

ACTAS DEL VII CONGRESO INTERNACIONAL SOBRE CULTIVOS ANDINOS

LA PAZ BOLIVIA 4 AL 8 DE FEBRERO DE 1991



EDITORES: D. MORALES Y J.J. VACHER



CRISTOM



ACTAS DEL VII CONGRESO INTERNACIONAL SOBRE CULTIVOS ANDINOS

La Paz - Bolivia, 4 al 8 de febrero

Editores

D. Morales y J.J. Vacher

IBTA

INSTITUTO BOLIVIANO DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA

ORSTOM

**L'INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE POUR LE
DEVELOPPEMENT EN COOPERATION**

CIID-Canada

CENTRO INTERNACIONAL DE INVESTIGACION Y DESARROLLO

La Paz, 1992

CONSERVACION *in vitro* DE TUBERCULOS ANDINOS

César G. TAPIA B., Laura MUÑOZ E., y Raúl CASTILLO T.
Técnicos del Departamento de Recursos Fitogenéticos, INIAP. Casilla 340. Quito, Ecuador.

I. INTRODUCCION

El presente artículo resume el trabajo realizado en el INIAP, buscando los mejores medios de cultivo *in vitro* para conservación de la variabilidad genética de las tres tuberosas andinas más importantes del Ecuador: melloco (*Ullucus tuberosus*), oca (*Oxalis tuberosa*) y mashua (*Tropaeolum tuberosum*).

II. MATERIALES Y METODOS

El presente estudio tuvo dos fases de experimentación: a) introducción *in vitro*, en la que se trabajó con 10 líneas de oca, 10 de mashua y 5 de melloco; b) conservación *in vitro*, se utilizó las cinco líneas que sobresalieron en la primera fase de las tres especies en estudio.

Para la introducción *in vitro*, el medio de cultivo que se utilizó fue Murashige y Skoog que se suplementó con 3% de sucrosa y 0.8% de agar, y ácido giberélico (GA3) en concentraciones de 0.25 ppm para melloco y mashua y 10 ppm para oca; además en el medio de oca se añadió 0.5% de carbón activado como antioxidante. En esta fase las condiciones del cuarto cultivo fueron temperaturas de 20° C y humedad relativa del 60-70% con un fotoperíodo de 16 horas luz.

En la conservación *in vitro*, se probó varios retardantes de crecimiento adicionados al MS estandard (Sales minerales de Murashige y Skoog).

Todos los tratamientos de oca y mashua en la fase de conservación *in vitro* fueron combinados con frío, los tubos de ensayo con los explantes se almacenaron en cuarto frío a 8° C, 75% de humedad relativa y un fotoperíodo de 12 horas luz. Los tratamiento de melloco se conservaron en cuarto de cultivo en condiciones similares a la fase de introducción *in vitro*.

Para la primera fase, se empleó un modelo de diseño con tres repeticiones. En cambio, para la segunda fase, se utilizó un diseño en arreglo factorial 5 x 5 (cinco líneas por cinco medios) con tres repeticiones, para oca y mashua; en melloco se utilizó un diseño en arreglo factorial 3 x 4 (tres líneas por cuatro dosis de retardantes). Se realizaron pruebas de Tukey al 5% para líneas en la primera fase y para líneas, medios y su interacción en la segunda fase.

Las variables estudiadas en la primera fase fueron: longitud de planta, número de nudos por planta y número de plantas con raíces en tres épocas de evaluación (30, 45 y 60 días). En la segunda fase se evaluó: longitud de planta, porcentaje de supervivencia y de regeneración en tres épocas de evaluación (120, 240 y 360 días en oca y mashua, 60, 120 y 180 días en melloco).

III. RESULTADOS Y DISCUSION

1. Introducción *in vitro*

En general, todas las líneas de melloco presentan una respuesta satisfactoria a la fase de introducción *in vitro*, la línea ECU-768 tuvo el mejor comportamiento ubicándose en el primer rango con 30.70 mm a los 60 días de evaluación (Cuadro 1). En mashua las líneas ECU-1087 y ECU-1089 se localizaron en el primer rango con los mejores promedios de 22.67 mm respectivamente a los 60 días de evaluación. En oca, la mayor longitud tuvo la línea ECU-988 con 65.27 mm.

Es importante anotar que oca, mashua y melloco respondieron en forma satisfactoria a la fase de introducción *in vitro*, es decir, que estas especies podrán ser usadas para futuros trabajos de multiplicación acelerada, intercambio de germoplasma y erradicación de virus.

Cuadro 1. Valores promedios y prueba de Tukey al 5 %, para la variable longitud de planta de melloco, mashua y oca en la fase de introducción *in vitro*.

LINEAS	DIAS DE EVALUACION		
	30 días	45 días	60 días
Melloco	Longitud de planta (mm)		
ECU - 761	6.00 ab	6.70 ab	12.00 ab
ECU - 762	4.00 ab	5.20 ab	7.00 b
ECU - 768	9.50 a	17.00 a	30.70 a
ECU - 770	4.10 ab	4.50 b	5.00 b
ECU - 791	2.90 b	3.90 b	9.00 b
Mashua			
ECU - 1087	10.87 ab	15.07 ab	22.57 a
ECU - 1089	11.63 a	17.23 a	22.67 a
ECU - 1095	7.67 de	9.27 de	10.70 c
ECU - 1098	9.60 bc	13.80 b	17.67 abc
ECU - 1101	6.73 ef	9.93 de	14.50 abc
ECU - 1102	8.77 cd	10.87 cd	18.53 abc
ECU - 1103	8.03 cde	12.70 bc	20.73 ab
ECU - 1105	5.70 f	8.33 e	13.00 bc
ECU - 1113	7.10 def	9.33 de	18.27 abc
ECU - 1116	6.90 def	9.57 de	15.83 abc
Oca			
ECU - 970	8.20 cd	13.23 de	18.73 cd
ECU - 978	10.83 bc	14.57 cde	19.87 bcd
ECU - 979	10.97 b	15.20 bcd	19.97 bcd
ECU - 980	12.80 b	19.73 b	29.63 bc
ECU - 984	7.70 d	10.90 def	14.57 d
ECU - 988	13.37 ab	27.40 a	65.27 a
ECU - 989	15.53 a	19.30 bc	33.87 b
ECU - 990	4.27 e	5.67 g	6.17 d
ECU - 991	4.07 e	6.80 fg	8.77 d
ECU - 998	7.30 d	9.63 efg	12.60 d

2. Conservación *in vitro*

a) Mashua y oca

En la fase de conservación *in vitro* después de 360 días, la prueba de Tukey al 5%, detectó en el primer rango con los mejores promedios para el factor líneas en la variable longitud de planta para la línea ECU-1103 con 17.04 mm y para la oca la ECU-980, con un promedio de 48.47 mm (Cuadro 2). Para el factor medios se ubicó en el primer rango con los menores promedios, en mashua el medio suplementado con sorbitol 60 g/l con 5.69 mm; y en oca, el menor promedio presentan los medios suplementados con ácido ascórbico 2 ppm y sorbitol 40 g/l con valores de 40.99 y 44.40 mm, respectivamente, promedios que muestran una buena respuesta de los retardantes de crecimiento.

Las líneas que se ubicaron en el primer rango, con los más altos promedios en la variable porcentaje de supervivencia para el factor líneas, en mashua es la ECU-1102, con un valor de 92.73% y en oca la ECU-989, con 92.42% a los 360 días de evaluación. El medio que presenta el más alto porcentaje de supervivencia es el suplementado con sucrosa 3% y agar 0.8%, con promedios de 95.89% y 92.39% para la oca, respectivamente a los 360 días de evaluación, considerándose como una buena alternativa para conservación de germoplasma, aunque presente longitudes mayores en comparación a las logradas con los retardantes de crecimiento.

Cuadro 2. Valores promedios y prueba de Tukey al 5 %, para el factor líneas y medios en la variable longitud de planta de mashua y oca en la fase de conservación *in vitro*.

Lineas/Medios	Dias en conservación		
	120 días	240 días	360 días
Mashua	Longitud de planta (mm)		
ECU - 1101	10.07 a	14.49 a	22.67 bc
ECU - 1102	12.47 bc	17.16 b	20.23 ab
ECU - 1103	8.93 a	13.08 a	17.04 a
ECU - 1113	14.20 c	21.22 c	29.44 d
ECU - 1116	11.18 ab	18.73 bc	24.70 c
Mm 1	20.48 b	31.87 b	47.03 c
Mm 2	3.35 a	4.87 a	6.23 a
Mm 3	3.54 a	6.36 a	10.61 b
Mm 4	3.01 a	4.79 a	5.69 a
Mm 5	26.47 c	36.79 c	44.49 c
Oca			
ECU - 978	35.56 c	50.61 c	61.55 c
ECU - 979	26.07 a	39.97 a	50.55 b
ECU - 980	30.80 b	39.02 a	48.47 ab
ECU - 988	40.67 d	45.78 b	50.32 b
ECU - 989	29.22 ab	37.75 a	45.00 a
Mo 1	55.22 d	61.39 c	67.03 d
Mo 2	30.05 b	42.05 b	49.08 b
Mo 3	19.03 a	31.02 a	40.99 a
Mo 4	20.01 a	32.74 a	44.40 ab
Mo 5	38.00 c	45.93 b	54.39 c

En las Figuras 1 y 2 se observa un comportamiento decreciente de las diferentes curvas mientras transcurre el período de conservación. Un mayor porcentaje de supervivencia de las plántulas se observa en el medio con la mitad de la concentración de Murashige y Skoog, en comparación con el medio suplementado con el retardante de crecimiento sorbitol 40 g/l y 60 g/l. Estos resultados sugieren que para la conservación *in vitro* de estas tuberosas andinas, la reducción de la concentración de MS, más bajas temperaturas (8° a 10° C), serían suficientes.

b) Melloco

A los 180 días de evaluación, la prueba de Tukey al 5% el factor líneas en la variable longitud de planta, muestra dos rangos de significación, ubicándose en el primero la ECU-761 con 42.8 mm en promedio. Para el factor "medio", se observó tres rangos de significación, destacándose en el primero los medios con 16.9 y 8.3 mm respectivamente. La ECU-762 mostró el porcentaje de supervivencia con 74.0%. Por otro lado, los medios suplementados con manitol 20 y 40 g/l, presentaron también los más altos promedios con 100.0 y 96.7% respectivamente.

En la Figura 3 se observa que el porcentaje de supervivencia presenta un comportamiento decreciente principalmente de la curva que representa la mayor concentración de manitol (60 g/l), pudiendo deberse a un mayor porcentaje de muerte de yemas al aumentar la concentración de manitol, en cambio, la curva que representa la concentración de 40 g/l de manitol, mantiene una pequeña caída a través del tiempo.

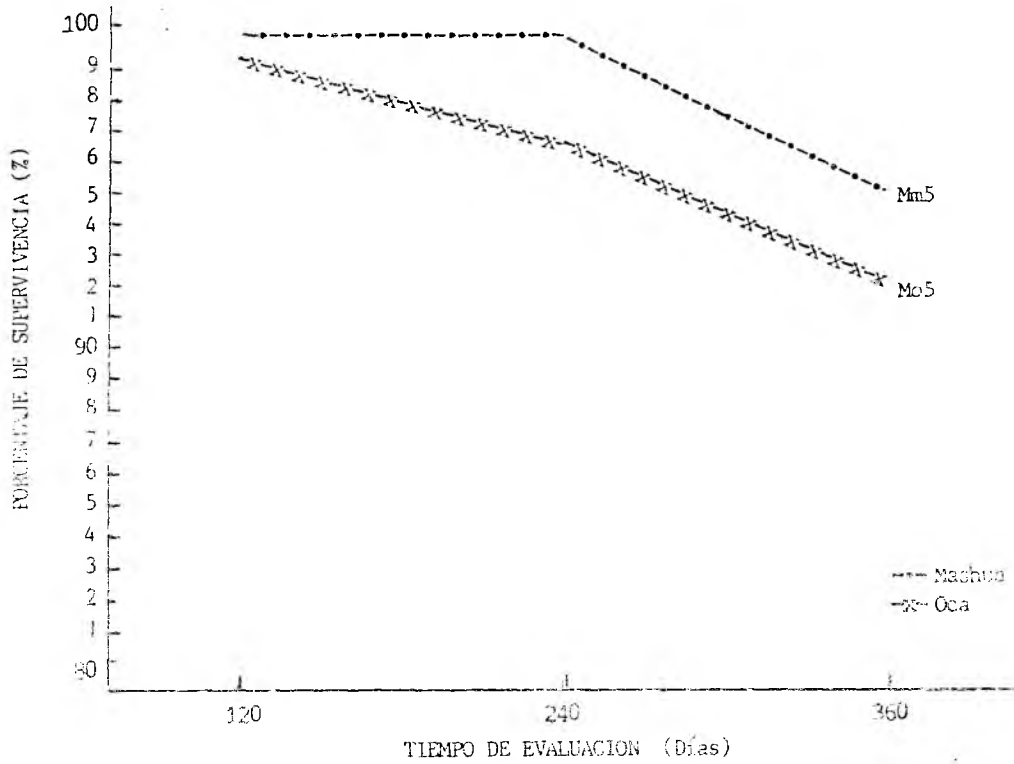


Figura 1. Curvas del comportamiento de tubérculos andinos en fase de conservación *in vitro* a través del tiempo, usando la mitad de la concentración de M.S. a 8°C de temperatura

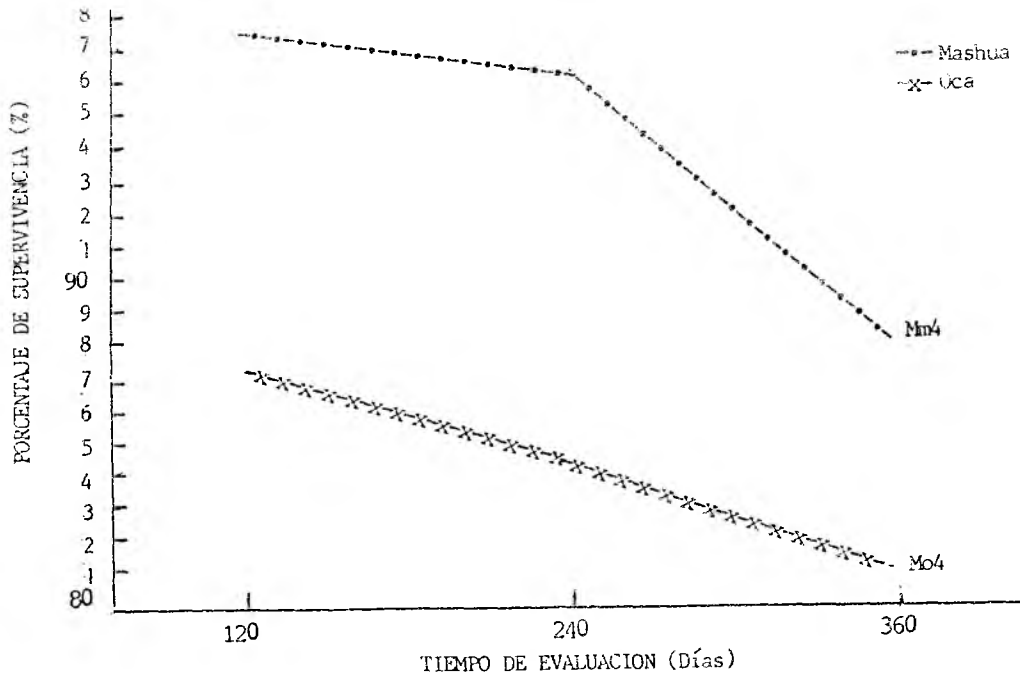


Figura 2. Curvas del comportamiento de tubérculos andinos en fase de conservación *in vitro* a través del tiempo, usando Sorbitol 40 y 60 g/l a 8°C de temperatura

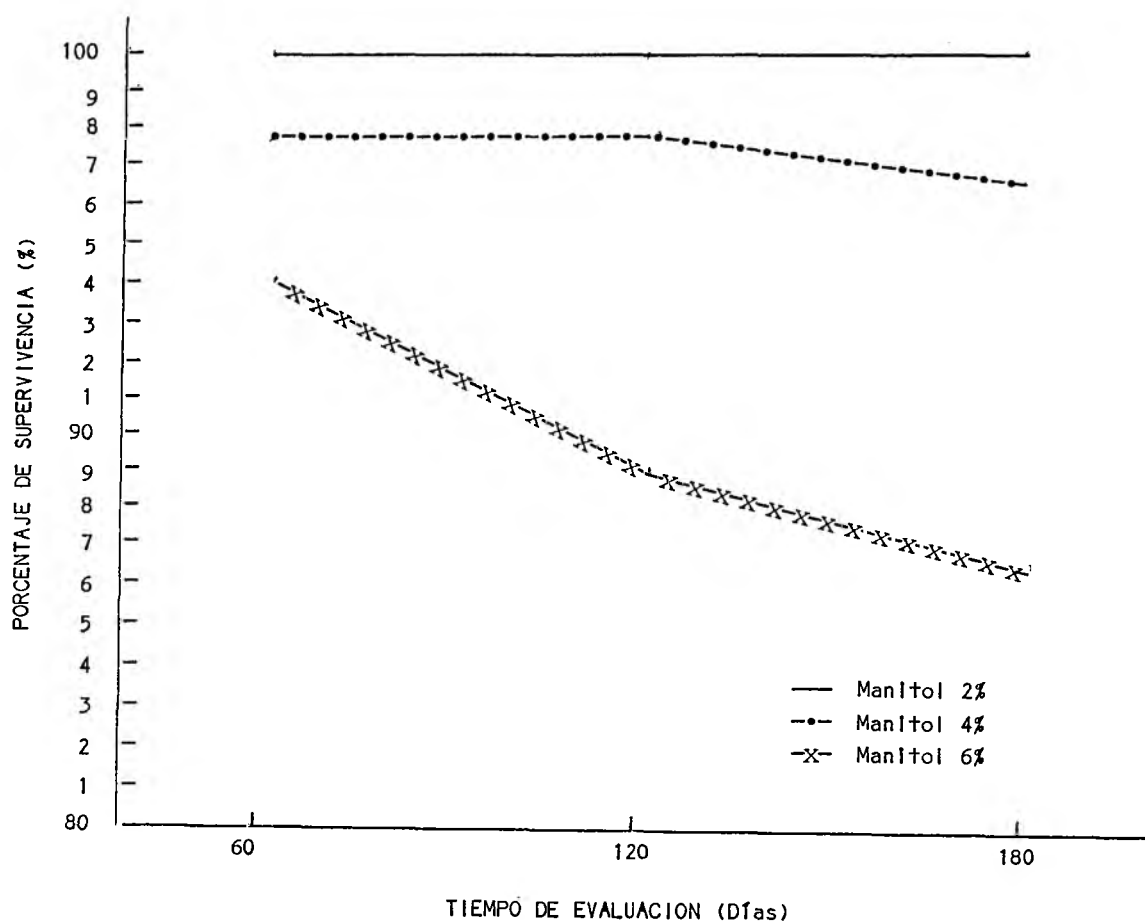


Figura 3. Curva del comportamiento de melloco, con tres niveles de Manitol, durante la fase de conservación *in vitro*

IV. CONCLUSIONES

- Las líneas de oca, mashua y melloco, respondieron en forma satisfactoria a la fase de introducción *in vitro*, lo que indica la posibilidad de realizar otros trabajos, como erradicación de virus, intercambio de germoplasma y multiplicación acelerada de plantas.
- Los medios suplementados con los retardantes osmóticos, sorbitol en dosis de 60 g/l en mashua, 40 g/l en oca, igual que en el medio con la mitad de nutrientes, con la mejor respuesta en la fase de conservación *in vitro* de germoplasma. Estas recomendaciones podrían aplicarse para melloco.
- En melloco, la concentración de 40 g/l de manitol presenta la mejor alternativa para la conservación *in vitro* a corto plazo (180 días) bajo condiciones de 20° C de temperatura y humedad relativa de 60-70%
- En forma general, la combinación de bajas temperaturas y la utilización de retardantes de crecimiento o la reducción de nutrientes, pueden ser usados para la conservación de germoplasma *in vitro* de oca, mashua y melloco por períodos de uno, dos o más años.

V. BIBLIOGRAFIA

- FORD-LLOYD, B. y JACKSON, M. 1986. Plant genetic resources: An introduction to their conservation and use. London, Edward Arnold Publishers Ltd. p. 5-67.
- MUÑOZ, L. 1988. Respuesta al establecimiento y conservación *in vitro* de melloco, oca y mashua. Tesis Lic. Biol. Quito, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Departamento de Ciencias Biológicas. 85 p.
- NIETO, C., REA, J., CASTILLO, R. y PERALTA, E. 1984. Guía para el manejo y preservación de los recursos fitogenéticos. Quito, Estación experimental Santa Catalina-INIAP. 43 p.
- SCOWCROFT, R. 1984. Genetic variability in tissue culture: impact on germoplasm conservation and utilization. Roma, IBPGR. p. 3-4