

MANUAL DE PRODUCCION DE PAPA CON SEMILLA SEXUAL

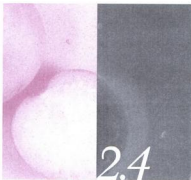
2. Producción de Semilla Sexual

2.4

Pasci



CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA (CIP)



Fascículo **Prácticas de producción de semilla sexual de papa**

R. Falón

Objetivo de las Prácticas

Desarrollar los pasos para la producción de semilla sexual de papa.

1. Siembra de parentales
2. Recolección, extracción y almacenamiento de flores
3. Prueba de viabilidad de polen
4. Emasculación y polinización de flores de papa
5. Extracción de semilla sexual de papa
6. Evaluación de la calidad de la semilla sexual

1. Siembra de Parentales

Objetivo

Cultivar los clones identificados como progenitores, bajo condiciones controladas en invernadero y en campo.

Materiales

1. Invernadero o estación con equipo de luz controlada
2. Clones identificados como machos y hembras
3. Sustrato arena:musgo, 2:1
4. Fertilizantes: nitrógeno, fósforo y potasio
5. Macetas de 4 y 10 pulgadas de diámetro
6. Estacas de madera
7. Pabito
8. Sistema de riego

Procedimiento

En condiciones de invernadero, siembre los clones elegidos como machos y hembras en macetas de 4 pulgadas; coloque las macetas en áreas separadas. Coloque los tubérculos brotados en la mezcla de suelo, fertilizada de manera adecuada.

Fertilización de sustrato para la siembra en macetas (para 100 kg de suelo):
100 g de Super fosfato simple de calcio
54 g de Nitrato de amonio
60 g de Sulfato de potasio

A los 15 días de la siembra cambie las plántulas a macetas de 10 pulgadas y lívelas al campo o a la estación de producción. Colóquelas sobre orificios preparados previamente de manera que las macetas queden al ras del suelo, a una distancia de 30 cm entre macetas y a razón de 13 macetas por surco. En el campo, debidamente estaqueado, coloque el pabito alrededor de las plantas en el surco para que éstas crezcan erguidas; de esta manera se evita que posteriormente tengan contacto con el suelo y puedan contaminarse.

En condiciones de campo, la siembra de parentales se realiza en parcelas o surcos de tamaño variable.

En un terreno bien preparado, abra los surcos donde se van a sembrar los progenitores femeninos distanciándolos 1.50 m para facilitar las labores posteriores de polinización.

Identifique, mediante estacas y tarjetas, cada línea o parcela de cada progenitor femenino y comienza a sembrar:

Realice todas las labores y cuidados culturales del cultivo de papa.

Para favorecer el crecimiento erecto de las plantas madres, guíelas usando "tutores" o estacas colocadas en los extremos de los surcos unidos mediante cordales o pabilo, al que se sujetan las plantas.

Para la siembra de los progenitores masculinos siembre surcos apareados con alta densidad de plantas, para favorecer una óptima producción de flores y polen, dejando un surco sin sembrar para permitir los desplazamientos y la recolección de flores.

2. Recolección de Flores, Extracción y Almacenamiento del Polen

Objetivo

Recolectar las flores de los clones identificados como progenitores masculinos que estén produciendo polen y extraerles el polen para su uso inmediato o para su almacenamiento bajo refrigeración.

Materiales

1. Bolsas de papel
2. Lápiz
3. Papel toalla
4. Pinzas
5. Cápsulas de gelatina
6. Vibrador a pilas
7. Frascos negros herméticos
8. Silica gel
9. Refrigeradora a -5°C y a -12°C

Procedimiento

La recolección de las flores de los clones machos se realiza más o menos una semana después de que empieza la floración; de esta manera se obtiene una cantidad considerable de flores y por ende de polen. Las flores que se van a recolectar deben tener más de dos anteras abiertas. Las anteras abiertas se diferencian de las cerradas porque tienen el poro apical de color marrón claro.

Recolecte las flores una por una y separe los diferentes clones en bolsas de papel. Tenga en cuenta las características indicadas.

El segundo paso de esta práctica consiste en extraer el polen para su uso inmediato en el campo, o para su almacenamiento en refrigeración hasta la próxima polinización. Proceda de la siguiente manera:

Lleve las flores de los clones machos a la mesa de trabajo en el laboratorio. Voltee por completo los pétalos de cada flor y extraiga el pistilo con una pinza. Coloque el resto de las flore sobre papel toalla por 24 horas para que se sequen; luego coloque la cápsula de gelatina en un orificio hecho en un pedazo de espuma plástica para que se mantenga fija y el polen pueda caer en ella al momento que se golpeen las anteras de la flor con el vibrador. Dos golpes son suficientes para una flor:

Finalmente, para conservar la viabilidad del polen recolectado que será usado de inmediato, éste debe ser almacenado de manera adecuada para realizar los cruzamientos posteriores. Proceda así:

Coloque las cápsulas de gelatina con el polen debidamente identificado en los frascos que contienen silica gel y tápelos. Refrigere los frascos a -5°C por 3 horas y luego -12°C . Si dese usar polen almacenado traslade el frasco de -12°a -5°C por 4 horas; luego déjelo dos horas a la temperatura del laboratorio y, finalmente, al campo.

3. Prueba de Viabilidad del Polen

Objetivo

Determinar la viabilidad del polen recolectado en el campo.

Esta prueba es una evaluación rápida. Si después de la prueba el polen está apto, se puede usar con toda confianza en el campo para realizar los cruzamientos sobre las hembras escogidas.

Materiales

1. Potenciómetro
2. Incubador a 20°C
3. Microscopio simple de luz
4. Rotor con velocidad de una revolución por minuto

5. Ácido bórico H_3BO_3
6. Nitrato de calcio $Ca(NO_3)_2 + 4 H_2O$
7. Sulfato de magnesio $MgSO_4 + 7 H_2O$
8. Nitrato de potasio KNO_3
9. Sucrosa
10. Agua destilada

Procedimiento

Para evaluar la viabilidad del polen, usamos un medio de germinación que consta de las siguientes soluciones «stock»:

1. 200 mg ácido bórico H_3BO_3 /100 ml agua destilada
2. 600 mg nitrato de calcio $Ca(NO_3)_2 + 4 H_2O$ /100 ml agua destilada
3. 400 mg sulfato de magnesio $MgSO_4 + 7 H_2O$ /100 ml agua destilada
4. 200 mg nitrato de potasio KNO_3 /100 ml agua destilada

Guarde la solución bajo refrigeración.

Preparación del medio de germinación de polen de papa

En una fiole o en una probeta graduada agregue lo siguiente:

- a. 5 ml de cada una de las cuatro soluciones «stock»
- b. 20 g de sucrosa
- c. Aproximadamente 60 ml de agua destilada
- d. Tween 80, 0.4%

Mezcle bien la solución y agregue agua destilada hasta completar 100 ml. Ajuste el pH a 5.5.

Procedimiento para evaluar la muestra de polen

En un frasco de 2.5 ml agregue 0.5 mg de polen y 1 ml del medio de germinación y mezcle bien. Luego coloque los frascos en el rotar a una velocidad de una revolución por minuto e incube a 20°C por dos horas. Transcurrido el tiempo saque los frascos, añada a la mezcla una gota de azul de anilina y observe al microscopio inmediatamente. Para el efecto, coloque una gota de la muestra en un porta-objeto y tápela con un cubre-objeto evitando que se formen burbujas de aire; observe a un aumento de 200x. Cuente todos los granos de polen del campo, luego todos los granos de polen con tubo polínico, determine el porcentaje y obtenga un promedio de 10 repeticiones.

Si el porcentaje es mayor de 30%, el polen está en estado óptimo para ir al campo.

Si no se puede realizar la evaluación al microscopio de inmediato, guarde los frascos bajo refrigeración.

4. Emasculación y Polinización de Flores de Papa

Objetivo

Evitar la autopolinización de las flores en los progenitores femeninos.
Polinizar las flores de los progenitores femeninos para obtener bayas.

Materiales

1. Estilete con punta curva
2. Polinizadores de acrílico
3. Muestra de polen
4. Espuma plástica

Procedimiento

La emasculación consiste en extraer las anteras de la flor de papa para asegurarse de que no ocurra una autopolinización. Este proceso se realiza con el estilete de punta curva tratando de no hacer girar las flores para evitar que se lesionen.

Para efectuar la polinización coloque el polén recolectado de los progenitores masculinos en los polinizadores de acrílico, llévelos al campo y deposite el polen muy suavemente en el pistilo. Espere aproximadamente nueve semanas para cosechar las bayas.

5. Extracción de Semilla Sexual de Papa

Objetivo

Obtener semilla limpia y en buena condición.

Materiales

1. Moledor de granos
2. Bandejas de plástico
3. Baldes de plástico
4. Coladores de malla fina

Procedimiento

Separe las bayas maduras del pedúnculo y tritúrelas en un moledor de granos al que previamente se le han quitado las cuchillas. Luego lávelas con agua corriente para separar la semilla del resto del fruto hasta que el agua salga completamente limpia. A continuación desinfecte la semilla con una solución de lejía (cloro) al 0.5% y agua. Agite continuamente la solución por 10 minutos. Finalmente lave con agua varias veces hasta que desaparezca el olor a cloro.

En el siguiente paso, la semilla limpia y desinfectada se seca para que alcance un porcentaje de humedad adecuado para su almacenamiento y para que pierda su dormancia de la manera más rápida y natural posible, procediendo de la manera siguiente:

Coloque la semilla desinfectada en papel secante o papel filtro bien extendido, tratando de obtener una capa delgada de semilla para que el secado sea uniforme. Seque la semilla a una temperatura controlada de 30°C por 24 horas. Al cabo de ese tiempo la semilla tendrá una humedad de más o menos 7% que no es suficiente para su almacenamiento, de modo que deberá someterse a un segundo proceso de secado. Para esta segunda fase, use bolsas de papel con 50 g de semilla cada una y acomódelas dentro de una campana de vacío que contiene sílica gel en una proporción de dos volúmenes de sílica gel por un volumen de semilla, durante más o menos una semana, hasta que la humedad llegue al 4.5%. El porcentaje de secado requerido no se alcanza en el mismo tiempo en todas las progenies.

Finalmente, la semilla que ha alcanzado un contenido de humedad del 4.5% más o menos el 0.5%, se guarda en sobres de papel aluminio herméticamente cerrados.

Almacene los sobres a 30°C. Evalúe mensualmente y controle el momento en que la dormancia empiece a perderse.

6. Evaluación de la Calidad de la Semilla Sexual de Papa

Objetivo

Comprobar que la semilla esté en condiciones óptimas para germinar y verificar periódicamente si ha perdido la dormancia.

Materiales

1. Incubador a 27°C
2. Invernadero con luces controladas
3. Termohigrógrafo
4. Placas petri de 9 cm
5. Papel de filtro Whatman # 2 de 9 cm
6. Frascos de vidrio de boca ancha
7. Muestreador
8. Estilete de punta curva
9. Hoja de cartón (para contar la semilla)
10. Agua desionizada
11. Bandejas de plástico
12. Suelo preparado
13. Surcadores de madera
14. Estacas pequeñas de plástico
15. Hojas de evaluación
16. Sobres de papel
17. Regadera

Procedimiento

a. Muestreo: Coloque la semilla en un frasco grande y agite el frasco hasta que la semilla esté bien mezclada; luego, con un muestreador saque cuatro muestras y divídalas en cuatro submuestras. De cada grupo retire las semillas al azar, una por una, es decir, sin escoger (método del pastel). En total debe obtener cinco muestras de 100 semillas cada una.

b. Acondicionamiento: Consiste en hidratar la semilla por 24 horas a 22°C (temperatura del laboratorio), dentro de una cámara húmeda cerrada herméticamente, para que la humedad de la atmósfera llegue a la saturación.

c. Prueba de laboratorio: Coloque cuatro de las cinco muestras de 100 semillas en placas petri con papel Whatman # 2 de 9 cm. Agregue 5 ml de agua desionizada y en las evaluaciones subsiguientes agregue agua según el requerimiento. Tape e incube a 27°C usando diferentes zonas del incubador para cada repetición. Evalúe diariamente, contando y separando la semilla germinada. Al octavo día pase todas las placas petri a 17°C y continúe la evaluación hasta el día 14.

d. Prueba de bandejas: La prueba de almácigo se realiza en el invernadero, donde la temperatura y la humedad del ambiente se controlan con un termohigrógrafo. Llene las bandejas con una mezcla de musgo y arena en una proporción 1:1 y fertilice adecuadamente.

Fertilización del sustrato para la siembra en bandejas (para 100 kg de suelo):

200 g de Super simple
50 g de Nitrato de amonio
40 g de Sulfato de magnesio

Llene las bandejas con el sustrato y con un surcador de madera divida los surcos. Luego siembre 20 semillas a 1.5 cm de distancia y 1 cm de profundidad; use un surco por cada tratamiento o progenie. Siembre las cinco bandejas o cinco repeticiones completas al azar, tape cuidadosamente los surcos y riegue suavemente en forma de lluvia, tratando de no golpear el suelo.

Evalúe diariamente. Las plántulas de las semillas más vigorosas emergen más o menos al tercer día; cuente las plántulas que emergen en cada surco y a partir del décimo día elimine éstas. Estas plántulas se eliminan para evaluar la semilla de manera drástica y obtener el dato de la semilla que germina antes de los 10 días. Estas plantas tienen mayor posibilidad de supervivencia en el campo. Transcurridos 17 días de la siembra, haga un conteo final, corte las plántulas a ras del suelo y determine el peso fresco. Embolse por separado las plántulas de los diferentes surcos y repeticiones y lívelas al horno a 70°C por 24 horas. Determine el peso seco para obtener el porcentaje de materia seca. A mayor cantidad de materia seca, mejor es la calidad de la semilla y, por lo tanto, las posibilidades de subsistencia de esa semilla en el campo también son mayores.

Los Manuales de Capacitación constituyen materiales impresos de estudios para los profesionales involucrados en actividades de capacitación desarrolladas por el CIP y están constituidos por una serie de fascículos susceptibles a ser actualizados.