

# II REUNION NACIONAL SOBRE RECURSOS FITOGENETICOS

COLECCION, CONSERVACION,  
EVALUACION, UTILIZACION,  
CONTEXTO INTERNACIONAL



---

**MEMORIAS**

MEMORIAS DE LA  
II REUNION NACIONAL SOBRE  
RECURSOS FITOGENETICOS

**E D I T O R E S:**

**R. CASTILLO, C. TAPIA y J. ESTRELLA**  
Departamento de Recursos Fitogenéticos  
Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias  
Casilla 340

Quito - Ecuador  
1991

**MEMORIAS DE LA II REUNION NACIONAL  
SOBRE RECURSOS FITOGENETICOS**

Editores: Raúl Castillo, César Tapia y Jaime Estrella

Primera Edición: - Septiembre de 1991

Levantamiento del texto: - Rita Benítez

Impresión: - Empresa Editora Porvenir  
Av. Colombia 248  
Quito - Ecuador

Carátula: - Poster de la Reunión

© 1991 Departamento de Recursos Fitogenéticos - INIAP  
Registro Nacional de Derechos de Autores No. 005890  
ISBN 9978-82-151-1

**CONSERVACION DE GERMOPLASMA DE OCA  
(*Oxalis tuberosa*) Y MASHUA (*Tropaeolum tuberosum*)  
A TRAVES DE METODOS IN VITRO**

César Tapia B., Laura Muñoz E. y Raúl Castillo T.  
Dpto. Recursos Fitogenéticos - INIAP  
Casilla 340, Quito - Ecuador

**INTRODUCCION**

Los tubérculos andinos, entre ellos: oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) y mashua (*Tropaeolum tuberosum* R. & P.), son de importancia alimenticia para 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. Para evitar esta pérdida y dado su valor nutricional, es necesario desarrollar métodos de conservación de germoplasma, los que permitirán futuros trabajos de evaluación y uso de este germoplasma.

Uno de los problemas en la 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 estudió la utilización de la técnica de cultivo de tejidos o conservación *in vitro*.

El presente artículo resume el trabajo realizado en el INIAP, buscando los mejores medios de cultivo para conservación de las dos tuberosas andinas: oca (*Oxalis tuberosa*) y mashua (*Tropaeolum tuberosum*), que permita establecer el banco de germoplasma *in vitro* y poder conservar la variabilidad genética de estas especies.

**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 y 10 de mashua; b) conservación *in vitro*, se utilizó las cinco líneas que sobresalieron en la primera fase de las dos 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, 0.8% de agar, y ácido giberélico (GA3) en concentraciones de 0,25 ppm para 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 de cultivo fueron temperaturas de 20°C y humedad relativa del 60-70% con un fotoperíodo de 16 horas luz.

Conservación *in vitro* tuberosas andinas

En la conservación *in vitro*, se probó varios retardantes de crecimiento adicionados al MS estándar (Sales minerales de Murashige y Skoog), cuyas concentraciones y codificaciones fueron las siguientes:

SIMBOLOGIA/CULTIVO	MEDIOS DE CULTIVO
<b>Oca:</b>	
Mo1	MS* + sucrosa 3% + agar 0.8%
Mo2	MS + ABA** 1 ppm + sucrosa 3% + agar 0.8%
Mo3	MS + ABA 2 ppm + sucrosa 3% + agar 0.8%
Mo4	MS + sorbitol 4% + sucrosa 3% + agar 0.8%
Mo5	½ MS + sucrosa 3% + agar 0.8%
<b>Mashua:</b>	
Mm1	MS + sucrosa 3% + agar 0.8%
Mm2	MS + manitol 4% + sucrosa 3% + agar 0.8%
Mm3	MS + sorbitol 4% + sucrosa 3% + agar 0.8%
Mm4	MS + sorbitol 6% + sucrosa 3% + agar 0.8%
Mm5	½ MS + sucrosa 3% + agar 0.8%

\* Sales minerales de Murashige y Skoog  
\*\* Acido abscísico

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 1000 lux.

Para la primera fase se empleó un modelo de Diseño Experimental Completamente al Azar con tres repeticiones. En cambio 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.

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).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### A. Introducción *in vitro*

En el Cuadro 1 se presentan los promedios de la variable longitud de planta, para las líneas de las dos especies en la fase de introducción. En mashua las líneas ECU-1087 y ECU-1089 se localizaron en el primer rango con los mejores promedios de 22.57 y 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 y mashua 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.

### B. Conservación *in vitro*

En la fase de conservación *in vitro* después de 360 días, la prueba de Tukey al 5% detectó en el primer rango, con los menores promedios, para el factor líneas en la variable longitud de planta para mashua la línea ECU-1103 con 17.04 mm y para oca la ECU-980 con un promedio de 48.47 mm (Cuadro 2). Para el factor medios se ubicó en el primer rango con las menores promedios, en mashua el medio suplementado con sorbitol 60 g/l (Mm4) con 5.69 mm; y en oca el menor promedio presentan los medios suplementados con ácido abscísico 2 ppm y sorbitol 40 g/l (Mo3 y Mo4) con valores de 40.99 y 44.40 mm, respectivamente, (Cuadro 2). Promedios que muestran una buena respuesta de los retardantes de crecimiento.

Las líneas que se ubicaron en el primer rango con las 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, (Cuadro 3). El medio que presenta el más alto porcentaje de supervivencia es el Mm5 (mashua) y Mo5 (oca) con promedios de 95.89% y 92.39% 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 3).

Conservación *in vitro* tuberosas andinas

CUADRO 1. Valores promedios y prueba de Tukey al 5%, para la variable longitud de plantas de Oca y Mashua en la fase de introducción *in vitro*.

L I N E A S	DIAS DE EVALUACION		
	30 días	45 días	60 días
<b>Mashua</b>			
Longitud de planta (mm)			
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
<b>Oca</b>			
Longitud de planta (mm)			
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

Un mayor porcentaje de supervivencia de las plántulas se observa en el medio con la mitad de la concentración de Murashige y Skoog (Mm5 y Mo5), en comparación con el medio suplementado con el retardante de crecimiento sorbitol 40 g/l (Mo4) y 60 g/l (Mm4). Estos resultados sugieren que para conservación *in vitro* de estas tuberosas andinas, la reducción de la concentración de MS, más bajas temperaturas (8 a 10°C), serían suficientes.

Conservación in vitro tuberosas andinas

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. 1/

Líneas/Medios	Días en Conservación		
	120 días	240 días	360 días
<b>Mashua:</b>			
Longitud de planta (mm) 2/			
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
<hr/>			
Mm1	20.48 b	31.87 b	47.03 c
Mm2	3.35 a	4.87 a	6.23 a
Mm3	3.54 a	6.36 a	10.61 b
Mm4	3.01 a	4.79 a	5.69 a
Mm5	26.47 c	36.79 c	44.49 c
<hr/>			
<b>Oca:</b>			
Longitud de planta (mm)			
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	0.67 d	45.78 b	50.32 b
ECU-989	29.22 ab	37.75 a	45.00 a
<hr/>			
Mo1	55.22 d	61.39 c	67.03 d
Mo2	30.05 b	42.05 b	49.08 b
Mo3	19.03 a	31.02 a	40.99 a
Mo4	20.01 a	32.74 a	44.40 ab
Mo5	38.00 c	45.93 b	54.39 c

1/ Bajo condiciones de 8°C, 75% HR y 1000 lux.

2/ Promedio de 405 plantas



Conservación in vitro tuberosas andino

CUADRO 3. Valores promedios y prueba de Tukey al 5% para el factor líneas y medios en la variable porcentaje de supervivencia de mashua y oca en la fase de conservación in vitro<sup>1/</sup>.

Líneas/Medios	DIAS EN CONSERVACION		
	120 dias	240 dias	360 dias
<b>Mashua:</b>			
Porcentaje de supervivencia <sup>2/</sup>			
ECU-1101	99.26 a	95.83 ab	84.15 ab
ECU-1102	99.26 a	99.18 a	92.73 a
ECU-1103	97.04 a	91.40 b	60.34 c
ECU-1113	96.81 a	95.36 ab	80.35 b
ECU-1116	96.32 a	93.65 b	79.69 b
Mm1	97.78 ab	92.83 b	58.10 b
Mm2	96.32 b	91.45 b	62.89 b
Mm3	97.05 ab	94.73 ab	92.71 a
Mm4	97.54 ab	96.41 ab	87.66 a
Mm5	100.00 a	100.00 a	95.89 a
<b>Oca:</b>			
Porcentaje de supervivencia			
ECU-978	87.44 ab	75.88 bc	69.55 b
ECU-979	86.97 b	84.80 ab	79.43 b
ECU-980	87.69 ab	86.69 a	80.95 ab
ECU-988	86.69 b	72.25 c	50.82 c
ECU-989	93.84 a	94.47 a	92.42 a
Mo1	99.26 a	87.23 ab	71.10 bc
Mo2	86.22 b	80.61 b	68.31 c
Mo3	70.65 c	65.59 c	60.65 c
Mo4	87.24 b	83.99 b	80.73 ab
Mo5	99.26 a	96.68 a	92.39 a

<sup>1/</sup> Bajo condiciones de 8°C, 75% HR y 1.000 lux.

<sup>2/</sup> Promedio de 405 plantas

#### CONCLUSIONES

Las líneas de oca y 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 multiplicación acelerada de plantas.

Los medios suplementados con los retardantes osmóticos, sorbitol en dosis de 60 g/l en mashua, 40 g/l y oca (Mm4, y Mo4), al igual que el medio con la mitad de nutrientes (Mm5, Mo5) son los de mejor respuesta en la fase de conservación *in vitro* de germoplasma.

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 y mashua por periodos de uno, dos o más años.

#### RECOMENDACIONES

Es importante realizar estudios sobre la estabilidad genética, evaluando en campo o por métodos estadísticos, luego de la fase de conservación *in vitro*, ya que las condiciones de almacenamiento a bajas temperaturas, el uso de retardantes de crecimiento, etc, pueden producir cambios genéticos según reportan Ford-Lloyd y Jackson 1986, quienes comentan que la preservación *in vitro* puede producir variaciones genéticas o mutaciones inducidas.

#### BIBLIOGRAFIA

- Ford-Lloyd, B. y Jackson, M. Plant Genetic Resources: an introduction to their conservation and use. London, Edward Arnold Publishers Ltd., 1986. pp. 5-67.
- Nieto, C., J. Rea, R. Castillo y E. Peralta. Guía para el manejo y preservación de los Recursos Fitogenéticos. Quito, Estación Experimental Santa Catalina-INIAP, 1984. 43 p.
- Scowcroft, R. Genetic Variability in Tissue Culture: impact on germplasm conservation and utilization. Roma, IBPGR, 1984. pp. 3-4.
- Muñoz, L. Respuesta al establecimiento y conservación *in vitro* de melloco, oca y mashua. Tesis Lcdo. Biol. Quito, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Departamento de Ciencias Biológicas, 1988. 85 p.