



**INFORME ANUAL
1998**

**INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE
INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
INIAP**

**ESTACIÓN EXPERIMENTAL
"SANTA CATALINA"**

**INFORME ANUAL
1998**

**DEPARTAMENTO NACIONAL DE RECURSOS
FITOGENÉTICOS Y BIOTECNOLOGÍA
DENAREF**

**Quito – Ecuador
1998**

**PERSONAL DEL DEPARTAMENTO NACIONAL DE
RECURSOS FITOGENÉTICOS Y BIOTECNOLOGÍA EN 1998**

Dr. Raúl Castillo T. *	Líder DENAREF
Ing. Agr. Nelson Mazón O. **	Líder DENAREF (E)
Dr. Jaime Estrella E. ***	Investigador Agropecuario
Ing. Agr. César Tapia B. ***	Investigador Agropecuario
Biól. Laura Muñoz E.	Investigador Agropecuario
Ing. Agr. Alvaro Monteros A.	Investigador Agropecuario
Biól. Eduardo Morillo V. ****	Investigador Agropecuario
Agr. José Barrera I.	Agrónomo Investigador
Lic. Raúl Pozo Z.	Becario – Egresado
Sra. Soraya de Ponce	Secretaria

* Hasta enero de 1998.

** Desde febrero de 1998.

*** Desde diciembre de 1998.

**** Desde julio de 1998. Anteriormente se desempeñaba como becario-egresado.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	i
PROYECTO 1: Conservación y uso sostenible de la biodiversidad agrícola: El Banco de Germoplasma del INIAP	
1	
Mantenimiento de 10000 accesiones de diferentes cultivos en cámara refrigerada a -15°C.	3
Conservación <i>in vitro</i> de 210 morfotipos de raíces y tubérculos andinos: (meloco, oca, mashua, jícama y miso) a 6±2°C.	5
Introducción y mantenimiento <i>in vitro</i> de 30 morfotipos de la colección nacional de camote (<i>Ipomoea</i> sp.).	8
Mantenimiento <i>in vitro</i> del duplicado de seguridad de la Colección Mundial de Papa del CIP.	10
Conservación <i>in vitro</i> de la colección ecuatoriana de papa (CEP).	12
Mantenimiento de la colección nacional de capulí (<i>Prunus serotina</i> spp. <i>capuli</i>) en campo.	14
Evaluación y mantenimiento de 280 entradas de la colección nacional de meloco (<i>Ullucus tuberosus</i>) en campo.	16
Evaluación y mantenimiento de 164 entradas de la colección nacional de oca (<i>Oxalis tuberosa</i>) en campo.	18
Evaluación y mantenimiento de 78 entradas de la colección nacional de mashua (<i>Tropaeolum tuberosum</i>) en campo.	20
Evaluación y mantenimiento de 80 entradas de la colección nacional de zanahoria blanca (<i>Arracacia xanthorrhiza</i>) en campo.	22
Evaluación y mantenimiento de las colecciones nacionales de miso (<i>Mirabilis expansa</i>) y jícama (<i>Polymnia sonchifolia</i>) en campo.	25
Evaluación y mantenimiento del jardín experimental de observación de especies medicinales.	27

Mantenimiento y evaluación de tres raíces andinas en tres Sistemas Agroforestales de la Sierra Ecuatoriana.	30
Recolección de especies nativas del Ecuador.	32
Cuantificación de la erosión genética de tubérculos andinos.	34
Publicación de varias investigaciones bajo la modalidad de tesis de grado.	38

PROYECTO 2: Estudios para la identificación del potencial de uso de los recursos fitogenéticos (Premejoramiento).	40
Identificación del medio de cultivo y de las condiciones de crecimiento <i>in vitro</i> para especies vegetales de importancia.	41
Limpieza de virus en líneas promisorias de melloco (<i>Ullucus tuberosus</i> Caldas) y zanahoria blanca (<i>Arracacia xanthorrhiza</i> Bancroft).	43
Caracterización molecular de chocho (<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) y quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Wild).	47
Identificación de variedades vegetales de banano y plátano.	50
Tuberización <i>in vitro</i> de melloco (<i>Ullucus tuberosus</i> Caldas) y oca (<i>Oxalis tuberosa</i> Mol.).	53
Servicio de germinación de semillas	56

ANEXOS

- Anexo 1. Géneros de especies alimenticias, forrajeras, frutales, medicinales y forestales que forman parte del Banco de Germoplasma del DENAREF. Hasta diciembre de 1998.
- Anexo 2. Acciones del Banco de Germoplasma del INIAP, mantenidas en Banco Base (hasta diciembre de 1998).
- Anexo 3. Colecciones mantenidas en campo, hasta diciembre de 1998.
- Anexo 4. Colecciones conservadas *in vitro*, hasta diciembre de 1998.
- Anexo 5. Número de entradas de melloco, oca y mashua provenientes de Cañar, Chimborazo y Tungurahua, mantenidas en el banco de germoplasma.

- Anexo 6. Primers polimórficos para caracterizar melloco, oca y mashua.
- Anexo 7. Taxonomía y sistemática molecular de la leguminosa tuberosa neotropical *Pachyrhizus* Rich. ex D.C.
- Anexo 8. Caracterización morfológica y molecular de la diversidad genética de la colección de *Pachyrhizus tuberosus* (Lam.) Spreng. del CATIE.
- Anexo 9. Tuberización *in vitro* de melloco (*Ullucus tuberosus* Caldas) y oca (*Oxalis tuberosa* Mol.).
- Anexo 10. Caracterización y evaluación en campo de 142 accesiones del germoplasma nacional de maní (*Arachis hypogaea* L.).
- Anexo 11. Análisis del polimorfismo de las colecciones de jícama (*Polymnia sonchifolia* R & P) y miso (*Mirabilis expansa* R & P) del Banco de Germoplasma del INIAP.
- Anexo 12. Porcentajes de infección detectados en siete clones promisorios de melloco mediante ELISA de acuerdo al virus.
- Anexo 13. Porcentajes de infección detectados en siete clones promisorios de melloco mediante ELISA de acuerdo a la entrada.
- Anexo 14. Lista de entradas promisorias de chocho (*Lupinus mutabilis*) estudiadas mediante RAPDs (ECUCOL, 1998).
- Anexo 15. Partidores y sus respectivos productos polimórficos de amplificación obtenidos en 64 entradas promisorias de chocho (*Lupinus mutabilis*).
- Anexo 16. Productos de amplificación obtenidos con el partidor AC-19 (5'-AGTCCGCCTG-3') en entradas de *Lupinus mutabilis* (INIAP, 1998).
- Anexo 17. Fenograma de 64 entradas promisorias de chocho (*Lupinus mutabilis*) en base a datos genotípicos obtenidos con la técnica RAPDs (UPGMA, $r = 0.8$).
- Anexo 18. Productos de amplificación observados en muestras de banano. Línea 1: Marcadores 1 kb DNA standard; líneas 2-5: muestras William *in vitro*; línea 6: muestra FHIA-1; líneas 7, 8: muestras FHIA-18; y, línea 9: muestra William en invernadero.
- Anexo 19. Componentes del medio de tuberización para *Ullucus tuberosus*.
- Anexo 20. Componentes del medio de tuberización para *Oxalis tuberosa*.

- Anexo 21. Análisis de Variancia Diseño completamente al azar en arreglo factorial para la variable porcentaje de tuberización en *Ullucus tuberosus* Cal.
- Anexo 22. Prueba de Tukey al 5% para el factor entradas y medios de *Ullucus tuberosus* en la fase de tuberización *in vitro*.
- Anexo 23 Análisis de Variancia Diseño completamente al azar en arreglo factorial para la variable porcentaje de tuberización en *Oxalis tuberosa*.
- Anexo 24. Prueba de Tukey al 5% para el factor entradas y medios de *Oxalis tuberosa* en la fase de tuberización *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

Los recursos fitogenéticos constituyen la base biológica de la seguridad alimentaria mundial y contribuyen al sustento de la población. Estos recursos están formados por la diversidad de material genético que contienen las variedades tradicionales y modernas, al igual que sus parientes silvestres.

Según el Plan de Acción Mundial implementado por la FAO, no existe seguridad alimentaria en el mundo actual y hay aproximadamente 800 millones de habitantes que sufren de desnutrición. Además, se ha calculado un crecimiento de la población mundial hasta los 8 500 millones en los próximos 30 años. Por lo tanto, es tarea urgente mejorar los rendimientos agrícolas de manera segura y sostenible para satisfacer las demandas mundiales. En este sentido, la conservación y uso sostenible de los recursos fitogenéticos son los pilares vitales para mejorar la productividad y la sostenibilidad de la agricultura, contribuyendo así al desarrollo nacional, la seguridad alimentaria y el alivio de la pobreza.

Este informe describe la ejecución de actividades cubiertas por el DENAREF durante 1998 en pro de la conservación y uso sostenible de los recursos genéticos para la alimentación y la agricultura. En este documento se presentan las acciones realizadas en ese año, las mismas que se enmarcaron en dos proyectos globales a largo plazo: *(1) Conservación y manejo sostenible de recursos fitogenéticos: El Banco de Germoplasma de INIAP*; y, *(2) Estudios para la identificación del potencial de uso de los recursos fitogenéticos (Pre-mejoramiento)*.

El desarrollo técnico, científico e institucional, así como la continuidad del personal capacitado han sido elementos claves para el éxito y la consolidación del DENAREF. En estos años, la seriedad técnica y científica del Departamento ha logrado reconocimiento a nivel nacional e internacional; se establecieron - o *continuaron* - varios convenios de investigación con instituciones reconocidas en el ámbito interno y externo; y, se participó en variados foros para la definición de políticas y estrategias para la conservación, protección y uso de la biodiversidad ecuatoriana.

La experiencia acumulada por el DENAREF, la flexibilidad de su estructura y el dinamismo de su equipo humano han creado las condiciones necesarias para su efectivo impacto en el entorno científico, técnico, legal y político del país, contribuyendo hacia el concepto de sostenibilidad. El apoyo estatal ha sido, desafortunadamente, muy bajo, por lo que se recurrió al establecimiento de alianzas con instituciones de investigación y

desarrollo nacionales, internacionales y donantes, tales como COSUDE, CIP, IPGRI y diversos ministerios del país. En este sentido, el DENAREF desea dejar constancia de su agradecimiento a estas entidades en vista de que permitieron evolucionar en la dirección deseada.

Queda en manos del Departamento, y del INIAP en general, el reto de responder al desafío nacional de alcanzar niveles deseables de seguridad alimentaria y aliviar la pobreza.

Jaime Estrella E., PhD

Líder, Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos y
Biotecnología (DENAREF)

Quito - Ecuador, Marzo de 1999.

PROYECTO: Conservación y uso sostenible de la biodiversidad agrícola: El Banco de Germoplasma del INIAP.

CODIGO: 63801

• **Objetivos del Proyecto**

- Evitar la erosión genética y extinción de los cultivos nativos y sus especies silvestres relacionadas. Conservar y manejar la variabilidad genética para uso presente y futuro.

• **Palabras clave**

Agrobiodiversidad; variabilidad genética; conservación ex situ; banco de germoplasma; caracterización morfológica y molecular; evaluación agronómica; uso de germoplasma.

• **Indicador del proyecto**

El banco base a finales de 1998 cuenta aproximadamente con 12000 entradas. A través de los procesos de caracterización y evaluación se continúa ofertando materiales promisorios a los fitomejoradores y otros investigadores; además, se incluyen en los procesos de caracterización las técnicas de marcadores moleculares. Se participa en reuniones nacionales e internacionales para la definición del marco jurídico y legal de regulación del manejo y uso sostenible de la biodiversidad, el acceso a los recursos genéticos y las normas sobre bioseguridad. Se realizan gestiones de coordinación con diversas universidades y ONGs para el manejo de colecciones *ex situ*.

• **Logros alcanzados del proyecto a la fecha**

- Continúa en vigencia la estrategia básica de servicio del DENAREF, lo cual se evidenció a través de acciones de recolección, intercambio, conservación, evaluación y documentación de la biodiversidad agrícola del país. A finales de 1998, el banco de germoplasma cuenta con 12173 accesiones, es decir, un incremento de 876 muestras con respecto al año 1997. El banco incluye 246 géneros de especies alimenticias, frutales, forestales, forrajeras y medicinales (Anexo 1). Las especies que se mantienen en banco base, campo y a nivel *in vitro* se detallan en los Anexos 2, 3 y 4, respectivamente.

- Se conservó *in vitro* 757 entradas de diversas especies (papa, melloco, jícama, oca, mashua, camote, tomate de árbol, miso, naranjilla y pepino dulce; Anexo 4); y, se continuó la custodia de 4445 accesiones del duplicado de la Colección Mundial de Papa del CIP y de 400 entradas de la Colección Ecuatoriana de Papa (CEP).

- Se caracterizaron y evaluaron las colecciones nacionales de raíces y tuberosas andinas en el marco del Programa Colaborativo Biodiversidad de RTAs.

- Los técnicos del DENAREF dictaron un Curso sobre Manejo de Recursos Fitogenéticos a petición de la Universidad de Loja del 9 al 11 de diciembre de 1998, con el fin de capacitar a los técnicos del proyecto ECU/B7-3010/94/103. Los temas del curso versaron sobre el origen de la agricultura, biodiversidad agrícola del Ecuador; recolección, introducción, conservación, caracterización, documentación y usos del germoplasma.

- Es notorio el liderazgo de INIAP en el ámbito de la conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos, tanto a nivel nacional como internacional, pues coordina las actividades de manejo de la agrobiodiversidad del país y participa en redes regionales de recursos fitogenéticos (REDARFIT, TROPIGEN). Estas acciones se han complementado en este año con iniciativas de conservación *in situ*, en el marco de un proyecto integral de desarrollo sostenible.

- Finalizó el adiestramiento de los investigadores del DENAREF, Jaime Estrella y César Tapia, quienes se reincorporaron al Departamento en diciembre de 1998, luego de obtener los títulos de PhD y MSc en especializaciones en el área de biología molecular, medioambiente y evolución; y, agricultura sostenible con énfasis en manejo y conservación de los recursos fitogenéticos, respectivamente.

• Limitantes

En las actividades de conservación *ex situ* existen las siguientes limitantes:

- Factores abióticos como granizadas, heladas, sequías, etc., que afectaron considerablemente las áreas experimentales donde se establecieron las colecciones de campo, especialmente raíces y tubérculos andinos.

- En cuanto al manejo del banco base, no se cuenta con la infraestructura adecuada (invernaderos con condiciones controladas) ni con el financiamiento para emprender una intensa campaña de refrescamiento, multiplicación y caracterización de las colecciones que se conservan a bajas temperaturas. Se ha previsto la presentación de proyectos a organismos internacionales a fin de atender esta prioridad de trabajo.

En las actividades de conservación *in situ* existen las siguientes limitantes:

- Reducida información sobre experiencias y metodologías de trabajo en materia de conservación *in situ* de variedades y cultivares primitivos.

- Poca documentación sobre descriptores y herramientas de trabajo para medir la conservación de especies en peligro de erosión genética.

Título: Mantenimiento de 10000 accesiones de diferentes cultivos en cámara refrigerada a -15°C

Código: 5001

• **Indicadores de la actividad**

Hasta fines de 1998, los fitomejoradores, agrónomos e investigadores disponen de un mínimo de 10000 muestras de semillas, documentadas y con adecuado poder de germinación. Este material representa una amplia base genética para la conducción de ensayos y atiende al principio de seguridad alimentaria. Además, el banco de germoplasma es depositario de al menos 1000 entradas en calidad de custodia.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

Los bancos de semillas son un medio eficiente para la conservación de recursos genéticos. Las técnicas que éstos emplean buscan el máximo tiempo de almacenamiento con el mínimo de actividad fisiológica de la semilla y la menor pérdida de viabilidad. Existen dos tipos esenciales de bancos de germoplasma de semillas: banco base y banco activo. Para las colecciones básicas se recomienda que las semillas sean secadas al 5 - 6% y almacenadas a temperaturas entre -10 y -20°C; y, para las colecciones activas se sugiere un nivel de humedad de la semilla entre 8 y 11%, conservándola a una temperatura entre 0 y 5°C (Hidalgo, 1991).

De acuerdo a su comportamiento en almacenamiento, existen tres categorías principales de semillas: ortodoxas, intermedias y recalcitrantes, las mismas que se pueden mantener en almacenamiento a largo, mediano o corto plazo, respectivamente (Hong & Ellis, 1996).

Objetivos:

- Preservar la agrobiodiversidad de especies de importancia alimenticia que se encuentran en peligro de extinción.
- Conservar colecciones nucleares (*core collections*) de germoplasma, entregadas por programas de fitomejoramiento, en calidad de custodia.
- Conservar y estudiar la variabilidad genética del germoplasma proveniente de otras instituciones de investigación, a través del intercambio.
- Mantener muestras de semillas en condiciones adecuadas (porcentaje de germinación, viabilidad, cantidad) para oferta a diversos usuarios.

Hipótesis:

Las muestras de semilla de las accesiones correspondientes a diferentes especies conservadas en el banco se mantienen en condiciones adecuadas.

• Metodología

Las muestras de semillas ortodoxas obtenidas por recolección, intercambio o custodia se secaron a niveles de 6 - 10% de contenido de humedad interna, se empacaron herméticamente en fundas de aluminio/polietileno debidamente identificadas y se almacenaron a -15°C. Estas muestras representativas se almacenan por largos periodos de tiempo, sin pérdida de viabilidad, la misma que se monitorea periódicamente. Cuando las colecciones tienen baja viabilidad (< 80%) y/o escasa cantidad de semilla es necesario planificar y ejecutar un refrescamiento y multiplicación.

• Resultados y discusión

El banco base cuenta con un total de 9745 entradas hasta diciembre de 1998 (Anexos 1 y 2). El número total de entradas se incrementó en un 1,6% (154 muestras), a las que se les asignó número nuevo de banco (*ECU*). Sin embargo, cabe resaltar que aproximadamente 2000 entradas provenientes de recolección, custodia, intercambio y refrescamiento fueron ingresadas al banco base; la gran mayoría de estos materiales ya contaban con número *ECU* y se encontraban en cuarto de secamiento (2% de humedad relativa y 19±1°C). Es importante señalar que se realizó el inventario y ordenamiento de las entradas almacenadas en banco base.

• Conclusiones y recomendaciones

Se conserva un total de 9745 entradas en el banco de semillas de INIAP. El incremento de entradas por recolección y custodia fue de 1,6% durante 1998. Se recomienda realizar un monitoreo total de la viabilidad y tamaño de las muestras almacenadas, especialmente en aquellas que se han documentado con baja disponibilidad de semilla. Con base a los resultados que se obtengan en estos análisis, se deberá planificar refrescamientos y/o multiplicación de semilla, enfatizando al mismo tiempo en el mantenimiento de la identidad genética de las accesiones. Esta actividad debe coordinarse con los diferentes programas y estaciones del Instituto.

• Bibliografía citada

- HIDALGO, R. 1991.** Conservación *ex situ*. In: Técnicas para el manejo y uso de recursos genéticos vegetales. Editorial Porvenir. DENAREF - INIAP. Quito - Ecuador. R. Castillo, J. Estrella y C. Tapia (eds.). pp. 71 - 87.
- HONG, T.; ELLIS, R. 1996.** A protocol to determine seed storage behaviour. Department of Agriculture, University of Reading, UK. IPGRI Technical Bulletins. 64 p.

Título: Conservación *in vitro* de 210 morfotipos de raíces y tubérculos andinos (melloco, oca, mashua, jícama y miso) a $6\pm 2^{\circ}\text{C}$

Código: 5002

• **Indicadores de la actividad**

Hasta fines de 1998, el DENAREF dispone de un duplicado de seguridad de 210 clones representativos de la colección de raíces y tubérculos andinos (RTAs), que se mantiene bajo condiciones de laboratorio a $6\pm 2^{\circ}\text{C}$.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

El mantenimiento de germoplasma en campo ocasionalmente conduce a la pérdida de accesiones, por encontrarse expuesto a variaciones drásticas del medio ambiente y a la presencia de plagas y enfermedades. Además, dicho modo de conservación puede derivar en un incremento en los costos por el uso intensivo de mano de obra e insumos.

El mantenimiento *in vitro* de una colección, en contraste, permite conservar morfotipos representativos de RTAs y optimizar su disponibilidad para los usuarios en cualquier época del año.

Objetivos:

- Mantener *in vitro* los morfotipos representativos de las colecciones de melloco, oca, mashua, jícama y miso.

Hipótesis:

Todos los morfotipos de las colecciones de melloco, oca, mashua, jícama y miso se adaptan a la conservación *in vitro*.

• **Metodología**

En una primera etapa se realizó la micropropagación de los morfotipos representativos de las colecciones de RTAs. Para ello se realizó el corte y siembra de nudos (primordios y yemas) de los morfotipos seleccionados para cada especie. El medio de cultivo para la micropropagación contiene las sales de Murashige y Skoog

(1962), suplementadas con pantotenato de calcio (2 ppm), sucrosa (30 g/l) y agar (7,5 g/l).

Los tubos de ensayo que contienen estos explantes se colocaron en cuarto de cultivo a $18\pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura y aproximadamente 70% de humedad relativa. Luego de 30 - 45 días de crecimiento, los nudos producidos se sembraron en medio de cultivo de conservación que contenía sales de MS (Murashige & Skoog), manitol (40 g/l), sucrosa (30 g/l) y agar (7,5 g/l), ajustando el pH a 5,7.

La conservación de RTAs (mellico, oca y mashua) se realizó en cuarto frío a una temperatura de $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa del 80%.

• Resultados y discusión

La colección de clones representativos de mellico asciende a un total de 104 (Anexo 4), manteniéndose en conservación 81 entradas; además, 25 accesiones fueron reintroducidas. Todos los morfotipos han sido micropropagados para posteriormente continuar su conservación a bajas temperaturas.

En cuanto a mashua, la colección está conformada por 40 materiales, de los cuales 20 están en conservación, 10 en micropropagación y 10 han sido reintroducidos (Anexo 4).

En el caso de oca, se mantienen 55 entradas en conservación y micropropagación; para completar la colección se han introducido 10 entradas que en un próximo ciclo se micropropagarán y conservarán *in vitro*.

La colección de jicama se mantiene a mediano plazo, en cuarto de cultivo donde la temperatura se encuentra a $18\pm 2^{\circ}\text{C}$, con una intensidad luminosa de 2000 lux y un fotoperíodo de 16 horas. Actualmente se mantienen 20 materiales y 16 entradas se deben introducir *in vitro*. Se presentaron problemas de contaminación por ácaros.

La colección de miso en laboratorio comprende siete entradas, de las cuales se realizan micropropagaciones cada 2 ó 3 meses, es decir, que dicho germoplasma se conserva a corto plazo. Es necesaria la introducción de cuatro materiales para completar la variabilidad que dispone el DENAREF.

• Conclusiones y recomendaciones

En términos generales, las entradas de mellico, oca, mashua y jicama responden en forma positiva a las condiciones *in vitro*. Algunos materiales no se pueden conservar por largos períodos por lo que se realizan propagaciones periódicas para el mantenimiento del mismo.

Actualmente se manejan a nivel *in vitro* aproximadamente 236 entradas que corresponden a cinco especies de RTAs (Anexo 4).

Se está realizando la introducción *in vitro* de las entradas faltantes de cada una de las especies. Además se probarán otros medios de cultivo, especialmente para el caso de miso que no presenta resultados positivos con retardantes de crecimiento.

- **Bibliografía citada**

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473 - 497.

Título: Introducción y mantenimiento *in vitro* de 30 morfotipos de la colección nacional de camote (*Ipomoea* sp.)

Código: 5003

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, el DENAREF dispone de un duplicado parcial de la colección de camote que se mantiene en la Estación Experimental Portoviejo; dicho duplicado de seguridad contiene morfotipos representativos que se mantienen con adecuada viabilidad.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

El camote (*Ipomoea batatas*) es una planta herbácea, perenne, con raíces bastante tuberosas que presentan gran variación de coloración de la pulpa y de la epidermis. Constituye una excelente fuente de carbohidratos (60g/100 g en base seca del follaje). Los contenidos de proteína en la raíz varían entre 1,4 y 2,4g por cada 100g de porción comestible. Las raíces del camote pueden utilizarse frescas, enlatadas o deshidratadas en la alimentación humana, y frescas o deshidratadas en la alimentación animal (Montaldo, 1991).

La Estación Experimental Portoviejo mantiene una colección de camote en condiciones de campo con fines de investigación y manejo. Para evitar la pérdida de las entradas de esta especie se emplean las técnicas de cultivo de tejidos, lo cual permite el establecimiento de un duplicado de seguridad bajo condiciones de laboratorio.

Objetivos:

- Introducir y mantener 50 morfotipos de la colección de camote.

Hipótesis:

Todos los morfotipos de la colección nacional de camote se adaptan a las condiciones de cultivo *in vitro*.

• **Metodología**

Para el mantenimiento del germoplasma de camote se utilizaron las técnicas de micropropagación descritas por Lizárraga *et al.* (1992). La fase de conservación *in*

in vitro a corto plazo se llevó a cabo utilizando un medio de cultivo con ácido ascórbico (200 ppm), L-arginina (100 ppm), ácido giberélico (10 ppm), putrescina-HCl (20 ppm), pantotenato de calcio (2 ppm), sucrosa (3%), agar (0,8%) y gelrite (0,3%).

- **Resultados y discusión**

Los morfotipos introducidos de camote presentan problemas en el desarrollo, obteniéndose plantas pequeñas con entrenudos cortos. Hasta la fecha, se mantienen ocho materiales en conservación a corto plazo. Desafortunadamente se perdieron 12 materiales por problemas de *mutación de etiqueta*, lo cual obligó a eliminar material viable pero sin identificación confiable.

Durante 1999 se gestionará una posible repatriación de la colección ecuatoriana que se encuentra en custodia en el CIP - Lima. Esta gestión es necesaria debido a la pérdida parcial de entradas de la colección de campo en Portoviejo por problemas climáticos.

- **Conclusiones y recomendaciones**

Actualmente se mantienen a nivel *in vitro* ocho entradas de la colección de camote (Anexo 4). La conservación de este material no puede realizarse por largos períodos, por lo que se realizan propagaciones sucesivas. Finalmente, se debe completar la introducción de este material para completar la colección, una vez que se coordine la repatriación de germoplasma desde el CIP o la cosecha parcial de esquejes de la colección de campo en Portoviejo.

- **Bibliografía citada**

- LIZÁRRAGA, P., PANTA, A., ESPINOZA, N. & DODDS, J. 1982. Tissue culture of *Ipomoea batatas*. Micropropagation and Maintenance. CIP's Research Guide 32. Lima - Perú. 18 p.
- MONTALDO, A. 1991. Cultivos de raíces y tubérculos tropicales. IICA. Segunda edición. San José - Costa Rica. pp. 231 - 280.

Título: Mantenimiento *in vitro* del duplicado de seguridad de la Colección Mundial de Papa del CIP

Código: 5004

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se espera conservar con viabilidad adecuada al menos el 40% de la colección mundial de papa del CIP, bajo condiciones de laboratorio en la EESC; mientras tanto, el total de la colección del CIP se mantiene en la sede Lima, con adecuada viabilidad.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

Como parte de la estrategia de seguridad alimentaria, es necesario mantener duplicados de germoplasma en otros bancos, ya que dentro de las colecciones existen materiales únicos que al perderse no podrán recuperarse nuevamente. En el DENAREF se conserva un duplicado de la colección mundial de papa (que ha sido formada por iniciativa del CIP y los programas nacionales), como un respaldo de seguridad ante posibles factores que podrían afectar su integridad (por ejemplo, movimientos telúricos, terrorismo, fallas de energía eléctrica, incendios, etc.).

Objetivos:

- Mantener un duplicado de la colección mundial de papa del CIP, con técnicas *in vitro*.
- Monitorear la viabilidad del germoplasma; y, emitir informes técnicos sobre el estado de viabilidad, conservación y la necesidad de preparar un nuevo duplicado.

Hipótesis:

El duplicado de la colección mundial de papa se conserva en condiciones *in vitro* con viabilidad adecuada.

• **Metodología**

La custodia del duplicado de la colección mundial de papa se realiza en cuarto de conservación, a una temperatura de $6\pm 2^{\circ}\text{C}$, con una intensidad luminosa de 2000 lux y un fotoperiodo de 10 horas. La colección alcanza un total de 4445 clones, cada uno representado por tres repeticiones. Además, se mantiene una colección de papa libre de virus con un total de 936 entradas.

- **Resultados y discusión**

Durante 1998 existieron problemas en los equipos de refrigeración, lo cual produjo una disminución en la viabilidad del material. Es así que de dos evaluaciones de viabilidad que se realizaron (marzo y diciembre), en la primera se detectó un 2,5% de accesiones muertas, cifra que aumentó en la segunda evaluación a 12,5%. El material restante (20% de la colección) se puede mantener por un lapso máximo de seis meses. Los materiales libres de virus tuvieron una reducción de 100 entradas.

- **Conclusiones y recomendaciones**

En vista de que el duplicado de la colección se estableció en febrero de 1997 y se han registrado decrementos en la viabilidad del germoplasma, es necesario renovar nuevamente dicho duplicado. Actualmente se conserva solamente un 20% de la colección mundial en los laboratorios del DENAREF. Para tales efectos, a inicios de 1999 se coordinará conjuntamente con el CIP la preparación y envío de un nuevo duplicado *in vitro*.

Se recomienda ampliar este tipo de convenios, con otras instituciones y para otras especies, con el fin de garantizar la disponibilidad de la variabilidad genética de los diferentes cultivos como parte de la estrategia de seguridad alimentaria.

Título: Conservación *in vitro* de la colección ecuatoriana de papa (CEP)

Código: 5005

• Indicadores de la actividad

Hasta diciembre de 1998, el Programa Nacional de Tubérculos y Raíces, rubro Papa, dispone permanentemente de un duplicado *in vitro* de la colección ecuatoriana de papa (CEP), con aproximadamente 800 entradas que se mantienen viables en cuarto refrigerado ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$).

• Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)

La colección ecuatoriana de papa (CEP) comprende una alta variabilidad genética, cariotípica y agronómica con materiales precoces y tardíos con características destacables como alto rendimiento, resistencia a plagas y enfermedades, ciclo de crecimiento corto, etc. Estas características son importantes para la generación de nuevas variedades, actividad que realiza el Programa Nacional de Raíces y Tubérculos (PNRT). Mantener esta valiosa colección bajo condiciones controladas fue una prioridad del Programa de Papa, la misma que ha recaído en el ámbito del DENAREF. Entre otras, las ventajas de mantener *in vitro* la CEP son: (i) el germoplasma se encuentra disponible en todas las épocas del año; y, (ii) cualquier entrada solicitada por el PNRT pueda ser entregada en cortos periodos de tiempo para su correspondiente evaluación en campo.

Objetivos:

- Conservar *in vitro* la Colección Ecuatoriana de Papa.

Hipótesis:

Todas las entradas de la CEP responden óptimamente a la conservación *in vitro*.

• Metodología

En primera instancia se realizó un inventario de los materiales ya establecidos en laboratorio y luego se determinó las entradas faltantes de la CEP, en cuyo caso se solicitó tubérculos al PNRT. Para la introducción *in vitro* se colectaron brotes, los mismos que se lavaron y desinfectaron con cloretol al 15% durante 15 minutos; a continuación el cloro se eliminó con enjuagues de agua destilada esterilizada. Los explantes se colocaron en un medio de cultivo, el cual contenía sales de MS

suplementadas con pantotenato de calcio (2 mg/l), ácido giberélico (0,25 mg/l), sucrosa (30 g/l) y agar (7 g/l); el pH se ajustó a 5,7. Los explantes se colocaron en un cuarto de cultivo a $18\pm 2^{\circ}\text{C}$, con una intensidad luminosa de 2000 lux y un fotoperíodo de 16 horas.

Además, se inventarió aquellas entradas que debían refrescarse; el refrescamiento se realizó en un medio de cultivo con las sales de MS suplementadas con pantotenato de calcio (2 mg/l), ácido giberélico (0,25 mg/l), sucrosa (30 g/l) y agar (7 g/l); el pH se ajustó a 5,7. Los tubos de ensayo se colocaron en un cuarto de cultivo a $18\pm 2^{\circ}\text{C}$, con una intensidad luminosa de 2000 lux y un fotoperíodo de 16 horas.

Para la conservación del germoplasma, se sembraron nudos o yemas en un medio MS suplementado con manitol (retardante osmótico, 40 g/l) y adicionando al medio de cultivo sucrosa (30 g/l), agar (7,5 g/l). El pH se ajustó a 5,7.

Las condiciones para la conservación *in vitro* son en cuarto frío a $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ por un lapso de 12 meses. Se realizaron evaluaciones periódicas para determinar la fecha del próximo refrescamiento y la correspondiente fase de conservación.

- **Resultados y discusión**

La colección ecuatoriana de papa alcanza aproximadamente unas 400 entradas, de las cuales se han refrescado todas las entradas y actualmente se encuentran en conservación a corto plazo. Se observó excesiva contaminación bacteriana en la fase de conservación a largo plazo, por lo que la colección está en continua micropropagación, a fin de eliminar agentes contaminantes.

- **Conclusiones y recomendaciones**

En términos generales, la CEP ha exhibido problemas en conservación a largo plazo debido a contaminación bacteriana, principalmente de naturaleza endógena. Es necesario solucionar este problema, en vista de que la conservación a corto plazo es muy costosa, más aún si se toma en cuenta el número elevado de entradas. Se recomienda desplegar acciones hacia la formación de una colección núcleo (o alternativamente de morfotipos representativos) que es más manejable. Por razones de seguridad, la colección debe mantenerse mediante métodos alternativos hasta solventar el problema de contaminación.

Título: **Mantenimiento de la colección nacional de capulí
 (*Prunus serotina* spp. *capuli*) en campo**

Código: 5006

• **Indicadores de la actividad**

Durante 1998 se mantiene un *arboretum* e incrementa el número de accesiones de capulí, que representa un duplicado parcial de la colección de dicha especie almacenada en el banco base.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

El capulí es un frutal de los trópicos americanos que crece óptimamente sobre los 1200 m. Es originario de México aunque los mejores tipos se conocen en las tierras altas de Ecuador. El capulí es un árbol hasta de 12 m. Las hojas de pecíolos largos y finos tienen la lámina lanceolada oblonga, con el ápice agudo y los bordes aserrados; las flores crecen en racimos. Los frutos esféricos, tienen la epidermis rojo oscura y pulpa verde pálido. La semilla ocupa la mayor parte del fruto (León, 1987).

La especie tiene fruto comestible del cual se preparan diversas recetas para postre; además, se utiliza su madera para carpintería, muebles finos, herramientas, leña y carbón. Es una especie apropiada para uso en cortinas rompevientos, planes de reforestación y agroforestería; se ha reportado también el uso medicinal de las hojas (CESA, 1982).

Una parte de la colección de capulí se conserva en campo con fines de refrescamiento; sin embargo, se está también analizando usos potenciales, principalmente en lo relacionado a agroindustria (fruto en conserva) y con la madera, en trabajos de ebanistería.

Objetivos:

- Mantener parte de la colección nacional de capulí (*Prunus serotina* spp. *capuli*) en campo, con fines de identificar potenciales usos para la agroindustria y ebanistería.

Hipótesis:

El *arboretum* de capulí se mantiene en óptimas condiciones en el campo.

- **Metodología**

En el Lote C2 de la Estación Santa Catalina se ha establecido parte de la colección nacional de capulí a manera de *arboretum*, en el cual se realizan podas periódicas de saneamiento y formación, chequeo de etiquetas de identificación, labores de metro, fertilización y controles fitosanitarios. Se ha elaborado además una lista mínima de descriptores con fines de caracterización preliminar.

- **Resultados y discusión**

Se conservan en campo 61 entradas de la colección nacional de capulí en óptimas condiciones. Este *arboretum* hasta el momento no está caracterizado ni evaluado; hasta la presente fecha se han realizado únicamente podas de formación con la finalidad de observar potenciales maderables. Se han realizado fertilizaciones químicas y se han cosechado/procesado frutos para almacenamiento en cámara refrigerada.

- **Conclusiones y recomendaciones**

La colección cuenta con 61 accesiones distribuidas alrededor de las colecciones de RTA. Luego de varios años de adaptación de los árboles se ha podido cosechar una cantidad limitada de frutos. En los próximos años, cuando ya estén los genotipos totalmente adaptados a la altitud de Santa Catalina, se realizará una caracterización orientada principalmente a producción de frutos bajo estas condiciones y de madera con fines de ebanistería.

- **Bibliografía citada**

CESA (Central Ecuatoriana de Servicios Agrícolas). 1982. Usos tradicionales de las especies forestales nativas en el Ecuador. Programa de reforestación y conservación de los recursos naturales en áreas marginales de la Sierra Ecuatoriana. CESA - Intercooperación Suiza. Tomo 2. Quito. Ecuador. 183 p.

LEÓN, J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. Segunda edición. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José. Costa Rica. 445 p.

Título: Evaluación y mantenimiento de 280 entradas de la colección nacional de melloco (*Ullucus tuberosus*) en campo

Código: 5007

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se conserva en campo la colección de melloco, la misma que contempla 280 entradas, en activo proceso de caracterización y evaluación hacia la detección de materiales promisorios para uso en los programas de fitomejoramiento y otras entidades de investigación.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

El melloco pertenece a la familia Basellaceae y es un cultivo importante dentro de los sistemas agrícolas tradicionales y para la dieta de la población ecuatoriana. Existe una amplia variabilidad en formas y colores de los tubérculos, así como también en el hábito de crecimiento. Los tubérculos son una rica fuente de carbohidratos y son consumidos cocidos enteros, en sopas y ensaladas (Tapia *et al.*, 1996; León, 1987).

Esta especie se cultiva en toda la sierra ecuatoriana, principalmente en las provincias de Cañar, Chimborazo, Tungurahua, Cotopaxi, Pichincha y Carchi, en altitudes que varían entre 2 500 y 4 000 msnm (Castillo, 1995).

Objetivos:

- Conservar *ex situ* la variabilidad genética de la colección de melloco.
- Evaluar y caracterizar 280 entradas de la colección nacional de melloco.

Hipótesis:

La colección nacional de melloco se evaluó y se mantiene en campo, en óptimas condiciones.

• **Metodología**

Las diferentes entradas de la colección de melloco se siembran anualmente en surcos de 5,0 m separados 1,1 m entre surcos y 0,5 m entre plantas. Después de la cosecha, los tubérculos-semilla se almacenan en un cuarto frío a 11°C y con ventilación natural durante 3 - 4 meses, previo a la siguiente siembra.

Durante el ciclo que dura el cultivo se realizan todas las labores de deshierba, aporque, fertilización, etc., necesarias para asegurar una cosecha adecuada que permita la permanencia de cada una de las entradas.

Anualmente se registran datos de los siguientes descriptores: días a la brotación, días a la tuberización, días a la cosecha, rendimiento en kg/ha.

• **Resultados y discusión**

El 100% (275 entradas) fueron evaluadas, manteniéndose en invernadero cinco accesiones que se encontraban en peligro. Brotaron en campo entre los 11 y 26 días después de la siembra, con un promedio de 18,5 días para la colección.

Para días a la tuberización, se detectó un valor mínimo de 114 días y un máximo de 175, con un promedio de 144,5 días. Para el descriptor días a la cosecha, se registra un valor mínimo de 209 días y un máximo de 235, con un promedio de 222 días.

Los rendimientos de las colecciones en los últimos años se han visto afectados, principalmente por las condiciones desfavorables del suelo (bajo contenido de materia orgánica, pH bajo, etc.), clima (exceso de lluvias y presencia de heladas) y quizás también a que los materiales posean relativamente altas concentraciones de virus. Para este año los rendimientos subieron considerablemente por la aplicación de cal y fertilización orgánica, siendo el valor mínimo de rendimiento de 2974,9 kg/ha y el máximo de 28280 kg/ha, con un promedio para la colección de 15627,4 kg/ha.

• **Conclusiones y recomendaciones**

Los datos de los diferentes descriptores evaluados son muy variables en los diferentes años, por lo tanto, se requiere realizar una caracterización y evaluación completa de la colección, con la finalidad de identificar todo el potencial de las diferentes accesiones y al mismo tiempo introducir *in vitro* para su futura conservación bajo esta técnica. Cada 2-3 años se realizarán siembras en el campo de toda la colección.

Pese a las condiciones adversas, tanto climáticas como edáficas, hasta ahora se logra mantener casi el 100% de la variabilidad genética de esta especie. De todas maneras, es necesario conservar *in vitro* la colección ya que de esta forma se optimizarían los costos.

• **Bibliografía citada**

- CASTILLO, R. 1995. Plant genetic resources in the Andes: Impact, conservation and management. *Crop Science* 35 (2): 350 - 355.
- LEÓN, J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. Segunda edición. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José. Costa Rica. 445 p.
- TAPIA, C., CASTILLO, R. & MAZÓN, N. 1996. Catálogo de recursos genéticos de raíces y tubérculos andinos en Ecuador. Publicación Miscelánea No. 66. Editorial Tecnigraba. DENAREF - INIAP. Quito. Ecuador. 208 p.

Título: Evaluación y mantenimiento de 164 entradas de la colección nacional de oca (*Oxalis tuberosa*) en campo

Código: 5008

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se conserva en campo la colección de oca, la misma que contempla 164 entradas en activo proceso de caracterización y evaluación, hacia la detección de materiales promisorios para uso en los programas de fitomejoramiento y otras entidades de investigación.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

La oca pertenece a la familia Oxalidaceae, con tallos cilíndricos de color que varían de amarillo y verde a rojo púrpura y que crecen hasta 30 - 50 cm de altura. Por la disposición y forma de las hojas esta especie es muy eficiente en el proceso de fotosíntesis (León, 1987; National Research Council, 1989).

Los tubérculos generalmente alcanzan longitudes de 5 - 15 cm y son de forma muy variada, de cilíndricos a ovoides; sus colores son muy llamativos y van de blancos a morados, casi negros. Se consumen en coladas de dulce, sopas de sal y endulzadas por la exposición al sol y tiene buenas perspectivas como fuente de almidón, harina e inclusive para la obtención de alcoholes (Tapia *et al.*, 1996).

Objetivos:

- Conservar *ex situ* la variabilidad genética de la colección nacional de oca.
- Evaluar agronómica y caracterizar morfológicamente en campo 164 entradas de la colección nacional de oca.

Hipótesis:

La colección nacional de oca se mantiene en campo en óptimas condiciones, debidamente evaluada y caracterizada.

• **Metodología**

Las diferentes entradas de la colección de oca se siembran anualmente en dos surcos de 5,0 m (un surco cuando el material no es suficiente), a 1,1m entre surcos y 0,5 m entre plantas. Los tubérculos-semilla cosechados, se almacenan en un cuarto frío a 11 °C y con ventilación natural, durante 3 - 4 meses, previo a la siguiente siembra.

Durante el ciclo que dura el cultivo se realizan todas las labores de deshierba, aporque, fertilización, etc., necesarias para asegurar una cosecha adecuada que permita la permanencia de cada una de las entradas.

Anualmente se registran datos de los siguientes descriptores: días a la brotación, días a la tuberización, días a la cosecha, rendimiento kg/ha.

- **Resultados y discusión**

El valor mínimo para días a la brotación es 20, el máximo 44, con un promedio de 32 días para la colección. En lo que se refiere a días a la tuberización, el valor mínimo para este descriptor es 101 y el máximo 157; el promedio para la colección es de 129 días.

La variable días a la cosecha muestra como valor mínimo 220 días, máximo de 248 días, promedio para la colección de 234 días. El valor mínimo para rendimiento es de 606 kg/ha, el máximo de 46748 kg/ha, con un promedio de la colección de 23677 kg/ha.

- **Conclusiones y recomendaciones**

De igual forma que en la colección de melloco, es necesario realizar una caracterización y evaluación completa del germoplasma. La estrategia para la conservación del material será bajo las técnicas de cultivo de tejidos. Se utilizará los descriptores generados en el proyecto integral de RTAs y los descriptores generados por el DENAREF.

- **Bibliografía citada**

LEÓN, J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. Segunda edición. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José. Costa Rica. 445 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1989. Lost crops of the Incas: Little-known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press. Washington. DC. 415 p.

TAPIA, C., CASTILLO, R. & MAZÓN, N. 1996. Catálogo de recursos genéticos de raíces y tubérculos andinos en Ecuador. Publicación Miscelánea No. 66. Editorial Tecnigraba. DENAREF - INIAP. Quito. Ecuador. 208 p.

Título: Evaluación y mantenimiento de 78 entradas de la colección nacional de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en campo

Código: 5009

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se conserva en campo la colección de mashua, la misma que se constituye de 78 entradas en activo proceso de caracterización y evaluación, hacia la detección de materiales promisorios para uso en los programas de fitomejoramiento y otras entidades de investigación.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

La mashua es de la familia Tropaeolaceae, de crecimiento inicialmente erecto que luego varía a semiprostrado, ocasionalmente trepadora (National Research Council, 1989). Se cultiva desde 2400 a 4300 msnm (Castillo, 1995).

Los tubérculos son tan grandes como la papa, cónicos o cilíndricos, curvos o alargados. El color varía de blanco marfil a púrpura muy oscuro, pasando por el amarillo, naranja, en distintas tonalidades. Sobre la piel pueden presentarse coloraciones rosadas o púrpuras o café en forma de puntos, jaspes o bandas que se distribuyen en el ápice y debajo de las yemas (Arbizu y Tapia, 1992; Tapia *et al.*, 1996).

El principal componente secundario de las Tropaeoláceas son los glucosinolatos que pueden ser los responsables para los usos medicinales de esta especie (National Research Council, 1989).

Objetivos:

- Conservar *ex situ* la variabilidad genética de la colección de mashua.
- Evaluar agronómica y caracterizar morfológicamente la colección nacional de mashua.

Hipótesis:

Las 78 entradas de mashua del Banco de Germoplasma del INIAP se mantienen en óptimas condiciones y debidamente caracterizado y evaluado.

- **Metodología**

La colección de mashua se siembra anualmente; cada una de las entradas se estableció en un surco de 5,0 m de largo por 1,1 m entre surcos y 0,5 m entre plantas. Los tubérculos después de cosechados y evaluados se conservan en un cuarto frío a 11°C, por un período de 3-4 meses, hasta la próxima siembra.

Se realizaron las labores que requiere el cultivo para su normal desarrollo, como deshierbas, aporques y fertilización.

Se registraron los siguientes descriptores: días a la brotación, días a la floración y rendimiento (kg/ha).

- **Resultados y discusión**

Para el descriptor días a la brotación se registró un valor mínimo de 17 días, un máximo de 39 días, con una media para la colección de 28 días. En cuanto a días a la floración, presenta un rango de 92 a 114 días, con una media de 103 días.

El rendimiento de la colección fue muy variable, con valores desde 2727 hasta 32421 kg/ha, con 17574 kg/ha de promedio para la colección. Los rendimientos bajaron con relación a los años pasados ya que se sembró a menor distancia.

- **Conclusiones y recomendaciones**

En esta especie ya se ha logrado mediante una tesis de grado realizar la caracterización fenotípica de la colección, por lo tanto, en el próximo ciclo agrícola se introducirá *in vitro* todos los materiales para su conservación.

- **Bibliografía citada**

- ARBIZU, C. & TAPIA, M. 1992. Tubérculos andinos. *In*. Cultivos marginados: Otra perspectiva de 1492. Hernández, J. & León, J. (eds). Colección FAO: producción y protección vegetal. No. 26. pp. 147 – 161.
- CASTILLO, R. 1995. Plant genetic resources in the Andes: Impact, conservation and management. *Crop Science* 35 (2): 350 - 355
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1989. Lost crops of the Incas: Little-known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press. Washington, DC. 415 p.
- TAPIA, C., CASTILLO, R. & MAZÓN, N. 1996. Catálogo de recursos genéticos de raíces y tubérculos Andinos en Ecuador. Publicación Miscelánea No. 66. Editorial Tecnigraba. DENAREF - INIAP. Quito. Ecuador. 208 p.

Título: Evaluación y mantenimiento de 80 entradas de la colección nacional de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorriza*) en campo

Código: 5010

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se conserva en campo la colección de zanahoria blanca, la misma que está formada por 80 entradas en activo proceso de caracterización y evaluación, hacia la detección de materiales promisorios para uso en los programas de fitomejoramiento y otras entidades de investigación.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

La zanahoria blanca o arracacha es la única umbelífera de propagación vegetativa que se cultiva en los valles interandinos, desde los 700 hasta los 3 200 msnm y es posiblemente una de las plantas cultivadas andinas más antiguas y su domesticación precedió a la de la papa (Castillo, 1984; National Research Council, 1989; Hermann, 1992).

Las raíces comestibles tienen formas ovoides, cónicas y fusiformes, cuyo tamaño puede variar de 8 a 20 cm de longitud y de 3 a 8 cm de diámetro. La planta puede producir de 3 a 10 raíces útiles (Mazón, 1993; Mazón *et al.*, 1996).

A pesar de que las raíces de esta especie poseen un almidón de tamaño granular pequeño y características físico-químicas interesantes, alto contenido de calcio, cantidades importantes de fósforo, hierro, vitaminas, caroteno, etc., el potencial para procesamiento y usos culinarios todavía no ha sido reconocido (Mazón *et al.*, 1996).

Objetivos:

- Conservar *ex situ* la variabilidad genética de la colección de zanahoria blanca.
- Evaluar agronómicamente y caracterizar morfológicamente 80 entradas de la colección nacional de zanahoria blanca en campo.

Hipótesis:

La colección nacional de zanahoria blanca se mantiene en óptimas condiciones y se dispone de suficiente información de las características morfológicas y agronómicas.

- **Metodología**

La colección de zanahoria blanca se siembra anualmente, en surcos de 5 m de largo y 1,1 m de ancho, a una distancia de 0,5 m entre plantas. Después de la cosecha se preparan los colinos a ser utilizados como semilla en el siguiente ciclo agrícola, los mismos que deben ser sembrados casi inmediatamente, pues se deterioran rápidamente.

Durante el ciclo de cultivo se realizan todas las labores que requiere la colección, como deshierbas, aporque y fertilización que garantizan el buen desarrollo de las plantas.

Se registraron datos de los siguientes descriptores: días a la brotación, rendimiento en kg/ha y vigorosidad de las plantas al macollamiento.

- **Resultados y discusión**

Se evaluaron 76 entradas y 4 se conservaron en macetas en invernadero. Para días a la brotación el valor mínimo fue de 22 y el máximo de 34 días, con un promedio para la colección de 28 días. El descriptor vigorosidad de planta al macollamiento, presenta que 4 entradas (3,4 %) se les calificó como vigorosas, 23 entradas (30,3 %) tienen vigorosidad media y el 64,3 % (49 entradas), se mostraban con un crecimiento calificado como endeble.

Para rendimiento, el valor mínimo fue 83,3 kg/ha y el máximo de 20000 kg/ha, con un promedio de 10041 kg/ha.

- **Conclusiones y recomendaciones**

La colección se desarrolló de una manera uniforme con relación al año precedente. Todavía no se ha cuantificado algunos descriptores que no se tomaron en cuenta en la caracterización hecha bajo la modalidad de tesis de grado como el efecto del ataque de determinadas plagas y enfermedades sobre el rendimiento; se espera hacerlo el próximo año, como una de las medidas para precautelar este importante germoplasma.

Al igual que en las otras especies en el próximo ciclo agrícola se introducirá *in vitro* todos los materiales para su conservación.

- **Bibliografía citada**

CASTILLO, R. 1984. La zanahoria blanca. Desde El Surco (Quito, Ecuador) 42: 39-41.

HERMANN, M. 1992. Recursos fitogenéticos de cultivos andinos. Revista Agronoticias No. 15. (Lima, Perú). 9p.

- MAZÓN, N.** 1993. Análisis de la variación morfológica e isoenzimática de la colección ecuatoriana de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). Tesis Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ingeniería Agronómica. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 135 p.
- MAZÓN, N., CASTILLO, R., HERMANN, M. & ESPINOSA, P.** 1996. La zanahoria blanca o arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) en Ecuador. Publicación Miscelánea No. 67. Editorial Tecnigraba. DENAREF - INIAP. Quito, Ecuador. 41 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL.** 1989. Lost crops of the Incas: Little-known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press. Washington, DC. 415 p.

Título: Evaluación y mantenimiento de las colecciones nacionales de miso (*Mirabilis expansa*) y jícama (*Polymnia sonchifolia*) en campo

Códigos: 5011, 5012

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se conserva en campo las colecciones de miso y jícama en activo proceso de caracterización y evaluación, hacia la detección de materiales promisorios para uso en los programas de fitomejoramiento y otras entidades de investigación.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

El miso pertenece a la familia Nyctaginaceae y en Ecuador es prácticamente desconocida. Se utilizan los tallos y las raíces tuberosas, generalmente para la alimentación de ganado (National Research Council, 1989; Tapia, 1990).

La jícama pertenece a la familia Asteraceae, cuya planta alcanza alturas de hasta 1,5 m; tiene hojas verde oscuras, flores amarillas o naranjas y sus raíces varían considerablemente de forma y tamaño. Se cultiva entre los 2000 y 3100 msnm. Sus raíces alcanzan contenidos de azúcar de hasta un 20 % en base fresca (Castillo, 1995; Tapia *et al.*, 1996).

Objetivos:

- Evaluar en campo las entradas de jícama y miso utilizando descriptores agronómicos.

Hipótesis:

- Las colecciones nacionales de miso y jícama se mantienen en condiciones óptimas; y, se dispone de suficiente información morfoagronómica.

• **Metodología**

Para la evaluación en campo se sembraron 37 entradas de jícama (en surcos de 6 m de largo x 1,2 m de ancho y 1,0 m entre plantas) y 11 de miso (en surcos de 6 m de largo x 1,2 m de ancho y 1,0 m entre plantas). Se realizaron todas las labores pertinentes para el normal desarrollo de los cultivos.

En la colección de jícama se aplicaron cinco descriptores: días a la brotación, número de plantas, vigorosidad, días al engrosamiento de raíces y rendimiento (kg/ha). En el

caso del miso se utilizaron seis descriptores: días a la brotación, número de plantas, días a la floración, vigorosidad, días al engrosamiento de raíces y rendimiento (kg/ha).

- **Resultados y discusión**

En jicama, para días a la brotación el valor mínimo fue 25 y el máximo 39, con un promedio de 32 días. Para el descriptor vigorosidad se detectó ocho accesiones vigorosas, 13 con vigorosidad media y 16 endebles.

Días al engrosamiento de raíces para esta colección tuvo un mínimo de 171 y un máximo de 193, siendo la media 198 días. El rendimiento estuvo entre 1388,8 y 59722,2 kg/ha con un promedio de 30555,5 kg/ha.

En miso, la colección brotó entre 34 y 39 días y tuvo una media 36,5 días. La variable días a la floración detectó un valor mínimo de 186 y un máximo de 195 días con un promedio de 190,5 días.

Se observó que todas las accesiones fueron vigorosas: hubo dos con vigorosidad media y nueve endebles. El engrosamiento de raíces de la colección fue entre 178 y 186 días con un promedio de 182 días. Por último, el rendimiento de raíces se ubicó entre 3333,3 y 16388 con una media de 9861 kg/ha.

- **Conclusiones y recomendaciones**

En las colecciones de jicama y miso se ha logrado caracterizar y evaluar todos los materiales tanto morfoagronómica como molecularmente. Con esta información se realizará los análisis estadísticos respectivos y se publicará un artículo científico en una revista internacional (referee o arbitrada).

Al igual que en las demás especies de raíces y tubérculos andinos se procederá a la conservación *in vitro*, por un periodo no menor a tres años, antes de que los materiales sean sembrados nuevamente en campo.

- **Bibliografía citada**

CASTILLO, R. 1995. Plant genetic resources in the Andes: Impact, conservation and management. *Crop Science* 35 (2): 350-355.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1989. Lost crops of the Incas: Little-known plants of the andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press. Washington, DC. 415 p.

TAPIA, M. 1990. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. pp. 88 -103.

TAPIA, C., CASTILLO, R. & MAZÓN, N. 1996. Catálogo de recursos genéticos de raíces y tubérculos andinos en Ecuador. Publicación Miscelánea No. 66. Editorial Tecnigraba. DENAREF - INIAP. Quito. Ecuador. 208 p.

Título: Evaluación y mantenimiento del jardín experimental de observación de especies medicinales

Código: 5014

• Indicadores de la actividad

Hasta diciembre de 1998, se ha establecido en campo una colección de plantas nativas e introducidas con usos medicinales, con fines de caracterización y evaluación, hacia la detección de materiales promisorios con potencial utilización en entidades de investigación. Se conserva óptimamente 190 entradas.

• Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)

Desde tiempos muy antiguos, se reconoce a las plantas como fuente importante de principios activos para la curación de muchas enfermedades que afectan a la humanidad. Actualmente se puede asegurar que "la medicina regresa al uso de las plantas" (Acosta Solís, 1992). En el Ecuador, el uso de hierbas aromáticas y medicinales es ampliamente conocido; y, disponiendo de una gran variabilidad de las mismas, es una excelente oportunidad para iniciar el cultivo y la valoración económica de estos importantes recursos fitogenéticos, muchos de los cuales son hasta ahora desconocidos (Velásquez, 1996; Castillo *et al.*, 1997).

Objetivos:

- Establecer un jardín experimental de observación y evaluación en la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP.
- Realizar ensayos de multiplicación de plantas y de producción de biomasa con el fin de sentar las bases para posibles aplicaciones agroindustriales.
- Elaborar un catálogo de datos pasaporte, usos y formas de preparación (posología) de las diversas aplicaciones de cada una de las especies.
- Promocionar a nivel de agricultores y en el sector privado una nueva alternativa de inversión.
- Procurar durante la ejecución del proyecto levantar un inventario de otras especies medicinales con potencial económico.

Hipótesis:

La colección de plantas medicinales que se mantiene en el jardín experimental de observación se encuentra en óptimas condiciones.

- **Metodología**

Se recolectó plantas medicinales en todas las provincias de la Sierra Ecuatoriana, tratando de recabar la mayor información (etnomedicina) entre los campesinos y amas de casa. En esta fase se empleó las técnicas de colecta y de documentación generadas por el DENAREF (Nieto *et al.*, 1984).

Una vez obtenidas las muestras en las diferentes misiones de recolección, se adaptaron y multiplicaron bajo condiciones de invernadero, para posteriormente ser sembradas en el jardín de observación y/o en las parcelas de los colaboradores del proyecto.

Para determinar el rendimiento en biomasa de algunas de las entradas colectadas, se establecieron parcelas de 1,5 x 1,5 m en la Estación Experimental Santa Catalina (estas parcelas sirvieron también para formar un jardín experimental de observación, para realizar algunos estudios especiales y promocionar estas especies a nivel de agricultores, estudiantes, investigadores, etc.).

- **Resultados y discusión**

En el jardín de observación se manejan 152 accesiones de diferentes especies (Anexos 1 y 3) y en invernadero se conserva la totalidad de la colección de plantas medicinales (190 accesiones). Se han aplicado los resultados obtenidos en los ensayos de propagación con buenos resultados, prueba de ello es que se esta comercializando plantas medicinales bajo la modalidad de contratos de servicios.

En lo que se refiere a los ensayos regionales instalados en Tumbaco y en convenio con Extractos Andinos, no se logró cumplir con los objetivos que fueron: evaluar la producción de biomasa y su rendimiento en aceites esenciales, debido a la falta de cumplimiento del convenio por parte de Extractos Andinos.

Dentro de las actividades de manejo de recursos naturales en la microcuenca del río El Ángel, el Departamento de Manejo de Suelos y Agua (DMSA) del INIAP con el proyecto 1182 CONDESAN continuó conservado algunas especies de plantas medicinales como: manzanilla (ECU-8990), yerba buena (ECU-8944), menta (ECU-8926) y escancel (ECU-8978). Durante estas actividades se aplicó un criterio de sostenibilidad de finca de los agricultores,

- **Conclusiones y recomendaciones**

El DENAREF a través de este proyecto ha logrado conformar una importante colección de plantas medicinales, colorantes y aromáticas de la Sierra Ecuatoriana con 190 entradas, las mismas que se agrupan en 91 especies que corresponden a 79 géneros y 38 familias; 31 entradas no han sido determinadas taxonómicamente. Estos materiales son el resultado de misiones de recolección en todas las provincias de la región Andina.

Para establecer cultivos comerciales (principalmente especies de la familia Labiada) se recomienda escoger sitios ubicados entre 1800 y 2400 msnm, con suelos ricos en materia orgánica de textura arcillo o franco arenosa. Estas especies se propagan vegetativamente a través de esquejes, acodos y/o propágulos; también responden adecuadamente a la multiplicación mediante cultivo de tejidos.

Como respuesta a las diferentes actividades de promoción de estas especies (día de campo, reportajes en radio, prensa y televisión), actualmente existe un gran interés entre los agricultores y empresarios en general para invertir en estos cultivos para cubrir una creciente demanda nacional e internacional.

• Bibliografía citada

ACOSTA SOLÍS, M. 1992. Vademécum de plantas medicinales del Ecuador. Fundación Ecuatoriana de Estudios Sociales. Editorial ABYA-YALA. Quito. Ecuador. 243 p.

CASTILLO, R., MAZÓN N. & BARRERA, J. 1997. Proyecto piloto "Recolección, adaptación y producción de biomasa de plantas medicinales y aromáticas de la Sierra Ecuatoriana". Informe Final. EESC - INIAP. Quito. Ecuador. 55 p.

NIETO, C., PERALTA, E., REA, J. & CASTILLO, R. 1984. Guía para el manejo y preservación de los recursos fitogenéticos. Publicación Miscelánea No. 47. EESC - INIAP. Quito. Ecuador. 58 p.

VELÁSQUEZ, J. 1996. Proyecto piloto "Recolección, adaptación y producción de biomasa de plantas medicinales y aromáticas de la Sierra Ecuatoriana". Informe de Actividades (1995 - 1996). EESC - INIAP. Quito. Ecuador. 68 p.

Título: Mantenimiento y evaluación de tres raíces andinas en tres sistemas agroforestales de la Sierra Ecuatoriana

Código: 5015

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se ha caracterizado y evaluado tres entradas de tres especies de la colección de raíces andinas, a fin de estudiar el efecto de tres sistemas agroforestales sobre el crecimiento y producción de diversos cultivos andinos en la Estación Experimental Santa Catalina.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

La agroforestería se puede definir como una serie de técnicas del uso de la tierra en las que los árboles, los cultivos y los pastos están interrelacionados en términos de tiempo y espacio de manera que se garantiza la optimización de la producción (Salas y Fassbender, 1981).

La plantación de árboles combinados con cultivos no solamente permite lograr una producción agrícola estable, sino que los árboles por si solos proporcionan otros beneficios como: fuente de alimento directo para la población, fomento de la proliferación de la fauna silvestre, provisión de un recurso maderero explotable bajo el concepto de sostenibilidad, etc. (Hoskins, 1990; Ramos *et al.*, 1997).

Objetivos:

- Evaluar la respuesta de tres raíces andinas (zanahoria blanca, jicama y miso) al efecto de los sistemas agroforestales.
- Evaluar y mantener las raíces andinas.

Hipótesis:

Las tres raíces andinas responden de manera similar bajo los tres sistemas agroforestales.

• **Metodología**

La parcela experimental fue de 20 m², conformada por dos surcos separados a 1 m, el primer surco se colocó a 1 m de la línea de árboles. Se sembró una accesión de cada una de las especies. Los factores en estudio para cada raíz constituyen los sistemas forestales (acacia + quishuar; aliso + retama; y, pleno sol) y el factor sombra (sombra

matutina y sombra vespertina). Los datos registrados fueron: número de raíces útiles por planta, largo y ancho promedio de raíces, rendimiento en kg/ha.

• Resultados y discusión

Para zanahoria blanca los promedios de raíces aprovechables por planta, largo y ancho de raíces y rendimiento fueron de 6,4; 10,6 cm; 3,7 cm; y, 11596 kg/ha, respectivamente. No se observó diferencias significativas para ninguno de los tres sistemas agroforestales con las diferentes variables.

En jicama, los promedios de raíces aprovechables por planta, largo y ancho de raíces y rendimiento fueron de 8,5; 13,6 cm; 6,5 cm; y, 27992 kg/ha, respectivamente. No se observó al igual que en zanahoria blanca, diferencias significativas para ninguno de los tres sistemas agroforestales con las diferentes variables.

Para miso los promedios de raíces aprovechables por planta, largo y ancho de raíces y rendimiento fueron de 10,5; 15,7 cm; 4,1 cm; y, 17208 kg/ha, respectivamente. No se observó diferencias significativas para ninguno de los tres sistemas agroforestales con las diferentes variables.

Los coeficientes de variación (CV) fueron relativamente bajos para las tres especies, lo que indica un buen manejo de la investigación. Cabe mencionar que el CV de rendimiento fue un poco más alto que los coeficientes de las otras variables, debido principalmente a que es una variable muy influenciada por el medioambiente.

• Conclusiones y recomendaciones

El análisis estadístico aplicado no detecta diferencias significativas para los tres sistemas agroforestales, es decir, que hasta el momento no se presenta una influencia marcada de la sombra en las tres raíces, lo cual hace inicialmente suponer que las raíces andinas son relativamente tolerantes a la sombra. Esta suposición tendrá que ser corroborada en las próximas evaluaciones para dar una conclusión definitiva de la tolerancia en mayor o menor grado de la zanahoria blanca, jicama y miso.

• Bibliografía citada

HOSKINS, M. 1990. Las actividades forestales y la alimentación. *Unasylva*. FAO. 41 (160): 3 - 13.

SALAS, G. & FASSBENDER, H. 1981. Factores edáficos en los sistemas de producción agroforestales. *In: Agroforestería. Actas del Seminario realizado en CATIE, Turrialba, Costa Rica. pp. 30-36.*

RAMOS, R., GALARZA, J., CASTILLO, R. & SUÁREZ, G. 1997. Respuesta de tres raíces andinas: zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza* B.), miso (*Mirabilis expansa* R y P) y jicama (*Polymnia sonchifolia* P y E); dos pastos y una mezcla forrajera, al efecto de tres sistemas agroforestales en Santa Catalina. Quito, Ecuador. *snt.* 21 p.

Título: Recolección de especies nativas del Ecuador

Código: 5016

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se tendrá conformada una colección representativa de algunas especies nativas con potencial uso alimenticio, agroindustrial y medicinal, dependiendo del presupuesto con que disponga el DENAREF.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

El interés por la recolección y preservación de los parientes silvestres de las especies cultivadas se debe a que el hombre no ha solucionado algunos problemas de los agricultores, mediante la utilización de variedades cultivadas tradicionales y mejoradas, pues estas en el proceso de selección artificial perdieron las características de rusticidad, tolerancia o resistencia a las enfermedades, adaptación, etc. En las poblaciones silvestres se encuentran genes que codifican para estas características y que con relativa facilidad pueden ser incorporados a los cultivos (Enriquez, 1991).

Objetivos:

- Recolectar la variabilidad de especies nativas con importancia alimenticia, agroindustrial y medicinal.

Hipótesis:

Durante 1998 se rescata parte de la variabilidad de especies nativas del Ecuador.

• **Metodología**

Para la recolección de estas especies se aplican los procedimientos recomendados por el DENAREF.

• **Resultados y discusión**

Durante 1998 se realizó una misión de recolección en especies silvestres del género *Lycopersicon*. En este sentido, se recolectaron ocho entradas correspondientes a *L. parviflorum*, *L. hirsutum*, *L. pimpinellifolium* y *Solanum ochrantum*. Se realizó además una colecta de ocho muestras de hongos radiculares asociados a especies silvestres de tomate riñón y *Solanum*.

- **Conclusiones y recomendaciones**

Se cuenta con una importante colección de especies nativas del Ecuador, aunque durante el presente año no se recolectó materiales de manera extensiva, debido principalmente a falta de recursos económicos y la asignación de prioridades a otras actividades del DENAREF. Además se puso mayor énfasis en la caracterización y refrescamiento de accesiones del banco de germoplasma del Ecuador, el cual se fortalecerá en los próximos años.

- **Bibliografía citada**

ENRÍQUEZ, G. 1991. Descripción y evaluación de los recursos genéticos. In: Técnicas para el manejo y uso de recursos genéticos vegetales. Castillo, R.; Estrella, J. y Tapia, C. (Editores). Editorial Porvenir. Quito, Ecuador. pp. 116 - 160.

Título: Cuantificación de la erosión genética de tubérculos andinos

Código: 5017

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se tendrá información precisa en cuanto a la erosión genética de tres tubérculos andinos y sus causas. Se habrán identificado áreas para sistemas de conservación *in situ*, dentro de proyectos integrales.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

Entre las muchas especies vegetales amenazadas de extinción o que a su vez, se encuentran perdiendo su variabilidad genética en el Ecuador, están los tubérculos andinos entre los que se pueden mencionar: melloco, oca y mashua. A pesar de su importancia y su potencialidad, estos han dejado de tener interés económico debido a factores tales como la falta de demanda en el mercado, desconocimiento del valor nutricional, falta de semilla en los sitios de producción o por no ser rentables. Estos elementos asociados con factores ambientales como la desertificación, sequías prolongadas, etc., producen la pérdida de variabilidad, lo que se conoce como erosión genética (Castillo, 1995; Nieto *et al.*, 1983).

El DENAREF, con el apoyo de instituciones nacionales e internacionales, ha desplegado acciones para el rescate y la conservación *ex situ* de la agrobiodiversidad y con proyecciones de implementar la conservación *in situ* en campo de agricultores.

Para establecer programas de conservación *ex situ* e *in situ*, es importante conocer el grado de erosión genética a través de la cuantificación de la misma. La cuantificación de este fenómeno puede realizarse a través de visitas directas, toma de datos en las comunidades, caracterizaciones morfológicas y moleculares. Estos datos y resultados permitirán determinar las acciones a tomar en materia de conservación y manejo de las variedades locales (CIP, 1996).

Este estudio permitirá establecer metodologías para futuras investigaciones en el tema, así como también ayudará a entender los procesos dinámicos dentro de las comunidades campesinas.

Objetivos:

- Identificar los factores que causan la erosión genética en los tres tubérculos andinos, en comunidades de las provincias de Cañar, Chimborazo y Tungurahua.

- Cuantificar el nivel de erosión genética a través de descriptores morfológicos y marcadores moleculares (RAPDs).

- Establecer zonas prioritarias para conservación *in situ* de melloco, oca y mashua.

Hipótesis:

En las comunidades en estudio, en los últimos años se ha perdido variabilidad en melloco, oca y mashua, como efecto de varios factores de erosión genética.

• Metodología

En primer lugar se consultó la base de datos para identificar la variabilidad de melloco, oca y mashua que disponían anteriormente las comunidades en estudio y luego comparar con el germoplasma que se detecte actualmente.

El diagnóstico sobre la erosión genética se realizará mediante muestreos (tipo aleatorio), aplicados a siete comunidades en Cañar, once en Chimborazo y cuatro en Tungurahua. El análisis de las encuestas se realizará basándose en distribución de frecuencias, porcentajes, medias aritméticas, modas, medianas y análisis multivariado.

Para la caracterización morfológica de los tubérculos se aplicarán los siguientes descriptores: color principal, color secundario y forma del tubérculo, para cada una de las tres especies. Para el estudio estadístico de los resultados de los dos grupos de germoplasma/datos (el grupo de colectas anteriores y las actuales) se realizarán análisis de agrupamiento (taxonomía numérica), además de comparaciones a través de distribuciones de frecuencias, porcentajes, medias aritméticas, modas, coeficiente de variación y medianas.

Finalmente, se realizará la caracterización molecular por medio de RAPDs, aplicada a todas las entradas de las etapas anteriores (distancia y parsimonia). La variabilidad se registrará de acuerdo a la presencia y ausencia de bandas polimórficas. Los resultados de la caracterización molecular en los dos grupos de entradas se compararán a través de análisis de agrupamiento, considerando el factor tiempo.

• Resultados y discusión

Los tubérculos de las entradas colectadas con anterioridad, como las que se encontró actualmente, fueron analizados mediante descriptores morfológicos (color principal, color secundario y forma del tubérculo). Estos datos se procesaron para determinar los morfotipos presentes a la fecha y compararlos con los que existían anteriormente e identificar cuáles han desaparecido (o se han movilizad); y, de esta manera tener una aproximación sobre la cantidad de variabilidad perdida o incrementada, en determinada comunidad, zona o región.

Se estandarizó los métodos para la extracción y amplificación de ADN para estudiar la variabilidad genética a través de marcadores moleculares RAPDs de las tres especies en estudio. Esta información permitirá, además de conocer la composición

genética de las diferentes especies, identificar la cantidad de alelos presentes, perdidos o ganados, al comparar las muestras antiguas con las actuales.

Caracterización morfológica

Para el análisis morfológico se trabajó con todas las entradas que dispone el banco de germoplasma (producto de recolecciones anteriores) y las que se encontraron en las últimas visitas a las diferentes comunidades de las tres provincias de la sierra central del Ecuador (Cañar, Chimborazo y Tungurahua), cuyos resultados se detallan a continuación (Anexo 5).

Para melloco, en épocas anteriores en las provincias del Cañar era posible encontrar nueve tipos diferentes de melloco, frente a los cinco que se encontraron ahora; de los cinco actuales, cuatro coinciden con morfotipos anteriores mientras que el otro ha aparecido últimamente. En Chimborazo se definen cinco morfotipos con las entradas recolectadas en años anteriores y nueve con las actuales, de las cuales solo coincide un morfotipo, indicando que cuatro de los morfotipos anteriores ahora ya no se cultivan y dispondrían de ocho morfotipos “nuevos”. Para Tungurahua se definieron cinco morfotipos tanto para los materiales anteriores como para los actuales, coincidiendo tres de ellos; es decir dos se habrían perdido y dos se habrían incluido recientemente.

En el caso de la oca, en Cañar en los años anteriores se encontraron ocho morfotipos y ahora nueve, es decir, en términos reales ha habido incremento en variabilidad dentro de la provincia de Cañar, sin embargo se nota que han desaparecido dos morfotipos y han aparecido tres nuevos. En Chimborazo con los materiales actuales se definen diez morfotipos frente a los ocho anteriores, notándose que han desaparecido cuatro y han aparecido seis. Para Tungurahua se dispone en el banco de un morfotipo recolectado anteriormente y cinco con los actuales, es decir han aparecido cuatro nuevos.

Para mashua, anteriormente en Cañar existían seis morfotipos y actualmente se encontraron siete; de los seis anteriores habrían desaparecido cinco y se contarían con seis nuevos. En Chimborazo se definen siete morfotipos con los materiales anteriores y actuales coincidiendo tres, es decir habrían aparecido cuatro nuevos y perdido otros cuatro. A su vez, en Tungurahua se define cinco con los de ahora y tres con los anteriores, coincidiendo uno; por lo tanto, se habrían perdido dos y aparecido cuatro.

Caracterización molecular

La caracterización molecular (utilizando la técnica RAPDs) permitirá generar información para estudiar principalmente el comportamiento genético en el tiempo de cada uno de los morfotipos; identificar semejanzas y diferencias dentro de un mismo morfotipo proveniente de diferentes provincias, determinar la ganancia o pérdida de alelos dentro de las colectas realizadas en las tres provincias y que coincidan antes y después; además ayudará a solucionar ciertas discrepancias ocurridas con la aplicación de los descriptores morfológicos.

Hasta el momento se ha estandarizado el método de extracción de ADN para los tres cultivos. Con estos protocolos se extrajo ADN de las entradas que son parte de este estudio (materiales antiguos y nuevos). Adicionalmente, se ha realizado la selección de un adecuado número de primers polimórficos para cada especie (Anexo 6).

- **Conclusiones y recomendaciones**

De manera preliminar y a través de los resultados obtenidos del análisis de las encuestas, se puede generalizar que el cultivo que ha sufrido mayor erosión genética es melloco, puntualizando que, actualmente es la especie que mayor demanda tiene en el mercado. Lamentablemente, esta demanda está basada en determinados morfotipos que ha hecho que los agricultores den preferencia a los mismos y de alguna manera han relegado aquellos que no son aceptados en el mercado. Por otro lado, se ha determinado que los otros dos cultivos siguen siendo sembrados por los campesinos, principalmente para autoconsumo (probablemente por ello no han perdido alta variabilidad), pero en pequeñas cantidades (mashua es la que menos se cultiva). Ante esta circunstancia se estima que dicha variabilidad está muy amenazada, pues en cualquier momento los campesinos podrían perderla, en vista de que la tendencia general es de consumir cada vez menos (inclusive por los mismos campesinos) y podrían ser reemplazados por otros cultivos.

Las principales causas para la pérdida de variabilidad podrían ser: poca demanda en el mercado, baja rentabilidad de los cultivos, escasez de mano de obra, falta de tierra, reemplazo por otros cultivos (pastos, papa, haba, etc.), factores bióticos (plagas, enfermedades) y abióticos (sequías, heladas).

Se recomienda realizar un análisis global en 1999, integrando la información recopilada en las encuestas, características morfológicas e información molecular. Esto permitirá establecer preceptos claros sobre erosión genética en estos cultivos y probablemente se podría establecer una metodología aplicable a la cuantificación de este fenómeno en otras especies. Durante 1998 se trabajó dentro de la caracterización molecular de melloco con los primers (partidores) señalados en el Anexo 6; sin embargo, debido a la discordancia obtenida en los resultados se propuso realizar de nuevo los ensayos realizados anteriormente, comenzando nuevamente con la extracción de ADN y la nueva prueba de los primers citados, la misma que se encuentra ya en proceso.

- **Bibliografía citada**

CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. 1996. Memorias 1994-1995 Programa Colaborativo Biodiversidad de Raíces y Tubérculos Andinos. Cooperación Técnica Suiza. COSUDE - CIP. La Molina, Perú. pp 1 - 55.

CASTILLO, R. 1995. Plant genetic resources in the Andes: Impact, conservation and management. *Crop Science*. 35 (2): 350-355.

NIETO, C, PERALTA, E., REA, J. & CASTILLO, R. 1984. Guía para el manejo y preservación de los recursos fitogenéticos. Publicación Miscelánea No. 47. E.E. Santa Catalina. Quito, Ecuador. 58 p.

Título: Publicación de varias investigaciones bajo la modalidad de tesis de grado y en Internet (WWW)

Código: 5018

• Indicadores de la actividad

Hasta diciembre de 1998, se ha logrado publicar al menos seis investigaciones bajo la modalidad de tesis de grado y en Internet.

• Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)

Las investigaciones desarrolladas en el Departamento tienen que ser necesariamente publicadas bajo la modalidad de tesis de grado, artículos científicos para revistas internacionales, regionales o nacionales o páginas de WWW, con la finalidad de dar a conocer a la comunidad científica y al público en general los avances logrados por el DENAREF en materia de manejo y conservación de la diversidad genética nativa del Ecuador.

Objetivos:

- Poner a disposición de investigadores, fitomejoradores, científicos en general y demás usuarios publicaciones sobre varios temas relacionados a los recursos fitogenéticos.

Hipótesis:

Se cuenta con la información para la consulta bibliográfica de los diferentes usuarios.

• Metodología

Recopilación de datos, investigación, análisis y edición de la información. Estructuración de la publicación.

• Resultados y discusión

Se ha realizado la publicación (tesis de grado) de cinco investigaciones realizadas por técnicos del DENAREF y de la Estación Experimental Portoviejo. En los anexos 7 a 11 se presenta un resumen de las siguientes investigaciones: Taxonomía y sistemática molecular de la leguminosa tuberosa neotropical *Pachyrhizus* Rich. Ex D.C. (Tesis de doctorado - Jaime Estrella); Caracterización morfológica y molecular de la diversidad genética de la colección de *Pachyrhizus tuberosus* (Lam.) Spreng. del CATIE (Tesis de maestría - César Tapia); Tuberización *in vitro* de melloco (*Ullucus tuberosus* Caldas) y oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) (Tesis Licenciatura Biología - Bernarda Elizalde); Caracterización y

evaluación en campo de 142 accesiones del germoplasma nacional de maní (*Arachis hypogaea* L.) (Tesis ingeniería agronómica – Gustavo Zambrano); y, Análisis del polimorfismo de las colecciones de jicama (*Polymnia sonchifolia* R & P) y miso (*Mirabilis expansa* R & P) del Banco de Germoplasma del INIAP (Tesis Licenciatura Biología – Eduardo Morillo).

En cuanto a publicaciones en Internet, se elaboró páginas índice y páginas de contenido, las mismas que están disponibles en la siguiente dirección (URL):

<http://www.st-and.ac.uk/~www.sbns/biofaculty/denaref.html>

(incluye hoja de WWW de Raúl Castillo, Jaime Estrella y César Tapia).

- **Conclusiones y recomendaciones**

Se publicó en el presente año las investigaciones detalladas en la sección de resultados a modo de tesis de grado. Es positivo para el DENAREF tener información actualizada sobre varias especies de potencial interés, además de contar nuevamente con dos técnicos a nivel de postgrado y de un técnico con licenciatura en biología y con especialización en biología molecular. Durante los años 1999 y 2000 se emplearán los resultados y conclusiones obtenidas durante estas investigaciones para la generación de artículos científicos en revistas especializadas.

PROYECTO: Estudios para la identificación del potencial del uso de los recursos fitogenéticos

CÓDIGO: 63802

• **Objetivos del Proyecto**

- Determinar medios de cultivo y condiciones para el crecimiento *in vitro*, en especies de importancia.
- Realizar estudios de la variabilidad genética de especies nativas por medio de marcadores moleculares.
- Realizar limpieza de virus en clones promisorios de melloco y zanahoria blanca.

• **Palabras clave**

Estudios in vitro; caracterización molecular; fingerprinting, limpieza de virus.

• **Indicador del proyecto**

El banco base a finales de 1998 cuenta con aproximadamente 12000 entradas. Los procesos de caracterización y evaluación continúan ofertando a fitomejoradores y otros investigadores materiales promisorios; además, se incluyen en los procesos de caracterización las técnicas de isoenzimas y moleculares. Se participa y se pone en marcha los aspectos legales para el manejo e intercambio de germoplasma. Se realizan gestiones de coordinación con Universidades y ONGs para el manejo de los bancos *ex situ*.

• **Logros alcanzados por el proyecto a la fecha**

- Se cuenta con protocolos adecuados para el manejo *in vitro* de especies como tomate de árbol, pepino dulce y ornamentales (violeta africana, orquídea).
- Se cuenta con protocolos para la tuberización *in vitro* de melloco y oca.
- El DENAREF dispone de un banco base y activo que garantizan un adecuado manejo de las colecciones de germoplasma de especies con semilla ortodoxa; además, se han construido y equipado nuevos laboratorios para cultivo de tejidos y marcadores moleculares.
- Se continúan los trabajos a nivel molecular. Se está aplicando la técnica RAPDs para caracterización de germoplasma (quinua), identificación de variedades y duplicados, y para cuantificar la erosión genética en tubérculos andinos (melloco, oca y mashua).

Título: Identificación del medio de cultivo y de las condiciones de crecimiento *in vitro* para especies vegetales de importancia

Código: 5101

• Indicadores de la actividad

En 1998 se han desarrollado por lo menos tres protocolos para el óptimo crecimiento a nivel *in vitro* de diversas especies vegetales de importancia económica e institucional. Estas técnicas de laboratorio están disponibles para diversos investigadores a nivel nacional e internacional.

• Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)

La técnica de cultivo de tejidos permite manipular en condiciones de laboratorio, cualquier tipo de material vegetal. Los tipos de explantes que se utilizan son yemas, nudos, brotes. Los explantes deben encontrarse en condiciones favorables tanto de medio de cultivo así como de humedad y temperatura, para obtener numerosos explantes a partir de los explantes que se hayan introducido; además las plantas *in vitro* deben tener las características similares a la planta madre.

Existen numerosos rubros como flores y frutales que tienen una alta demanda de plantas, la propagación mediante cultivo de tejidos podría cubrir esta demanda y el laboratorio entraría a dar servicio, lo que significaría un importante ingreso económico para la Institución.

Objetivos:

- Determinar los medios de cultivo y condiciones de crecimiento *in vitro* de especies de importancia

Hipótesis:

Las especies tienen diferente comportamiento en condiciones *in vitro*.

• Metodología

En este ciclo agrícola se han realizado trabajos con cultivo *in vitro* de naranjilla y babaco; además, se manejan otras especies como pepino, violeta africana, orquídea y tomate de árbol.

Para la introducción *in vitro* de babaco se utilizaron explantes provenientes del campo y para naranjilla se utilizó apices de plántulas germinadas (20 días). Los explantes se sometieron a un proceso de lavado y desinfección en el laboratorio con jabón líquido y una solución iodada (Povidin). Posteriormente, se procedió a una desinfección bajo condiciones estériles con hipoclorito de sodio (cloretol) al 15% por 15 minutos; luego los explantes se enjuagaron 3 o 4 veces con agua destilada estéril.

El medio de cultivo contiene sales de MS, suplementado con pantotenato de calcio (2 mg/l), ácido giberélico (0.25 mg/l), sucrosa (20 g/l) y agar (7 g/l). Los tubos se colocaron en un cuarto de cultivo donde la temperatura es de $18\pm 2^{\circ}\text{C}$, con un fotoperíodo de 16 horas.

- **Resultados y discusión**

El material vegetal utilizado para naranjilla fue plántulas germinadas (20 días). Luego se introdujo *in vitro* utilizando yemas apicales. Se obtuvo resultados positivos en la fase de introducción con la presencia de abundantes nudos. En la fase de micropropagación se presentaron problemas, ya que no se observó un crecimiento regular de los explantes. Se sigue investigando varios medios de cultivo.

En cuanto a babaco, se han realizado algunos ensayos para la introducción *in vitro*, pero los resultados no han sido favorables (no se ha podido inducir aún la formación de nudos).

Las otras especies como orquídea, violeta, pepino dulce y tomate de árbol se mantienen en laboratorio, en la fase de micropropagación con refrescamientos cada seis meses.

- **Conclusiones y recomendaciones**

Existen varias especies de potencial ornamental y medicinal que ya cuentan con protocolos de introducción y micropropagación *in vitro*. Por lo tanto, el interés continúa en algunas especies como naranjilla y babaco con alto potencial de mercado interno y externo en tratar de encontrar los protocolos adecuados para la propagación masiva de materiales promisorios de esta dos especies frutícolas.

Título: Limpieza de virus en líneas promisorias de melloco (*Ullucus tuberosus* Caldas) y zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft)

Código: 5102

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998 se aplica termoterapia y cultivo de meristemas para limpieza de virus en clones promisorios de melloco. Se dispone del protocolo para la introducción y micropropagación *in vitro* de zanahoria blanca.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

El melloco en la Sierra Ecuatoriana es el segundo tubérculo más cultivado luego de la papa. El uso de semilla de baja calidad puede producir rendimientos bajos. Por tanto, entre otras medidas es necesario realizar una limpieza viral para un incremento de la producción del cultivo (Duque, 1994).

Resultados de la primera fase del Proyecto de Biodiversidad de RTAs muestran que las accesiones de la colección de melloco del INIAP presentan infección para el virus mosaico del melloco (UMV), virus del mosaico de la papaya (PapMV), virus del mosaico del tabaco (TMV) y virus C del melloco (UVC). El tratamiento utilizado para la eliminación de virus consistió en realizar termoterapia y luego cultivo de meristemas (Duque, 1994).

Mazón *et al.* (1996) indican que la zanahoria blanca al parecer es un cultivo resistente a plagas y enfermedades, pero puede ser susceptible a virus. Para zanahoria blanca se han identificado los siguientes virus: virus A de arracacha (AVA), virus B de arracacha (AVB), virus del anillo necrótico de la papa (PBRV) y Potivirus 1 de arracacha (AP-1). El virus AV-3 relacionado con el virus S de la papa (PVS) se encuentra bajo estudio.

Objetivos:

- Evaluar el estado sanitario de clones promisorios de melloco y zanahoria blanca en cuanto a virus mediante la prueba serológica de ELISA.
- Obtener material libre de virus de estos cultivos mediante la aplicación de termoterapia combinada con cultivo de meristemas.
- Determinar y aplicar el mejor método para el transplante de plantas *in vitro* a invernadero para la obtención de semilla.

- Determinar la presencia de virus en los materiales de melloco y zanahoria blanca que siembran los agricultores y estudiar su efecto en la producción.

- Proporcionar material de alta calidad sanitaria a otras líneas de acción (Proyecto Biodiversidad RTAs) para realizar comparaciones con la semilla del agricultor y determinar la real incidencia de las infecciones virales en la producción, así como la justificación de aplicar o no la técnica de limpieza de virus.

-Determinar el comportamiento de las plantas libres de virus en invernadero y en campo para establecer índices de recontaminación y susceptibilidad a otros patógenos.

Hipótesis:

La limpieza viral beneficia el mantenimiento y distribución de la variabilidad genética; y, propicia el incremento de la producción de los cultivos de melloco y zanahoria blanca.

• Metodología

a) Melloco

El material corresponde a siete clones promisorios que incluyen dos variedades liberadas por el INIAP y los clones blancos jaspeados seleccionados en la primera fase del proyecto desarrollado en el marco del Programa Colaborativo Biodiversidad de RTAs (CIP-COSUDE).

Medios de cultivo y termoterapia

Para la introducción *in vitro* y micropropagación de melloco se utilizó la siguiente formulación para el medio de cultivo:

Sales de MS (4,6 g/l) + ácido giberélico (0,25 mg/l) + sucrosa (30 g/l) + agar (7 g/l); pH 5,7.

Régimen de termoterapia: 40°C por cuatro horas alternando con 25°C por cuatro horas, durante tres periodos diarios por 30 días; luminosidad constante y humedad relativa del 70%.

Para la siembra de meristemas el medio de cultivo tiene la siguiente formulación:

Sales de MS (4,6 g/l) + ácido giberélico (0,25 mg/l) + sucrosa (20 g/l) + agar (6 g/l); pH 5,7.

Detección de virus/pre-erradicación

Para determinar la presencia de virus en melloco se utilizó la técnica de ELIS virus monitoreados específicamente fueron: UMV, UVC, PapMV-U, T APLV-U, AVA y PLRV.

b) Zanahoria blanca

Para la introducción *in vitro* se probaron las siguientes formulaciones:

Sales de MS (4,6g/l) + sucrosa (30g/l) + agar (6 g/l) + complejo vitamínico mg/l; 5,6 mg/l BAP y 0,05 mg/l ANA; pH final 5, 7 (modificado de Landázuri,

Medio Gamborg (B5) + BAP (0,2 mg/l) + ANA (0,1 mg/l) + sucrosa (30g/l) (7 g/l); pH final 5,5 (Queiroz *et al.*, 1993).

• Resultados y discusión

a) Melloco

Introducción y micropropagación

Debido a la falta de disponibilidad de los clones promisorios de melloco *in v* realizó la introducción a partir de segmentos de estolones de las plantas de car cuales presentaron un alto índice de regeneración. Posteriormente se disp suficientes plantas establecidas *in vitro* en buenas condiciones para la preind mediante ELISA y así determinar la presencia de virus en estos materiales.

Estado fitosanitario:

En cuanto al estado fitosanitario de las entradas de melloco, de la prueba aplicada se observó una mayor incidencia de los virus PAP MV-V (63,8%) y T (38,8%) en los clones estudiados (Anexo 12). Los resultados determinaron t que existen entradas con mayor incidencia de virus: éstas corresponden a EC (43,7%) y ECU-930 (31,2%) a diferencia de ECU-9108 que solamente prese 9,3% de incidencia (Anexo 13).

b) Zanahoria blanca

Introducción *in vitro*:

El medio 1 (MS) presentó un crecimiento irregular de los explantes observán formación de callos.

En cuanto al medio 2 (B5), éste presentó un crecimiento más regular de los exp además de producir un alto número de brotes para una micropropagación.

• Conclusiones y recomendaciones

En 1998 se ha realizado la introducción y micropropagación de clones promisorios de melloco. Además se realizó la preindexación del material. Se puede concluir que la incidencia de virus en estos clones es variable dependiendo de la entrada y del virus. Es necesaria la adquisición de plantas indicadoras para el análisis post-erradicación. Además se debe trabajar en el proceso de aclimatación siendo necesario el establecimiento de un ensayo de observación de este fenómeno. Se debe notar que la accesión ECU-9108 exhibió un nivel de concentración de virus menor ya que es un material producto de recientes recolecciones, por lo tanto, no ha estado en el ciclo de siembras y cosechas de la colección como las demás entradas.

Se definió el protocolo de introducción *in vitro* de zanahoria blanca. Se cuentan con cinco entradas introducidas *in vitro*. Es necesario determinar la dosis apropiada de hormonas especialmente (ANA) para un mejor sistema de enraizamiento. Se procederá a la introducción *in vitro* del resto de entradas que están siendo evaluadas en campo en la zona de San José de Minas (Pichincha, Ecuador).

Con el fin de conocer la incidencia e importancia de los virus en la producción de melloco y zanahoria blanca es necesario realizar un muestreo en los campos de los agricultores de Las Huaconas (Chimborazo, Ecuador) para melloco y en la zona de San José de Minas para zanahoria blanca. Esto permitirá definir cuales virus se encuentran presentes y su porcentaje, en las zonas productoras de cada cultivo.

Surge la necesidad de disponer de antisueros para realizar la indexación de los materiales en campo, por lo que se contactará al Centro Internacional de la Papa para la adquisición de los mismos. Es necesario que la línea de acción (proyecto) "Producción y Distribución de Semilla" incorpore otros clones importantes en sus trabajos como el morfotipo "rosado largo", ya que éste presenta poco mucílago. Además será conveniente proporcionar material de alta calidad sanitaria de estos clones que tienen mayor demanda y se encuentran comercializándose en el país. De esta forma, el DENAREF puede empezar a trabajar en la obtención de material de alta calidad sanitaria aplicando la metodología indicada.

• Bibliografía citada

- DUQUE, L. 1994** Detección y erradicación de virus en *Ullucus tuberosus* Caldas). CIP- Quito, Ecuador. Informe Programa Colaborativo Biodiversidad de RTAs 57 p.
- LANDÁZURI, P. 1996** Introducción *in vitro*, micropropagación, conservación y adaptación de zanahoria blanca (*Arracacha xanthorrhiza*) y achira (*Canna edulis*). Tesis Lic. Biol. PUCE. Quito, Ecuador. 120 p.
- MAZÓN, N., CASTILLO, R., HERMANN, M. & ESPINOSA, P. 1996.** La zanahoria blanca o arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) en Ecuador. Publicación Miscelánea No. 67. Editorial Tecnigraba. DENAREF - INIAP. Quito, Ecuador. 41 p.
- QUEIROZ, J., PASQUAL, M., & INNECO, R. 1993.** Enraizamiento *in vitro* e aclimataçao de plantas de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). In: R. Bras. Fisiol. Veg. V5n1. pp. 105

Título: Caracterización molecular de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) y quinua (*Chenopodium quinoa* Wild)

Código: 5103

• **Indicadores de la actividad**

Durante 1998 se realiza la caracterización molecular de líneas promisorias de chocho y quinua.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

Las colecciones de chocho y quinua constituyen dos de los grupos de germoplasma más importantes del banco de germoplasma del Ecuador. Estos materiales han sido colectados desde hace varios años y caracterizados morfológicamente, mostrando una importante variabilidad genética que puede ser utilizada para obtener variedades mejoradas con características agronómicas óptimas para los agricultores de la sierra.

Si bien se han caracterizado estas colecciones morfológica y agronómicamente, es importante estudiar integralmente la diversidad genética que se dispone en todas las accesiones para determinar la utilidad en los programas de mejoramiento. Al usar marcadores moleculares para caracterizar colecciones, se está evitando el efecto del medio ambiente sobre la expresión del genotipo y se puede determinar con mucha certeza la constitución genética de cada entrada o accesión de un banco de germoplasma (Castillo *et al*,1991). Además, los marcadores moleculares permiten determinar segmentos de ADN que pueden estar ligados a ciertos caracteres agronómicos útiles para la obtención de nuevas variedades.

Objetivos:

- Estudiar la variabilidad genética de la colección de chocho y quinua utilizando la técnica de “Polimorfismo de ADN Amplificado al Azar (RAPDs)”.
- Establecer protocolos de caracterización a través de sistemas de marcadores moleculares para los diferentes cultivos del banco de germoplasma.
- Proporcionar capacitación y servicios a otros programas dentro del INIAP, así como fuera del instituto.

Hipótesis:

Las colecciones de chocho y quinua presentan una alta diversidad genética.

- **Metodología**

Las accesiones fueron sembradas en invernadero para obtener plántulas jóvenes y realizar la extracción de ADN.

La extracción de ADN se realizó adaptando protocolos establecidos para otros cultivos con ciertas modificaciones requeridas para estas especies. Para el análisis del ADN se utilizaron termocicladores que permiten amplificar secuencias específicas de ADN y determinar su presencia o ausencia entre entradas.

Los análisis estadísticos se realizaron basándose en técnicas de agrupamiento (coeficiente de Jaccard) para establecer diferencias o semejanzas entre accesiones.

- **Resultados y discusión**

Se estudiaron 64 entradas promisorias de *Lupinus mutabilis* (Anexo 14) de la colección nacional del banco de germoplasma del INIAP. De un total de 120 partidores monitoreados, 11 resultaron altamente polimórficos obteniéndose 56 fragmentos de ADN de tamaño variable entre 0,5 y 8,0 kb (partidores Operon OP-A19, AA-07, AC-02, AC-03, AC-11, AC-19, AC-20, W-01, W-03 y W-19: Anexos 15 y 16).

El fenograma obtenido (Anexo 17) demostró ocho grupos, de los cuales el más representativo estuvo conformado mayoritariamente por entradas de Ecuador y en menor número de origen peruano, mientras que en el resto de ramas del fenograma se agruparon las entradas remanentes. Estos resultados confirmados con la técnica *bootstrap* (1985) evidencian una débil estructura genética de esta especie, debido a un alto índice de recombinación genética (Morillo *et al.*, 1998).

Se están caracterizando 84 entradas de quinua provenientes de nueve provincias de Ecuador, Perú, Bolivia, Colombia y Argentina, además de cuatro líneas mejoradas por el Programa de Cereales del INIAP. Los resultados serán publicados próximamente.

- **Conclusiones y recomendaciones**

La colección de *Lupinus mutabilis* presenta una considerable diversidad genética estudiada a través de los marcadores RAPDs. Esta diversidad concuerda con la amplia variación morfológica encontrada en esta especie. Este fenómeno puede deberse a que el chocho, a pesar de ser una especie autógena, presenta altos porcentajes de polinización cruzada. El amplio rango del origen geográfico de las entradas contribuye también a este fenómeno.

El germoplasma ecuatoriano se agrupó mayoritariamente en un grupo representativo. El germoplasma peruano se presentó en un mayor número de grupos, por lo que se puede concluir que éste presenta una mayor variabilidad genética.

Un aporte de este estudio ha sido la estandarización de la técnica RAPDs e identificación de partidores eficientes para análisis de diversidad genética en germoplasma de chocho que pueden ser utilizados en otras colecciones. Se definieron a los partidores Operon AC-19, AA-07, W-01 AC-02 como óptimos por la calidad de sus productos de amplificación y el alto número de polimorfismos revelados.

Esta caracterización sirvió también para establecer las bases de protocolos para otras especies y cultivos; y, continuar con los procesos de caracterización de colecciones de germoplasma, así como en el futuro prestar servicios de identificación y registro de variedades vegetales. Es necesario publicar la información generada en esta investigación.

El DENAREF deja constancia de su agradecimiento a la Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE) y al proyecto Chocho (FUNDACYT) por el financiamiento y apoyo técnico para la realización de esta investigación.

• **Bibliografía citada**

CASTILLO, R., ESTRELLA, J. & TAPIA, C. 1991. Técnicas para el manejo y uso de los recursos genéticos vegetales. Editorial Porvenir. DENAREF – INIAP. Quito. Ecuador. 248 p.

FELSENSTEIN, J. 1985 Confidence limits of phylogenies: an approach using bootstrap. *Evol.* 39: 783 – 791.

MORILLO, E., CASTILLO, R. & MAZON, N. 1998. Estudio de la diversidad genética del banco de germoplasma de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) utilizando marcadores moleculares (RAPDs). Informe final. FUNDACYT. 12 p.

Título: Identificación de variedades vegetales de banano y plátano

Código: 5104

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se realiza la identificación molecular de muestras de ADN de diferentes cultivos y variedades.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

Entre los servicios que ofrece el DENAREF al sector agropecuario del país está la identificación de variedades vegetales, a través de técnicas de biología molecular. Esta actividad, a más de establecer las bases de protocolos para otras especies y cultivos de importancia agrícola, ofrece perspectivas importantes para en el futuro prestar servicios de “*fingerprinting*”, el mismo que servirá para el registro de variedades.

El uso de herramientas moleculares cobra gran importancia ante la posibilidad de confundir entre sí las variedades, ya que éstas al ser cultivadas *in vitro* no son fácilmente identificadas en base a sus características fenotípicas. De igual manera, las diversas técnicas de estudio del ADN contribuyen hacia la identificación inequívoca de cultivares y la protección de los derechos del obtentor (propiedad intelectual), en el marco de las pruebas de homogeneidad, novedad, distinguibilidad y estabilidad de una nueva variedad vegetal.

Según INFOMUSA (1998), las formas de impresión de huellas del ADN son de gran utilidad para verificar la identidad de plantas en edad temprana de desarrollo (con el consiguiente ahorro de recursos), aunque se reconoce que su costo es la principal limitación para su aplicación.

Objetivos:

- Prestar servicios a otros programas del INIAP, así como también a la empresa privada, a través del Laboratorio de Biología Molecular del DENAREF.
- Establecer protocolos de caracterización a través de sistemas de marcadores moleculares para la identificación de variedades vegetales.

Hipótesis:

La técnica de amplificación del ADN al azar (RAPDs) permite la identificación molecular de variedades de banano y plátano.

• **Metodología**

En esta actividad se utilizó la técnica de amplificación de ADN al azar siguiendo la metodología empleada rutinariamente en el Laboratorio de Biología Molecular del DENAREF. La meta de trabajo consistió en comprobar si los clones madre de banano y plátano que se propagan *in vitro* para su comercialización efectivamente correspondían a la variedad requerida.

Para ello, se entregaron al DENAREF 26 materiales de banano y siete materiales de plátano, los cuales se compararon con un testigo de campo de cada variedad con el siguiente arreglo:

- 12 clones correspondientes a FHIA-1 amplificados con 10 primers.
- 5 clones correspondientes a FHIA-18 amplificados con 10 primers.
- 9 clones correspondientes a "William Híbrido" amplificados con 10 primers.
- 7 clones correspondientes a FHIA-21 (plátano) amplificados con 15 primers.

Se realizaron varias pruebas de amplificación en las cuales se analizaron distintas concentraciones de ADN con el fin de estandarizar la reacción de RAPDs. Además se incluyó un control negativo en la amplificación para detectar bandas producto de contaminación. Se incluyó además un patrón estándar de ADN que permite cuantificar el tamaño de un fragmento de ADN si éste resultase polimórfico. Se realizaron repeticiones de los primers que presentaron polimorfismos.

El análisis se realizó comparando los productos de amplificación de las muestras con los productos de su respectiva muestra testigo.

• **Resultados y discusión**

El trabajo se realizó conforme al contrato suscrito entre la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP y la Empresa MERISISTEMAS, lo cual representó un ingreso total de S/. 4 435 000 para el INIAP.

Muestras FHIA-1, FHIA-18 y FHIA-21

Los resultados indicaron que efectivamente todas las muestras analizadas para estas variedades corresponden a las mismas ya que al analizar el ADN genómico de las diferentes muestras comerciales a través de la técnica RAPDs, no se encontraron polimorfismos comparándolas con sus respectivas muestras testigo.

Muestras William Híbrido

Los resultados obtenidos indicaron que dos de las siete muestras analizadas presentaron polimorfismos comparadas con el resto de muestras William, incluida la muestra testigo. Estos polimorfismos fueron evidentes con algunos “primers” por lo que fueron necesarias amplificaciones adicionales para certificar los resultados. En un total de 11 primers se obtuvieron un total de 86 bandas de las cuales 32 (37%) fueron exclusivas para estas muestras, 13 (15%) resultaron ser exclusivas de las muestras William de invernadero y campo, y 41 bandas resultaron ser monomórficas (Anexo 18). Cabe indicar que estos resultados se repitieron inclusive con un nuevo templado de ADN.

Debido a estos polimorfismos se concluyó por lo tanto que estos clones no correspondían a la variedad William. Esto probablemente se debió a un error de etiqueta durante el manejo de las plantas *in vitro*, confusiones durante la transferencia a nuevos recipientes, en la fase de siembra en maceta o en campo, o bien, mutaciones somáticas debido a una excesiva micropropagación del material. En este sentido, por ejemplo, pruebas realizadas en Australia exhibieron altos porcentajes de plantas mutadas o anormales, con valores de más del 91% (INFOMUSA, 1998).

Con base a estos resultados, se remitieron los informes respectivos a la Empresa MERISISTEMAS (DENAREF-INIAP, 1998).

• Conclusiones y recomendaciones

Bajo las condiciones experimentales descritas, la técnica RAPDs es aplicable para detectar similitudes o diferencias genéticas entre variedades de banano y plátano, comparadas con sus respectivos testigos. Se detectaron materiales no correspondientes a la variedad William y se propusieron probables causas a la Empresa MERISISTEMAS.

Se desarrollaron experiencias y metodologías de trabajo en esta área, lo cual abre perspectivas para continuar con el uso de la tecnología de marcadores moleculares. Es importante también considerar el alto costo que implica el uso de estas técnicas, por lo cual es necesario definir una estrategia institucional que permita la reposición del material utilizado.

Probablemente estos resultados son sólo reproducibles bajo las condiciones de trabajo del Laboratorio de Biología Molecular del DENAREF, ya que la técnica RAPDs es muy sensible y se ha reportado la falta de reproducibilidad de resultados entre laboratorios al variar las condiciones experimentales (reactivos y equipos).

• Bibliografía citada

INFOMUSA, 1998. Daniells J. Volumen 6. No. 2. Peligros potenciales del cultivo de tejidos. Pg. 17-18.

DENAREF-INIAP, 1998. Informes 1, 2, 3, 4 sobre “Identificación molecular de muestras de banano y plátano”.

Título: Tuberización *in vitro* de melloco (*Ullucus tuberosus* Caldas) y oca (*Oxalis tuberosa* Mol.)

Código: 5105

• **Indicadores de la actividad**

En 1998 se tiene los protocolos de tuberización *in vitro* de melloco y oca con la finalidad de conservación de germoplasma.

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

Los tubérculos andinos oca (*Oxalis tuberosa*) de la familia Oxalidaceae y melloco (*Ullucus tuberosus*) de la familia Basellaceae son parte importante en la dieta alimenticia de los pobladores de la región andina de Ecuador, Colombia, Perú y Bolivia (Tapia *et al.*, 1996).

La oca tiene la más amplia distribución de todos los tubérculos andinos y es cultivada desde Venezuela hasta el sur de Argentina y Chile (Morales y Rea, 1982; King, 1988). En el Ecuador la oca no se cultiva en forma extensiva, sino más bien en parcelas pequeñas.

En Ecuador, el melloco es considerado como un tubérculo que ocupa el segundo lugar en importancia después de la papa; se cultiva en toda la sierra del país, pero principalmente en las provincias de Cañar, Chimborazo, Tungurahua, Cotopaxi, Pichincha y Carchi (Caicedo *et al.*, 1995).

Si bien ya se han realizado estudios de conservación *in vitro* con relativo éxito, esta fase de conservación requiere de micropropagaciones periódicas, y existe el riesgo de pérdidas por contaminaciones; por lo tanto, es necesario buscar nuevas alternativas, como es la tuberización *in vitro*, cuyos microtubérculos ayudarían a la conservación del germoplasma como también al intercambio con centros internacionales, agricultores, etc.

Objetivos:

- Disponer de mejores sistemas de conservación *in vitro* de melloco y oca, a través de la producción de microtubérculos.

- Desarrollar un protocolo eficiente para la micropropagación, elongación de yemas y tuberización *in vitro* en melloco y oca.

- Determinar el medio de cultivo más adecuado para la producción de microtubérculos de melloco y oca.

- Establecer una guía para la conservación de microtubérculos para usos en bancos de germoplasma de la Región Andina.

Hipótesis:

Todas las entradas de melloco y oca producen microtubérculos en condiciones *in vitro*.

• **Metodología**

Se utilizaron plántulas *in vitro* de melloco y oca de dos meses de edad. En melloco se trabajaron con siete entradas pertenecientes a diferentes morfotipos y cinco entradas de oca.

Se probaron diferentes medios de cultivo con sales básicas de Murashige y Skoog y White, los que adicionalmente tenían hormonas (kinetina, benzil amino purina y cloruro de cloroclorina) como inductores de la tuberización, y altas concentraciones de sucrosa (Anexo 19 y 20).

Los resultados fueron analizados bajo un Diseño Completo al Azar (DCA). Las variables evaluadas para la fase de tuberización fueron: elongación de yemas, días a la tuberización, peso de microtubérculos por recipiente, porcentaje de tuberización y tamaño promedio de microtubérculos.

• **Resultados y discusión**

El análisis estadístico detectó que las variables en estudio presentaron diferencias significativas tanto para el factor entradas como para el factor medios, destacándose el porcentaje de tuberización con una media de 33,38% y un CV de 13,08% (Anexo 21). La prueba de Tukey al 5% permitió determinar que dentro del factor entradas, ECU-790 presentó el mayor porcentaje de tuberización con un promedio de 47,9%. Dentro del factor medios, Mm5 (MS+sucrosa 80g/l) presentó el mayor porcentaje de tuberización con un promedio de 46,8% (Anexo 22).

De igual forma que en melloco, en oca se observó que las variables en estudio también detectaron diferencias significativas y la variable porcentaje de tuberización como la más destacable con un promedio de 19,25% y un CV de 15,80% (Anexo 23). La prueba de Tukey al 5% señaló a ECU-959 como la entrada con el porcentaje promedio más alto (26,6%). Para el factor medios, se determinó que Mo2 presenta el porcentaje más alto con un promedio de 35,02%, es decir, el medio conformado por MS, BAP y sucrosa, dio los mejores resultados (Anexo 24).

- **Conclusiones y recomendaciones**

Los resultados en la producción de microtubérculos en melloco indican que es posible obtener microtubérculos al utilizar un medio que contenga medio base MS, 8% de sucrosa y sin hormonas de inducción, incluso al no adicionar hormonas se puede reducir el riesgo de presentar aberraciones cromosómicas. Además, los datos sugieren que el genotipo juega un papel importante en la respuesta hacia los medios expuestos para microtuberización.

En cuanto a la tuberización *in vitro* de oca, se encontró que el medio óptimo para todas las entradas que se utilizaron y se escogieron al azar fue: MS + BAP (0,25 mg/l) + sucrosa (8%).

El uso de microtubérculos para conservación de germoplasma, presenta ventajas como el fácil almacenamiento, el intercambio de material libre de patógenos y una reducción de costos a largo plazo, si se compara con otros métodos de conservación.

- **Bibliografía citada**

CAICEDO, C., NIETO, C., MONTEROS, C., YÁNEZ, C., RIVERA, M., VIMOS, C. & HARO, M. 1995. INIAP – PUCA Melloco e INIAP – QUILLU Melloco. primeras variedades de melloco (*Ullucus tuberosus* Loz.) para Ecuador. EESC-INIAP. Boletín Divulgativo No. 251. Quito. Ecuador. 17 p.

KING, S. 1988. Economic botany of the Andean tubers crop complex: *Lepidium meyenii*, *Oxalis tuberosa*, *Tropaeolum tuberosum* and *Ullucus tuberosus*. Tesis. Doctorado en Filosofía. Universidad de Nueva York. Facultad de Biología. New York, USA pp.52-58.

MORALES, D. & REA, J. 1982. Evaluación del banco de germoplasma de tubérculos andinos. Tercer Congreso Internacional de Cultivos Andinos. IBTA. CIID. La Paz, Bolivia. pp. 317-322.

TAPIA, C., CASTILLO, R. & MAZÓN, N. 1996. Catálogo de recursos genéticos de raíces y tubérculos andinos en Ecuador. Publicación Miscelánea No. 66. Editorial Tecnigraba. DENAREF - INIAP. Quito. Ecuador. 208 p.

Título: Servicio de germinación de semillas y producción de plantas medicinales

Código: 5106

• **Indicadores de la actividad**

Hasta diciembre de 1998, se ha realizado la germinación de 7000 semillas ortodoxas y producción de 3000 plantas medicinales

• **Introducción (justificación, objetivos, hipótesis)**

El Banco de Germoplasma del DENAREF contiene una amplia variabilidad genética de muchas especies alimenticias, medicinales, frutales, etc., las cuales están en un activo proceso de refrescamiento, multiplicación y caracterización. De algunas especies que conforman esta diversidad no se tiene conocimientos claros sobre la fisiología de su semilla o el método más adecuado de su propagación.

El servicio de germinación y propagación de especies nativas no tradicionales o especies exóticas le permite al DENAREF realizar estudios más detallados sobre los temas antes mencionados y así contribuir para el conocimiento de la biodiversidad del banco de germoplasma.

Objetivos:

- Proporcionar el servicio de germinación de semillas ortodoxas de interés.
- Proporcionar el servicio de producción de plantas medicinales.

Hipótesis:

El DENAREF proporciona el servicio de germinación de semillas y producción de plantas medicinales.

• **Metodología**

Para la germinación de semillas se ha utilizado métodos de escarificación física y química. Se ha utilizado un germinador con condiciones controladas de humedad y temperatura.

En la producción de plantas medicinales, dependiendo de su método de propagación, se utiliza un geminador o se multiplica por esquejes enraizados. En la fase de invernadero se procede a esterilizar la tierra y a enriquecerla con materia orgánica y humus para tener plantas de mejor calidad.

- **Resultados y discusión**

En el presente año se ha proporcionado el servicio de germinación de 7000 semillas de uvilla (*Physalis peruviana*). Adicionalmente, se procedió a la venta a la empresa ACRES de 3700 plántulas y 2000 semillas germinadas.

Además, se han producido y comercializado 3500 plantas de especies medicinales y aromáticas (toronjil y orégano).

- **Conclusiones y recomendaciones**

El servicio de germinación y producción de plantas de diferentes especies es una actividad del DENAREF que permite ingresos al INIAP. En la medida en que su demanda se incremente será necesario optimizar los recursos (humanos, financieros, materiales) que están involucrados en este proceso de producción. La investigación básica sobre fisiología de semillas y métodos de propagación de plantas medicinales, de tanto interés en la actualidad, se perfilan como actividades con prioridad de trabajo para el futuro.

ANEXOS

Anexo 1. Géneros de especies alimenticias, forrajeras, frutales, medicinales y forestales que forman parte del Banco de Germoplasma del DENAREF. Hasta diciembre de 1998.

CULTIVOS		PASTOS	FORESTALES	MEDICINALES			FRUTALES		OTROS
<i>Allium</i>	<i>Passiflora</i>	<i>Agropyron</i>	<i>Acacia</i>	<i>Aerva</i>	<i>Lepidium</i>	<i>Tanacetum</i>	<i>Achras</i>	<i>Quararibea</i>	<i>Befaria</i>
<i>Amaranthus</i>	<i>Phaseolus</i>	<i>Agrostis</i>	<i>Albizia</i>	<i>Aloe</i>	<i>Lippia</i>	<i>Taraxacum</i>	<i>Anacardium</i>	<i>Rheedia</i>	<i>Broliia</i>
<i>Apios</i>	<i>Physalis</i>	<i>Anthoxanthum</i>	<i>Atriplex</i>	<i>Alopecurus</i>	<i>Majorana</i>	<i>Tecoma</i>	<i>Annona</i>	<i>Rubus</i>	<i>Bromelia</i>
<i>Arachis</i>	<i>Pisum</i>	<i>Arrhenatherum</i>	<i>Cassia</i>	<i>Alternanthera</i>	<i>Malva</i>	<i>Thymus</i>	<i>Artocarpus</i>	<i>Spondias</i>	<i>Cavendishia</i>
<i>Arracacia</i>	<i>Polymnia</i>	<i>Bouteloua</i>	<i>Casuarina</i>	<i>Apium</i>	<i>Margyricarpus</i>	<i>Tilia</i>	<i>Averrhoa</i>	<i>Syzygium</i>	<i>Cereus</i>
<i>Avena</i>	<i>Sesamum</i>	<i>Bromus</i>	<i>Cedrela</i>	<i>Argemone</i>	<i>Matricaria</i>	<i>Urtica</i>	<i>Bixa</i>	<i>Tamarindus</i>	<i>Cissus</i>
<i>Beta</i>	<i>Solanum</i>	<i>Calamagrostis</i>	<i>Ceratostema</i>	<i>Artemisia</i>	<i>Melissa</i>	<i>Valeriana</i>	<i>Bomarea</i>	<i>Vaccinium</i>	<i>Clavija</i>
<i>Brassica</i>	<i>Sorghum</i>	<i>Chamaecytisus</i>	<i>Cordia</i>	<i>Baccharis</i>	<i>Mentha</i>	<i>Verbena</i>	<i>Cananga</i>	<i>Vitex</i>	<i>Coriaria</i>
<i>Cajanus</i>	<i>Theobroma</i>	<i>Coronilla</i>	<i>Croton</i>	<i>Bidens</i>	<i>Micromeria</i>	<i>Viola</i>	<i>Carica</i>	<i>Vitis</i>	<i>Cratylia</i>
<i>Canna</i>	<i>Triticum</i>	<i>Dactylis</i>	<i>Derris</i>	<i>Borago</i>	<i>Nasturtium</i>		<i>Chrysophyllum</i>		<i>Crotalaria</i>
<i>Capsicum</i>	<i>Tropaeolum</i>	<i>Elitnigia</i>	<i>Enterolobium</i>	<i>Bystropogon</i>	<i>Ocimum</i>		<i>Cinnamomum</i>		<i>Desmodium</i>
<i>Chenopodium</i>	<i>Ullucus</i>	<i>Eragrostis</i>	<i>Erythrina</i>	<i>Cestrum</i>	<i>Origanum</i>		<i>Citrus</i>		<i>Disterigma</i>
<i>Cicer</i>	<i>Vicia</i>	<i>Festuca</i>	<i>Eucalyptus</i>	<i>Chamaecyse</i>	<i>Portulaca</i>		<i>Cyphomandra</i>		<i>Eleusine</i>
<i>Coffea</i>	<i>Vigna</i>	<i>Gaultheria</i>	<i>Ficus</i>	<i>Chuquiraga</i>	<i>Pelargonium</i>		<i>Diospyros</i>		<i>Eurica</i>
<i>Cucurbita</i>	<i>Zea</i>	<i>Hedysarum</i>	<i>Gleditsia</i>	<i>Cichorium</i>	<i>Peperomia</i>		<i>Durio</i>		<i>Hesperomeles</i>
<i>Cyclanthera</i>		<i>Holcus</i>	<i>Gliricidia</i>	<i>Coix</i>	<i>Perezia</i>		<i>Eriobotrya</i>		<i>Lagenaria</i>
<i>Dioscorea</i>		<i>Lathyrus</i>	<i>Gonzalagunia</i>	<i>Commelina</i>	<i>Petroselinum</i>		<i>Eugenia</i>		<i>Leonia</i>
<i>Dolichos</i>		<i>Lolium</i>	<i>Guazuma</i>	<i>Coriandrum</i>	<i>Plantago</i>		<i>Fortunella</i>		<i>Macleania</i>
<i>Glycine</i>		<i>Lotus</i>	<i>Inga</i>	<i>Cortaderia</i>	<i>Polypodium</i>		<i>Fragaria</i>		<i>Neonelsonia</i>
<i>Gossypium</i>		<i>Medicago</i>	<i>Leucaena</i>	<i>Culcitium</i>	<i>Psoralea</i>		<i>Hylocereus</i>		<i>Pentagonia</i>
<i>Helianthus</i>		<i>Muhlenbergia</i>	<i>Macadamia</i>	<i>Cymbopogon</i>	<i>Puya</i>		<i>Litchi</i>		<i>Permetthya</i>
<i>Heliconia</i>		<i>Ornithopus</i>	<i>Pithecellobium</i>	<i>Cynanchum</i>	<i>Rosmarinus</i>		<i>Mangifera</i>		<i>Podandroygne</i>
<i>Hordeum</i>		<i>Paspalum</i>	<i>Pouroma</i>	<i>Dianthus</i>	<i>Rumex</i>		<i>Myrciaria</i>		<i>Psammisia</i>
<i>Ipomoea</i>		<i>Phalaris</i>	<i>Schizolobium</i>	<i>Dononea</i>	<i>Ruta</i>		<i>Opuntia</i>		<i>Ribes</i>
<i>Lens</i>		<i>Phleum</i>	<i>Semanea</i>	<i>Equisetum</i>	<i>Salvia</i>		<i>Persea</i>		<i>Sicania</i>
<i>Lupinus</i>		<i>Poa</i>	<i>Sesbania</i>	<i>Espeletia</i>	<i>Sambucus</i>		<i>Phyllanthus</i>		<i>Tadehagi</i>
<i>Lycopersicon</i>		<i>Polypogon</i>	<i>Swietenia</i>	<i>Eupatorium</i>	<i>Sanguisorba</i>		<i>Piper</i>		
<i>Mirabilis</i>		<i>Puccinellia</i>	<i>Ziziphus</i>	<i>Euphorbia</i>	<i>Sedum</i>		<i>Poncirus</i>		
<i>Nicotiana</i>		<i>Setaria</i>		<i>Foeniculum</i>	<i>Sinapis</i>		<i>Pouteria</i>		
<i>Oryza</i>		<i>Stipa</i>		<i>Franseria</i>	<i>Sonchus</i>		<i>Prunus</i>		
<i>Oxalis</i>		<i>Trifolium</i>		<i>Glycyrrhiza</i>	<i>Spilantes</i>		<i>Psidium</i>		
<i>Pachyrhizus</i>		<i>Trisetum</i>		<i>Lamium</i>	<i>Tagetes</i>		<i>Punica</i>		

Anexo 2. Accesiones del Banco de Germoplasma del INIAP, mantenidas en Banco Base (hasta diciembre de 1998).

ESPECIE	NOMBRE COMÚN	No. DE ACCESIONES
<i>Amaranthus</i> spp.	Amaranto	434
<i>Chenopodium quinoa</i>	Quinoa	490
<i>Lupinus mutabilis</i> y otras especies	Chocho y otros lupinos	547
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Fréjol	1854
<i>Phaseolus lunatus</i>	Fréjol torta	137
<i>Phaseolus coccineus</i>		153
<i>Phaseolus</i> spp.	silvestre, etc.	19
<i>Zea mays</i>	Maiz	887
<i>Pachyrhizus tuberosus</i>	jíquima	39
<i>Pachyrhizus ferrugineus</i>		1
<i>Pachyrhizus erosus</i>	jicama	12
<i>Pachyrhizus panamensis</i>		1
<i>Pachyrhizus ahipa</i>	ahipa	17
<i>Solanum tuberosum</i>	Papa	134
Varias especies de solanaceas		362
<i>Carica papaya</i> .	papayas	26
<i>Carica pubescens</i> .		12
<i>Carica</i> spp.	Papayas y afines	28
<i>Cucurbita</i> spp.	Varias calabazas	81
<i>Cyclanthera pedata</i>	Achogcha	17
<i>Cyphomandra betacea</i>	Tomate de árbol	35
<i>Lycopersicon esculentum</i> y otras especies	Tomate y afines	93
<i>Passiflora</i> spp.	Diversas pasifloras	240
<i>Physalis peruviana</i>	Uvilla	28
<i>Prunus serotina</i> subsp. <i>capuli</i>	Capulí	220
<i>Capsicum</i> spp.	Ajies y pimientos	282
<i>Vicia faba</i>	Haba	272
<i>Pisum sativum</i>	Arveja	227
<i>Ipomoea</i> spp.	Camote y silvestres	428
<i>Rubus</i> spp.	Mora	62
<i>Vaccinium</i> spp.	Mortiño	29
<i>Dolichos lablab</i>	Sarandaja	33
<i>Brassica</i> spp.	Diversas brásicas	15
<i>Solanum quitoense</i> y afines	Naranjilla	111
<i>Glycine</i> spp.	Soya	13
<i>Lens</i> spp.	Lenteja	252
<i>Opuntia</i> spp.	Tuna	1
<i>Bixa orellana</i>	Achiote	2
<i>Triticum</i> spp.	Trigo y afines	144
<i>Oryza sativa</i>	Arroz	11
<i>Ficus</i> spp.	---	4
<i>Allium</i> spp.	Cebolla y afines	24
<i>Avena</i> spp.	Avena y afines	544
<i>Helianthus annuus</i>	Girasol	100
<i>Gossypium</i> spp.	Algodón y afines	158
<i>Cicer arietinum</i>	Garbanzo	150
<i>Fragaria</i> spp.	---	2
<i>Cajanus cajan</i>	Fréjol de palo	7
<i>Inga</i> spp.	Guabas y afines	5
<i>Annona</i> spp.	Diversas anonáceas	9
<i>Erythrina</i> spp.	---	6
<i>Pouteria</i> spp.	Sapotáceas	2
<i>Canna</i> spp.	Cannáceas (achira)	5
<i>Sorghum vulgare</i>	Sorgo	73
<i>Hordeum vulgare</i>	Cebada	510
Otras especies	---	549
TOTAL		9745

Anexo 3. Colecciones mantenidas en campo, hasta diciembre de 1998.

ESPECIES	NÚMERO ENTRADAS
<i>Ullucus tuberosus</i>	290
<i>Oxalis tuberosa</i>	153
<i>Tropaeolum tuberosum</i>	82
<i>Arracacia xanthorrhiza</i>	82
<i>Polymnia sonchifolia</i>	37
<i>Canna</i> spp.	48
<i>Mirabilis expansa</i>	13
<i>Ipomoea</i> spp.	358
<i>Passiflora</i> spp.	28
Varias medicinales	191
<i>Prunus serotina</i> ssp. <i>capuli</i> *	34
TOTAL	1316

*Duplicado de las semillas conservadas en cámara refrigerada.

Anexo 4. Colecciones conservadas *in vitro*, hasta diciembre de 1998.

ESPECIE	NÚMERO DE ENTRADAS
<i>Ullucus tuberosus</i>	104
<i>Tropaeolum tuberosum</i>	40
<i>Oxalis tuberosa</i>	65
<i>Polimnya sonchifolia</i>	20
<i>Solanum</i> spp.	500
<i>Ipomoea</i> spp.	8
<i>Mirabilis expansa</i>	7
<i>Cyphomandra betaceae</i>	4
<i>Solanum quitoense</i>	8
<i>Solanum muricatum</i>	1
TOTAL	757

Anexo 5. Número de entradas de melloco, oca y mashua provenientes de Cañar, Chimborazo y Tungurahua, mantenidas en el banco de germoplasma.

CULTIVO	PROVINCIA					
	CAÑAR		CHIMBORAZO		TUNGURAHUA	
	Antes	Ahora	Antes	Ahora	Antes	Ahora
Melloco	25	8	14	15	7	8
Oca	15	15	16	19	4	8
Mashua	11	11	12	11	4	8
TOTAL						244

Anexo 6. Primers polimórficos para caracterizar melloco, oca y mashua.

Melloco	Mashua		Oca	
Código Operon	Código Operon		Código Operon	
OPW-13	OPW-04	OPR-07	OPA-03	OPAN-07
OPW-03	OPW-06	OPS-05	OPA-04	OPAN-08
OPAC-03	OPW-09	OPW-12	OPA-11	OPR-05
OPR-08	OPAC-09		OPA-16	OPR-07
OPAM-13	OPAC-10		OPAA-01	OPR-10
OPA-04	OPA-09		OPAA-04	
OPR-02	OPAM-07		OPAA-14	
OPR-01	OPAM-11		OPAC-04	
OPA-10	OPAM-15		OPAC-07	
OPAC-04	OPAN-15		OPAC-12	

Anexo 7. Taxonomía y sistemática molecular de la leguminosa tuberosa neotropical *Pachyrhizus* Rich. ex D.C.

El género neotropical *Pachyrhizus* Rich. ex D.C. es una de las pocas leguminosas que produce raíces tuberosas comestibles. Dos de sus cinco especies (*P. ahipa* y *P. tuberosus*) son cultivadas por las comunidades rurales en las regiones andinas y amazónicas, mientras que una tercera (*P. erosus*) se cultiva a escala comercial en Centroamérica para el mercado doméstico e internacional. El trabajo de fitomejoramiento que se desarrolla actualmente en Costa Rica, Ecuador, Dinamarca, Portugal y Tonga se ha orientado a incrementar el potencial agronómico e industrial de este cultivo. Por ello, el objetivo del presente estudio fue la construcción de una filogenia de este género en base a variación molecular, así como establecer los niveles de diversidad genética entre las especies de *Pachyrhizus*.

Una filogenia basada en la variación de ADN de cloroplasto (cpDNA) identificó dos ramas evolucionarias en el género, una de origen mesoamericano y otra suramericana, reflejando un patrón fitogeográfico consistente en cuanto a la distribución de especies y su dispersión. La especie silvestre *P. ferrugineus* (la más primitiva dentro de la filogenia del género) y los materiales silvestres y cultivados de *P. erosus* constituyeron la rama de evolución mesoamericana. Las accesiones de distribución andina y amazónica (*P. panamensis*, el complejo de cultivares de *P. tuberosus* y la especie altamente evolucionada *P. ahipa*) constituyeron la rama suramericana. *P. panamensis* fue el taxón más primitivo en este grupo.

Una filogenia construida a partir de la variación de secuencias de nucleóticos del espaciador interno transcrito (ITS) del ADN ribosómico (nrDNA) confirmó los resultados obtenidos con la filogenia de cpDNA. La filogenia de ITS también evidenció que *P. panamensis*, materiales silvestres de *P. tuberosus* y *P. erosus* probablemente se originan a partir de rápidas radiaciones evolutivas de un material ancestral ampliamente distribuido (por ejemplo, ecotipos de *P. ferrugineus*). Subsecuentemente, diversos procesos de especiación probablemente acompañaron a una adaptación divergente de nichos ecológicos en dos direcciones: (1) hacia áreas con épocas anuales secas definidas y bosques deciduos en Mesoamérica (lo cual condujo al origen y especialización de *P. erosus* y sus numerosos cultivares y razas primitivas); y, (2) hacia los bosques tropicales, subtropicales y valles andinos (que dio origen a los cultivos de *P. tuberosus* y *P. ahipa*). Estos procesos fueron seguramente complementados por los procesos de domesticación y selección realizados por el hombre.

Por otro lado, los fenogramas obtenidos a partir de RAPDs fueron congruentes con las filogenias de cpDNA y ITS, confirmando además la afinidad genética entre *P. ahipa* y *P. tuberosus*, y revelando la existencia de tres grupos genéticos de *P. erosus* en México y Centroamérica.

Aparentemente, *P. tuberosus* desempeñó un rol preponderante durante la evolución del género. Las múltiples líneas de variación molecular estudiadas sugieren que esta especie fue posiblemente ancestral de *P. erosus*, a modo de un linaje separado. Más aún, un material silvestre y de temprano origen en *P. tuberosus* estuvo posiblemente relacionado a otras especies (por ejemplo, a *P. panamensis* y *P. ferrugineus*); y, ciertos materiales cultivados de *P. tuberosus* estuvieron involucrados en el origen de *P. ahipa*, que es una especie altamente desarrollada.

Finalmente, se identificó un amplio rango de diversidad genética con uso potencial en este género, lo cual permite la implementación (o continuación) de estrategias de conservación *ex situ* y/o *in situ*, así como un progreso eficiente hacia el fitomejoramiento de las especies de *Pachyrhizus*.

Anexo 8. Caracterización morfológica y molecular de la diversidad genética de la colección de *Pachyrhizus tuberosus* (Lam.) Spreng. del CATIE.

P. tuberosus denominada comúnmente como jícama al igual que la especie más difundida del género (*P. erosus*), es una leguminosa tuberífera nativa de Suramérica. Se la considera como un cultivo promisorio debido a su alto potencial de producción de materia orgánica para uso humano y animal. Posee rendimientos excepcionales de 150 t/ha y contenidos de proteínas de 3 a 5 veces más que otras raíces como yuca o camote. La especie es fijadora de nitrógeno, además de poseer altos contenidos del insecticida natural “rotenona”, que es una opción interesante para ser usada en agricultura orgánica y sistemas de producción.

El objetivo de esta investigación fue evaluar en el CATIE, Turrialba, Costa Rica, la diversidad genética de la colección de *P. tuberosus*, mediante la caracterización morfoagronómica y molecular de 31 entradas. Para la caracterización morfológica se utilizó una matriz de distancias entre entradas para un total de 70 caracteres cualitativos y cuantitativos, la cual sirvió para el análisis de agrupamiento jerárquico de Ward (1963). Las distancias entre y dentro de grupos se analizaron para los caracteres de mayor valor discriminante “D”; además se obtuvo el tamaño de muestra mínima y se analizó la variabilidad genética. Es así que la colección se clasificó en cuatro grupos: las ashipas (grupo 1 y 4), chuines (grupo 2) y jíquimas (grupo 3) identificándose entre grupos y entradas dentro de grupos 10 caracteres cualitativos y 7 cuantitativos con mayor poder discriminante, siendo la forma y tipo del lóbulo del foliolo de la hoja, color de la pulpa de la raíz, hábito de crecimiento, días a la floración y días a la madurez fisiológica, los caracteres más útiles para utilizarse en una descripción inicial. La muestra mínima para caracteres cualitativos fue de 1 a 3 repeticiones y para caracteres cuantitativos con una muestra mínima de 20 a 50 y una precisión aceptable, se identificó a la relación largo/ancho del foliolo principal de la hoja y días a la madurez fisiológica de la vaina. Las entradas con menor variabilidad genética para los caracteres cuantitativos fueron la longitud de la flor, ancho del estandarte, relación largo/ancho del foliolo de la hoja y días a la madurez fisiológica.

Para la caracterización molecular se usó marcadores RAPD y por medio de una matriz de distancia, dendrogramas, “bootstrap” y análisis discriminante canónico se determinó la variabilidad de la colección. Se identificaron 10 “primers”, obteniéndose 32 polimorfismos, siendo siete “primers” los que más aportaron para diferenciar entre grupos, encontrar duplicados, “mutaciones de etiqueta” y caracterizar los individuos. Además, se identificó la relación de los dos tipos de caracterización mediante correlaciones basadas en las matrices de distancias, lo cual permitió encontrar que la mejor relación con respecto a la matriz obtenida con marcadores moleculares fue con los caracteres cualitativos. Las herramientas utilizadas en esta investigación han proporcionado la información necesaria para caracterizar los individuos y, por lo tanto, la futura contribución y valoración en el mejoramiento genético

Anexo 9. Tuberización *in vitro* de Melloco (*Ullucus tuberosus* Caldas) y Oca (*Oxalis tuberosa* Mol.).

Debido a la importancia alimenticia que tienen los tubérculos andinos en la alimentación humana, y conociendo que tanto el melloco (*Ullucus tuberosus* Cal.) como la oca (*Oxalis tuberosa* Mol.), se encuentran amenazados por una alta erosión genética, es decir, por la pérdida irreversible de su diversidad, se vio la necesidad de plantear estrategias que conduzcan a la protección de los recursos fitogenéticos. Para este fin, en el Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos y Biotecnología (DENAREF) del INIAP, se iniciaron trabajos de recolección y conservación en campo de varias muestras (clones) de melloco y oca.

Durante varios años se han conservado estos clones, encontrándose problemas de mantenimiento de los mismos, debido a factores bióticos y abióticos. Por consiguiente, el objetivo principal de este estudio se centró en disponer de un sistema de conservación *in vitro* a través de la producción de microtubérculos con el fin de garantizar la conservación de la variabilidad genética como método alternativo de conservación a mediano plazo.

Para la obtención de los microtubérculos se abarcaron cuatro fases de experimentación: a) micropropagación de plántulas, b) elongación de yemas, c) tuberización *in vitro*, en la cual se experimentó con diferentes medios de cultivo a distintas concentraciones de sales base de Murashigue y Skoog (1962) y White (1963), los que adicionalmente tenían hormonas citoquininas: kiketina y Benzil amino purina (BAP), Cloruro de cloroclorina (CCC) como inductor a tuberización y altas concentraciones de sucrosa; y d) conservación de microtubérculos.

Los resultados, en melloco, señalaron al medio de cultivo MS + sucrosa (80 g/l) como el óptimo en la producción de microtubérculos, pues presenta el promedio más alto en la variable porcentaje de tuberización, por lo que se infiere que la producción de microtubérculos puede ser alcanzada sin necesidad de adicionar reguladores de crecimiento. En oca, por su lado se obtuvieron mejores resultados con el medio MS + BAP 0,25 mg/l + sucrosa 80 g/l.

Este experimento ha demostrado que mientras más bajas son las concentraciones de hormonas inductoras se obtienen mejores resultados para la obtención de microtubérculos; también sugiere que el genotipo juega un papel importante en la respuesta hacia los medios expuestos para microtuberización.

Respecto a la conservación, la utilización de microtubérculos, bajas temperaturas y baja cantidad de O₂ en los recipientes de almacenamiento se esperaría sean útiles para la conservación de germoplasma *in vitro* de melloco y oca por períodos de dos o más años: los microtubérculos de melloco y oca conservados al vacío en cuarto frío a 5°C presentan un muy buen estado de conservación a los 12 meses de evaluación.

Anexo 10. Caracterización y evaluación en campo de 142 accesiones del germoplasma nacional de maní (*Arachis hypogaea* L.)

La presente investigación se realizó en los años 1996 y 1997 en las épocas secas, en el lote La Teodomira del INIAP, perteneciente a la parroquia Lodana, cantón Santa Ana, situada geográficamente entre las coordenadas 01° 9' latitud Sur y 80° 22' longitud Oeste, a 47 m.s.n.m.

Este estudio tuvo como objetivo principal evaluar y caracterizar 142 cultivares componentes de la Colección Nacional de Maní del Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos y Biotecnología bajo condiciones climáticas del valle del Río Portoviejo.

Se realizaron pruebas de medidas de tendencia central, dispersión y análisis de correlación a algunas variables cuantitativas. Las variables tomadas comprendieron los descriptores de caracterización: Hábito de crecimiento, altura del tallo principal, tamaño de la planta, características del tallo principal, ancho de los folíolos del tallo principal, largo de los folíolos del tallo principal, ancho de los folíolos del tallo lateral, largo de los folíolos del tallo lateral, color de la hoja, presencia de pelos en el haz y en el envés, pigmentación del tallo, forma de la vaina, constricción de la vaina, reticulación de la vaina, ancho de la vaina, largo de la vaina, número de semillas por vaina, tipo de vaina (mercado USA), patrón del color de la semilla, color de la semilla, ancho de la semilla, y largo de la semilla; y, para evaluaciones agronómicas se registraron los descriptores: días a la emergencia, días a la floración, madurez fisiológica, peso de la vaina, peso de la semilla, grado de resistencia a plagas y enfermedades.

De los resultados obtenidos se pudo determinar que de las 142 entradas el 86,5% correspondieron a la Subespecie *fastigiata*, mientras que un 13,4% fue para *hypogaea*; con respecto a la evaluación agronómica, se determinó la existencia de diez materiales con maduración antes de los 100 días. Once materiales con granos con pesos superiores a 60 g/100 semillas y 50 cultivares con buen grado de resistencia a Cercóspora.

Anexo 11. Análisis del polimorfismo de las colecciones de jícama (*Polymnia sonchifolia* R & P) y miso (*Mirabilis expansa* R & P) del Banco de Germoplasma del INIAP.

El Banco de Germoplasma del INIAP conserva en el campo varias colecciones clonales, principalmente de raíces y tuberosas andinas. En la actualidad estas especies sufren un alto grado de erosión genética. Para conocer la diversidad genética y promover la utilización de este germoplasma, es necesario caracterizarlo y evaluarlo mediante el uso de marcadores morfológicos y agronómicos los mismos que deben ser complementados con marcadores poco o nada influenciados por el ambiente como son la electroforesis de isoenzimas y la Amplificación del ADN al Azar (RAPDs). Esto permitirá la detección de materiales promisorios y su posible uso en programas de fitomejoramiento.

La presente investigación tuvo como objetivos estudiar la diversidad genética de la jícama (*Polymnia sonchifolia* P&E) y miso (*Mirabilis expansa* R&P) conservadas *ex situ* en el Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos y Biotecnología del INIAP.

La jícama es cultivada en el Ecuador entre los 2 000 y 3 000 msnm. Sus raíces son consumidas en fresco. Un aspecto interesante de este cultivo es que el principal carbohidrato presente en las raíces es la fructuosa, lo que la convierte en una potencial fuente azucarera para diabéticos. Es una especie perenne y la primera cosecha se puede realizar a partir de los 8 meses. Sus rendimientos alcanzan hasta las 40 t/ha. El miso igualmente es cultivado por sus raíces, las cuales son consumidas cocidas. Tiene un alto potencial para la producción de almidón. Es una planta perenne y sus rendimientos alcanzan las 20 t/ha.

La presente investigación se basó en la caracterización morfológica y agronómica en el campo de 25 entradas de jícama y 11 entradas de miso. Para este fin se definieron 33 descriptores para jícama (25 morfológicos y 8 agronómicos) y 20 descriptores para miso (12 morfológicos y 8 agronómicos). Se realizaron análisis de correlación, medias, desviación estándar y grados de asociación entre accesiones para una determinada variable.

El análisis estadístico estuvo dirigido a formar grupos en base a las similitudes de las entradas de las dos especies, aplicando el análisis de agrupamiento o "Cluster Analysis". Se realizaron agrupamientos basados en características morfológicas y moleculares, para determinar relaciones entre morfotipos y genotipos.

Las 25 entradas de jícama fueron colectadas en 8 provincias de la Sierra. Los caracteres agronómicos permitieron definir entradas promisorias en base a rendimientos, tamaño y número de raíces/planta. Morfológicamente se definieron 3 grupos y 2 subgrupos dentro de la colección con diferencias en caracteres cuantitativos entre entradas. Básicamente estos morfotipos presentan diferencias en cuanto a las siguientes variables: hábito de crecimiento, color primario del tallo, grado de coloración rojiza en la planta, forma, base y ápice de la lámina, hábito de floración, color de las flores, y color primario y secundario de la pulpa.

La técnica de isoenzimas no es aplicable para esta especie ya que no permitió determinar diferencias genéticas evidenciando su bajo nivel de polimorfismo genético. Al contrario, los RAPDs permitieron encontrar variabilidad genética. Sin embargo, los índices de similitud

obtenidos fueron muy próximos entre entradas de un mismo grupo ya que se obtuvieron bandas polimórficas entre grupos y raramente dentro de grupos o exclusivas de una entrada.

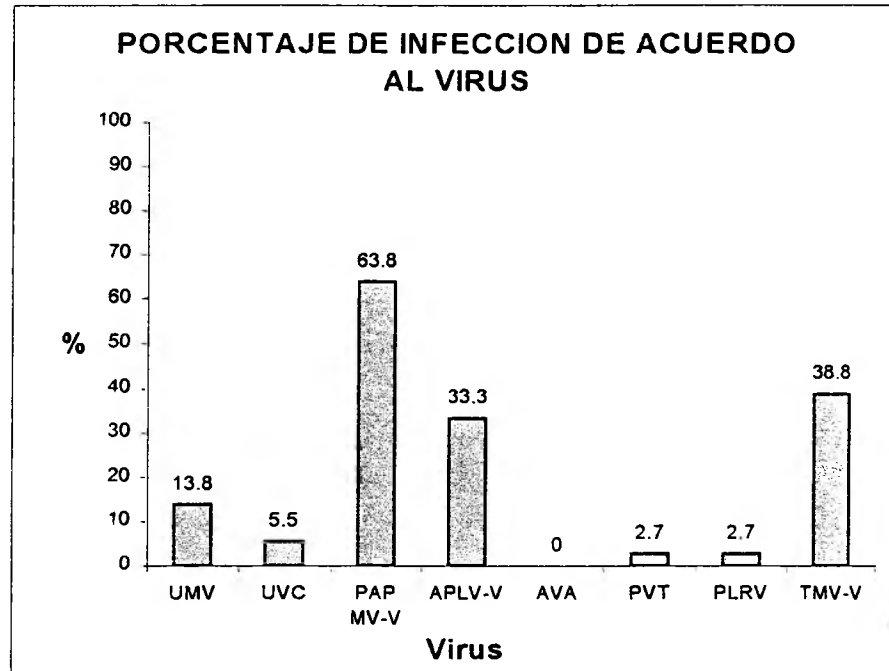
Al analizar los agrupamientos obtenidos, tanto a partir de datos morfológicos como moleculares, se encontró que existe correlación entre los fenogramas. Esto indica que las diferencias fenotípicas observadas en el campo, se tradujeron en diferencias genotípicas, y cuyas diferencias en caracteres cuantitativos, se deben a efectos del medio ambiente, calidad de semilla, manejo, etc.

En el caso del miso se estudiaron 11 entradas colectadas sólo en 2 provincias de la sierra y una entrada peruana. Igualmente se definieron entradas promisorias en función del rendimiento, número de raíces/planta y contenidos de almidón. Morfológicamente se definieron 2 grupos principales y 7 subtipos dentro de la colección. Básicamente estos morfotipos presentan diferencias en cuanto a las siguientes variables: hábito de crecimiento, color del tallo principal, color del haz y nervadura de la hoja y color de la flor, y varían en color de la epidermis y de la pulpa de las raíces entre accesiones.

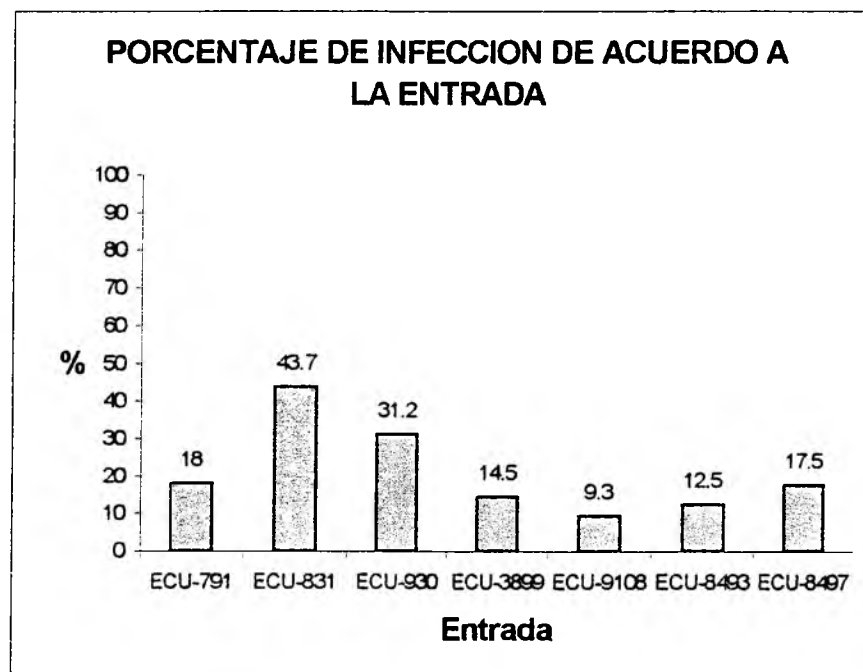
Las isoenzimas permitieron observar diferencias genéticas entre accesiones de miso, discriminando en general a la entrada peruana del resto. La técnica de RAPDs permitió analizar una mayor cantidad de polimorfismos. Sin embargo, el bajo número de fragmentos polimórficos en relación a la cantidad de partidores utilizados en la amplificación del ADN, nos indica que la variabilidad genética de este germoplasma es baja, seguramente debido a su restringida distribución geográfica.

Los fenogramas obtenidos a partir de datos morfológicos y moleculares, no presentaron coherencia. Esto hace suponer que los alelos muestreados vía PCR, no están relacionados a las variables morfológicas estudiadas.

Anexo 12. Porcentajes de infección detectados en 7 clones promisorios de melloco mediante ELISA de acuerdo al virus.



Anexo 13. Porcentajes de infección detectados en 7 clones promisorios de melloco mediante ELISA de acuerdo a la entrada.



Anexo 14. Lista de entradas promisorias de chocho (*Lupinus mutabilis*) estudiadas mediante RAPDs (ECUCOL, 1998).

Código Banco	Sp.	LOCALIDAD	OBSERVACIONES
677	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Loja, Célica	Grano café
692	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Riobamba	Grano blanco
696	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Riobamba	Grano blanco
701	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Imbabura, Ibarra	Grano blanco
703	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Pichincha, Mejía	Grano blanco
711	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Mantaro, E.E.Mantaro	Grano blanco
712	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Mantaro, E.E.Mantaro	Grano blanco
713	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Mantaro, E.E.Mantaro	Grano blanco
714	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Mantaro, E.E.Mantaro	Grano blanco
715	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Mantaro, E.E.Mantaro	Grano blanco
721	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Mantaro, E.E.Mantaro	Grano blanco
722	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Mantaro, E.E.Mantaro	Grano blanco
727	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Azuay, Sigsig	Sel. de ECU 706 (G.Blanco)
729	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Azuay, Sigsig	Sel. de ECU 708 (G.Marrón)
730	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Azuay, Sigsig	Sel. de ECU 710 (G.Blanco)
732	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Azuay, Sigsig	Sel. de ECU 712 (G.Blanco)
733	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Loja, Saraguro	Grano blanco
734	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Loja, Saraguro	Grano blanco
739	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Azuay, Sigsig	Grano blanco, mancha café
740	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Cuzco, Granja Kaira	Grano blanco
742	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Cuzco, Cuzco	Grano blanco
2651	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Riobamba	Grano blanco
2657	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Lima	Grano blanco
2658	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Lima	Grano blanco
2659	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Lima	Grano blanco
2663	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Lima	Grano crema aplanado
2670	<i>L. mutabilis</i>	Perú	Grano marrón
2677	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Riobamba	Grano blanco
2688	<i>L. mutabilis</i>	Bolivia, La Paz E.E. Belén	G. blanco con plomo y café
2690	<i>L. mutabilis</i>	Bolivia, La Paz E.E. Belén	Grano blanco pequeño
2699	<i>L. mutabilis</i>	Bolivia, UNTA	Grano blanco
2700	<i>L. mutabilis</i>	Bolivia, UNTA	Grano blanco
2710	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Centro Inv.C.Andinos	Grano blanco
2711	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Centro Inv.C.Andinos	Grano blanco
2712	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Centro Inv.C.Andinos	Grano blanco
2715	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Centro Inv.C.Andinos	Grano blanco grande
2716	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Centro Inv.C.Andinos	Grano blanco
2723	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Centro Inv.C.Andinos	Grano blanco. Mancha negra
2729	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Centro Inv.C.Andinos	Grano blanco con ceja negra
2737	<i>L. mutabilis</i>	Perú, Kaira, E.E. Mantaro	Grano blanco

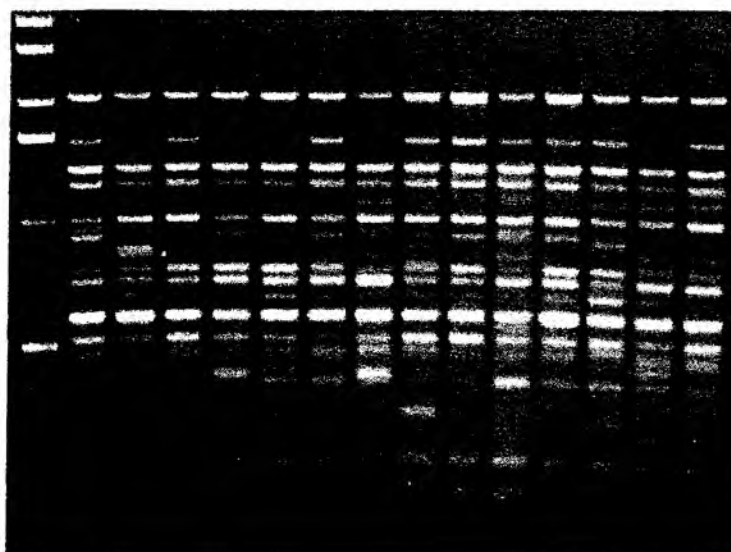
Anexo 14. Continuación....

Código Banco	Sp.	LOCALIDAD	OBSERVACIONES
2739	<i>L. mutabilis</i>	Perú, E.E. Mantaro	Grano blanco grande
2740	<i>L. mutabilis</i>	Perú, E.E. Mantaro	Grano blanco
2745	<i>L. sp</i>	Bolivia, Pairumani	Grano blanco
3048	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Pichincha	Grano blanco
3049	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Pichincha	Grano blanco
3050	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Pichincha	Grano blanco
3719	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Imbabura, Otavalo	
3755	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Pichincha, P Moncayo	
5936	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Pichincha, Mejía	Sel. ECU-644(Grano blanco)
6718	<i>L. mutabilis</i>	Colombia, Nariño, Ipiales	Grano blanco
7272	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Guamote	Grano blanco con ceja negra
7273	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Guamote	
7278	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Guamote	Condiciones desérticas
7279	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Guamote	G. blanco pequeño, heladas
7283	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Guamote	Grano con jaspes café-negro
7286	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Guamote	
7291	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Guamote	Grano con ceja negra
7293	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo, Guamote	Grano blanco
7294	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Cotopaxi, Salcedo	Grano blanco. Mancha cafe
7859	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Pichincha, P.Moncayo	
8415	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Cotopaxi, Salcedo	Grano blanco
CHIMB	<i>L. mutabilis</i>	ECU, Chimborazo	Grano blanco
SEG-22	<i>L. mutabilis</i>	Perú	Grano blanco con café
SLP-1	<i>L. mutabilis</i>	Perú	Grano blanco

Anexo 15. Partidores y sus respectivos productos polimórficos de amplificación obtenidos en 64 entradas promisorias de chocho (*Lupinus mutabilis*).

	Código Operon	Secuencia 5'-3'	Rango de Amplificación	No. fragmentos monomórfico	Tamaño estimado de polimórfismos (Kb)
1	A-19	CAAACGTCGG	7.1-3.0	9	6.2, 5.5, 5.2, 5.1, 4.0, 3.5
2	AA-07	GAAACGGGTG	8.1-4.0	4	7.2, 7.0, 6.9, 6.5, 6.4, 6.2, 5.4
3	AC-02	GTCGTCGTCT	9.0-5.0	6	6.9, 6.5, 6.3, 6.2, 5.8, 5.5, 5.0
4	AC-03	CACTGGCCCA	7.12-1.00	7	5.5, 5.3, 3.5
5	AC-11	CCTGGGTCAG	8.14-1.00	6	5.6, 5.0, 4.5, 4.2
6	AC-19	AGTCCGCCTG	8.14-0.5	10	6.5, 6.1, 6.0, 5.9, 5.8, 5.4, 5.3, 4.2, 3.9, 1.5, 0.7
7	AC-20	ACGGAAGTGG	8.14-0.5	9	5.5, 1.5
8	W-01	CTCAGTGTCC	8.14-1.0	2	5.6, 5.4, 5.3, 5.2, 1.0
9	W-03	GTCCGGAGTG	9.1-1.5	9	6.1, 5.7, 5.2, 5.1, 5.0
10	W-08	GACTGCCTCT	7.2-4.0	2	7.0, 5.8
11	W-19	CAAAGCGCTC	8.1-2.0	7	6.0, 5.8, 5.3, 5.0

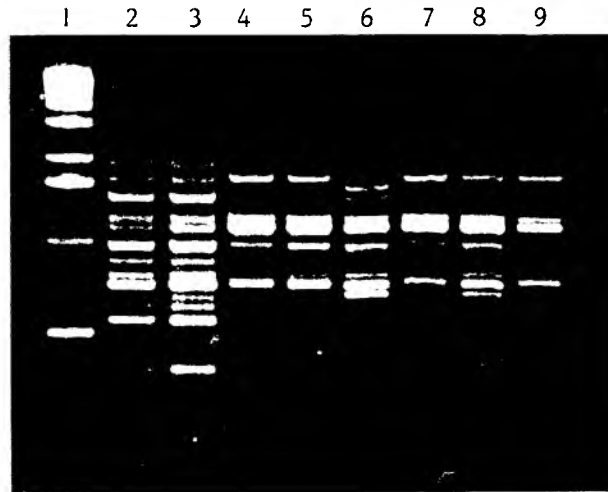
Anexo 16. Productos de amplificación obtenidos con el partidor AC-19 (5'-AGTCCGCCTG-3') en entradas de *Lupinus mutabilis* (INIAP, 1998).



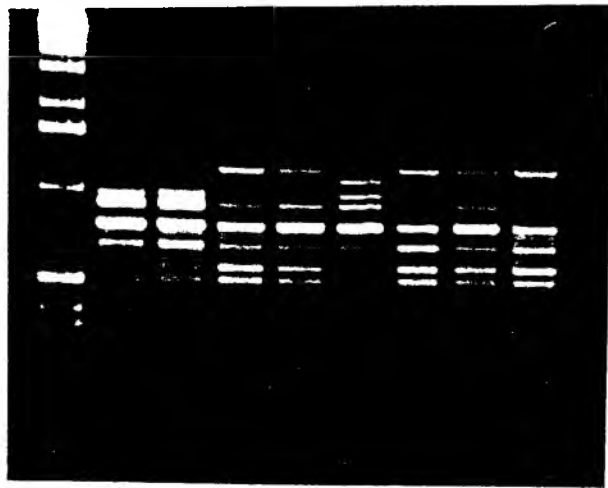
Anexo 17. Fenograma de 64 entradas promisorias de chocho (*Lupinus mutabilis*) en base a datos genotípicos obtenidos con la técnica RAPDs (UPGMA, $r=0.8$).



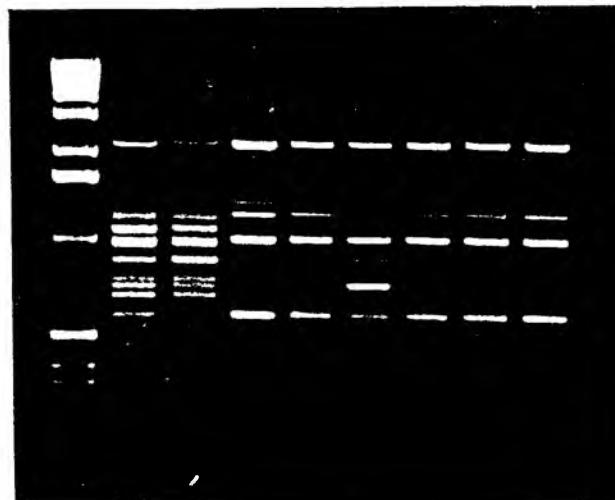
Anexo 18. Productos de amplificación observados para muestras de banano. Línea 1: Marcador 1 kb DNA standard, líneas 2-5: muestras William *in vitro*, línea 6: muestra FHIA-1, líneas 7,8: muestras FHIA-18 y línea 9: muestra William de invernadero.



5'-GTGATCGCAG-3'



5'-CAATCGCCGT-3'



5'-AGCCAGCGAA-3'

Anexo 19. Componentes del medio de tuberización para *Ullucus tuberosus*.

SIMBOLOGÍA	MEDIOS DE CULTIVO
Melloco	
Mm1*	MS + CCC 500 mg/l + BAP 20 mg/l + sucrosa 80 g/l
Mm2	MS + CCC 400 mg/l + Kinetina 10 mg/l + sucrosa 80 g/l
Mm3	White + CCC 50 mg/l + BAP 0,25 mg/l + sucrosa 80 g/l
Mm4	White + CCC 100 mg/l + Kinetina 0,25 mg/l + sucrosa 80 g/l
Mm5	MS + sucrosa 80 g/l

*Mm = Medios de melloco
 MS = Medio base Murashige y Skoog
 CCC = Cloruro de cloroclorina
 BAP = Benzil amino purina

Anexo 20. Componentes del medio de tuberización para *Oxalis tuberosa*.

SIMBOLOGÍA	MEDIOS DE CULTIVO
Oca	
Mo1*	MS + CCC 50 mg/l + BAP 0,25 mg/l + sucrosa 80 g/l
Mo2	MS + BAP 0,25 mg/l + sucrosa 80 g/l
Mo3	White + CCC 50 mg/l + BAP 0,25 mg/l + sucrosa 80 g/l
Mo4	White + BAP 0,25 mg/l + sucrosa 80 g/l
Mo5	MS + sucrosa 80 g/l

*Mo = Medio de Oca
 MS = Medio base Murashige y Skoog
 CCC = Cloruro de cloroclorina
 BAP = Benzil amino purina

Anexo 21. Análisis de Variancia Diseño completamente al azar en arreglo factorial para la variable porcentaje de tuberización en *Ullucus tuberosus* Cal.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Valor F	Probabilidad
Factor A	6	1,857	0,310	8,8876	0,0000**
Factor B	4	5,744	1,436	41,2366	0,0000**
AB	24	2,287	0,095	2,7370	0,0006**
Error	70	2,438	0,035		
Total	104	12,326			

Factor A = Entradas

Factor B = Medios

Ab = Interacción entrada x medio

Error = Error experimental

** = Altamente significativo

Índices Estadísticos:

Coefficiente de variación: 13,08%

Media general: 33,38%

Anexo 22. Prueba de Tukey al 5% para el factor entradas y medios de *Ullucus tuberosus* en la fase de tuberización *in vitro*.

PORCENTAJE DE TUBERIZACIÓN			PORCENTAJE DE TUBERIZACIÓN	
ENTRADA	PROMEDIO		MEDIO	PROMEDIO
ECU-790	47,88	A	Mm5	46,85 A
ECU-756	41,70	AB	Mm3	40,59 AB
ECU-3906	41,66	AB	Mm4	40,29 AB
ECU-896	31,38	AB	Mm2	28,53 B
ECU-893	26,61	BC	Mm1	10,64 C
ECU-856	27,58	BC		
ECU-2322	16,85	C		

ECU = Entrada

A,B,C = Rangos de significación

Mm = Medios de melloco

Anexo 23. Análisis de Variancia Diseño completamente al azar en arreglo factorial para la variable porcentaje de tuberización en *Oxalis tuberosa*.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Valor F	Probabilidad
Factor A	4	1,705	0,426	12,1714	<0,01**
Factor B	4	2,996	0,749	21,4000	<0,01**
AB	16	3,631	0,227	6,4857	<0,01**
Error	37	1,283	0,035		
Total	61	9,615			

Factor A = Entradas

Factor B = Medios

Ab = Interacción entrada x medio

Error = Error experimental

** = Altamente significativo

Índices Estadísticos:

Coeficiente de variación: 15,80%

Media general: 19,25%

Anexo 24. Prueba de Tukey al 5% para el factor entradas y medios de *Oxalis tuberosa* en la fase de tuberización *in vitro*.

PORCENTAJE DE TUBERIZACIÓN		PORCENTAJE DE TUBERIZACIÓN	
ENTRADA	PROMEDIO	MEDIO	PROMEDIO
ECU-959	24,66 A	Mo2	35,02 A
ECU-1076	23,16 A	Mo1	23,62 B
ECU-1011	22,10 AB	Mo5	13,93 C
ECU-958	13,64 BC	Mo3	12,22 C
ECU-1013	12,67 C	Mo4	11,45 C

ECU = Entrada

A,B,C = Rangos de significación

Mm = Medios de oca