

MEJORAMIENTO GENETICO DE LA PAPA PARA RESISTENCIA A LAS HELADAS

Por: N. ESTRADA⁽¹⁾, A. DEVAUX⁽²⁾, W. GARCIA⁽³⁾, E. CARRASCO⁽⁴⁾, O. MENDOZA⁽⁴⁾, y EVA GARCIA⁽⁴⁾

INTRODUCCION

Las heladas constituyen un factor limitante en la producción de papa en los países andinos por encontrarse este cultivo especialmente en zonas altas (sobre 3000 m. s.n.m.), donde predominan las heladas, causando con frecuencia pérdidas parciales o totales de la cosecha dependiendo de la severidad y del estado de desarrollo del cultivo. La obtención de cultivares tolerantes a temperaturas sub-cero (-2°C a -3°C por más de una hora), con bajo contenido de glicocaloides y rendimientos superiores a los cultivares locales será un alivio muy grande para el agricultor andino.

IMPORTANCIA DE LAS HELADAS

El daño de las heladas en papa es muy común en los países Andinos de Sudamérica. De aproximadamente 600.000 hectáreas que se cultivan anualmente, el 70%, están expuestas a daños fuertes por este fenómeno abiótico heladas (Carrasco, 1993). Las pérdidas estimadas en la producción están alrededor del 30% (Estrada, 1987).

De 156.000 Has. que se cultivan en Bolivia el 90% está expuesta a daños por heladas con pérdidas variables, de 50% a 100%, cuando éstas van acompañadas de sequías prolongadas. En Colombia se cultivan unas 70.000 has en el segundo semestre del año y cerca de un 20% sufre daños por heladas o granizadas.

AGENTES CAUSANTES DE HELADAS

Según Blanc et al (1963), los siguientes agentes causantes por fenómenos físicos producen heladas:

1. Intrusión de masas de aire con temperaturas congelantes y que pueden durar varios días.
2. Pérdida del calor terrestre y de su atmósfera, por radiación. La helada se presenta en las horas del

(1) Profesor de Fitomejoramiento, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional, Colombia.

(2) Director Proinpa, Bolivia. (3) Ing. Agronomo, M.S. y Técnico superior de Proinpa respectivamente.

(4) Científica del Laboratorio de Botánica Tropical, Universidad Central, Venezuela

amanecer debido a cielos claros que permiten la rápida pérdida del calor terrestre. Es común en las alturas tropicales.

3. Drenaje de aire.- Se produce por flujo de aire frío generalmente ocasionado por los factores anteriores, pero que se deposita en regiones planas.
4. Pérdida del calor por evaporación. Se presenta cuando ocurren lluvias frías seguidas de viento constante que seca las hojas y baja la temperatura.

Existen dos tipos de heladas, las heladas blancas que van acompañadas de alta humedad, rocío y baja temperatura y las heladas negras que se presentan cuando el clima está muy seco con fuerte descenso de temperatura.

SECUENCIA DE EVENTOS CELULARES DURANTE LAS HELADAS

1. Comienza la congelación y se forma hielo extracelular.
2. El agua se moviliza de adentro de la célula hacia fuera de ella.
3. Los solutos y componentes celulares adquieren alta concentración y causan un estrés prolongado a la célula.
4. La muerte eventual de las células ocurre por la desnaturalización de las proteínas de la membrana celular.

Los eventos son de complicada interacción física y química pero la destrucción final en la célula es probablemente mayor a nivel químico.

HIPOTESIS MAS COMUNES PARA EXPLICAR EL DAÑO POR HELADAS Y LA MUERTE CELULAR

1. HIPOTESIS DEL DISOLFURO-SULFI-HIDRILLO, DE LEVITT (1972)

La deshidratación celular ocasiona que las moléculas de proteínas se acerquen demasiado unas a otras. Ocurre la oxidación de los grupos sulfhidrilos en las moléculas de proteínas y se forman uniones de bisulfuro entre ellas causando un efecto irreversible que desnatura las proteínas.

2. HIPOTESIS DE LA CAPA PROTECTORA DE LA PROTEINA

El movimiento del agua del interior hacia afuera de la célula, produce un desacople del sistema de las fosforilasas que actúan en la fotosíntesis, por la rotura de uniones de Hidrógeno.

3. HIPOTESIS DE LA PRECIPITACION DE LAS PROTEINAS

Bajo la congelación se forman pequeños y numerosos cristales destructores de hielo que producen deshidratación, desnaturalización y precipitación de las proteínas.

4. HIPOTESIS DEL AGUA VITAL, WEISER (1970)

Se requiere una cierta cantidad de agua mínima para mantener la integridad estructural de la célula. Durante la congelación llega un punto de mucha pérdida de agua en el protoplasma. Si continúa la presión de congelación en la célula su resistencia final dependerá de la tenacidad con que su agua está unida a los constituyentes protoplasmáticos.

En todas las hipótesis el factor común es el papel que las proteínas desempeñan en la función de estructura celular, el cual resulta alterado por la congelación.

EFECTOS FISIOLÓGICOS Y MORFOLÓGICOS ASOCIADOS CON LA RESISTENCIA

La resistencia genética en papa a las heladas está controlada por ocho o más genes (Estrada, 1982) los cuales están asociados con factores de tipo fisiológico y morfológico:

1. FACTORES FISIOLÓGICOS :

NUTRICION.- Las dosis altas de potasio protegen la planta y está puede soportar a veces 1-2 grados más de frío que normalmente, (Alvarado, 1970).

LIPIDOS.- Los glóbulos asmotóxicos de la membrana plásmica aumentan en 400% en especies resistentes (*S. acaule*) cuando se someten a bajas temperaturas (Chen et al 1977).

PIGMENTOS DE ANTOCIAMINA.- Estrada (1982) observó que la presencia de pigmentos protectores generalmente confieren mayor resistencia.

CAMBIOS EN COMPUESTOS MOLECULARES.- Chen (1976) observó que en la especie (*S. acaule*) sometida al frío, los granos de almidón se transformaron en azúcares.

PRESION OSMOTICA.- Las plantas resistentes tienen muchas veces más alta presión osmótica, Sukumaran y Weiser (1972).

CONTENIDO DE AGUA CELULAR.- Chen et al (1976) encontraron que los tejidos resistentes toleraban más agua congelada (72% en *S. acaule*) que los tejidos susceptibles (55% en la subespecie (*ssp.*) *tuberosum*)

CONTENIDO DE AMINOACIDOS.- El alto contenido de aminoácido prolina e incremento del ácido abscísico confieren mayor resistencia.

RECUPERACION POSTERIOR A LAS HELADAS.- Se han observado genotipos que tienen una capacidad considerable de recuperación después de un fuerte daño de heladas. Su origen es sin duda genético pero el mecanismo de este fenómeno aún no está explicado.

2. FACTORES MORFOLÓGICOS :

TEJIDO DE EMPALIZADA.- En general, las especies resistentes tienen dos o más capas de empalizada en el tejido parenquimatoso, contra solo una capa de empalizada en las susceptibles (Palta y Li, 1977).

PARED CELULAR.- Chet et al (1977) hallaron que el espesor de la pared celular en el tejido esponjoso era casi el doble en *S. acaule* resistente, al compararlo con la *ssp. tuberosum*, susceptible.

HABITO ARROSETADO.- Con frecuencia las especies más resistentes tienen un hábito arrosado, de tallos cortos, dándole protección a la planta durante la radiación porque atrapa el calor del suelo (Mendoza y Estrada, 1979).

NUMERO DE ESTOMAS Y TAMAÑO DE CELULAS.- Las especies resistentes tienen 2-3 veces mayor cantidad de estomas los cuales permanecen abiertos para facilitar escape de agua (Vacher, 1991). Células de menor tamaño favorecen las resistencias (Palta y Li, 1978).

HOJAS.- Las especies resistentes presentan hojas más gruesas de consistencia coriacea (Estrada, 1982).

FUENTES DE RESISTENCIA GENETICA

Existen muchas especies silvestres de papa que presentan alta resistencia (Cuadro 1) y algunas de las cultivadas que se originaron por cruzamientos naturales con las silvestres resistentes (Cuadro 2), *Solanum x juzepczukii*, *S. x curtilobum* y *S. x ajanhuiri*. Estos híbridos naturales tienen tolerancia a las heladas pero tiene alto contenido de Glicoalcaloides, son amargos y requieren el proceso de deshidratación para su consumo o tienen forma de tubérculos poco deseables alargados con ojos profundos (Juz y ajh) y sus rendimientos son relativamente bajos (0.1 a 0.7 kilogramos por planta).

Cuadro 1. Especies silvestres tolerantes a heladas

NOMBRE	PLOIDIA	CRUZABILIDAD		TEMP. DE MAXIMO STRESS C°
		CON CULTIVADAS		
<i>S. acaule</i>	2n=4x=48	5		-7
<i>S. canasense</i>	2n=2x=24	4		-4
<i>S. chomastaphilum</i>	2n=2x=24	1		-6
<i>S. commersonii</i>	2n=2x=24	1		-8
<i>S. demissum</i>	2n=6x=72	4		-4
<i>S. megistracrobium</i>	2n=2x=24	2		-5
<i>S. multidisectum</i>	2n=2x=24	5		-4
<i>S. santae-rosae</i>	2n=2x=24	3		-5
<i>S. toralapanum</i>	2n=2x=24	2		-5

Cruzabilidad:

- 1= Muy baja
- 2= Baja
- 3= Regular
- 4= Buena
- 5= Muy buena

Cuadro 2. Especies cultivadas con tolerancia a heladas

NOMBRE	PLOIDIA	CRUZABILIDAD		TEMP. DE MAXIMO STRESS C°
		CON CULTIVADAS		
<i>S. x ajanhuiri</i>	2n=2x=24	3		-4
<i>S. andigena</i>	2n=4x=48	5		-3
<i>S. x curtilobum</i>	2n=5x=60	3		-4
<i>S. x juzepczukii</i>	2n=3x=36	2		-5
<i>S. stenotomum</i>	2n=2x=24	4		-3

NOTA : En el banco de germoplasma de papa de Bolivia se han encontrado algunas entradas de la ssp. *andigena* y especie *S. stenotomum* con tolerancia a heladas.

MATERIALES Y METODOS

A. METODOS DE CRUZAMIENTO

En el mejoramiento genético para tolerancia a heladas se siguen los siguientes métodos básicos de cruzamiento:

PROGENITOR FEMENINO		PROGENITOR MASCULINO		HIBRIDO RESULTANTE
1. diploides silvestres	x	diploides cultivadas	=	$2n-2x=24$
2. tetraploides silvestres	x	diploides cultivadas	=	$2n-3x=36$
3. tetraploides silvestres	x	diploides cultivadas que producen gametos $2n$	=	$2n-4x=48$
4. tetraploides cultivadas	x	tetraploides cultivadas	=	$2n-4x=48$

En los casos 1 y 2, la transferencia de genes de resistencia buscados de las silvestres hacia los clones cultivados es, utilizado los híbridos F1 seleccionados como progenitores machos que podrán producir polen con gametos $2n$, al cruzarlos con clones $4x=48$ de las *sspp. tuberosum* o *andígena*.

En el caso 3 la transferencia es más simple, donde los híbridos F1 seleccionados se utilizan como machos o como hembras para retrocruzarlos hacia las cultivadas *sspp. tuberosum* o *andígena* (RC1 o BC1).

El último caso (4) se refiere a selecciones recurrentes mediante cruzamientos de clones seleccionados en el campo por su tolerancia (avanzados.) para transferir a éstos más genes de resistencia y/o con cultivares de las *sspp. tuberosum* o *andígena*.

B. PRUEBAS DE PLANTULAS EN CAMARAS FRIAS CONTROLADAS

Alvarado et al (1972), Murillo (1977), Estrada (1978, 1982), García et al (1992) han llevado a cabo numerosas pruebas en cámaras de crecimiento (fitotrón) con temperaturas controladas. Previa aclimatación de las plántulas a 5°C , éstas son sometidas generalmente a temperaturas de -4°C o -5°C por dos horas. Después de pasadas 2-3 horas de la prueba, se sacan las plántulas al ambiente normal y al día siguiente se cuentan los genotipos muertos y los sobrevivientes. Estas pruebas también se pueden llevar a cabo en el campo exponiendo las plántulas a temperaturas bajo cero en épocas de frío con resultados también satisfactorios.

Las plántulas que toleran las heladas son transplantadas en macetas para luego de dos meses más de desarrollo someterlas nuevamente a una segunda prueba en la cámara de crecimiento, seleccionándose las tolerantes. Estas se dejan

finalmente para que completen su ciclo y su tuberización. A la cosecha se realiza una tercera selección en función de buenos caracteres agronómicos de los tubérculos y rendimiento, para llevarlas luego a pruebas de campo.

C. PRUEBAS DE CAMPO EN LOCALIDADES ESPECIALES

Las heladas naturales en el campo son la última palabra para calificar la resistencia. Sin embargo estas pruebas son muy impredecibles en cuanto a época, intensidad y duración. Para compensar estas dificultades se recomienda sembrar el material en varias localidades donde las heladas sean frecuentes. El programa de Investigación de la Papa (PROINPA) en Bolivia viene realizando sus pruebas de selección de clones en el campo, en zonas sobre los 3.700 m.s.n.m. en varias regiones del país.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

A. EVALUACION DE PLANTULAS EN INVERNADERO

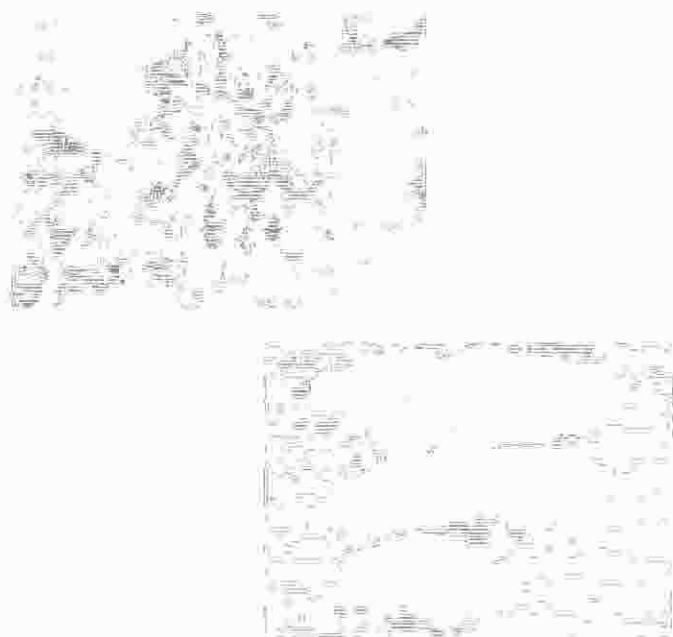
Anualmente se prueban miles de híbridos por su tolerancia a las heladas. Por ejemplo en el ciclo 1993-94 mediante cruzamiento inter e intraespecíficos en el programa de investigación de papa (PROINPA) se formaron 22000 híbridos (50 familias). Por otro lado se recibieron del Centro Internacional de la Papa (CIP) cerca a 20.000 híbridos (40 familias). Estos híbridos fueron probados a heladas en dos oportunidades en estado de plántulas.

La primera prueba se hizo al mes y medio de la siembra, en la que se incluyeron variedades locales como testigos de comparación (Waycha, Sani Imilla y Runa). De la prueba, resultaron sólo 5 a 10% como tolerantes (Cuadro 3).

La segunda prueba se realizó a los tres meses de la siembra (con el material tolerante de la primera prueba), donde el

Cuadro 3. Evaluación de Híbridos (semilla sexual), del CIP y de PROINPA por su tolerancia a las heladas (Toralapa 1993-94).

Evaluación	Total de Híbridos		Híbridos Seleccionados	
	CIP	PROINPA	CIP	PROINPA
1. Bandejas (CAMPO, Invernadero)	20000	22000	1031 (5%)	1900 (8%)
2. Macetas (FITOTRON) (-3°C a -5°C por 3 horas)	1031	1900	365 (35%)	595 (31%)
3. Macetas (INVERNADERO) (Cosecha; agronomía)	365	595	297 (81%)	295 (50%)



Especie *S. x ajanhuiri* tolerante a las heladas

porcentaje de resistencia fue mayor (35%, lo cual confirmó la tolerancia a la helada de los híbridos evaluados anteriormente).

En la cosecha se hace una primera selección con base a buenos caracteres agronómicos del tubérculo, del tal modo que, al final de las tres pruebas, se seleccionan solo entre el 1% de la población original como híbridos tolerantes a las heladas del total de híbridos evaluados, los cuales posteriormente pasan a pruebas de evaluación en el campo.

El bajo porcentaje de selección (después de uno o dos retrocruzamientos) es una indicación de que muchos genes controlan las resistencias. Por ello se requiere el manejo de poblaciones altas en estado de plántulas para posteriormente efectuar una serie de selecciones recurrentes (cinco a seis ciclos) donde el porcentaje de poblaciones resistentes aumenta gradualmente.

EVALUACION DE CULTIVARES NATIVOS RESISTENTES Y/O TOLERANTES A LAS HELADAS

Se hicieron pruebas de resistencia a las heladas en tres especies cultivadas de papa: *S. x ajanhuiri* ($2n=2x=24$), *S. x juzepczukii* ($2n=3x=36$) y *S. x curtilobum* ($2n=5x=60$). Para la prueba se tomaron 10 entradas por especies del Banco de Germoplasma Boliviano de papa con cuatro repeticiones, los que fueron sometidos a temperaturas programadas -5°C por cuatro horas en el fitotrón.

Los resultados en promedio de las cuatro repeticiones muestran que la especie *S. x juzepczukii* presenta el mayor grado de resistencia (6 a 19% de de follaje quemado), la especie *S. x ajanhuiri* presentó una variación alta de 10 a

70%), mientras que *S. x curtilobum* resultó ser la menos resistente con porcentaje de 45 a 67% de daño (Figuras 2, 3 y 4).

8. EVALUACION DE CLONES EN EL CAMPO

Luego de las pruebas en estado de plántulas, los híbridos tolerantes son evaluados y seleccionados en el campo como clones por 3 a 5 años en varios sitios de prueba donde las heladas son frecuentes (sobre los 3500 m. s.n.m.).

Cientos de clones son sembrados en el campo junto a variedades locales resistentes y susceptibles en diseños de bloques completos láteas simples, según la cantidad del material genético.

En la campaña 1993-94 de aproximadamente 70 clones avanzados evaluados durante dos o más años en campo, se seleccionaron 10 clones por su tolerancia a las heladas, capacidad de recuperación luego de la helada, vigor híbrido y buenos caracteres agronómicos de los tubérculos (forma, tamaño, uniformidad, profundidad de ojos, color de la piel, color de la pulpa y ausencia de antocianinas) en la cosecha (figura 1).



Especie *S. x juzepczukii* tolerante a las heladas

En la selección, participaron técnicos de otras Instituciones y agricultores de varias comunidades donde las heladas constituyen un problema serio.

Durante el ensayo se registraron heladas desde -2°C hasta -4.5°C por dos horas en varias oportunidades y a los tres, cuatro y cinco meses de la siembra.

los resultados de los clones seleccionados, que pasan a ser

promisorios (listos para lanzarse como variedades tolerantes a heladas) muestran diferencias altamente significativas en rendimiento respecto de los testigos (figura 2)

De otro lado, el grado de daño en follaje por efecto de la helada, en los clones, presenta una correlación negativa respecto al rendimiento (-0.35) en ensayos de campo con clones de primer, segundo y tercer año de evaluación excepto la especie *S.x juzepczukii* no obstante de presentar los rendimientos más bajos, Cuadro 5.

Por lo que se puede concluir que la tolerancia a heladas no siempre está relacionada con el follaje verde de las plantas, sino también con otros factores como el vigor híbrido, la capacidad de recuperación, la precocidad y las épocas de siembra para escapar a las heladas tempranas.

AVANCES DE LA BIOTECNOLOGIA PARA OBTENER MEJOR CONTROL DE LAS HELADAS

1. CULTIVOS DE CELULAS Y MUTANTES SOMACIO-NALES

Van Suaai (1986) seleccionó células en cultivos no por la habilidad para sobrevivir a las heladas pero por una resistencia indirecta a la hidroxiprolina (hyp), que es una sustancia análoga de la prolina y de carácter tóxico. Investigaciones previas mostraron que así se podían seleccionar células que acumulaban prolina, un aminoácido que se ha considerado como protector de las heladas en varias especies de plantas superiores.

nutri-aza

abono orgánico reforzado grado: 5 - 10 - 5

composición garantizada:

nitrógeno total (N)	24%
nitrógeno amoniacal (N)	2%
nitrógeno orgánico (N)	22%
hierro asimilable (Fe ₂ O ₃)	10%
potasio soluble (K ₂ O)	5%
humedad	14%
gallinaza	70%

He. 100%

fabrica

nutri-aza

CARACTERISTICAS DE NUTRI-AZA 5-10-5

- Es un abono orgánico reforzado
- El 67% de NUTRI-AZA 5-10-5 es materia orgánica (gallinaza), obtenida de nuestros galpones de producción

Producido por: Huevos Oro Ltda.
Calle 153 No. 101-46 Tel. 6820066
Fax: 681 5841 A.A. 24116 Santafé de Bogotá, D.C.

MAGENTA & MEDIOS

También él observó que en las plantas el estrés a heladas o sequía aumentaba el contenido de prolina en las hojas. Además que las líneas seleccionadas por resistencia a las heladas tenían un contenido total de aminoácidos mayor siendo la prolina el más predominante, lo cual también sería una ventaja. Además concluyó que las pruebas de células a las heladas no debían hacerse en medio líquido ya que esto causaba un daño mecánico. En algunas especies silvestres la resistencia se puede deber además a otros factores celulares o a diferencia en el tipo de tejidos.

Se halló también que las líneas resistentes al *hyp* mostraron tolerancia a la sal (NaCl) lo cual confirma la naturaleza común de ambos tipos de resistencia.

En plantas productoras de tubérculos la resistencia en las líneas seleccionadas fue de 1.5°C mayor que las no seleccionadas y ésta resistencia se conservó después de propagarles por su tubérculo lo cual indicó que los cambios se debieron a mutaciones reales y no a cambios epigenéticos o quimeras.

El tratamiento con *hyp* se podrá utilizar para seleccionar las líneas mejores por resistencia en una población grande y así emplearlas para un mejoramiento genético.

También en la Universidad de Gembloux, Bélgica, lograron obtener un mutante resistente mediante cultivos de callos en el cvr Bintje. Las pruebas de campo confirmaron una tolerancia moderada a heladas de -2°C en el Bintje mutante. Binte testigo es bastante defoliado si se somete a ésta temperatura (visita personal, 1992)

2. FUSIONES PROTOPLASMICAS

Mediante cooperación científica con la Dra. Lieselote Schilde de la Universidad de Tubingen en Alemania, de los proyectos de papa de Colombia, Bolivia y el CIP (Perú) se ha iniciado la fusión simétrica de protoplastos de los Cvr's, Yema de Huevo de Colombia (*S. phureja*) y Amarilla de Perú (*S. goniocalyx*) con la especie silvestre de alta resistencia *S. commersonii* y también con la especie nativa de buena resistencia *S. x ajanhuiri* cvr. Yari.

Además se planea fusiones asimétricas (en sólo pedazos de cromosomas) entre cvr's de *la ssp andigena* importantes y las especies con alta resistencia *S. x juzepczukii* cvr Piñaza, *S. x ajanhuiri*, y *S. chomatophillum*.

3. PLANTAS TRANSGENICAS

Jung y Jaynes en la Universidad de Louisiana, U.S.A. obtuvieron de pez lenguado que habita aguas muy frías del Océano, una porción genética y emplearon un vector que permitió colocar esa parte del gene en plantas utilizando plásmidos presentes en el *Agrobacterium rhizogenes*. Se utilizó la cepa R1000 del *Agrobacterium* que lleva en su TDNA un gene que codifica para proteína y aminoácidos anticongelantes (AF). Mediante un convenio con el Centro Internacional de la Papa-CIP, los genes ensamblados se enviaron al centro de Botánica Tropical, Laboratorio del Cultivo de Tejidos en Venezuela a la Dra. Eva García para efectuar transformaciones en el cultivar Désirée de la *ssp. tuberosum*. Se obtuvieron plantas probablemente transformadas que dieron resultado positivo en las pruebas para "Southern" y "Western" de expresión del gene. En ellas se observó un fragmento adicional de ADN que correspondía al tamaño del gene insertado. El departamento de Fitomejoramiento de PROINPA, recibió a fines de 1991 a través de la Corporación Andina de Fomento tuberculillos pequeños (2-4 g) de 30 clones seleccionados. Estos se multiplicaron en la Estación Experimental Toralapa. En 1992 y 1993 se hicieron las pruebas de resistencia a heladas colocando las plantas en el fitotrón y bajando la temperatura a -5°C por dos horas. Se incluyeron los testigos Désirée (no transformada), Waych'a y Luky (amarga resistente). Las pruebas se hicieron en seis bloques al azar con tres plantas de cada clon por bloque. Debido a la alta variación de resistencia entre clones y dentro de los clones no fue posible hacer un análisis estadístico. Simplemente se marcaron los siete clones que en promedio mostraron menos daños (32%-45% de follaje sano), y se comparó con el cvr Luky resistente (77% de follaje sano), el cvr Waych'a (18% de follaje sano) y el testigo Désirée (5% de follaje sano). Tanto las plantas como los tubérculos con el gene AF no mostraron anomalías. Para las próximas pruebas de campo se ha solicitado la respectiva autorización del MACA, Bolivia y del CIP

Progresos en la Obtención de Clones Resistentes

Varios autores han obtenido materiales con buena resistencia en el primero o segundo cruzamiento con las especies mencionadas. Sin embargo, al tratar de nobilizar el material con posteriores cruzamientos, se diluyen mucho los genes de resistencia a tal punto que no existen o son muy raras las variedades comerciales que tengan una resistencia valiosa.

En la Tabla 1, se da un resumen de los resultados logrados por el autor en varios años de cruzamiento en el CIP, Perú.

Cuadro 4:
Registro de cruzamientos y selecciones para resistencia a heladas hechas en el Centro Internacional de la Papa, Perú.

Año:	1974	1975	1976	1977	1978	1979	Total
Especies empleadas	11	16	9	12	8	7	
Semillas Obtenidas	5.050	10.400	31.500	27.300	33.950	33.400	141.600
Plántulas obtenidas	1.515	4.300	17.860	15.000	25.300	26.770	90.745
Plántulas resistentes	60	100	410	320	3.400	4.100	8.390
Porcentaje de plántulas resistentes	4,0	2,3	2,3	2,1	13,4	14,9	9,2

De 1.957 a 1.973 y de 1.980 a 1.987 se hicieron unos 300.000 híbridos en el ICA, Colombia utilizando las especies *S. acaule*, *S. soganandinum*, *S. vernei*, *S. x juzepczukii*, y *S. x ajanhuiri* en cruzamientos con especies diploides y tetraploides cultivadas.

De 1.973 a 1.980 (cuadro 4) se hicieron unos 200.000 híbridos en el CIP, Lima con estas y otras especies, y de 1.990 a 1.993 se han obtenido unos 500.000 híbridos por J. Landeo en el CIP efectuando selección recurrente con los materiales mejores.

En el Programa de Investigación de la Papa (PROINPA) de Bolivia se han obtenido unos 50.000 híbridos de 1.989 a 1.994 utilizando además otras especies muy resistentes como *S. chomatophillum*, *S. commersonii*, *S. megistacrobium* y *S. sanctae-rosae*. De todos estos materiales se tienen actualmente unos 50 clones seleccionados en pruebas en varios sitios (Perú, Bolivia, y Colombia) que pueden resistir heladas cercanas a -4°C por 2 horas. Esto representa una población de 1 por 10.000 seleccionada lo cual muestra que deben existir muchos genes que controlan la resistencia.

Resumiendo, puede decirse que para lograr éxitos en obtener clones resistentes y productivos se requiere:

- Seleccionar clones o especies con alta resistencia.
- Cruzarlos con material valioso cultivado.

c. Mediante pruebas al frío seleccionar el material promisorio.

d. Emplear métodos masales de prueba, para poder escoger lo mejor de poblaciones numerosas obtenidas por hibridación.

e. Probar el material seleccionado como promisorio en varias localidades con alturas elevadas para observar su resistencia, precocidad, rendimiento y calidad.

CONCLUSIONES

Las heladas constituyen un factor limitante en los cultivos andinos en alturas de 2500 mtrs. o más. El efecto que causan es la rápida deshidratación de las células vegetales y la desnaturalización de las proteínas. Existen factores fisiológicos y factores morfológicos que determinan la resistencia y susceptibilidad de los tejidos de las plantas a las heladas.

Estos factores tienen un control genético y se han encontrado especies silvestres o semi-silvestres en papas que resisten hasta -6°C por 2-3 horas.

Para mejorar la resistencia de la papa a las heladas se están utilizando varias especies silvestres muy resistentes utilizando tanto la genética convencional (cruzamientos) como la Biotecnología, empleando funciones simétricas y asimétricas así como la inserción de genes (fracciones de ADN) obtenidas de plantas muy diferentes o aún de animales.

Figura 1. INCIDENCIA DEL DAÑO DE HELADAS Y RENDIMIENTO DE OCHO CLONES PROMISORIOS Y TRES TESTIGOS (Dpto. Cochabamba, Prov. Tiraque, Loc. Wayllap'ujru 3700 msnm, 1993-1994)

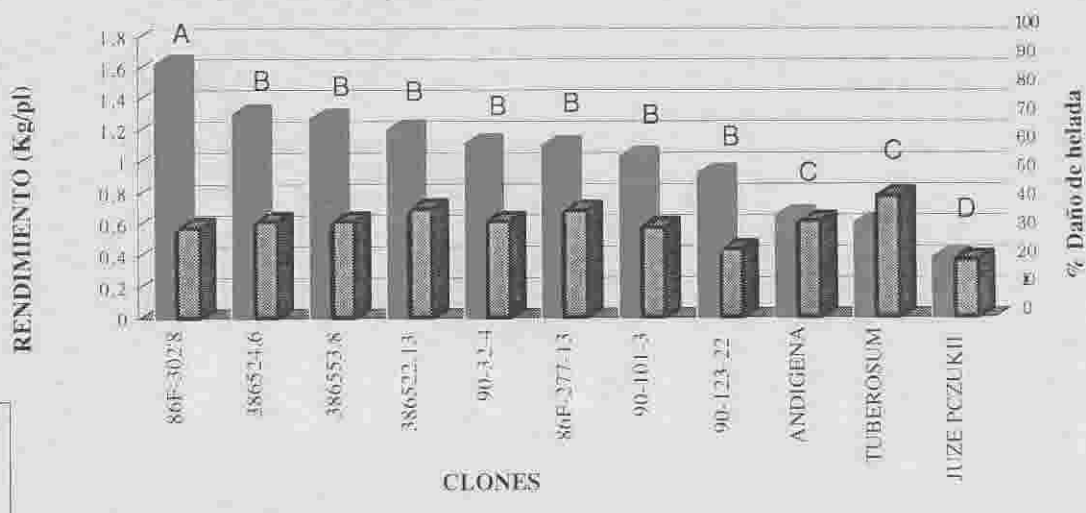
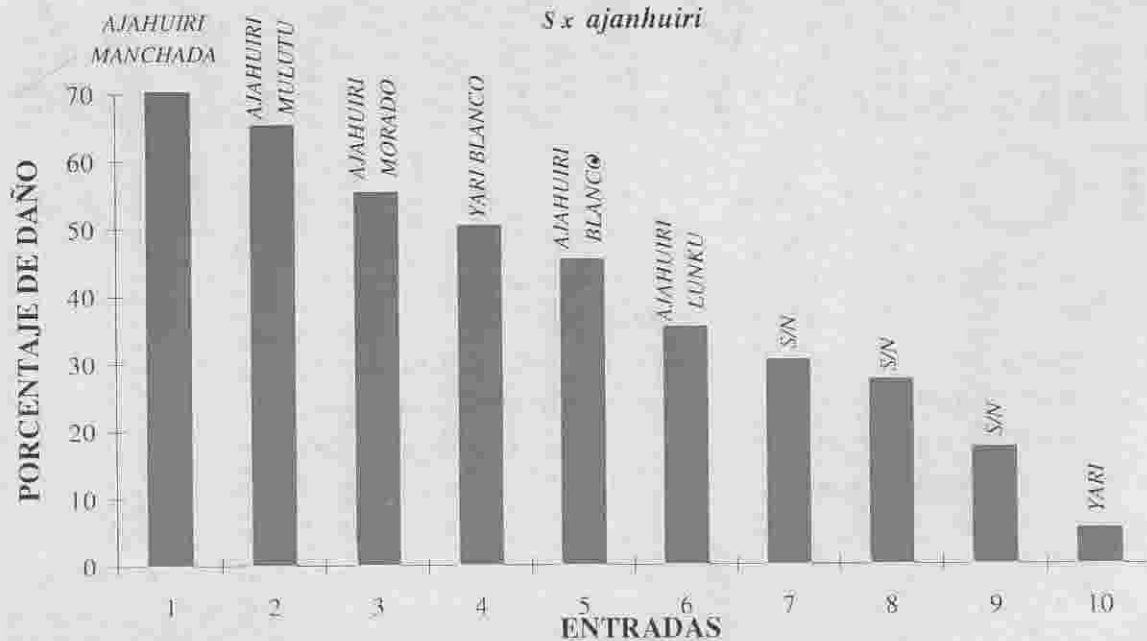


Figura 2. PORCENTAJE DE DAÑO POR HELADAS EN FOLLAJE DE s. x *S x ajanhuiri*



La capacidad de rebrote de esta especie es buena

Figura 3. PORCENTAJE DE DAÑO POR HELADAS EN FOLLAJE DE
s. x juzapczukii

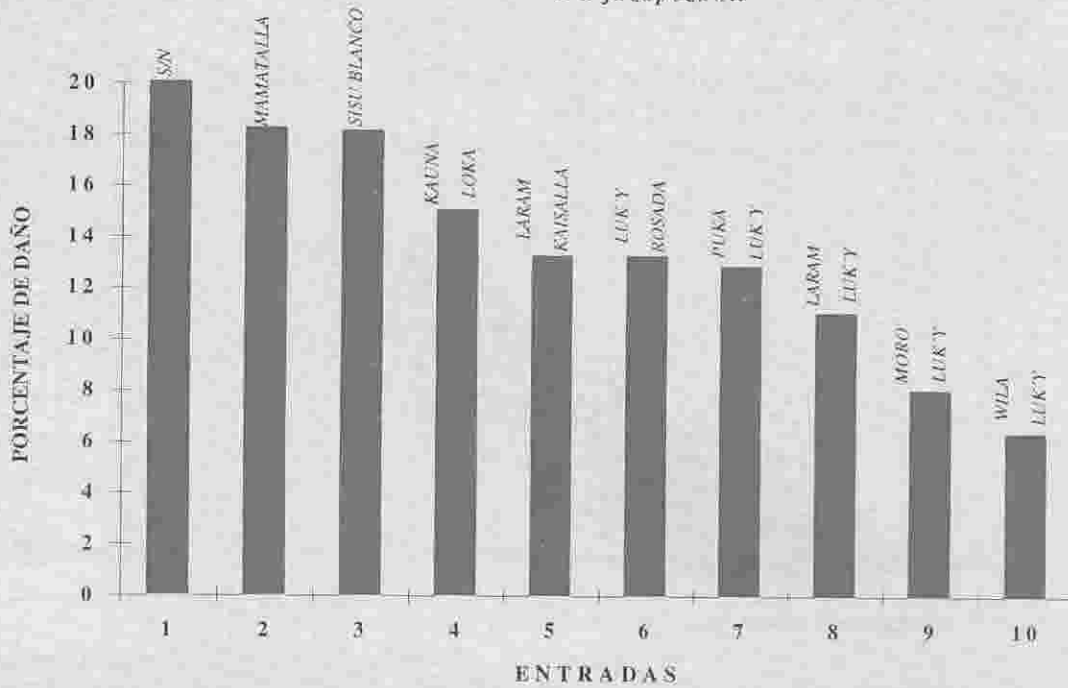
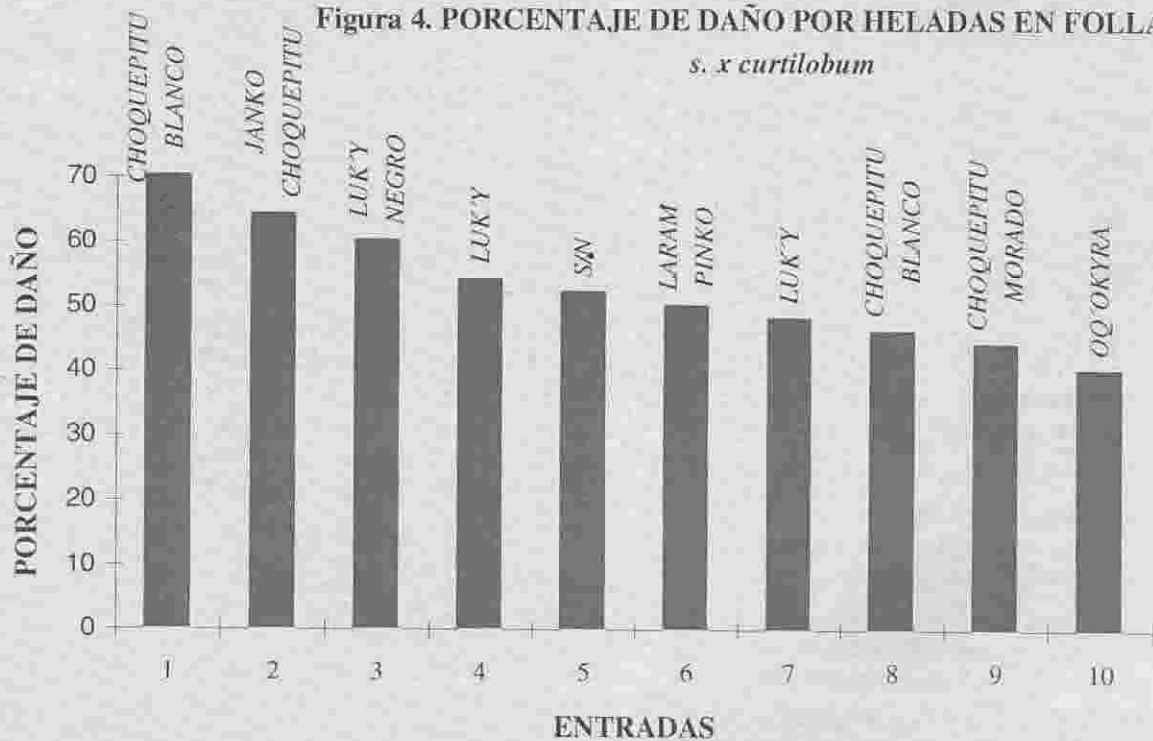


Figura 4. PORCENTAJE DE DAÑO POR HELADAS EN FOLLAJE DE
s. x curtilobum



Cuadro 5:

ANÁLISIS DE CORRELACION (Rendimiento kg/pl: % Daño de heladas) DE CLONES SELECCIONADOS PARA PRUEBAS DE HELADAS.

FACTORES	CLONES		
	AVANZADOS	2 ^{do} . AÑO	1 ^{er} . AÑO
Correlación			
Rend: % Daño helada	-0.315	-0.422	-0.328
Coef. de Determ.	10 %	17 %	11%
Error Standar	0.014	0.026	0.044

Nota: Datos de porciento de daño de heladas fueron transformados con raíz de arcoseno.

BIBLIOGRAFIA

Alvarado, L.F. 1970 Fertilización potásica en papa para control de heladas. VI Reunión, Asociación Latinoamericana de Papa, La Paz, Bolivia 5 pp.

Alvarado, L.F., Estrada N y Riveros, G. 1972. Evaluación de Papas resistentes a Heladas en Estado de Plántulas. VII Reunión, Asociación Latinoamericana de Papa, Bogotá, Colombia pp 123 - 129.

Bianc, M.L., Ceslin, H., Holzberg, I.A. y Mason, B. 1963. Protection against frost damage. Tech note 51. World Meteorological Organization 62 pp.

Carrasco, E. 1993. Estudio de la herencia de la tolerancia a heladas en clones nativos de *Solanum andigena* de Bolivia. M.S. Tesis. Universidad Nacional Agraria, Lima, Perú 119 pp.

Chen, P. 1976. The study of freezing process. Biochemical changes and Frost and Cold Acclimation in *Cornus* and *Solanum* species to the frost hardiness and water stress in controlled environments. Ph.D Thesis, Univ of Minnesota, St Paul, 156 pp.

Chen P., Burke, M.J y Li, P.H 1976. Bot Gaz 137: 313-317

Chen, P., Li, P.H. y Cunnigham, W.P. 1977. Ultrastructural differences in leaf cells of some *Solanum* species in relation to their frost resistance. Sci Jour Ser 976 5 Minn Agri Exp. Sta.

Estrada, N. 1978. Breeding frost-resistant potatoes for the tropical highlands. En, Plant Cold Hardiness and Freezing Stress p 333-341, P.Li, A. Sakai editores. Academic Press, N.Y.

Estrada, N. 1982. Breeding wild and primitive potato species to obtain frost resistant cultivated varieties. En plant Cold Hardiness and Freezing Stress p 615-633. Symposium Sapporo, Japan P.H Li y A. Sakai editores Academic Press, N.Y.

Estrada, N. 1987. Utilization of wild and cultivated diploid potato species to transfer frost resistance into the tetraploid common potato *Solanum tuberosum*. En, Plant Hardiness and Freezing Stress Seminar, pp 339-353 Shanghai, China. P.Li y Wang editores. Alan R. Liss, Inc N.Y.

García, W.N., Estrada y E. Carrasco 1993. Mejoramiento genético para resistencia de la papa a las heladas. Taller de trabajo para los países Andinos promovido por PRACIPA-CIID, Canada, en Rionegro-Colombia, 10 pp.

Levitt, J. 1972. Responses of plants to environmental stress 697 pp Academic Press, N.Y.

Li, PH. 1977. Frost killing temperatures of 60 tuber-bearing *Solanum* species. Amer. Potato J. 54: 452-456.

Mendoza, H.A. y Estrada, N. 1979. Breeding potatoes for tolerance to stress: heat and frost. En, Stress Physiology in Crop Plants p 228-262. Mussel H. y R. Staples editores. John Wiley J Sons N.Y.

Murillo, V. 1977 Evaluación y Utilización de las Papas Cultivadas por su Resistencia a Heladas tesis M.S Univ. Naf. Agraria, Lima, Perú. pp 62

Palta, J.P y Li PH. 1978. Frost hardiness in relation to leaf anatomy and natural distribution of several *Solanum* species. Minn Agr Exp. Sta Sci. J. Ser 10536 p 665 - 671.

Rocha, J. 1994. Evaluación de cultivares de las especies de papa *S. x janhuii*, *S. x juzupezukii* y *S. x curtilobum* por su tolerancia a heladas y producción. Tesis. Tec superior, Univ. Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia 72 pp.

Sukumaran, N.P. y Weiser, C. J. 1972 Hort Sci 7:19-22

Vacher, J. 1991. Evaluación de las Papas amargas por su resistencia a sequía y heladas. Seminario de Orstom, La Paz, Bolivia pp 12.

Weiser, S.J 1970. Hort Sci 403 - 410