80 g of sucrose + 12 mg of benzylaminopurine (BA) under sterile conditions (Lugo, 1997). After, they were placed in a dark chamber with temperatures of $22 \pm 2^\circ\text{C}$. 60 cultivation days later, variables were harvested and evaluated:

Microtubers number: The tubers number by each vitroplant was quantified, in two at random plants taken by block and by treatment.

Biomass: All the microtubers produced by two vitroplants were weighed by using an analytical balance with appreciation to mg, its biomass and it was expressed in grams.

sacarosa + 12 mg de Benzilaminopurina (BA) bajo condiciones estériles (Lugo, 1997). Posteriormente se ubicaron en una cámara oscura con temperaturas de 22 ± 2°C. Transcurridos 60 días de cultivo, se procedió a cosechar y evaluar las variables:

Número de microtubérculos: se cuantificó el número de tubérculos por vitroplanta, en dos plantas tomadas al azar por bloque y por tratamiento.

Biomasa: todos los microtubérculos producidos por dos vitroplantas se pesaron empleando una balanza analítica con apreciación al mg, se promedió su biomasa y se expresó en gramos.

Distribución porcentual del tamaño de los microtubérculos: la producción total de microtubérculos se clasificó en tres categorías por diámetro: < 5 mm, 5 a 10 mm y > 10 mm, el diámetro se midió tomando como referencia una lámina de papel milimetrado.

El diseño estadístico fue un completamente al azar bajo un arreglo factorial 2 x 3 (dos variedades y tres intercambios gaseosos) con 10 repeticiones y dos unidades experimentales (vitroplantas) por tratamiento, tanto para crecimiento como para tuberización.

Para analizar las diferentes variables se utilizó el programa estadístico computarizado SAS (1998); los valores de las variables expresados en porcentaje fueron transformados de acuerdo a la ecuación $\sqrt{x+1}$. Se realizó análisis de varianza y separación de medias a través de la prueba de rango múltiple de Duncan. La tenden-

Percentage distribution of microtubers size: The total microtubers production was classified in three categories by diameter: 5 mm, 5 to 10 mm and > 10 mm, diameter was measured taking as reference a graph paper.

The statistical design was completely random under a factorial arrangement 2 x 3 (two varieties and three gaseous exchanges) with 10 replications and two experimental units (vitroplants) by treatment, for growth and tuberization.

The statistical program SAS (1998) was used to analyze the different variables; values of variables expressed in percentage were changed according to the equation $\sqrt{x+1}$. Analysis of variance and means separation were made through the Duncan multiple rank tests. Central tendency of results was expressed by the values mean and dispersion through the mean standard deviation.

Results and discussion

Vitroplants growth

Vitroplants length

Even though any significant effect of treatments and varieties on plants length, both species (table 1) showed a high development in conditions of high gaseous exchange, possibly because when CO₂ concentration increased photosynthesis was stimulated and subsequently the plants growth.

These results were in agreement with those reported by Jackson *et al.* (1991), who used hermetically closed bottles and bottles with high gaseous exchange, with and without mercury

cia central de los resultados se expresó por la media de los valores y la dispersión mediante la desviación estándar de la media.

Resultados y discusión

Crecimiento de las vitroplantas

Longitud de vitroplantas

Aún cuando no se detecto ningún efecto significativo de los tratamientos ni las variedades sobre la longitud de plantas, ambas especies (cuadro 1) tuvieron mayor desarrollo en condiciones de alto intercambio gaseoso, posiblemente debido a que al incrementarse la concentración de CO₂ se estimuló la fotosíntesis y con ello el crecimiento de las plantas. Estos resultados coincidieron con lo reportado por Jackson *et al.* (1991), quienes utilizando envases cerrados herméticamente y envases con alto intercambio gaseoso, con y sin perclorato de mercurio (absorbente de etileno), indicaron que, en los envases cerrados sin perclorato de mercurio (alto contenido de etileno), produjeron vitroplantas súper alargadas. La variedad Andinita reportó la mayor altura (5 cm), valores que fueron mayores a los reportados por Scherwinski y Luces (2004), quienes estudiando tres especies (Baronesa, Eliza y Pérola) cultivadas en medios semi-sólidos, sólo alcanzaron 0,65 cm en promedio y por Pereira *et al.* (2005), para el cultivar Baronesa quienes reportan 3,9 cm en promedio para explantes basales cultivados en medio semi-sólidos.

Número de entrenudos

En la variedad andinita se observó el mayor número de entrenudos

perchlorate (ethylene absorbent), said that in those closed bottles without mercury perchlorate (high ethano content), produced very enlarged vitroplants. "Andinita" variety reported the greater height (5 cm), values superior to those reported by Scherwinski and "Luces" (2004), who studied three species ("Baronesa", "Eliza" and "Pérola") cultivated in semi-solids medium, only reached 0.65 cm depth and by Pereira *et al.* (2005), for the "Baronesa" cultivar, reported 3.9 cm average for basal explants cultivated in semi-solids medium.

Internodes number

The higher internodes number was observed in the "Andinita" variety, in the gaseous exchange conditions, which can be related to a higher susceptibility of this variety to the restriction conditions in the gaseous exchange. In both varieties, the higher number of internodes was observed in the condition of low gaseous exchange (table 1). This could be related to the evident modifications in vitroplants development that occurred as a consequence of a restriction in the gaseous exchange, manifested through increases on internodes number and decrease of distance between them, as reported by Lai *et al.* (1998), who observed similar modifications in plants of *Carica papaya* submitted to several aeration treatments.

Fresh biomass

The "Andinita" variety showed a higher fresh biomass average (442,15 mg), under high gaseous exchange conditions respect to the "Kennebec" variety (314,75 mg).

en las tres condiciones de intercambio gaseoso, lo que podría relacionarse con una mayor susceptibilidad de esta variedad a las condiciones de restricciones en el intercambio gaseoso. En ambas variedades se observó el mayor número de entrenudos en la condición de bajo intercambio gaseoso (cuadro 1). Esto pudiera estar relacionado con las evidentes modificaciones en el desarrollo de las vitroplantas que ocurrieron como consecuencia de una restricción en el intercambio gaseoso, que se manifestó, en aumentos en el número de entrenudos y reducción de la distancia entre ellos, tal como lo reportaron Lai *et al.* (1998), quienes observaron similares modificaciones en plantas de *Carica papaya* sometidas a varios tratamientos de aireación.

Biomasa fresca

Bajo condiciones de alto intercambio gaseoso, la variedad Andinita presentó un mayor promedio de biomasa fresca (442,15 mg), con respecto a la variedad Kennebec (314,75 mg). Los resultados obtenidos coincidieron con lo observado por Wheeler *et al.* (1999) quienes al favorecer el intercambio gaseoso en vitroplantas de papa bajo una cámara de crecimiento controlado, reportaron incrementos importantes en la biomasa. Por otra parte, al restringir el intercambio gaseoso a medio y bajo, la biomasa fresca promedio en las dos variedades disminuyó progresivamente, pudiéndose observar que el descenso fue más acentuado para la variedad Andinita.

Las vitroplantas en condiciones de bajo intercambio gaseoso presentaron un reducido crecimiento de las hojas y éstas tuvieron epinastía, es

Results obtained agreed with those reported by Wheeler *et al.* (1999) who induced the gaseous exchange in potato vitroplants under a controlled growth chamber, reported important increases in biomass.

On the other hand, when gaseous exchange was restricted to medium and low, the average fresh biomass in two varieties decreased in a progressive way, could being observed that decrease was more marked for the "Andinita" variety.

Vitroplants in conditions of low gaseous exchange showed a growth reduced of leaves and these showed epinasty, it means, excentric increase on thickness of growth apex, with a later curved; these symptoms agreed with those reported by Lai *et al.* (1998) and Jackson *et al.* (1991), who observed a delay in growth and on leaves size, reduction of vitroplants biomass in 64%, stem diameter increased in 61% and epinasty in petioles, likewise, curving and enlarging in vitroplants of other species submitted to low gaseous exchange conditions.

Tuberization

Microtubers number

There was no micro tubers formation on low gaseous exchange conditions any of varieties (table 2). The higher micro tubers quantity was observed in "Kennebec" variety in high gaseous exchange conditions. On the other hand, when the gaseous exchange was restricted to low and medium, it was observed that the micro tubers number in the two varieties decreased in a progressive way, could being related with the reduction in the leaves sizes and also,

Cuadro 1. Longitud, número de entrenudos y biomasa fresca de vitroplantas de las variedades Kennebec y Andinita bajo tres condiciones de intercambio gaseoso.

Table 1. Length, internodes number and vitroplants fresh mass of "Kennebec" and "Andinita" varieties under three gaseous exchange conditions.

Variedad	Intercambio gaseoso	Longitud de vitroplantas (cm)	Número de entrenudos	Biomasa fresca de vitroplantas (mg)
Kennebec	Alto	4,84 Aa	6,4 B b ⁽²⁾	314,75 Ba
	Medio	4,81 Aa	5,75 Bc	274,5 Cb
	Bajo	4,30 Aa	7,6 Ba	260,7 Cb
Andinita	Alto	5,0 Aa	8,6 Ab	442,15 Aa
	Medio	4,19 Aa	6,5 Ac	188,55 Db
	Bajo	4,75 Aa	10,33 Aa	179,16 Db
P. ⁽¹⁾		ns	**	**
C.V. ⁽¹⁾ %		9,24	13,08	15,42
R ² ⁽¹⁾		0,06	0,41	0,51

⁽¹⁾Para valores transformados de acuerdo a la ecuación $\sqrt{x+1}$

⁽²⁾Medias con distintas letras difieren significativamente ($P < 0,05$) según la prueba de rango múltiple de Duncan. Las letras mayúsculas representan el efecto de las variedades y las minúsculas el intercambio gaseoso.

decir, aumento excéntrico en espesor del ápice de crecimiento, con posterior encorvado del mismo, estos síntomas coincidieron con lo reportado por Lai *et al.* (1998) y Jackson *et al.* (1991), quienes observaron retardo en el crecimiento y disminución del tamaño de las hojas, reducción de la biomasa de las vitroplantas en 64%, el diámetro del tallo se incrementó en 61%, y epinastía en los pecíolos, así como, encorvamiento y alargamiento en vitroplantas de otras especies, sometidas a condiciones de bajo intercambio gaseoso.

Tuberización

Número de microtubérculos

En condiciones de bajo intercam-

in the capacity of doing photosynthesis (Desjardins, 1995; Zimmerman, 1995).

Biomass

The higher biomass was registered by the "Andinita" variety with 0.683 g in high gaseous exchange conditions, this behavior pattern was repeated for the "Kennebec" variety, where in the same exchange conditions, biomass was higher in micro tubers with 4,451 g. This effect was in agreement with those reported by Wheeler and Tibbitis (1997) and Fujiwara *et al.* (1995), who attributed exchanges in biomass in conditions where gaseous exchange was favored. This effect could be related with a

bio gaseoso no hubo formación de microtubérculos en ninguna de las variedades (cuadro 2). La mayor cantidad de microtubérculos se observó en la variedad Kennebec en condiciones de alto intercambio gaseoso. Por otra parte se observó que al restringir el intercambio gaseoso a medio y bajo, el número de microtubérculos en las dos variedades disminuyó progresivamente, pudiéndose relacionar con la reducción en el tamaño de las hojas y la disminución en la capacidad de realizar la fotosíntesis (Desjardins, 1995; Zimmerman, 1995).

Biomasa

La mayor biomasa la registró la variedad Andinita con 0,683 g en condiciones de alto intercambio gaseoso, este patrón de comportamiento se repitió para la variedad Kennebec, donde en iguales condiciones de intercambio se observó la biomasa mayor de los microtubérculos con 4,451 g. Este efecto coincidió con lo reportado por Wheeler y Tibbitts (1997) y Fujiwara *et al.* (1995), quienes atribuyeron incrementos en la biomasa en condiciones donde se favoreció el intercambio gaseoso. Este efecto podría relacionarse con una mayor disponibilidad de CO₂ para realizar fotosíntesis neta (Desjardins, 1995) y como fuente de carbono fácilmente asimilable que estimuló el crecimiento y acumulación en los órganos de reserva, en condiciones donde se favoreció el intercambio gaseoso.

Distribución por tamaño de microtubérculos

La distribución por tamaño de los microtubérculos es un factor importante al momento de seleccionar la semilla tubérculo que va a ser em-

high CO₂ availability to do net photosynthesis (Desjardins, 1995) and as carbon source easily assimilated that stimulated growth and accumulation in those reserve organs, in conditions where the gaseous exchange was favored.

Microtubers size distribution

Micro tubers size distribution is an important factor at the moment of selecting the tuber seed that is going to be used as sowing material. In the "Kennebec" variety more 60% of micro tubers produced were classified in the category of 5 to 10 mm, in conditions of medium gaseous exchange (table 2), whereas for the "Andinita" variety the higher percentage was observed in micro tubers higher than 10 mm, in conditions of high gaseous exchange, that could be related to a varietal response associated to gaseous exchange conditions. The increase on micro tubers concentration in categories of 5 to 10 mm and higher than 10 mm in conditions of medium and high gaseous exchange, was related to the beneficial effect that showed the higher CO₂ availability to do the photosynthesis and therefore, to stimulate size of reserve organs, favorable conditions from the point of view of micro tubers use like propagation material, because in these categories where higher survival probabilities of micro tubers by seed were guaranteed.

Conclusions

The gaseous exchange conditions had a considerable effect on behavior of varieties evaluated, by

Cuadro 2. Características de los microtubérculos producidos bajo tres condiciones de intercambio gaseoso.

Table 2. Microtubers characteristics produced three gaseous exchange conditions.

Variedad	Intercambio gaseoso	Número	Biomasa (g)	Producción de microtubérculos por planta		
				< 5 mm	5 - 10 mm	> 10 mm
Kennebec	Alto	1,62 Aa ⁽²⁾	0,451 Ba ⁽²⁾	14,17 A b ⁽²⁾	41,25 Ab ⁽²⁾	44,58 Ba
	Medio	0,95 Ab	0,106 Bb	27,78 Ba	72,22 Aa	0,00 Bb
	Bajo	0,00 Ac	0,00 Ac	0,00 Ac	0,00 Ac	0,00 Ab
Andinita	Alto	1,5 Aa	0,683 Aa	5,00 Bb	26,67 Ba	68,33 Aa
	Medio	1,1 Ab	0,368 Ab	40,74 Aa	26,85 Ba	32,41 Ab
	Bajo	0,00 Ac	0,00 Ac	0,00 Ac	0,00 Ac	0,00 Ac
P ⁽¹⁾		**	**	**	**	**
C.V. ⁽¹⁾ %		17,81	6,79	21,62	24,26	20,29
R ² ⁽¹⁾		0,75	0,89	0,36	0,59	0,70

⁽¹⁾Para valores transformados de acuerdo a la ecuación arco seno \sqrt{x}

⁽²⁾ Medias con diferentes letras difieren significativamente (P<0,05) de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan.

pleada como material de siembra. En la variedad Kennebec más del 60% de los microtubérculos producidos fueron clasificados en la categoría de 5 a 10 mm, en condiciones de intercambio gaseoso medio (cuadro 2), mientras que para la variedad Andinita el mayor porcentaje se observó en los microtubérculos mayores de 10 mm, en condiciones de alto intercambio gaseoso, lo que podría estar relacionado con una respuesta varietal asociada a las condiciones de intercambio gaseoso. El aumento en la concentración de microtubérculos en las categorías de 5 a 10 mm y mayores de 10 mm en las condiciones de medio y alto intercambio gaseoso, se asoció con el efecto benéfico que tuvo la mayor disponibilidad de CO₂ para realizar fotosíntesis y con ello estimular el tamaño de los órganos de reserva, condiciones favorables desde el punto de vista de uso de los microtubérculos como material de propagación, ya que es en estas categorías donde se garantizó mayor probabilidades de supervivencia de los microtubérculos por semilla.

Conclusiones

Las condiciones de intercambio gaseoso tuvieron efecto considerable sobre el comportamiento de las variedades evaluadas, observándose que a mayor intercambio gaseoso, mayor fue la expresión varietal.

La variedad Andinita mostró plantas de mayor longitud y acumulación de biomasa fresca en vitroplantas y microtubérculos, mientras que, el mayor número de microtubérculos se presentó en la va-

being observed that when the gaseous exchange was higher, the varietal expression was also higher.

The "Andinita" variety showed plants of higher length and fresh biomass accumulation in vitroplants and micro tubers, whereas the higher number of micro tubers was observed in "Kennebec" variety, therefore, these genetic responses should be considered when selecting a variety.

When gaseous exchange was favored, the potato micro tubers size and also its survival possibilities increased when are used as propagation material.

End of english version

riedad Kennebec, por lo que, estas repuestas genéticas deben considerarse al seleccionar una variedad.

Al favorecer el intercambio gaseoso aumentó el tamaño de los microtubérculos de papa y con ello sus posibilidades de supervivencia al ser empleado como material de propagación.

Literatura citada

- Ahloowalia, B.S. 1994. Production and performance of potato mini-tubers. *Euphytica* 75:163-172.
- Barquero, M., L. Gómez, A. Brenes y R. Vaverde. 2001. El tamaño del pote en la producción de semilla prebásica de papa en invernadero. *Agronomía Costarricense* 25(1):61-66.
- Desjardins, Y. 1995. Photosynthesis *in vitro*- on the factors regulating CO₂ assimilation in micropropagation systems. *Acta Hort.* 393:45-59.

- Fujiwara, K., S. KIRA y T. Kozai. 1995. Contribution of photosynthesis to dry weight increase of *in vitro* potato culture under different CO₂ concentrations. *Acta Hort.* 393:119-126.
- Harvey, B.M.R., S.H. Crothers, S. Watson y H.C. Lee. 1992. Heat inhibition of tuber development in potato (*Solanum tuberosum* L.): effect on microtuber formation *in vitro*. *Potato Research* 35:183-190.
- Jackson, M.B., A.J. Abbot, A.R. Belcher, K.C. Hall, R. Butler y J. Cameron. 1991. Ventilation in plant tissue cultures and effects of poor aeration on ethylene and carbon dioxide accumulation, oxygen depletion and explant development. *Annals of Botany* 67:229-237.
- Lago, C.L. 1991. Cultivo de tejidos para la producción de semilla básica de papa. En: Roca W. y L.A. Mroghski. Cultivo de tejidos en la Agricultura, fundamentos y aplicaciones. IBP. CIAT. Cali. Colombia. 290 p.
- Lai, Ch., T. Yu, S. Yeh y J. Yang. 1998. Enhancement of *in vitro* growth of papaya multishoots by aeration. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 53:221-225.
- Lugo, J.G. 1997. Tuberización *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.) var. Andinita utilizando diferentes niveles de sacarosa y benziladenina (BA) con y sin poda de raíces. Trabajo de ascenso. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. 79 p.
- Martínez, L. y R. Tizzio. 1991. Interacción de glucosa con giberelinas sobre la tuberización de plantulas de papa (*Solanum tuberosum* L.) cultivadas "*in vitro*". *Phyton* 52(1):83-88.
- McClelland, M.T. y M.A.L. Smith. 1990. Vassel type, closure, and explant orientation influence *in vitro* performance of five woody species. *HortScience* 25:795-800.
- Mejia A., R. y C. Vitorelli. 1988. Cultivo "*in vitro*" de plantas de papa. Manual de Laboratorio. Lima, INIPA. IIIp.
- Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Niu, G. y T. Kozai. 1997. Simulatioin of CO₂ concentration in the culture vessel and growth of plantlets in micropropagation. *Acta Hort.* 467:37-43.
- Orellana, P., P.A. 1995. Producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L) mediante el uso de vitroplantas y microtubérculos. Instituto de Biotecnología de las plantas. Santa Clara. Villa Clara Cuba. 17 p.
- Pereira, J.E.S. y G.R.L. Fortes. 2003. Protocolo para produção de material propagativo de batata em meio líquido. *Pesq. Agropec. Bras.* Brasília 39(9):1035-1043.
- Pereira, J.E.S., R.B. de Franca, A.C. de M. Dantas y G.R.L. Fortes. 2005. Influência do número de gemas, presença ou ausência de folhas e posição do explante na multiplicação *in vitro* da batata. *Horticultura Brasileira* 23(1):86-89.
- Rodriguez-Otubo, B.M., J.A. Subverti F., W.J. Siquiera, E.T. Domingues, N. Prado G. y H. Da S. Miranda F. 1999. Despostas de difentes genotipos de batata a tuberization *in vitro*. *Bragantia* 58(2):227-233.
- SAS, Institute Inc. 1998. SAS user's guide: Statistics. 5th edition. SAS Inst., INC., Cary, NC.
- Scherwinski P., J.E. y G.R. de Luces F. 2004. Organogênese de ápices meristemáticos de batata em meios de isolamento e multiplicação *in vitro*. *Horticultura Brasileira* 22(2):197-201.
- Scott, G., M. Rosegrant y C. Ringler. 2000. Raíces y tubérculos para el siglo 21 Tendencias, proyecciones y opciones políticas. Centro Internacional de la Papa. CIP. Lima, Perú. (31):66 p.

- Slimmons, T., V.S. Machado y R. Coffin. 1989. The effect of light on Vitro tuberization of potato cultivars. American potato Journal 66:843-848.
- Vespasiano B., P.N. y W. Campos O. 2003. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter?. Scientia Horticulturae 97:193-202.
- Wheeler, R.M., C.I. Mackowiak, N.C. Yorio y J.C. Sager. 1999. Effects of CO₂ on stomatal conductance: do stomata open at very high CO₂ concentration. Annals of Botany 83:243-25.
- Wheeler, R.M. y T.W. Tibbitis. 1997. Influence of changes in dailenght and carbon dioxide on the growth of potato. Annals of Botany 79:529-533.
- Zimmerman, R.H. 1995. Enviromental effects and their control in plant tissue culture-overview. Acta Hort. 393:11-14.