

CONSERVACION IN VITRO DE OCA (Oxalis tuberosa Mol.) Y
MASHUA (Tropaeolum tuberosum R. & P.)

CESAR GUILLERMO TAPIA BASTIDAS

TESIS DE GRADO PREVIA LA OBTENCION DEL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS

Quito

1990

VII. RESUMEN

Los tubérculos andinos, entre ellos: oca (Oxalis tuberosa Mol.) y mashua (Tropaeolum tuberosum R. & P.), son de importancia alimenticia de los pueblos del área rural de la Región Andina. A pesar de esta importancia alimenticia, se observa una pérdida de la variabilidad genética de estos cultivos, por ello es importante desarrollar métodos de conservación, para futuros trabajos de evaluación y uso de este germoplasma.

Uno de los problemas de conservación, es el mantenimiento de colecciones en campo o siembras sucesivas anuales, frente a estos problemas y con el propósito de conservar los recursos genéticos antes mencionados, se estudia la utilización de la técnica de cultivo de tejidos. La presente investigación se realizó en la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ubicada en el Cantón Mejía, Provincia de Pichincha.

Para la introducción in vitro (primera fase) se trabajó con 10 líneas de oca y 10 de mashua bajo condiciones de cuarto de cultivo con temperaturas de 20 °C y humedad relativa del 60-70%. Para la conservación in vitro (segunda fase) se utilizó las cinco líneas que sobresalieron en la primera fase de oca y mashua almace-

nándola bajo condiciones de cuarto de refrigeración con temperaturas de 8 °C, humedad relativa de 70-80% y un fotoperiodo de 1000 lux.

En la segunda fase o conservación, se investigó varios retardantes de crecimiento; para oca se probaron: manitol en dosis de 40 g/l y ácido abscísico en dosis de 1 y 2 ppm. En mashua se utilizaron manitol en dosis de 40 g/l y sorbitol en dosis de 40 a 60 g/l. También se probó un tratamiento adicional, reduciendo los nutrientes de Murashige y Skoog a la mitad en las dos especies.

Para la primera fase se empleó el Diseño Completamente al Azar con tres repeticiones. Para la segunda fase, se utilizó un Diseño Completamente al Azar en arreglo factorial 5 x 5 (cinco líneas por cinco medios) con tres repeticiones. Se realizaron pruebas de Tukey al 5% para líneas en la primera fase y para líneas, medios y su interacción en la segunda fase.

Se realizaron correlaciones y regresiones entre longitud de planta y número de nudos, longitud de planta y número de plantas con raíces; y, entre época de evaluación y longitud de planta, número de nudos y número de plantas con raíces, en la fase de introducción.

De igual manera para la fase de conservación in vitro, se realizaron correlaciones y regresiones entre: tiempo de evaluación y longitud de planta en cada uno de los medios, y, tiempo de evaluación y longitud de planta por línea.

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 porcentaje de regeneración en tres épocas de evaluación (120, 240 y 360 días)

De los resultados evaluados se llegó a las siguientes conclusiones:

A. INTRODUCCION IN VITRO

- La línea de mashua con la más alta respuesta en las tres variables en estudio (longitud de planta, número de nudos y número de plantas con raíces) fue la ECU-1 089 con promedios de 22.67 mm; 5.17 nudos y 4.33 plantas con raíces respectivamente a los 60 días de evaluación.

- Los promedios obtenidos en la variable número de plantas con raíces, en todas las líneas de mashua, son relativamente bajos, cuya deficiencia podría solucionarse con la adición de algún enraizador como el ácido indolbutírico al medio de cultivo, que promovería un mayor número de raíces por planta.
- En oca, la línea de mejor comportamiento en las tres variables en estudio: longitud de planta, número de nudos y número de plantas con raíces fue la ECU-0988 con promedios a los 60 días de evaluación de 65.27mm, 12.70 nudos y 11.33 plantas con raíces.
- Los medios utilizados en la experimentación ratificaron ser los más adecuados en la fase de introducción in vitro de oca y mashua.
- Se presenta relación directamente proporcional entre el tiempo de evaluación y las tres variables en estudio así como entre la longitud de planta y el número de nudos en las dos especies en estudio.
- En términos generales, tanto las líneas de oca como de mashua 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 multipli-

cación acelerada de plantas.

B. CONSERVACION IN VITRO

- A los 360 días de evaluación, las líneas ECU-1 103 en mashua y ECU-0989 en oca, presentaron los más bajos promedios de longitud de planta con promedios de 17.04 y 45.00 mm respectivamente.
- El porcentaje más alto de supervivencia, presentaron las líneas ECU-1 102 en mashua y ECU-0989 en oca, con 92.73 y 92.42% respectivamente.
- Existe una relación inversamente proporcional entre el tiempo de evaluación y la longitud de planta en mashua, en cambio, en oca la relación fue directamente proporcional, aunque con valores bajos ($r=0.29$ a $r=0.75$).
- Es factible realizar la conservación in vitro a mediano plazo de la variabilidad genética de oca y mashua, encontrándose los más altos valores en longitud de planta, siendo en mashua de 29.44 mm y en oca de 61.55 mm. El porcentaje de muerte de yemas oscilo de 40 a 50%, presentando mayor supervivencia las líneas de mashua.

- Los medios suplementados con el retardante osmótico sorbitol en dosis de 60 g/l en mashua y 40 g/l en oca (Mm4 y Mo4), al igual que el medio con la mitad de nutrientes (Mm5 y Mo5) fueron los de mejor respuesta en la fase de conservación in vitro de germoplasma.
- Los promedios en mashua para el medio suplementado con 60 g/l de sorbitol en las dos variables (longitud de planta y porcentaje de supervivencia) fueron de 5.69 mm y 87.66% y para el medio con la mitad de nutrientes fueron de 44.49 mm y 100.00%.
- Los promedios en oca para el medio con 40 g/l de sorbitol fueron de 44.40 mm (longitud de planta) y 80.73% (porcentaje de supervivencia), y para el medio con la mitad de nutrientes fueron de 54.39 mm y 92.39%.
- El medio suplementado con sorbitol (retardante osmótico) en dosis de 40 g/l para oca y 60 g/l para mashua y el medio con la mitad de nutrientes en las dos especies, a pesar que no presentaron las menores longitudes, especialmente el medio antes mencionado, los porcentajes de supervivencia fueron altos. Además, al utilizar el sorbitol, el costo de conservación sería menor; por otro lado los medios Mm5 y Mo5, a más de no utilizar ningún retardante, contienen apenas la

mitad de nutrientes del medio Murashige y Skoog.

- Al comparar los medios Mm5 y Mo5 con los medios conteniendo retardantes, estos presentan mayor seguridad de mantener la estabilidad genética de las colecciones conservadas, aspecto que no se garantiza con los retardantes de crecimiento, ya que pueden producir alguna mutación.
- Se presentó una relación directamente proporcional entre el tiempo de evaluación y la longitud de planta de todos los medios en estudio, obteniendo el menor valor de correlación los testigos Mm1 y Mo1 con valores de $r=0.57^{**}$ y $r=0.35^{*}$ respectivamente.
- El porcentaje de regeneración de las dos especies, en las tres evaluaciones tuvo un promedio del 100%, lo que indica que no existe problemas en recuperar las plantas que han estado sometidas a bajas temperaturas y/o a la adición de retardantes de crecimiento.
- En forma general, la combinación de bajas temperaturas y la utilización de retardantes de crecimiento (sorbitol) o la reducción de nutrientes, pueden ser usados para la conservación de germoplasma de oca y mashua in vitro por periodos de uno, dos o más años.

- El costo de conservación in vitro de un tubo de ensayo de 18 x 150 mm para cualquier especie de tuberosas andinas es de 18.75 sucres (Cuadro 36); cuyo valor es más económico en comparación a los costos de conservación de germoplasma en campo, al mismo tiempo que se evita los riesgos por fenómenos climáticos o el ataque de plagas y enfermedades.

SUMMARY

The andean tubers, such as Oca (Oxalis tuberosa) and Mashua (Tropaeolum tuberosum R. & P.) are important for the nutrition of the people of the rural areas of the Andean Region. However, of their nutritional importance, there has not been any program encharged of avoiding the lost of genetic variability of these crops. Therefore, it is important to develop methodologies of conservation for future experiments of evaluation and utilization of this germplasm.

One of the problems in conserving germplasm is their maintenance of the whole collection under field conditions by the technique of annual plantings. To overcome the above problems and with the purpose of conserving the genetic resources, we are studying the utilization of the tissue culture techniques. The research was done at the Santa Catalina Experimental Station of the National Institute for the Agricultural Research (INIAP) located at Canton Mejia, Provincia of Pichincha.

For in vitro introduction (first phase) 10 lines of oca and 10 lines of mashua were used and the work was done under growth house with controlled temperature (20°C) and relative humidity (60-70%).

For in vitro conservation (second phase) the best 5 lines of each crop were kept under refrigeration 8°C and 70-80% of relative humidity and a photoperiod of 1000 lux.

In the second phase (conservation) were tested 40 g/l of manitol and 1 and 2 ppm of ascorbic acid (minimum growth) for oca cultivars. One half of the Murashige and Skoog was used as additional treatment for both oca and mashua cultivars.

A complete randomized design with 3 replication was used in the first phase. The data of the second phase was computed using the same (first phase) experimental design in a 5 x 5 factorial experiment (5 lines x 5 culture media). Tukey at 5% probability level was done for cultivars in the first phase and for cultivars, culture media, and their interactions in the second phase. Correlation and regression analysis were done between plant height with number of nodes, plants with roots, and time of evaluation. In the second phase (conservation) the correlation and regression analysis were done between time of evaluation with plant height in each of the culture media of each line.

The variables evaluated in the first phase were: number of nodes per plant, number of plants with roots,

and time of evaluation (40, 45 and 60 days). In the second phase the variables evaluated were: plant height, surviving percentage, regeneration percentage and time of evaluation (120, 240 and 360 days).

From the results obtained it was possible to get the following conclusions:

A. In Vitro Introduction

- The line of mashua ECU-1089 got the highest mean values for plant height (22.67 mm) number of nodes (5,17) and number of plants with roots (4.33). The number of plants with roots for the mashua cultivars can be increased by increasing the amount of rooted solution (indolbutirico acid) in to the culture media.
- Most of the mashua and oca lines showed good performance for the three variables evaluated. The lines ECU-1 095 and ECU-0990 showed the lowest values.
- The culture media used for the in vitro introduction of the oca lines were the most efficient as it was showed in previous experiments. A direct correlation between the evaluation time with the

other three variables and between plant height with the number of nodes were detected.

- In general, both the mashua and oca lines showed a good response for the in vitro introduction which means the technique could be used for other works such as virus eradication, germplasm exchange and multiplication of plants.

In Vitro Conservation

- After 360 days of in vitro conservation the lines ECU-1 103 and ECU-0989 of mashua and oca, respectively showed the lowest mean values for plant height (17.04 and 45.00 mm).
- The lines ECU-1 102 (mashua) and ECU-0989 (oca) showed the highest percentage of surviving with values of 92.73 and 92.42%.
- Inverse correlation between the time of evaluation with plant height was observed for mashua, in the other hand a direct correlation was observed for oca with correlation coefficients ranging from 0.29 to 0.75.

- The line ECU-0988 of oca showed the best performance for all the variables evaluated with mean values of 62.27 mm for plant height, 12.70 number of nodes and 11.33 plants with roots.
- The results suggest that it is possible to do in vitro conservation for intermediate period of time for mashua and oca genotypes.
- The cost of in vitro conservation of a tube of 18 x 150 mm for any andean tuber specie is about 18.75 sucres (Apendix 17); this value is cheaper compared with the cost when the conservation is done under field conditions. Besides in vitro conservation is not affected by the environment, pest, and diseases.
- The highest value of plant height for mashua was 29.44 mm and for oca 61.55. The surviving percentage ranged from 40 to 50% but, the highest values bellongo to the mashua lines.
- The culture media plus sorbitol (minimun growth) in dosis of 60 g/l for mashua and 40 g/l por oca (Mm4 y Mo4) and the culture media containing half of the nutrients (Mm5 and Mo5) were the best for the in vitro conservation phase.

- The mean values for plant height and percentage of surviving for mashua were: 80.75, 44.40 mm and 80.73%, when sorbitol was added to the media and 54.49 mm and 92.39% when the culture media had half of the nutrients.
- The percentage of surviving of the mashua lines was high in both, culture media. using these culture media the cost of in vitro conservation will be low because the sorbitol is the cheapest among the minimum growth products. On the other hand the Mm5 and Mo5 despite of lacking the minimum growth, it had only half of the Murashige and Skoog nutrients. The Mm5 and Mo5 are more efficient for in vitro conservation because, there is not genetic variability in the germplasm. While the culture media plus the minimum growth may cause mutations.
- There was a direct relationship between the evaluation time with plant height in all the culture media. The control media (Mm1 and Mo1) got the lowest correlation coefficients ($r = 0.56$ and $r = 0.35$).
- There was not any problem regarding with the regeneration for both cultivars. The low temperature 8 C helped the in vitro conservation