



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
CENTRO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIONES PARA EL DESARROLLO (CIID)
CONSEJO INTERNACIONAL DE RECURSOS FITOGENETICOS (CIRF)

PRIMERA REUNION NACIONAL DE
RECURSOS GENETICOS DE LAS PLANTAS
CULTIVADAS EN ECUADOR

M E M O R I A S

UNIDAD DE RECURSOS FITOGENETICOS
ESTACION EXPERIMENTAL "SANTA CATALINA"

26 y 27 DE MAYO DE 1983

QUITO - ECUADOR

P R E S E N T A C I O N

Si bien algunos países cuentan con bien dotados bancos de germoplasma, producto de valiosas recolecciones a través de los años; sin lugar a dudas, la creación del Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos, a partir de los años 70, motiva un interés mundial por la preservación del germoplasma vegetal y despierta una conciencia local y regional por la preservación de recursos estratégicos.

Ecuador, pese a integrar uno de los más grandes centros de origen y dispersión de plantas cultivadas, no dispone de un banco nacional de germoplasma, observándose por el contrario, un acelerado proceso de erosión genética, situación que en muchos casos, se ha tornado irreversible.

El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIAP, ha concentrado el mayor volumen de germoplasma vegetal manejado en el país, principalmente con fines de mejoramiento, antes que de conservación. En 1982, se concretó un convenio de cooperación con el CIRF, cuyo principal objetivo es el de recolectar y conservar germoplasma de varios cultivos nativos; sin embargo, es evidente que el problema de erosión genética es muy grave, no solamente en las especies autóctonas, sino también en las introducidas, debiendo enfrentárselo no con acciones aisladas de recolección y conservación, sino con una conciencia nacional, a través de sus profesionales e instituciones, para mediante estrategias adecuadas superar esta problemática.

En tales circunstancias, se organizó esta Primera Reunión, cuyo propósito fundamental fue el de crear un organismo nacional, que se encargue de coordinar y canalizar todas las acciones tendientes a preservar los Recursos Fitogenéticos del país.

Debe destacarse el vivo interés y preocupación demostrados por todos los asistentes, los que en número superior a los 80, analizaron y discutieron los temas propuestos, aprobando resoluciones y recomendaciones, que esperamos sean acogidas por las instituciones y personas que tienen que ver con el manejo de los recursos vegetales; y, en un futuro cercano, se pueda alcanzar el cumplimiento de las mismas.

DISCURSO DEL DR. JULIO CESAR DELGADO, DIRECTOR GENERAL DEL INIAP
EN LA CEREMONIA DE INAUGURACION

Técnicos de diferentes instituciones aquí presentes, personal técnico de la Estación Experimental "Santa Catalina", invitados, damas y caballeros.

En primer término debo manifestar el sentimiento expresado por el señor Ministro, por no haber acudido personalmente a inaugurar este importante certamen científico, como era su deseo; ocupaciones de última hora se lo han impedido y me ha encargado, en su nombre, dirigir unas pocas palabras en la ceremonia de inauguración de esta reunión.

Esta reunión tiene una enorme trascendencia, no solamente para organismos como el INIAP, que están dedicados a la investigación científica, sino a todos aquellos organismos y personas que laboramos dentro del sector agrícola. Existe una clara conciencia, en los momentos actuales, de que es necesario y urgente recobrar la enorme cantidad de material genético que se encuentra disperso, prácticamente sin uso, en muchas poblaciones naturales. La historia puede ilustrarnos con numerosos ejemplos. En el caso particular de resistencia a enfermedades, las que han estado presentes en las variedades cultivadas han sido rotas y luego se han tenido problemas en el desarrollo de nuevas variedades resistentes y nos hemos visto abocados con la triste realidad de que la variabilidad disponible en el germoplasma existente ha sido muy limitada y no se han podido desarrollar rápidamente nuevas variedades que sustituyan a aquéllas que dejaron de ser útiles. Es por esto que, en los últimos años, se ha sentido a nivel nacional e internacional, la urgencia de recobrar estos materiales, pues es ostensible la presión por el desarrollo de nuevos cultivares que sirvan para nutrir a una población cada vez más creciente.

Ahora existe también un despertar e interés nuevo y renovado por especies que han sido cultivadas por centurias entre los primitivos habitantes del Área Andina, pero que con la civilización y los diferentes gustos por alimentos de los colonizadores, poco a poco se fue relegando su utilización. En la actualidad encontramos que muchas de estas especies, si no están totalmente extinguidas, se encuentran en vías de extinguirse; la quinua, por ejemplo, ha atraído una atención enorme por su riqueza proteica y puede ser, posiblemente, en el futuro, un importante sustituto a otras fuentes proteicas que son más costosas para las poblaciones de menores recursos. Es, por tanto, importante que los organismos especializados como el INIAP y otros, que tienen relación con la actividad agrícola, se preocupen por la conservación, así como por la recolección de estos materiales que se encuentran dispersos. Esta reunión que congrega a un selecto número de técnicos ecuatorianos y algunos invitados extranjeros tiene por tanto, una enorme trascendencia.

Espero que las conversaciones, las charlas, las disertaciones, las discusiones que tengan lugar durante el período que dura esta reunión sean del todo fructíferas y que reporten utilidad para todos aquellos que estamos trabajando con el sector agropecuario y, sobre todo se cumpla con el propósito central de esta reunión que está indicado en el programa que tienen

todos y cada uno de ustedes en su poder. Creo, y no necesito recalcarlo, que es de vital importancia se constituyan este tipo de programas coordinados a nivel nacional, para la conservación de los recursos fitogenéticos de los cuales nuestro país, afortunadamente, es muy rico.

A nombre del señor Ministro de Agricultura y en mi calidad de Director del INIAP, dejo inaugurado este certamen, expresando mis deseos del mayor éxito posible.

CONSERVACION DE GERMOPLASMA MEDIANTE CULTIVO DE TEJIDOS *

Diego Estrella **

Las técnicas convencionales de conservación de germoplasma no son aplicables a algunas categorías de cultivos importantes, especialmente de propagación vegetativa, debido a limitantes tales como:

- Plantas altamente heterocigóticas, cuya semilla presenta elevada segregación.
- Alto costo de mantenimiento de colecciones numerosas de especies vegetativamente propagadas.
- Sistemática contaminación por patógenos, muchos de ellos de difícil detección (virus, viroides, etc.)
- Variabilidad o segregación en las progenies, producción de semilla no fértil, rápido deterioro y pérdida de viabilidad, etc., en especies propagadas mediante el uso de semilla.

Estos y otros problemas de conservación de germoplasma pueden ser resueltos parcial o totalmente mediante el desarrollo y aplicación de métodos in vitro para mantenimiento durante largos períodos de tiempo con mayor seguridad, menor costo, libre de patógenos, etc.

Las plantas que van a ser sometidas a conservación *in vitro* deben provenir de preferencia de la regeneración de meristemas, manteniéndose de esta manera la estabilidad genética del material así manipulado; la regeneración de plantas a partir de otros órganos o tejidos involucra serios cambios en el patrón de crecimiento, y por tanto existen riesgos en cuanto a su estabilidad.

Los métodos de conservación de germoplasma mediante cultivo de tejidos básicamente son tres:

- Mantenimiento a temperaturas normales
- Disminución del metabolismo o crecimiento mínimo
- Cryoconservación o conservación a temperaturas ultrabajas.

* Conferencia dictada en la Primera Reunión Nacional de Recursos Genéticos de las Plantas Cultivadas.

** Técnico del Programa de Papa de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP.

- Mantenimiento a temperaturas normales

En laboratorios de cultivo de tejidos estos son mantenidos en stocks, conservándolos en condiciones normales al área de trabajo.

Dada la simplicidad de este tipo de mantenimiento muy apropiado especialmente para meristemas, debe ser considerado como la base para el desarrollo de métodos de conservación superiores.

- Crecimiento mínimos

El germoplasma puede ser conservado in vitro como plantas derivadas de meristemas en condiciones que retarden su crecimiento, de tal manera que el tiempo de mantenimiento se prolongue cuanto sea posible, lo cual se consigue mediante disminución controlada de la temperatura, modificaciones en el medio de cultivo, etc.

- Cryoconservación

Se puede conservar tejidos in vitro a temperaturas extremadamente bajas (-196°C , temperatura del nitrógeno líquido), capaz de inmovilizar todas o la mayoría de las actividades metabólicas; siendo por tanto pequeñamente afectadas por el paso del tiempo.

Para determinados cultivos de mayor importancia económica como: yuca y papa, se han desarrollado técnicas que permiten el almacenamiento y conservación in vitro de valiosos bancos de germoplasma, en condiciones de baja temperatura y crecimiento mínimo, lo cual elimina gran parte de los inconvenientes de manejo y conservación y permite la provisión de un número suficiente de plantas para cualquier trabajo, en poco tiempo y en el momento en que éste sea necesario, y mediante una exhaustiva investigación, permanentemente se perfeccionan estas técnicas.

La conservación in vitro de germoplasma de cultivos tales como: oca, melloco, mashua, si bien no ha sido mayormente desarrollada, puede ser investigada y resuelta basándose en los resultados y aplicaciones de otros cultivos, ya que los principios fisiológicos, bioquímicos, etc. que regulan estas aplicaciones son comunes a muchas especies, tal es el caso del melloco que responde con buenos resultados a los tratamientos a que es sometida la papa.

Perspectivas

El gran desarrollo que ha tenido el cultivo de tejidos en una infinidad de especies y la eficiencia de su aplicación frente al manejo convencional, tiene como limitante la conservación del germoplasma en cuestión, ya que independientemente de la finalidad de un laboratorio de esta naturaleza, la conservación de germoplasma es fundamental, no solo para la provisión de un stock de plantas base del trabajo rutinario, sino también para la formación de bancos de conservación de germoplasma que, con sus respectivos duplicados permita la provisión e intercambio del valioso material preservado.

El desarrollo, perfeccionamiento y aplicación de métodos de conservación de germoplasma *in vitro* basados en la preservación a temperaturas ultrabajas y/o crecimiento mínimo está llamado a ser la metodología rutinaria de trabajo para determinados cultivos que, por su misma naturaleza, no pueden ser manejados con eficiencia mediante técnicas convencionales.

La implementación de laboratorios de cultivo de tejidos para este tipo de investigaciones u otras finalidades se justifica desde todo punto de vista; muchos aspectos del manejo de determinados cultivos son tan problemáticos que el cultivo de tejidos, es una de las pocas alternativas, sino la única, para enfrentar y resolver ciertos problemas. Es así como en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIAP, se ha implementado un laboratorio de cultivo de tejidos con facilidades mínimas, cuyo trabajo se detalla a continuación.

Producción de tubérculos de papa libres de virus a partir de cultivo de tejidos.

El éxito en la producción de papa depende, en gran medida del uso de semilla de buena calidad. Esta semilla debe estar libre de contaminación, especialmente de virus que son los causantes de la disminución gradual de la producción.

Para producción de semilla de papa libre de virus, INIAP ha implementado en la Estación Experimental Santa Catalina, a través del Programa de Papa-Hortalizas, un laboratorio de cultivo de tejidos, en donde se obtiene y conserva en existencia plantas de papa libre de virus y dos invernaderos para obtener el máximo aprovechamiento del material sano.

La obtención de plantas libres de virus se basa en la siembra de meristemas de plantas sometidas previamente a tratamientos de termoterapia, con temperaturas elevadas (del orden de 30 a 35 ° C). El éxito del proceso radica en efectuar con ayuda de un estereomicroscopio, un corte limpio de meristemas, el mismo que no debe exceder de 0.5 mm, en condiciones de total asepsia. Al meristema así obtenido se lo "siembra" en tubos de ensayo, en medios de cultivo que los provee de todos los elementos (sales, vitaminas, hormonas, etc.) que éste requiere para su crecimiento y diferenciación en una pequeña plantita.

La determinación de la sanidad de las plantitas se efectúa mediante pruebas de serología. Para esto, se macera pequeños folíolos y el jugo extraído se pone en contacto con antisueros, de acuerdo a los virus problema. Si existe reacción positiva para uno o varios virus, automáticamente se elimina el material; es suficiente obtener una sola planta negativa para todos los virus, puesto que sometiéndola a micropropagación sucesiva "in vitro" generará un número suficiente de plantas sanas, para su posterior multiplicación.

De esta manera, se han obtenido plantas libres de virus, de cinco variedades de papa. Los virus para los que el material ha sido y es chequeado son: PVX, PVY, PVS, APLV, PLRV y el viroide PSTV. Este material es mantenido en laboratorio, "in vitro", mediante micropro-

pagación y multiplicado para obtener plantas "madres" las mismas manejadas adecuadamente en el invernadero, generan gran cantidad de plantitas que son llevadas al campo.

Las técnicas de propagación acelerada permiten el aprovechamiento máximo del área foliar, mediante cosechas sucesivas de esquejes. Las plantas madres son sometidas a tratamiento especial como sobre fertilización, aumento de fotoperíodo, corte apical para estimular el desarrollo de yemas secundarias que generarán esquejes, etc. Los esquejes cosechados, de 5 - 10 cm de largo, con 3 - 4 hojas pequeñas, son tratados con hormonas para estimular el enraizamiento, de tal forma que colocados en un substrato de arena de río, delgada, lavada y esterilizada y proveyéndolos de humedad constante desarrollan al cabo de 14 - 15 días un sistema radicular vigoroso, abundante, uniforme y que resiste el trasplante al campo.

Con la aplicación de estas técnicas una planta madre puede producir 150 esquejes y, en el campo cada esqueje produce aproximadamente 500 gramos de tubérculos. Es decir que, al cabo de aproximadamente 10 meses, si el proceso se ha manejado adecuadamente evitando contaminaciones a todo nivel (laboratorio, invernadero, campo), de cada planta madre proveniente de cultivo de tejidos se obtiene aproximadamente 75 kg de tubérculos de alta calidad, calificados como semilla libre de virus.

En el campo, durante los primeros 30 días, no debe faltar humedad en el lote de esquejes, al cabo de este tiempo puede ser manejado como si proviniese de una siembra normal de tubérculos. Es importante el manejo en lo que se refiere a control de vectores y evitar posibles contaminaciones de virus, para que al cosechar los tubérculos, se los pueda catalogar como de muy baja contaminación, es decir semilla de alta calidad, base para el proceso de multiplicación y certificación.

La conveniencia de la aplicación de esta tecnología radica no solo en la calidad de semilla al final del proceso, sino también en el volumen del material que se puede obtener, calidad y cantidad muy superiores a los obtenidos con los sistemas tradicionales de producción de semilla.

Literatura Consultada

1. CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. 1981. Técnicas de multiplicación rápida de la papa. CIP. Lima, Perú
2. DE LA ROTA, Ma. y E. MARTINEZ. 1982. El saneamiento de las plantas, mediante el uso de meristemas, quimioterapia y termoterapia. CIAT. Cali, Colombia (Mimeografiado)
3. SCHILDE, L. y N. ESPINOZA. Eliminación de patógenos y conservación de clones importantes por cultivo de tejidos. Traducido del inglés por Margarita Quoirin. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. (Mimeografiado)
4. SCHILDE, L. y R. LIZARRAGA. 1982. Curso intensivo de capacitación en yuca y papa por el cultivo de tejidos y otras técnicas CIAT, Cali, Colombia (Mimeografiado)
5. WITHERS, L. A. 1980. Tissue culture storage for genetic conservation. IBPGR Technical report. England. 91 p.