

LA BIOTECNOLOGIA, CLAVE EN EL MEJORAMIENTO DE LA FRUTICULTURA

MARGARITA PEREA DALLOS

*Departamento de Biología - Facultad de Ciencias
Universidad Nacional de Colombia -Telefax: 571-3165069
e.mail: mapere@ibun.unal.co Bogotá, Colombia.*

INTRODUCCION

Colombia por su situación geográfica privilegiada posee diferentes climas, lo que determina la posibilidad de cultivar, establecer y desarrollar un gran número de especies y variedades frutícolas durante todo el año.

Independientemente de su lugar de origen las especies frutales se cultivan donde quiera que las condiciones de clima, suelo y humedad le sean favorables. El banano por ejemplo, procedente de Asia se cultiva muy bien en las regiones cálidas de Colombia y ocupa el tercer lugar de exportación en el mundo.

La necesidad de mejorar la calidad de las frutas en las regiones tropicales y el desarrollo de la industria frutícola de alta tecnología en el nuevo milenio, impone nuevas exigencias al fruticultor quien se ha visto obligado a mejorar sus cultivos.

En efecto, los avances recientes a través de la utilización de tecnologías modernas que incluyen el cultivo de tejidos vegetales y la manipulación genética, abren nuevas expectativas para el complemento de las técnicas convencionales de selección las cuales son consideradas como valiosas herramientas para el hallazgo de clones de interés en la agricultura (Perea, 2000).

La fruticultura es en la actualidad una importante actividad agrícola, la cual se desarrolla de manera progresiva y es considerada como la alternativa para la prosperidad de pequeños, medianos y grandes agricultores, situación que podría ubicarnos en un país exportador debido a la enorme variedad de las frutas tropicales y exóticas.

Las nuevas tecnologías están orientadas hacia la generación y validación de procesos con el propósito de mejorar la agricultura y obtener productos de excelente calidad con fines de exportación. Además, es necesario contribuir a mejorar los cultivos comerciales lo cual contribuye a una mejor estabilidad social.

SANIDAD VEGETAL

Las pérdidas en los cultivos de importancia económica como en el caso de bananos y plátanos son generados por microorganismos que causan enfermedades disminuyendo la producción de la fruta.

Los avances logrados mediante el empleo de los sistemas «in vitro» permite la obtención de plantas libres de patógenos y de mayor vigor. Con características superiores las cuales son aprovechadas para el establecimiento de nuevos cultivos.

Meristemos

Las enfermedades vírales generan un sinnúmero de obstáculos especialmente para los cultivos que se propagan vegetativamente con piña, pitahaya, bananos, caña de azúcar y algunas plantas bulbosas.

En estos cultivos los virus se transmiten de generación en generación, sin ser eliminados durante la producción de semillas.

Los estudios de las enfermedades vírales especialmente en lo referente a su naturaleza, modo de transmisión y la variedad de hospedantes, debe formar parte integral del control por medio del cultivo de meristemos. Su empleo es considerado como un sistema para la limpieza y saneamiento del material clonal, ha hecho que sea dentro del cultivo de tejidos una de las técnicas más importantes desde el punto de vista económico. (Roca y Jayasinghe, 1982).

Los estudios realizados por realizados por Limasset y Cornuet (1949) precisaron que la concentración de virus disminuye relativamente hacia el meristemo apical, desde entonces surgió la posibilidad de producir clones limpios a partir de plantas infectadas, esta técnica es sin lugar a duda uno de los aportes más significativos en la solución de los problemas agronómicos.

La necesidad de producir plantas libres de virus en frutales a través del cultivo de meristemos ha tenido bastante éxito, la tecnología ha mejorado considerablemente y se puede producir en un tiempo relativamente corto gran número de plantas.

Propagación Clonal

La propagación vegetativa de las plantas, supone desde el punto de vista evolutivo una fijación de la constitución genética favorable para la competitividad en un habitat natural o para un rendimiento superior.

El empleo de los métodos clásicos de propagación como es el caso de: semillas, esquejes, estacas, estolones, injertos, rizomas y otros, generalmente son insuficientes para las necesidades (demasiados lentos, difíciles y costosos) y en ocasiones son completamente inviables. De otra parte se hace necesario producir plantas libres de patógenos para el establecimiento de cultivos de importancia económica y lograr una mejor y mayor calidad de fruta.

La necesidad de producir plantas libres de patógenos a través de cultivo de meristemos y el desarrollo de los sistemas actuales de propagación masiva han tomado enorme importancia en algunos cultivos de interés en la economía colombiana como es el caso de flores, tuberosas plantas aromáticas y recientemente forestales.

En Colombia con el desarrollo de la industria frutícola se ha visto la necesidad de desarrollar metodologías que permitan la obtención de plantas sanas y el empleo casi exclusivo de

la propagación clonal en la mayoría de los cultivos cuya necesidad de multiplicación vegetativa se realizaba por la vías convencionales.

La proliferación de brotes consiste en la fragmentación de ápices y yemas axilares, los cuales son manipulados en condiciones asépticas y transferidos al medio de cultivo para ser desarrollados en condiciones apropiadas.

Esta metodología permite el incremento de las plantas genéticamente idénticas en donde la posibilidad de límite de producción es considerablemente más elevado que por los métodos convencionales (Perea y Constabel, 1996).

¿Por qué utilizar, los sistemas de propagación clonal?

Debido a que estas tecnologías presentan ventajas importantes en relación a los sistemas convencionales de propagación es necesario considerar:

- Incremento acelerado del número de plantas derivadas por genotipo.
- Posibilidad de multiplicar rápidamente una variedad de la cual solo existen pocos individuos.
- Posibilidad de generar grandes cantidades de plantas en una superficie reducida con bajos costos y en tiempos económicamente estables.
- Mejor control del material en estudio.
- Reducción del tiempo de la multiplicación.
- Fácil transporte del material «in vitro» a diferentes lugares (regiones, países, continentes) con menos restricciones aduaneras.

ESTRATEGIAS PARA EL MEJORAMIENTO DE PLANTAS

Se considera clave para los programas de fitomejoramiento la ampliación de la variabilidad genética, la cual constituye la base en todos los sistemas para mejorar las plantas que al complementarse con los métodos tradicionales de fitotecnia se pueden obtener variaciones con características realmente novedosas (Perea, 1997).

Las condiciones ambientales por medio de presiones de selección natural influyen en buena parte a fomentar las frecuencias de las mutaciones naturales, las cuales son de carácter espontáneo. La similitud de las variaciones naturales y somaclonales sugieren que existen mecanismos similares que operan en los cambios genómicos en ambos casos y la evolución natural. (Waltob y Cultis, 1985).

Las modificaciones en las plantas generadas a partir de células y tejidos constituyen un fenómeno de interés en el mejoramiento genético conocido como variación somaclonal. Los estudios realizados por Larkin y Scowcroft (1981) demostraron que la presencia de cambios epigenéticos (variación temporal) o variaciones genéticas (cambios heredables) se presentan de manera espontánea.

Tenemos entonces que la manipulación de las Biotecnologías combinadas con los programas de mejoramiento, ofrece la posibilidad de resolver los problemas que se presentan en algunos frutales.

Stavareck y Rains (1984) revelan la importancia de ampliar la variabilidad genética intervarietal mediante la combinación de mutaciones y la regeneración «in vitro» de mutantes, para obtener variedades mejoradas en las cuales se evidencia la producción y calidad en cuanto a vigor de la planta y preferiblemente a la resistencia de plagas y enfermedades.

Estos resultados podrían disminuir el uso de agroquímicos en los cultivos y así lograr el mejoramiento de las condiciones ambientales. Existen otros aspectos de gran importancia que en el transcurso de los últimos años presentan un enorme potencial en el mejoramiento de plantas de interés agronómico y se conoce como Ingeniería Genética o Tecnología del ADN recombinante. Otro sistema estudiado ha sido la utilización del **Agrobacterium tumefaciens**, la bacteria que produce tumores en los vegetales, esta bacteria tiene la particularidad de presentar en el interior de la célula un pequeñísimo fragmento circular de ADN, conocido como Plásmido Inductor de Tumor (plásmido Ti).

La disponibilidad de sistemas eficientes en el mejoramiento de plantas de importancia económica ha sido enfocada al control de enfermedades, malezas e insectos. En los últimos años se ha presentado un rápido avance en la introducción de genes que confieren características específicas.

LA BIOTECNOLOGÍA EN LAS FRUTAS TROPICALES

La mayoría de las especies de frutales presentan algunos problemas de patógenos que inciden en la producción de la fruta. Los avances de las tecnologías «in vitro» permiten la utilización del cultivo de meristemas, el cual se ha convertido en una técnica eficiente que nos demuestra fácilmente sus ventajas sanitarias. Este método está siendo aplicado en numerosos países y ha tomado gran expansión; desde entonces asistimos a una verdadera revolución en la agricultura moderna.

Entre los muchos frutales en los que se utilizan actualmente los sistemas «in vitro», vale la pena mencionar el caso de las Musáceas (*Musa spp*), bananos y plátanos; piña (*Ananas comosus*), pitahaya (*Cereus triangularis* Haw) uchuva (*Physalis peruviana* L) maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*), granadilla (*Passiflora ligularis* Jussieu), curuba (*Passiflora mollisina* Bailey), Feijoa (*Acca sellowiana*), mora de castilla (*Rubus glauca* L) Kiwi (*Actinidia chinensis* Planchon) fresa, (*Fragaria vespa* L), Agraz (*Vaccinium meridionale* sw).

Bananos y Plátanos (*Musa spp*)

Los ancestros silvestres del plátano aun se encuentran en las selvas de Malasia. Las semillas diploides de varias subespecies de *Musa acuminata* aun permanecen. Más tarde los habitantes Asiáticos descubrieron que la utilidad que la utilidad en la alimentación y su multiplicación se realizó por hijuelos durante milenios.

Estas plantas fueron llevadas luego a regiones monzónicas más secas de donde es originaria *Musa balbisiana*. Las dos especies se cruzaron y surgieron los grupos de genomas AB, AAB y ABB, dando origen a los plátanos de cocción.

Posteriormente estas especies se conocieron en Africa occidental luego fueron introducidos en el hemisferio occidental, actualmente el cultivo de bananos y plátanos en América latina es uno de los renglones más promisorios de exportación, Colombia ocupa el tercer lugar a nivel mundial.

Si la incidencia de virus en Musaceas, sus estudios han mejorado notablemente y los conocimientos de estos patógenos permiten conocer la importancia sobre la biología del patógeno y su competencia en el desarrollo de la planta.

El virus del mosaico del cohombro (C. M. V.), presente en Colombia, el virus del rayado del banano (B. S. V.) detectado hace algún tiempo en la Zona Cafetera y el virus de la Bractea del Banano (B. BR. M. V.) han sido reportado recientemente por Belalcazar y Reichel (1998).

El virus de la Abaca (A. M. V.) y el virus del Bunchy Top no presentes en América, son considerados de repercusiones catastróficas como ha sucedido en algunos países de Asia y Africa (Drew et al, 1989).

Existen otros patógenos como es el caso de los hongos que afectan severamente las musaceas como *Mycosphaerella fijiensis* var, *difformis* que causa la sigatoka negra, *Mycosphaerella musicola* que produce la enfermedad conocida como sigatoka amarilla las cuales existen en Colombia. También es conocida el mal de Panamá causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* que devastó en 1926 los cultivos de Gross Michel en América Central y el Moko, enfermedad bacterial causada por *Pseudomonas solanacearum*. La mayoría de los clones son susceptibles a estas enfermedades así como también a los nemátodos los cuales causan serias pérdidas en la producción de la fruta.

Desde luego este proceso de multiplicación en el caso de enfermedades vírales presenta más de un problema; por ejemplo el virus del mosaico del cohombro (C M V) puede ser eliminado pero no existen evidencias que con otros virus el material obtenido esté exento de ellos, por consiguiente se necesitan más investigaciones en esta área (Krikorian y Cronauer, (1984).

Pitahaya (*Cereus triangularis* Haw)

La pitahaya es en la actualidad el cultivo tropical más importante dentro de las especies de frutales exóticas. Su agradable sabor, aroma y suave textura hacen de esta fruta una de las favoritas y con enorme potencial de exportación. El origen de la pitahaya no es muy bien conocido, algunos autores la remontan a la Zona Norte del Brasil y el Sur de Colombia.

Se conocen dos especies de pitahaya la amarilla y la roja, sin embargo existen otras pitahayas cuyos tallos son de cuatro y cinco aristas sobre las cuales se conoce muy poco. Hasta el momento no existen estudios taxonómicos que permitan establecer las diferencias y definir las variedades. La pitahaya, puede ser propagada por semilla sexual y/o asexual es decir vegetativamente por estacas de tallos o ramas como comúnmente se denomina.

La semilla tiene un buen poder germinativo, sin embargo, no es recomendable este tipo de propagación debido a que las plantas así obtenidas tienden a presentar variaciones genéticas

y su producción se efectúa alrededor de los siete años. (Carranza, 1994). Por lo tanto es importante que el material con el cual se establecen cultivos comerciales sea seleccionado y esté completamente sano, para lograr una buena producción y excelente calidad de frutos. La tecnología generada en los cultivos de pitahaya merece especial atención por ser limitante en la producción de la fruta debido a que se han reportado algunos casos de severidad relacionados con problemas fungosos como el *Fusarium* sp y *Colletotrichum* sp. Adicionalmente el complejo fungo-bacterial *Colletotrichum* sp-*Erwinia* sp se presenta comúnmente como pudrición anaranjada del tallo observándose manchas circulares las cuales pueden invadir completamente los tallos.

La incidencia de virus no se descarta, pues los síntomas presagian la presencia de estos patógenos. Es entonces en donde el empleo del cultivo de meristemas permite proveerse fácilmente de material sano y que exteriorice fielmente las características de la variedad. En el caso específico de la pitahaya por pertenecer al grupo de las Cactaceas, el meristemo se encuentra ubicado en los vértices de los tallos carnosos rodeado de espinas punzantes largas o cortas según la especie, estas estructuras pueden generar plantas completas que posteriormente deben ser indexadas para verificar su sanidad.

Existen la certeza de obtener plantas de pitahaya uniformes y de gran vigor debido a que cada una de ellas provienen del tejido meristemático. Estas tecnologías han sido establecidas para la pitahaya amarilla.

Las plántulas de pitahaya obtenidas mediante el cultivo de meristemas y la propagación clonal pueden ser susceptibles a nuevas reinfecciones por lo cual es necesario considerar un programa de mejoramiento genético a través de la Biotecnología que en asocio con los sistemas convencionales de mejoramiento, ofrecen la posibilidad de resolver los problemas que se presentan con estas cactaceas.

Piña (*Ananas comosus* L. Merr)

La piña pertenece a la familia bromeliaceae un grupo muy grande de las regiones de América, solo una especie es originaria de África. Es una planta herbácea perenne y monocárpica la cual se propaga vegetativamente y en forma natural presentando un porcentaje de multiplicación muy lento.

Ananas comosus L. Merr incluye los cultivares que se clasifican en cinco grupos: Cayenne, Queen, Spanish, Brazilian y Maipure, siendo la más comúnmente cultivada la cayena lisa.

Anteriormente se creía que los indios Tupí-Guaraní, de la región donde actualmente confluyen las fronteras de Brasil, Argentina y Paraguay habían domesticado la piña (Collins, 1960). Ciertamente, diversas especies de *Ananas* y géneros relacionados se han encontrado allí, creciendo en forma silvestre, sin embargo Sanson (1991) es de la opinión de que lo que él llama *Ananas sativus* var. *Cayenne*, se originó en las montañas de Guayana.

La gran preocupación de los piñicultores ha sido la de proveerse fácilmente de un material de propagación que represente la fidelidad de los parentales debido a que hoy en día ha

adquirido una gran importancia comercial a nivel mundial por la demanda de sus frutos. Lo cual ha llevado a la búsqueda de nuevos métodos de propagación que permitan acelerar la producción de propágulos para la siembra en campo. Py (1979) recomienda varias metodologías entre las cuales señala los cultivos «in vitro» de yemas axilares, método que permite mejorar sustancialmente el proceso de multiplicación.

Para la iniciación de los cultivos «in vitro» de la piña se hace necesario el rompimiento de la dormancia de las yemas central y axilares hecho que se ve favorecido por la presencia de giberelinas.

Uno de los mayores riesgos de la micropropagación es la posibilidad de propagar enfermedades de tipo vascular o sistémico (virus y viroides) si el propágulo inicial está contaminado; para obviarlo es necesario realizar el cultivo de meristemas. En el caso de la piña en que ya se han detectado algunos virus y atacan severamente los cultivos, se hace necesario el empleo de los cultivos «in vitro» permiten la obtención de plantas sanas.

Los procesos de multiplicación responden eficientemente con el uso de citoquininas logrando obtener de 15-20 propágulos por explante.

Una característica importante de esta especie es que durante el proceso de enraizamiento de los brotes, la transferencia «in vitro» a un sustrato inerte (perlita o vermiculita) para promover desarrollo de las raíces. De esta manera se reducen el tiempo y los costos en los procesos de micropropagación.

En los programas de mejoramiento genético de la piña, especie que se propaga vegetativamente, el empleo de las mutaciones inducidas, es uno de los requisitos para ampliar la variación genética. Este proceso es considerado como un método rápido, económico y competitivo para mejorar un genotipo establecido alterando uno o varios rasgos sin detrimento del cultivar parental en la mayoría de sus características.

Maracuyá: (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Deg.)

Es una fruta muy apetecida en el mercado nacional y de gran aceptación en el exterior. Su importancia como fruta exótica se manifiesta por su sabor intenso, alta acidez, agradable aroma y elevado contenido de vitamina C (Rios Castaño y Salazar, 1980).

Además la pulpa presenta especial interés para la elaboración de esencias y perfumes. Los metabolitos secundarios son otra fuente de interés farmacológico: como es el caso de alcaloides indólicos.

El establecimiento de cultivos comerciales en el Valle del Cauca se han visto afectados por algunos virus los cuales han generado disminución en la producción de la fruta. La sintomatología que presentan las plantas afectadas por estos patógenos son del tipo Potyvirus, tymovirus y posiblemente clostevirus los cuales constituyen un complejo viral. (Varón, et al, 1992).

Para regeneración de plantas se utilizaron diferentes explantes de especies de *Passifloras* (*P. edulis* var. *flavicarpa*, *P. mollisima*, *P. ligularis*), estos trabajos hacen parte de las investigaciones

relacionadas con los estudios para demostrar la capacidad intrínseca del crecimiento organizado. De otra parte, los procesos relacionados con el cultivo de meristemas, morfogénesis y regeneración de plantas de *Passiflora* generan un aporte para obtención de plantas sanas, uniformes y de gran vigor.

Recientemente (Rivera, 1997) estableció los protocolos para el aislamiento y cultivo de protoplastos mediante la embriogénesis somática. Este proceso permite la obtención de híbridos somáticos y facilita la transferencia de características agronómicas deseables de las especies silvestres a las especies cultivadas para el mejoramiento genético.

Estas metodologías relacionadas con el aislamiento y cultivo de protoplastos en maracuyá sirven como modelo en programas de mejoramiento en otras *Passifloras*.

BIBLIOGRAFIA

- Belalcazar, S. y H. Reichel, R. Perez, G. Múnera y E. Arevalo 1998. Enfermedades virales afectando cultivos de plátano y banano (*Musa spp*) en Colombia (160-167) EN: Seminario Internacional sobre producción de plátano. Armenia- Quinio. Mayo 4-8, 1998.
- Carranza, E. 1994. El cultivo de la pitaya EN: Nuestra Tierra. Vol. 2 No.8.
- Collins, J.L. 1960. The pineapple, Leonard Hill, Londres.
- Cronauer, S.S. y A.D. Krikorian. 1984. Multiplication of *Musa* from excised stem tips. *Annals of Botany* 53: 321-328.
- Drew, R. A., J. A. Moisaner and M. K. Smith 1989. The transmisión of banana Bunchy Top virus in micropagated banana, IN: *Plant Cell, Tissue and Organ*. Vol. 16 No.3 (186-193).
- Gupta, P.P. 1986. Erradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of bananas and plantains through meristem tip culture. IN: *Plant Cell Tissue and Organ. Culture*. Vol. 6, No. 1; 33-39.
- Larkin, P. J. and Scowcroft, W. R. 1981, Somaclonal variation: A novel source of variability from cell culture for plant improvement. *Theo. Appl. Gen.* 60: 197-214.
- Limasset, P. et P. Cornuet 1994. Recherche du virus de la mosaïque du tabac (Marmor tabac Holmes) dans les meristemes des plantes infectées. *C. R. Acad. Sci. Paris*. 228: 1971-1972.
- Novak, F.J., et al. 1986. Potencial of banana and plantain improvement through in vitro mutation breeding. P. 67-70. EN: Galindo, J.; Jaramillo, R. *Memorias Reunión ACORBAT (7: San José, C.R.)*. Turrialba: CATIE, 1.987. 504 p.
- Perea Dallos, M y C. Constabel. 1996. Estratégias para el mejoramiento del banano y plátano *Revista Augura*. Edición 1, Año 19 (40-47) Medellín.
- Perea - Dallos, M. 2000 Proyecciones de una nueva agricultura. *Revista BM Biomagazín*, Bogotá (51-54).
- Py, C. y Tisseau, M. A. 1979. *L' Ananas*. Maison neuve et larose. France.
- Rios - Castaño, D y Salazar R. 1980. *Passifloras* EN: *Frutales: Manual de asistencia técnica* No. 4, Instituto Colombiano Agropecuario-ICA Segunda Edición. Tomo II 365 - 395.

- Rivera, R.R. 1997. Aislamiento y cultivo de protoplastos y embriogénesis Somática «in vitro» en *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*, Degener Tesis Biología - Universidad Nacional de Colombia - Bogotá.
- Roca, W. M. y Jayasinghe 1982. El cultivo de meristemas para el saneamiento de clones de yuca. Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. Palmira- Colombia 45 pp.
- Sanson, J. A. 1991 - *Fruticultura Tropical* 393 p. - Editorial Limusa, México. Perea Dallos, M. 2000
- Stavareck, C. and Rains. 1986. Studies on plant regeneration of some herbaceous plants. *Plant Cell, Organ and Tissue Culture* 89: 6-18 Kluwer Academic Publishers. Dordrecht - Holland.
- Varón, F., C. Castaño, J. Arroyave, C. Villaume y F. Morales. 1992. Complejo Viral que afecta plantaciones de maracuyá en el Valle del Cauca. *Fruits* 47:321-329.
- Waltob, V. and C. A. Cultis. 1995, Rapid genomic change in higher plants, *Ann. Rev. Plants Physiology*. 36: 367-396.