

10492  
2 cop.

CONTENIDO

|  | Pág. |
|--|------|
| INTRODUCCION   |      |
| 1. JUSTIFICACION                                       | 7    |
| 2. ESTRATEGIAS DE TRABAJO                              | 9    |
| 2.1 generales  | 9    |
| 2.2 Específicas  | 11   |
| 3. PROPUESTA   | 13   |
| 3.1 Objetivos  | 13   |
| 3.2 Metodología de Trabajo                             | 13   |
| 3.3 Area de Estudio                                    | 15   |
| 3.3.1 Nivel Celular                                    | 15   |
| 3.3.2 Nivel Molecular                                  | 16   |
| 3.3.3 Nivel Citogenética y Genética                    | 16   |
| 3.3.4 Nivel Bioquímica                                 | 16   |
| 3.4 Proyectos de Investigación                         | 17   |
| 3.4.2 Proyectos a Implementar en la Fase 3.            | 19   |
| 3.5 Recursos Humanos                                   | 19   |
| 3.5.1 Módulo Inicial                                   | 19   |
| 3.5.2 Módulo Secundario                                | 20   |
| 3.6 Recursos Físicos                                   | 20   |
| 3.6.1 Módulo Inicial para Ejecución de las Fases 1 y 2 | 20   |
| 3.6.2 Módulo Secundario para Realizar Fase 3.          | 21   |
| 3.7 Ubicación Física                                   | 23   |
| 3.8 Intercambio Científico                             | 23   |
| 3.9 Capacitación del Personal Científico               | 24   |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS                             | 26   |

ANALIZADO - Ref. 17 280

## CÓNTENIDO DE FIGURAS Y TABLAS

|   | Pág. |
|---|------|
| Figura 1. ADN Recombinante  | 4    |
| Figura 2. Fusión de Protoplastos  | 5    |
| Figura 3. Transferencia de Genes  | 6    |
| Tabla 1. Especialización a nivel de Ms. y Ph.D.<br>Requerida por Disciplina y Nivel de<br>Investigación para fortalecimiento de<br>la investigación en Biotecnología, área<br>agrícola. | 25   |
| Anexos  |      |

SECRETARÍA DE AGRICULTURA  
Y PESQUERA  
INSTITUTO NACIONAL DE BIODIVERSIDAD  
Y AGROPECUARIO

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mis sinceros agradecimientos a todas las personas que, en una u otra forma, enriquecieron este documento, principalmente a los doctores: Juan Jaramillo y Paulina Martínez por sus valiosos comentarios y corrección del trabajo inicial.

Así mismo quiero destacar y agradecer la colaboración de la señorita Cecilia Rodríguez en la mecanografía del mismo.

## PROLOGO

Este documento ha sido enriquecido con el aporte técnico-científico logrado durante la participación de :

- Comité Nacional de Biotecnología Colombiana, presidido por COLCIENCIAS.
- First Workshop on Biotechnology Research Network, auspiciado por el CIAT en 1988.
- Segundo Congreso Latinoamericano de Biotecnología auspiciado por la CAF en 1988.
- Dra. Lynsey Withers, Biotechnology Research Unit. IBPG 1989.
- Dr. Oluf Gambor, Associate Director of PTCAP of Colorado State University.
- Dr. Charles C. Nibblet Faculty Member of Plant Pathology University of Florida.
- Dra. Becky Johnson. Botany Department. OSU. 1988.
- Segunda Reunión PROCADI 1988.

## INTRODUCCION

Las nuevas técnicas de manipulación celular y molecular conocidas como Biotecnología, se han convertido en un instrumento científico poderoso para estudios básicos y aplicados en biología vegetal.

En los últimos 10 años estas técnicas han encontrado una amplia aplicación, a nivel comercial, en la micropropagación de plantas principalmente hortícolas y frutales, y en la eliminación o limpieza de patógenos especialmente vasculares. El interés en Biotecnología y los potenciales de aplicación práctica en mejoramiento de plantas son universales. Se calcula que el mercado mundial de productos biotecnológicos pasará de los 47 millones de dólares en 1980 a 65.000 millones de dólares en el año 2.000. Por estas razones la Organización Internacional de Investigación Celular de la UNESCO (ICRO) ha designado la transferencia y educación en esta área como una de sus grandes prioridades.

Con el aumento de la población mundial, la continua pérdida del área agrícola cultivable causada por múltiples aspectos como: la urbanización de suelos aptos, la inseguridad rural y la falta de política de estímulo a la inversión en el campo, se están haciendo indispensables nuevas tecnologías que sean una alternativa coherente, oportuna y económica para solucionar estas limitaciones. Dentro de este proceso, el campo de la Biotecnología presenta una indudable ventaja comparativa para aplicarla no solo en países desarro-

llados, sino en países en vía de desarrollo como Colombia.

Específicamente en el sector agropecuario del país es imperioso el diseño de una estrategia económica en la cual se presenten tasas de crecimiento alcanzadas en la década del 70 para que el sector agropecuario retome su dinamismo. Dentro de esta logística de desarrollo, el impulso de la agroindustria y de la producción agropecuaria, con énfasis en la exportación, aparecen como los pilares más sobresalientes.

Dentro de este contexto la Biotecnología, área del conocimiento con el más activo y prometedor crecimiento, aparece como eje fundamental e insustituible en cualquier modelo de desarrollo agropecuario en donde se busque una maximización de la productividad, con una reducción apreciable de los costos y del riesgo del empresario agropecuario.

Para estar en concordancia con la terminología científica mundial, definiremos Biotecnología como la aplicación de los principios científicos de la biología celular y molecular, y de las técnicas de ADN recombinantes, manipulación genética de microorganismos e insectos benéficos y perjudiciales y transferencia de genes, para la elaboración de materiales vegetales mejorados y agentes biológicos que se ajusten a las necesidades del país.

Independiente de la definición que se elija, la Biotecnología, actualmente, implica el trabajo integrado interdisciplinario de áreas como la biología, química, bioquímica, genética, citogenética y microbiología.

A pesar de que el término Biotecnología, desde el punto de vista etimológico (estudio de las técnicas de manejo de los

seres vivientes), puede llegar a cubrir gran parte, si no la totalidad de la investigación aplicada al sector agropecuario, se puede afirmar que se fundamenta en dos grandes áreas de la ciencia biológica: la biología celular y la molecular. El conocimiento biológico molecular recientemente ha logrado avances que permiten purificar, caracterizar y sintetizar porciones del ADN lo cual hace posible la modificación genética dirigida a plantas. Este proceso se conoce como Ingeniería Genética. ( Figuras 1,2,3).

El impacto de la Biotecnología, específicamente en el cultivo de tejidos aplicado a resolver problemas en la agricultura colombiana, es muy importante teniendo en cuenta que el porcentaje más alto del producto nacional bruto del país es aportado por el sector agropecuario.

El país debe hacer uso de la Biotecnología, racionalizando su estructura física y técnica para dar oportuna respuesta a los problemas limitantes de la producción agropecuaria, tomando y adaptando las técnicas generadas en los países desarrollados. El ICA debe estar preparado para entrar y no quedar relegado en esta era tecnológica; quizás, en estos momentos, todavía estamos en posibilidad de enfatizar nuestra investigación fundamental con aplicaciones a corto y mediano plazo y no continuar en investigaciones netamente adaptativas en las cuales el enfoque principal es encontrar cuales productos generados en países desarrollados tienen ventajas comparativas para poder ser usados localmente.

Este documento tiene por objeto presentar una propuesta de unificación de las actividades en el campo de la Biotecnología agrícola; para ello se planteará la justificación de la propuesta, se formularán los objetivos generales y específicos y las estrategias para alcanzarlos en corto y mediano plazo.

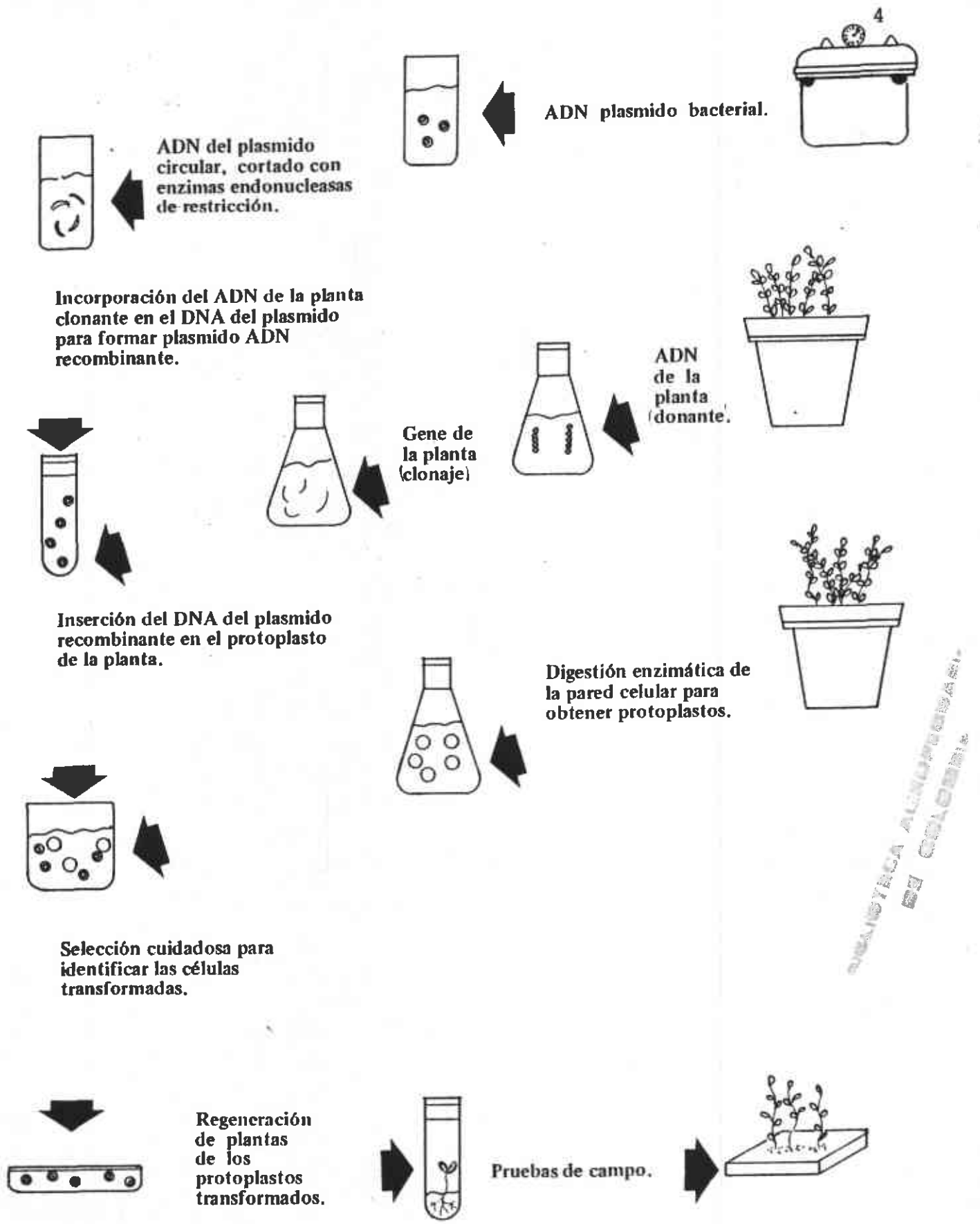


Figura 1. ADN Recombinante.

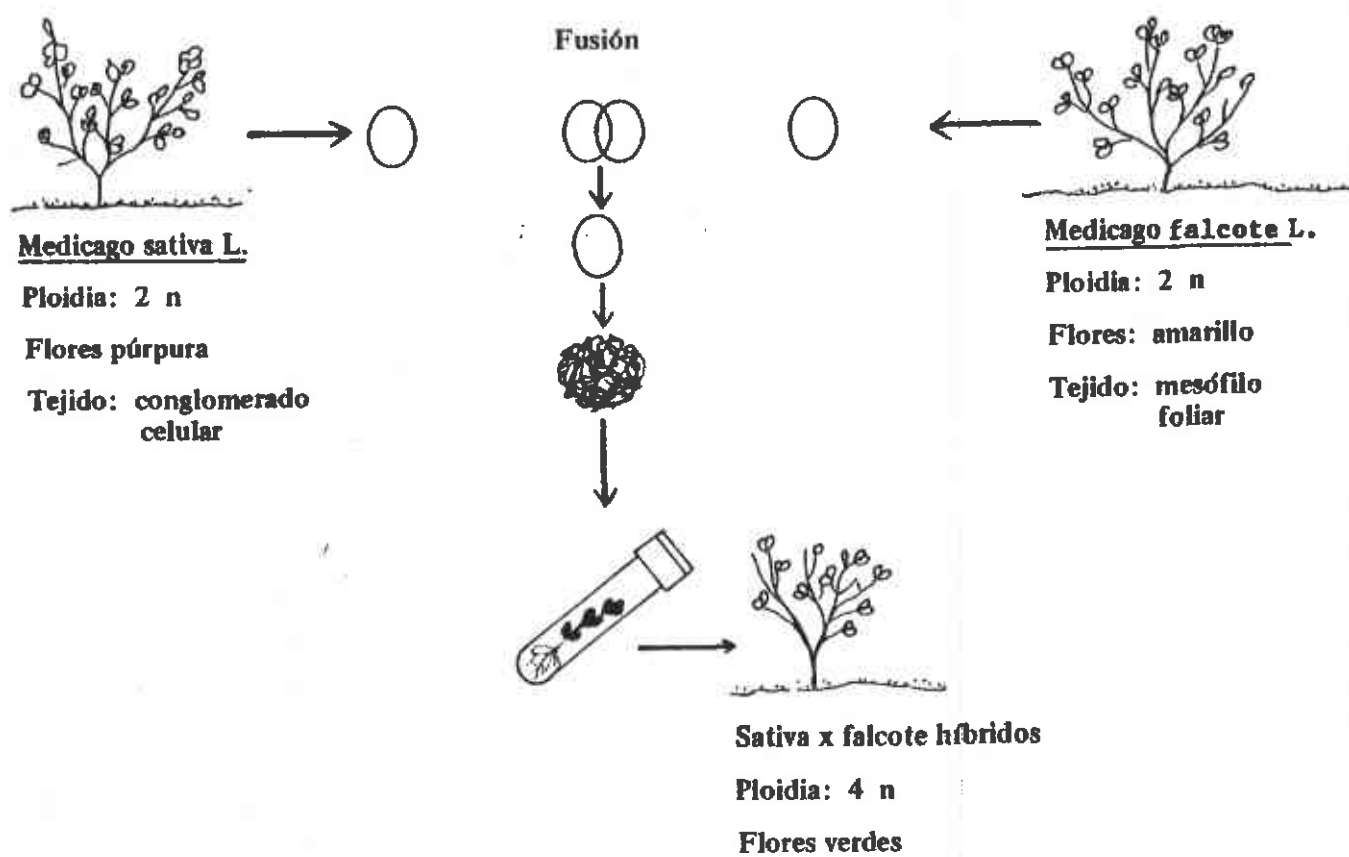


Figura 2. Fusión de Protoplastos

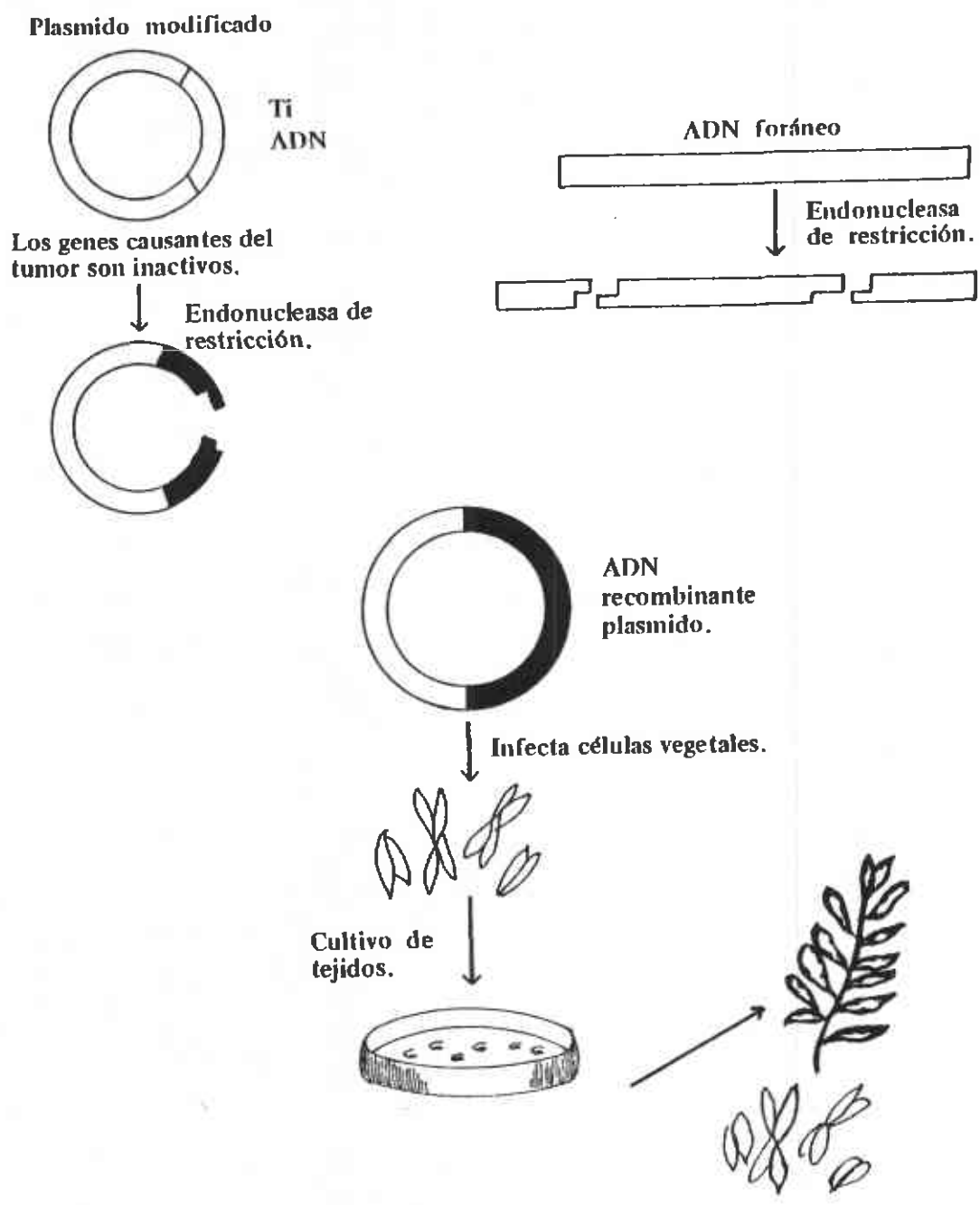


Figura 3. Transferencia de Genes

## 1. JUSTIFICACION

Una de las áreas de investigación más importantes para el futuro de las ciencias agrícolas es la Biotecnología. Algunas técnicas de esta dinámica disciplina han venido aplicándose, desde hace más de dos décadas, en muchos cultivos comerciales de los países desarrollados. De esta forma, mediante el cultivo de anteras y polen, se han producido líneas haploides y subsecuentemente variedades de arroz, batata y trigo en Rusia y China, principalmente. También se ha acelerado la producción de líneas de arroz resistentes a salinidad, y de papa resistentes a Phytophthora infestans.

En la especies de forestales y frutales, principalmente, se ha venido utilizando el cultivo de tejidos para micropropagar cantidad de individuos con resultados miles de veces superiores a los obtenidos por las vías tradicionales, con el consecuente ahorro de tiempo, espacio, dinero y esfuerzo.

Dentro de la interrelación científica la conservación e intercambio de germoplasma in vitro, en espacios muy reducidos y disminuyendo o evitando los riesgos de pérdidas por contaminación y por factores ambientales es una práctica que será de obligatorio cumplimiento en los próximos años.

En el proceso de obtención de plantas sanas, por cultivo de tejidos, a partir de material infectado especialmente de áreas meristemáticas, es factible erradicar la mayoría de los patógenos. Los de mayor justificación son los que

ESTADÍSTICA AGRICOLA  
EN COSTA RICA

producen enfermedades vasculares, por la dificultad para erradicarlos por otros sistemas. Estos patógenos son los virus, viroides, mycoplasmas, rickettsias y algunos hongos y bacterias.

Por los factores destacados previamente, y desde los puntos de vista económico y científico, es altamente prioritario que el ICA, acorde con estas nuevas tendencias científicas en el mundo, cree una dependencia que impulse, unifique adapte y genere tecnología en este campo.

## 2. ESTRATEGIAS DE TRABAJO

### 2.1 GENERALES

La estrategia y el enfoque de la investigación en Biotecnología en el ICA deben ser considerados como un instrumento de investigación y no como el objetivo de investigación en sí mismo. Esto es, los proyectos de investigación en Biotecnología deben responder a las necesidades de los programas de cultivo y no adelantar investigaciones de tipo básico per se. Como se anotó anteriormente, una amplia gama de técnicas están disponibles para responder a los problemas de fitomejoramiento, genética, fitopatología, conservación e intercambio de germoplasma in vitro.

Muchas veces se destaca como desventajoso el hecho de que en el país todos los adelantos e iniciativas científicas tienen la tendencia de llegarnos con bastante retraso, pero en este caso particular es ventajoso. En los años 60, cuando se incrementó el "Boom" por la Biotecnología, se pensó que los fitomejoradores tradicionales estaban en vísperas de ser eliminados de los programas de mejoramiento, pues todos los materiales mejorados se iban a crear en el laboratorio y que esta nueva tecnología iba a desplazar el sistema tradicional. Ahora existe el consenso mundial que, para obtener resultados eficaces este instrumento debe ser ejecutado, en forma conjunta y armoniosa, entre el fitomejorador tradicional y el fitomejorador que utiliza estas emergentes tecnologías celulares y moleculares.

De esta forma es indispensable una cooperación muy estrecha entre la Unidad de Biotecnología y el programa de cultivo respectivo, el cual debe suplir el material vegetal; la evaluación del material regenerado por métodos *in vitro* y las pruebas de campo deben hacerse en forma conjunta.

Con el objeto de hacer un uso más eficiente de los recursos disponibles es necesario establecer un estricto orden de prioridades, teniendo en cuenta las más urgentes e importantes necesidades a resolver en aquellos cultivos o especies en los cuales la Biotecnología tenga ventajas comparativas con los sistemas tradicionales de mejoramiento, genética, patología y propagación vegetal.

El fitomejoramiento está basado, tradicionalmente, en la selección entre individuos genéticamente diferentes. La variación genética expresada entre plantas regeneradas de una selección a nivel celular, puede ser apropiada como una etapa inicial dentro de un programa de mejoramiento en una especie determinada. Cuando se observan cambios fenotípicos en plantas regeneradas *in vitro*, factores como el tipo de heredabilidad, número de genes, el hecho de si el carácter es controlado por el núcleo o por el citoplasma, determina el grado de facilidad con que esta característica puede ser incorporada dentro del Programa de Mejoramiento. Aspectos como rendimiento, son muy poco comprendidos desde el punto de vista bioquímico, lo cual impide ciertamente la selección al nivel celular ; sin embargo, algunos aspectos como resistencia a enfermedades, tolerancia a herbicidas y a ciertos factores de estrés son suficientemente comprendidos a nivel bioquímico como para permitir selección al nivel celular. Los caracteres condicionados por pocos o un solo gene son más fáciles de ser distinguidos que aquellos condicionados

por muchos genes y son fácilmente aislados como variantes en cultivos celulares, por lo tanto serán prioridades para iniciar investigación en las fases iniciales del proyecto.

## 2.2 ESPECIFICAS

Inicialmente se implementarán trabajos en el área de cultivo celular de especies de reproducción asexual, preferentemente aquellas con escaso rango de variación genética y en las cuales estas nuevas tecnologías presenten ventajas comparativas con las técnicas de mejoramiento tradicional:

Para el cultivo de palma africana se diseñarán y ajustarán métodos de micropropagación masiva.

Para los cultivos de plátano y papa se ajustarán protocolos de mantenimiento de germoplasma in vitro.

La aplicación del rango de variabilidad genética en plátano se intensificará con la búsqueda de variantes somaclonales resistentes a la Sigatoka Negra; inicialmente se trabajará en plátano hartón con métodos de regeneración indirecta in vitro ( a través de callo ).

Así mismo en soya se iniciarán trabajos de ajuste de métodos de selección in vitro para condiciones de estrés en el suelo (pH bajo y alto contenido de Al en el suelo).

Para las técnicas de regeneración de plantas, a través de callogenesis, se acelerará el mejoramiento intravarietal, buscando variantes somaclonales en yuca, ajonjolí, leguminosas forrajeras y algunos pastos de reproducción asexual.

En el campo de la microbiología se enfatizará el control

biológico de enfermedades de plantas que habitan el suelo, la dinámica de la rizósfera y micorrizas y la fijación de nitrógeno atmosférico.

Considerando que el cultivo de tejidos es un instrumento que permite estudios fisiológicos de crecimiento y desarrollo a nivel celular, se proyectan investigaciones que permitan la inducción de tolerancia a temperaturas extremas, herbicidas y salinidad en algodón, sorgo, papa, cebada y hortalizas.

Para el caso de Entomología se intensificarán los estudios de agentes entomológicos benéficos, especialmente de feromonas y productos naturales que afectan el comportamiento de los insectos.

Una disciplina que trabajará en coordinación estrecha con la Unidad de Biotecnología es la Patología Vegetal, principalmente en la limpieza del material vegetal de patógenos vasculares.

### **3. PROPUESTA**

#### **3.1 OBJETIVOS**

Incrementar la eficiencia de los programas tradicionales de fitomejoramiento, así como las técnicas de propagación, limpieza de patógenos, estandarización de medios de cultivo, mantenimiento e intercambio de germoplasma in vitro, recuperación y aumento de material valioso (clonaje), cultivo de anteras y polen, rescate de embriones de cruces interespecíficos, regeneración in vitro vía embriogenesis e hibridación somática.

El enfoque logístico se enfatizará en Biotecnología aplicada o de aplicación a muy corto plazo y no en investigación básica.

Es claro que para ser un enlace entre la investigación básica generada por los países desarrollados y la investigación aplicada, realizada conjuntamente con los programas de cultivo, la Unidad de Biotecnología se mantendrá informada sobre los adelantos en este campo a nivel mundial, y escogerá los más apropiados para ser aplicados en los programas del Instituto.

#### **3.2 METODOLOGIA DE TRABAJO**

Con el fin de aprovechar, eficientemente, los recursos

financieros y humanos disponibles, es importante una proyección de tipo modular. Módulo lo podemos definir como un conjunto dilimitado de proyectos de investigación a seguir en un tiempo determinado y con un grupo identificado de recursos físicos, humanos y financieros;ésto es, un conjunto independiente pero de muy fácil ensamble, dentro de un proyecto de ejecución de dos años de duración cada uno. La primera fase se inició en octubre de 1989, cuando se terminó de construir el laboratorio ubicado en Tibaitatá.

Como es lógico, no parece conveniente dispersar recursos en estas primeras fases proyectando laboratorios satélites en diferentes Centros de Investigación del Instituto. En sus primeras etapas es coherente el fortalecimiento de un núcleo de investigación central, que ajuste métodos in vitro ya realizados en el país con especies vegetales de reproducción asexual y en los cuales, como se anotaba anteriormente, la Biotecnología ofrezca ventajas comparativas con los métodos de mejoramiento tradicional. La idea en general es que, en sus dos primeras fases de implementación, la Unidad de Biotecnología ofrezca un "producto" vendible, no solo a los otros programas del Instituto, sino a los sectores relacionados en el país. Igualmente, al estandarizar procedimientos y técnicas in vitro, se espera que el módulo esté en capacidad de replicar procedimientos y tecnologías generadas en el país por otras entidades de Biotecnología (CIAT, Universidad de Caldas, Católica de Oriente y Nacional de Bogotá), así mismo estar en situación científica competitiva con la investigación de tipo aplicado, adelantado por las Unidades de Biotecnología de los Centros Internacionales de Investigación Agropecuaria y Universidades de Norteamérica y Europa que realicen investigación aplicada en el país.

BIOTECNOLOGIA AGRPECUARIA  
EN COLOMBIA

Como se anotó, previamente, el ajuste de tecnología se hará en aquellas especies que no exigen investigación básica, que no necesitan equipos sofisticados, que no dependen de material importado exclusivamente y cuyos resultados pueden esperarse a corto y mediano plazo.

Estas dos primeras fases se implementarán a partir de la puesta en marcha del módulo inicial que operará en el laboratorio central y el laboratorio satélite ubicado en el CNIA-Palmira. A partir de la tercera fase, se comenzarán a implementar otros laboratorios satélites, los cuales serán operados con el personal de los programas de cultivo que se haya capacitado en esta área, no solo en el exterior sino también en el laboratorio central. Lo anterior, indica, que el laboratorio central no solo tendrá como objetivo generar tecnología, sino además, transferir técnicas y procedimientos, adaptados en el mismo, a los programas de cultivo que lo requieran.

### 3.3. AREA DE ESTUDIO

#### 3.3.1 NIVEL CELULAR Y ORGANISMICO

- 3.3.1.1 Micropropagación
- 3.3.1.2 Conservación de germoplasma in vitro.
- 3.3.1.3 Técnicas de selección in vitro.
- 3.3.1.4 Androgénesis y microesporogénesis.
- 3.3.1.5 Organogénesis directa.
- 3.3.1.6 Organogénesis a través de callo.
- 3.3.1.7 Variación somaclonal
- 3.3.1.8 Estudios de propagación vegetativa.
- 3.3.1.9 Epidemiología

- 3.3.1.10 Etiología
- 3.3.1.11 Limpieza de patógenos por termoterapia y cultivo de meristemas.
- 3.3.1.12 Rescate de embriones de cruces interespecíficos (tiempo y condición óptima para el aislamiento de embriones).
- 3.3.1.13 Técnicas de incremento en la producción de callo embriogénico.
- 3.3.1.14 Aislamiento de protoplastos.
- 3.3.1.15 Fusión de protoplastos.

### 3.3.2 NIVEL MOLECULAR

- 3.3.2.1 Transferencia de genes
- 3.3.2.2 Aislamiento, caracterización y clonaje de genes
- 3.3.2.3 Hibridación de ácidos nucleicos
- 3.3.2.4 Regulación de la expresión genética
- 3.3.2.5 ADN recombinante
- 3.3.2.6 Manipulación de plásmidos
- 3.3.2.7 Marcadores genéticos
- 3.3.2.8 Transformación
- 3.3.2.9 Plantas transgénicas

### 3.3.3 NIVEL CITOGENETICA Y GENETICA

- 3.3.3.1 Cariotipos
- 3.3.3.2 Mutaciones
- 3.3.3.3 Heredabilidad
- 3.3.3.4 Mapeo genético

### 3.3.4 NIVEL BIOQUIMICO

- 3.3.4.1 Purificación, aislamiento de proteínas, enzimas y ADN.

- 3.3.4.2 Biosíntesis y metabolitos secundarios.
- 3.3.4.3 Síntesis de ADN.
- 3.3.4.4 Caracterización genotípica.

#### 3.4 PROYECTOS DE INVESTIGACION

Siguiendo los delineamientos expresados, previamente, en cuanto a la selección del material vegetal, tipo de cultivo in vitro y ajuste de tecnología generada por otras Unidades de Biotecnología en el país, se han esbozado los siguientes proyectos:

PROYECTO 1. Micropropagación y clonación de especies vegetales.

Subproyecto 1. Establecimiento y ajuste de metodologías para micropropagación masiva in vitro (lulo, mango, maracuyá, mora, guanabana, guayaba, papaya y piña).

PROYECTO 2. Biotecnología para el Mejoramiento de Especies Agrícolas.

Subproyecto 2.1 Establecimiento y ajuste de metodologías para mantenimiento in vitro de bancos de germaplasma (papa, plátano).

Subproyecto 2.2 Clonaje in vitro de materiales de plátano, con respuesta de tolerancia en campo de Sigatoka negra.

Subproyecto 2.3 Establecimiento y ajuste de metodologías para selección in vitro contra condiciones adversas de suelo pH bajo y alta concentración de Al (soya).

Subproyecto 2.4 Regeneración de plántulas a través del cultivo de anteras y evaluación del número de regenerantes haploides (arroz, sorgo, frijol).

Subproyecto 2.5 Espectro de variación genética en Somaclonales (RI) en pastos de reproducción apomíctica y leguminosas forrajeras (Brachiaria sp., Stilosantes sp.).

- Subproyecto 2.6 Caracterización genotípica por isoenzimas de la colección de germoplasma en cacao.
- PROYECTO 3. Técnicas avanzadas y moleculares de diagnóstico de fitopatógenos.
- Subproyecto 3.1 Eliminación de patógenos vasculares a partir de termoterapia y cultivo de meristemas (papa, ajo, batata, cítricos, papaya, guayaba).
- Subproyecto 3.2 Empleo de protoplastos de solanaceas para el estudio de fisiología del parasitismo en vegetales (papa, tomate).
- Subproyecto 3.3 Obtención de antisueros monoclonales e hibridación de ácidos nucleicos para la identificación de razas de virus (papa, cítricos).

Nota: Los perfiles de cada uno de estos proyectos se encuentran en el PLANIA de Biotecnología Agrícola.

### 3.4.2 PROYECTOS A IMPLEMENTAR EN LA FASE 3

Como la puesta en marcha de esta fase se realizará en el quinto año, se considera que estos proyectos se ajustarán durante el último año de la fase dos del proyecto.

## 3.5 RECURSOS HUMANOS

### 3.5.1 MODULO INICIAL

Este módulo realizará labores en el nivel celular hasta identificación de variantes somaclonales: en el nivel de genética y citogenética, estudios de heredabilidad y mapeo genético y en el nivel bioquímico caracterización genotípica por electroforesis.

#### - Nivel Celular

- 1 Ingeniero Agrónomo Ph.D. Fitomejoramiento
- 1 Ingeniero Agrónomo MS Cultivo de Tejidos
- 1 Ingeniero Agrónomo o Biólogo a nivel MS (fitopatólogo)
- 1 Biólogo
- 3 Tecnólogos (laboratorio, invernadero)

#### - Nivel Químico

- 1. Químico MS. (electroforesis)
- 1 Tecnólogo

#### - Nivel Genética y Citogenética

- 1 Biólogo MS.

|                              |              |
|------------------------------|--------------|
| <b>Total Módulo Inicial:</b> | 1 Ph.D.      |
|                              | 4 MS.        |
|                              | 2 PU.        |
|                              | 4 Tecnólogos |

### 3.5.2 MODULO SECUNDARIO

Este módulo realizará labores en el nivel celular en la identificación visual y técnica de maximización de callo embriogénico de algunas de las especies descritas en 3.4 y aislamiento y fusión de protoplastos y toda el área del nivel molecular, genético, citogenético y bioquímico.

#### - Nivel Celular

- 2 Ingenieros Agrónomos Ph.D.
- 1 Biólogo Ph.D.
- 3 Ingenieros Agrónomos MS.
- 4 Tecnólogos Agrícolas

#### - Nivel Bioquímico

- 2 Químicos MS.
- 2 Tecnólogos

#### - Nivel Genético y Citogenético

- 3 Biólogos MS.
- 1 Tecnólogo

**Total Módulo Secundario:** 3 Ph.D.  
8 MS.  
7 Tecnólogos

### 3.6 RECURSOS FISICOS

#### 3.6.1 MODULO INICIAL PARA EJECUCION DE LAS FASES 1 y 2

El núcleo de recursos físicos complementario del módulo inicial debe contar con un laboratorio general con suministro garantizado de agua, electricidad, gas y un sistema de extracción de aire (vacío); disponibilidad de agua ultrapura y refrigeración, una área estéril con 4 cámaras de flujo la-

minar, cámaras de crecimiento con luz y temperatura controladas con un volumen en conjunto no menor de 36 m<sup>3</sup>; autoclaves, microscopios, estereomicroscopios, pH metros, balanza de precisión con aproximación de tres decimales, equipos de electroforesis, área de almacenamiento con suficiente cantidad y diversidad de reactivos y químicos y un invernadero con una área no inferior a 350 m<sup>2</sup>.

### 3.6.2 MODULO SECUNDARIO PARA REALIZAR LA FASE 3.

El núcleo de recursos físicos debe contar con el siguiente equipo adicional:

- 2 Agitadores reciprocantes.
- 4 Agitadores rotatorios con accesorios
- 3 Agitadores tubos de ensayo
- 1 Autoclave hortizontal a vapor
- 1 Autoclave industrial
- 2 Balanzas electrónicas 165 grs.
- 2 Balanzas analíticas electrónicas digital de 4 dígitos decimales.
- 3 Balanzas analíticas plato externo digital de 4 dígitos decimales.
- 1 Baño refrigerante
- 1 Baño maría
- 1 Cabina extractora de gases
- 1 Cámara de crecimiento
- 3 Cámaras flujo laminar
- 3 Carros para laboratorio

- 1 Centrífuga
- 1 Centrífuga de mesa no refrigerada
- 1 Congelador horizontal
- 1 Cromatógrafo de líquidos
- 1 Cuarto frío 48 metros cúbicos
- 3 Dispensador automático 1-30 ml.
- 1 Densímetro computarizado, espectrofotómetro doble Haz
- 1 Destilador de Agua 10-12 una hora.
- 2 Equipo filtración
- 3 Equipos para deshidratar geles
- 1 Espectrofotómetro
- 1 Estereomicroscopio con pantalla incorporada de 12"
- 1 Estufa
- 1 Fitotrón
- 1 Fitomicroscopio con cámara
- 1 Fuente de poder para electroforesis
- 3 Incubadoras
- 5 Lámpara UV
- 1 Lavador automático de vidriería
- 2 Lupas de mesa iluminaria
- 1 Máquina para hielo
- 1 Microcentrífuga de piso refrigerado
- 2 Micropipetas (2-20 ml)
- 2 Micropipetas (20-50 ml)
- 3 Micropipetas (50-100 ml)
- 1 Micrótomos
- 1 Microscopio binocular de contraste
- 2 Microscopios estereoscopia con cámara fotográfica de control automático
- 2 Microscopio invertido
- 1 Microscopio trilocular con cámara fotográfica (Ester)
- 3 Molinos para tejido vegetal
- 1 Pistola aire caliente

- 5 Platos calientes con agitador magnético (barras)
- 2 Potenciómetros (pH metro).
- 1 Proyector carrusel 64 diapositivas.
- 1 Unidad electroforésis ácido.
- 1 Unidad múltiple para electroforésis vertical disco, gradiente y bidimensional o unidades individuales de cada uno de estos tipos.
- 2 Vortex

### 3.7 UBICACION FISICA

La sede para la Unidad de Biotecnología módulo inicial y secundario se propone en los Centros Nacionales de Investigación Agropecuaria de Tibaitatá y Palmira, por reunir no solo los requisitos técnicos, sino también por contar con la ubicación de gran parte de los laboratorios que fortalecen el intercambio científico y de labor interdisciplinaria.

Para las fases 1 y 2, se terminó de adecuar un laboratorio de 72 m<sup>2</sup> de área. Indudablemente, para el módulo 3, que ejecutaría la fase tercera y posteriores del proyecto, es necesaria la construcción de un laboratorio independiente que podría ser la parte correspondiente al Programa de Biotecnología Agrícola, de los futuros edificios de laboratorios de Disciplinas Agrícolas, de los centros mencionados, con algunas ampliaciones que permitan ejecutar proyectos interdisciplinarios.

### 3.8 INTERCAMBIO CIENTIFICO

Con seguridad, el factor más importante, en todo el esquema de la propuesta, es el de mantener un intercambio científico dinámico con los demás sectores científicos internacionales que realizan investigación de tipo aplicado en áreas

que sean aplicables en Colombia. Este intercambio debe mantenerse ininterrumpidamente y debe contar con un sistema que facilite la presencia de representantes de la Unidad en Congresos Científicos Internacionales del área de biotecnología. Así mismo sería deseable aprovechar esta coyuntura para iniciar proyectos cooperativos con las Land Grant Universities de los Estados Unidos cobijados en la Ley XII expedida en 1975 por el Congreso de los EE.UU. y que permite desarrollar proyectos cooperativos, intercambio y asesoramiento científico entre los países en vía de desarrollo y las universidades en esa nación.

### **3.9 CAPACITACION DEL PERSONAL CIENTIFICO**

Ligado muy estrechamente a los aspectos enumerados en el punto 3.8 está el de un programa de capacitación de personal que permita estar en permanente comunicación práctica con el desarrollo de la ciencia en este campo. El Programa de Capacitación de la Unidad está sintetizado en la TABLA 1.

**TABLA 1. Especialización a nivel de Ms y Ph.D. requerida por Disciplina y Nivel de Investigación para Fortalecimiento de la Investigación en Biotecnología en el área agrícola. 1989-1993**

| DISCIPLINA                    | NIVEL AREA<br>O<br>SUBAREA TEMATICA | AÑO BASE |       | MODULO INICIAL FASE:1 |       |       |       | MODULO SECUNDARIO FASE:2 |       |       |       | MODULO FINAL F.3 |       |
|-------------------------------|-------------------------------------|----------|-------|-----------------------|-------|-------|-------|--------------------------|-------|-------|-------|------------------|-------|
|                               |                                     | MS.      | Ph.D. | AÑO 1                 |       | AÑO 2 |       | AÑO 3                    |       | AÑO 4 |       | AÑO 5            |       |
|                               |                                     |          |       | MS.                   | Ph.D. | MS.   | Ph.D. | MS.                      | Ph.D. | MS.   | Ph.D. | MS.              | Ph.D. |
| GENETICA<br>Y<br>MEJORAMIENTO | Celular                             | 1        | 1     | 2                     | 1     | 1     | -     | 3                        | 2     | -     | 1     | -                | -     |
|                               | Bioquímico                          | -        | -     | 1                     | -     | -     | -     | 2                        | -     | -     | -     | -                | -     |
|                               | Genética y Citogenética.            | -        | -     | 1                     | -     | -     | -     | 3                        | -     | -     | -     | -                | -     |
|                               | Molecular                           | -        | -     | -                     | -     | 2     | -     | 1                        | -     | -     | 2     | -                | -     |
| SUELOS                        | Microbiología                       | -        | 2     | 1                     | -     | 1     | -     | 1                        | 1     | -     | -     | -                | 1     |
| ENTOMOLOGIA                   | Control biológico entomopatógenos   | -        | 3     | 1                     | -     | 1     | -     | -                        | -     | -     | 1     | -                | 1     |
| FITOPATOLOGIA                 | Limpieza de virus                   | -        | -     | 1                     | -     | 1     | -     | -                        | -     | -     | 1     | -                | 1     |
| <b>TOTAL:</b>                 |                                     | 1        | 8     | 7                     | 1     | 6     | -     | 10                       | 3     | -     | 5     | -                | 3     |

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO "ICA"  
SUBGERENCIA DE PLANEACION  
PLAN OPERATIVO ANUAL DE INVERSION "POAI"

1. IDENTIFICACION ORGANICA:

Subgerencia: INVESTIGACION  
División: PROYECTOS ESPECIALES DE INVESTIGACION AGRICOLA  
Sección: BIOTECNOLOGIA AGRICOLA

2. IDENTIFICACION DEL PROYECTO: 1

Título del proyecto: MICROPROPAGACION Y CLONACION DE ESPECIES VEGETALES (I)

Especie (vegetal ó animal) Lulo, mango, maracuyá, mora, guanábana, guayaba, papaya, y piña.

Sede principal del proyecto: Key 5 - Unidad operativa Palmira - Tibaitatá

Fecha de Iniciación: Febrero/90 Fecha Terminación: Diciembre/94

Código del proyecto presupuestal: \_\_\_\_\_ Convenio: \_\_\_\_\_

Áreas de acción prioritarias: Nacional

Cobertura geográfica potencial del impacto del proyecto: Todo el país

Beneficiarios del proyecto: Usuarios intermediarios

Productor comercial X Productor minifundista X

Comunidad científica X

### 3. PROBLEMA QUE INTENTA SOLUCIONAR CON EL PROYECTO.

- *Desuniformidad en los materiales de siembra, lo cual causa poblaciones con alta variabilidad e irregularidad en la producción.*
- *Bajas tasas de multiplicación de materiales seleccionados.*
- *Diseminación de enfermedades, sobre todo del tipo viral, por propagaciones vegetativas tradicionales.*
- *Elevados costos de producción, ligados a períodos prolongados de tiempo en la propagación de materiales seleccionados.*
- *Eliminación de materiales introducidos, los cuales poseen buenas características agronómicas, pero tiene problemas patológicos no presentes en nuestro país.*

#### 4. OBJETIVOS.

##### 4.1 General:

- Establecer los protocolos para la aplicación comercial de la técnica de micropropagación, para materiales de lulo, mango y maracuyá.

##### 4.2 Especificos:

- Obtención, desinfestación y establecimiento de explantes in vitro.
- Enraizamiento de brotes.
- Estandarización de medios nutritivos para las diferentes etapas del proceso.
- Adaptación de plantas a invernadero.

#### 5. METAS.

##### 5.1 Meta Final del proyecto:

- En un período no superior a dos años, se espera tener establecidos los protocolos para la multiplicación masiva de las especies que conforman el proyecto, con el objeto de aumentar materiales seleccionados durante el proceso de fitomejoramiento.

##### 5.2 Metas esperadas para 1990:

- Determinar el mejor explante para su establecimiento in vitro.
- Estandarizar medio nutritivo para crecimiento de los explantes.

##### 5.3 Metas esperadas para 1991:

- Estandarizar medios nutritivos para las diferentes etapas de desarrollo de las plántulas in vitro.
- Adaptar plántulas a invernadero.
- Entrega de metodología a las personas y organismos interesados.

## 6. RELACION DE ACTIVIDADES DEL PROYECTO.

| Titulo de la actividad  | Cant. | Unidad Medida | Localización |                   |
|---|-------|---------------|--------------|-------------------|
|   |       |               | Reg.         | Unidad Operat.    |
| - Cultivo <i>in vitro</i> de explantes por especie y adaptación de la técnica | 3     | semestres     | 1-5          | Tibaitatá-Palmira |
| - Multiplicación acelerada de los cultivos.                                   | 4     | semestres     | 1-5          | Tibaitata-Palmira |
| - Adaptación a condiciones externas   | 3     | semestres     | 1-5          | Tibaitatá-Palmira |

## 7. GASTOS GENERALES VARIABLES Y DE INVERSION PARA EL PROYECTO.

| Concepto del gasto.        | 1990         | 1991          |
|----------------------------|--------------|---------------|
| Materiales y suministros   | 9874         | 8.500         |
| Impresos y publicaciones   | 1044         | 1.000         |
| Mantenimiento              | 4907         | 7.890         |
| Viáticos y gastos de viaje | 1565         | 2.220         |
| Inversiones                | -            | 25.600        |
| <b>Total</b>               | <b>17390</b> | <b>45.210</b> |

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO "ICA"  
SUBGERENCIA DE PLANEACION  
PLAN OPERATIVO ANUAL DE INVERSION "FOAI"

1. IDENTIFICACION ORGANICA:

Subgerencia: INVESTIGACION  
División: PROYECTOS ESPECIALES DE INVESTIGACION AGRICOLA  
Sección: BIOTECNOLOGIA AGRICOLA

2. IDENTIFICACION DEL PROYECTO: 2

221  
Titulo del proyecto: BIOTECNOLOGIA PARA EL MEJORAMIENTO DE ESPECIES AGRICOLAS.

Especie(vegetal ó animal) PAPA, ARROZ, PLATANO, BANANO Y CACAO.

Sede principal del proyecto: Reg 1 Unidad operativa CNI-Tibaitatá  
CNI-Palmira

Fecha de Iniciación: Enero 1990 Fecha Terminación: Diciembre 1994

Código del proyecto presupuestal: \_\_\_\_\_ Convenio: \_\_\_\_\_

Áreas de acción prioritarias: EL PROYECTO ES DE CUBRIMIENTO NACIONAL A REALIZAR EN LOS CENTROS NACIONALES DE INVESTIGACION PALMIRA Y TIBAITATA.

Cobertura geográfica potencial del impacto del proyecto: REGION ANDINA, VALLES INTERANDINOS, CARIBE, ORINOQUIA.

Beneficiarios del proyecto: Usuarios intermediarios: COMUNIDAD CIENTIFICA QUIEN UTILIZA ESTE PRODUCTO PARA MAXIMIZAR EFICIENCIA EN EL MEJORAMIENTO.  
Productor comercial \_\_\_\_\_ Productor minifundista X

### 3. PROBLEMA QUE INTENTA SOLUCIONAR CON EL PROYECTO

- La necesidad de obtener cultivariedades o híbridos de los cultivos con mayor productividad, precocidad, resistencia a plagas y enfermedades y mayor adaptabilidad a condiciones del ambiente extremas, entre otras, por medio del mejoramiento genético, impone la necesidad de introducir técnicas de trabajo que incorporaciones nuevas en otros países del mundo han tenido éxito y han permitido acelerar este proceso de mejoramiento genético.
- Para el mejoramiento genético de los vegetales de reproducción sexual, la creación de plantas homocigotas demanda numerosas generaciones sucesivas de autofecundación.
- Por medio del cultivo in vitro es posible producir individuos haploides (con la mitad del número cromosómico) que por duplicación con colchicina se obtienen los dihaploides, los cuales son individuos homocigotos en una sola generación.

Las técnicas que permitan obtener este tipo de haploides en masa en la androgénesis, la ginogénesis y la inducción in vivo. La androgénesis de plantas haploides, a partir de granos de polen de anteras cultivadas in vitro y la ginogénesis del cultivo de ovarios u óvalos.

A partir de microsporas (granos de polen inmaduros), pueden obtenerse muchos genotipos diferentes (cada microspora es diferente genéticamente a la vecina), los cuales pueden usarse directamente en los experimentos de cruzamiento para la obtención de nuevos híbridos.

Además, las microsporas o los cultivos de las células pueden ser utilizadas en los experimentos de selección en virtud de su gran variabilidad genética.

La principal función de una colección de materiales de determinada especie es mantener un banco de genes disponible para el mejorador, el investigador de campo, el fisiólogo, el nutricionista, el propagador, y todos aquellos que deseen disponer de una amplia variabilidad genética para lograr un máximo aprovechamiento de la especie, además de lograr una protección de la posible erosión genética que se pueda presentar por diferentes motivos.

Actualmente, se mantienen, bajo condiciones de campo, muchas colecciones de especies cuya propagación es principalmente vegetativa o por semillas de corta vida en el almacenamiento como es el caso de la papa, el plátano, la batata, el cacao, etc.

El mantenimiento de estos cultivos es costoso, por la extensión que se requiere y los cuidados que se deben tener para evitar la

desaparición de los genotipos más susceptibles a los distintos factores ambientales a que están sometidos.

En este campo, el cultivo in vitro, bajo condiciones controladas ha permitido mantener grandes bancos, como son los de papa (CIP-Perú) y yuca (CIAT-Colombia), bajo un ambiente seguro y con fácil disponibilidad de cada uno de los genotipos.

Aquí se pretende proteger el banco de germoplasma de Solanum phureja, más conocida como "papa criolla", la cual es afectada y a la vez conservada como fuente muy valiosa de genes para el mejoramiento genético de la especie.

Igualmente, se pretende proteger batata, plátano y cacao, cuya importancia nacional es conocida y cuya necesidad de genes, sobretudo en cultivos que están siendo sometidos a intenso mejoramiento como el caso del plátano, se requiere de máxima disponibilidad de variabilidad genética.

La introducción de algunas especies de pastos entre los cuales está el Brachiaria spp. ha permitido el incremento de la producción de carne en el país. Cierta mejoramiento se ha logrado al introducir algunas leguminosas como el Stylosanthes spp, Centrosema spp. y Pueraria spp., leguminosas que tienen buena adaptabilidad a suelos ácidos y han permitido aumentar en un 80% la ganancia animal cuando se siembran asociadas con pastos.

Para lograr una óptima asociación es necesario obtener genotipos de ambas especies capaces de coexistir y competir entre ellas.

Desafortunadamente, las asociaciones pasto-leguminosas no persisten a través de los años, y los investigadores deben continuar buscando asociaciones específicas que persistan y requieran mínimo mantenimiento.

Para el mejoramiento genético de pastos, cuya reproducción es asexual, es conveniente usar técnicas de cultivo de tejidos que permitan, en forma efectiva mayor variabilidad genética y un método eficiente de selección rápida.

Es importante evaluar la variabilidad genética existente en Brachiaria spp. y los demás en pastos de los Llanos Orientales y con base en estos resultados seleccionar la técnica más adecuada para inducir las variaciones somaclonales.

Para el mejoramiento genético de las leguminosas ya se ha iniciado la evaluación de la variabilidad genética y su modo de reproducción, aunque la mayoría se considera de auto-polinización, en algunas especies de stilosanthes se ha obtenido fertilización cruzada. En aquellas especies donde no se han identificado los marcadores genéticos es necesario usar técnicas

electroforéticas para evaluar esta fertilización.

El aumento en la adaptabilidad y las resistencia a enfermedades e insectos se puede lograr a través de hibridación interespecífica.

Se ha reportado, en nuestro laboratorio, y a nivel mundial, que en el cultivo de tejidos, con fines de micropropagación, conservación o mejoramiento genético, se observa un alto porcentaje de variantes genéticas y fenotípicas en las poblaciones en cuestión. Esto en algunos casos es favorable, en otros no, por lo cual es necesario determinar si estas variaciones genotípicas o fenotípicas son producidas intencionalmente y son las deseadas o producidas por subcultivos, condiciones nutricionales y ambientales y/o tiempos de almacenamiento. Se han ensayado dos metodologías para la caracterización: la isoenzimática por medio de electroforesis y la morfológica, por medio de descripciones con lo cual se logra una evaluación cuanti y cualitativa de los genotipos.

En plátano y banano, se ha venido trabajando en cultivo de tejidos durante los últimos dos años y se proyecta continuar con fines de mejoramiento de cultivo, propagación y conservación, por lo cual es indispensable reconocer las variaciones genéticas o fenotípicas existentes por medio de las técnicas mencionadas.

#### 4. OBJETIVOS

##### 4.1 General

Obtención de materiales haploides y dihaploides de cultivos, usando la técnica de cultivos de microsporas y anteras in vitro, lograr la normalización de todas las variables necesarias para conservación in vitro de todo el material vegetal disponible y su mantenimiento in vitro, por la mayor cantidad de tiempo.

Evaluar los diferentes genotipos existentes en las colecciones mundiales de plátano, banano y cacao que el Instituto tiene, con el objeto de evitar duplicaciones (disminuye costo de mantenimiento), identificar materiales benéficos.

##### 4.2 Específicos

Estandarizar la técnica de obtención de plantas haploides por el cultivo de microsporas y anteras.

Determinar el estado de desarrollo de las anteras para cultivar en condiciones más óptimas de cultivo (ambiente, medios nutritivos, calidad explante, etc.).

Evaluar, citológicamente, el nivel de ploidea de los materiales y evaluar, en campo, el comportamiento agronómico de las plantas obtenidas.

Determinar el mejor tipo y tamaño de explante para su cultivo in vitro.

Determinar y evaluar la respuesta in vitro de las diferentes especies vegetales en estudio.

Determinar el medio de cultivo y las condiciones de almacenamiento más adecuadas.

Evaluar el poder de regeneración y la estabilidad genética y fenotípica de los materiales.

Evaluar tipo de izoenzima que caracterice, individualmente, los genotipos existentes en los géneros Musa y Teobroma.

Evaluar la estabilidad genética del material mantenido in vitro, durante largo tiempo.

Identificar material duplicado en las condiciones in vivo, que tiene el Instituto en: plátano, banano y cacao.

Normalizar sistemas de análisis electroforéticos para otras especies.

## 5. METAS

### 5.1 Meta final del proyecto

Lograr, por medio de las técnicas de cultivo de tejidos, el mejoramiento genético de especies: papa, arroz, plátano, palma africana, pastos y leguminosas forrajeras.

Disponer de técnicas de laboratorio para evaluar la estabilidad genética de los materiales sometidos al cultivo in vitro.

Disponer de técnicas electroforéticas ajustadas al medio que permitan distinguir variaciones genéticas de varianza afectadas por el ambiente.

### 5.2 Metas esperadas para 1990

Conservación in vitro de todas las variedades que en este momento están conservadas in vivo de las especies Solanum phureja, plátano, batata.

Producción e integración dentro de los programas de fitomejoramiento, de material homocigoto de arroz.

Evaluación de la respuesta in vitro de todos los materiales sembrados de Bracharia spp.

Ajustar técnicas y definir isoenzimas que caractericen, genóticamente, el material de Musa y Teobroma disponible en el país.

### 5.3 Metas esperadas para 1991

Mantenimiento in vitro de las 138 variedades de Solanum phureja con una técnica normalizada, con los factores más favorables para su conservación in vitro (fotoperiodo, tipo de medio nutritivo, minimización de la frecuencia de subcultivos, temperatura óptima entre otros).

Superar producción de plantas haploides de arroz, por encima del 50% del material de anteras cultivado in vitro.

Identificación de las principales especies de Bracharia que responden a ser cultivadas in vitro.

Evaluar la estabilidad genética de algunas de las variedades comerciales de plátano (2), mantenidas in vitro, durante cinco subcultivos consecutivos, cuando son propagados con la yema principal y multiplicados a partir de yemas laterales.

## 6. RELACION DE ACTIVIDADES DEL PROYECTO

| Título de la actividad   | Cant. | Unidad<br>Medida | Localizacion |                  |
|--|-------|------------------|--------------|------------------|
|  |       |                  | Reg.         | Unidad Opert.    |
| - Estandarización técnica de cultivos de anteras y microsporas <u>in vitro</u> . | 4     | semestre         | 1,5          | Tibaitatá, Palm. |
| - Estandarización técnica de regeneración, duplicación cromosómica, traspalnte.  | 3     | semestre         | 1,5          | Tibaitatá, Palm. |
| - Selección de materiales para conservación.                                     | 2     | semestre         | 1,5          | Tibaitatá, Palm. |
| - Selección condiciones de cultivo <u>in vitro</u> .                             | 2     | semestre         | 1,5          | Tibaitatá, Palm. |
| - Estabilidad genética y fenotípica (evaluación).                                | 3     | semestre         | 1,5          | Tibaitatá, Palm. |
| - Determinación frecuencia subcultivos.  | 4     | semestre         | 1,5          | Tibaitatá, Palm. |
| - Evaluac. condiciones invest. y campo.  | 4     | semestre         | 1,5          | Tibaitatá, Palm. |

## 7. GASTOS GENERALES VARIABLES Y DE INVERSION PARA EL PROYECTO

| Concepto del gasto            | Miles de Pesos |               |
|-------------------------------|----------------|---------------|
|                               | 1990           | 1991          |
| - Materiales y suministros    | 17.500         | 19.100        |
| - Impresos y Publicaciones    | 2.700          | 3.300         |
| - Mantenimiento               | 5.000          | 6.840         |
| - Viáticos y gastos de viaje  | 4.600          | 3.380         |
| - Inversiones                 | 11.500         | 6.000         |
| <b>TOTAL GASTOS GENERALES</b> | <b>29.800</b>  | <b>32.620</b> |

BIBLIOTECA AGRICOLA

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO "ICA"  
SUBGERENCIA DE PLANEACION  
PLAN OPERATIVO ANUAL DE INVERSION "POAI"

1. IDENTIFICACION ORGANICA:

Subgerencia: INVESTIGACION  
División: PROYECTOS ESPECIALES DE INVESTIGACION AGRICOLA  
Sección: BIOTECNOLOGIA AGRICOLA

2. IDENTIFICACION DEL PROYECTO: 3

Título del proyecto: TECNICAS AVANZADAS Y MOLECULARES DE DIAGNOSTICO DE FITOPATOGENOS.

Especie (vegetal ó animal) PAPA, AJO, BATATA, CITRICOS, PAPAYA, GUAYABA.

Sede principal del proyecto: Reg. 1 Unidad operativa CNI-TIBAITATA

Fecha de Iniciación: enero 1990 Fecha Terminación: diciembre 1994

Código del proyecto presupuestal: \_\_\_\_\_ Convenio: \_\_\_\_\_

Áreas de acción prioritarias: EL PROYECTO TIENE CUBRIMIENTO NACIONAL.

Cobertura geográfica potencial del impacto del proyecto: REGION ANDINA, VALLES INTERANDINOS, CARIBE, ORINOQUIA.

Beneficiarios del proyecto: Usuarios intermediarios

Productor comercial X Productor minifundista X

Comunidad científica: X

### 3. PROBLEMA QUE INTENTA SOLUCIONAR CON EL PROYECTO.

Uno de los problemas más graves de la propagación vegetativa de los cultivos es la transmisión de enfermedades, principalmente aquellas vasculares. Este problema se perpetúa transmitiéndose de generación en generación.

El desarrollo de nuevos sistemas de diagnóstico de enfermedades que suministren un rápido y exacto diagnóstico de enfermedades permitirá un apropiado y oportuno control.

Este sistema de diagnóstico facilita a los agricultores y asistentes técnicos el hacer un apropiado juzgamiento sobre la severidad de la infección y monitorear daños económicos con un alto grado de exactitud. Las pruebas para detectar virus, usadas con frecuencia para la producción de semilla sana en aquellos cultivos de reproducción asexual y que el proyecto enfatizaría son: Pruebas serológicas que están basadas en la reacción de precipitación que se produce entre el virus o antígeno y el anticuerpo homólogo.

Estas técnicas avanzadas de diagnóstico son:

ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) o conjugado enzimático. Ha demostrado ser más sensitiva que cualquier otra técnica serológica para detectar la mayoría de los virus incluyendo PLRV y PVA que se encuentran en concentración baja en las plantas infectadas. ELISA, se utiliza para detectar virus tanto en plántulas in vitro como de plantas in vivo.

Latex sensibilizado con anticuerpos, llamada simplemente prueba de latex. Se utiliza para detectar virus a nivel de planta in vivo, mientras que a nivel de plántula in vitro es difícil su detección por la baja concentración del virus en éstas. Igualmente es difícil detectar virus que se encuentran en concentración baja en las plantas como el PLRV. Microscopía electrónica: La imagen de las partículas de virus, sólo pueden observarse a través del microscopio electrónico en una pantalla

flourescente. Este dispositivo tiene la capacidad de incrementar hasta dos millones de veces el tamaño del virus. Hay algunos virus que no se observan en el microscopio electrónico por la concentración baja del mismo en la planta. En estos casos hay que inocular en plantas indicadoras para incrementar la concentración y observarlos al microscopio.

Prueba de NASH (nucleic acid spot hybridization) o hibridación de ácidos nucleicos, para detectar PSTV (potato spindle tuber viroid) o viroide del tubérculo ahusado de la papa. Es evidente que este método aunque fácil de realizar, requiere de laboratorios preparados y bien equipados para trabajos con radioisótopos. Trabajo de erradicación de virus debe empezarse con plantas negativas a PSTV.

#### 4. OBJETIVOS.

##### 4.1 General:

Obtener material libre de virus y otros patógenos empleando las técnicas de termoterapia y cultivo in vitro en algunas variedades comercialmente importantes de papa, ajo, cítricos y otros frutales para lo cual es requerido un sistema ágil y exacto de diagnóstico.

##### 4.2 Específicos:

- Evaluar la bondad de la termoterapia y el cultivo de meristemos en el saneamiento de los materiales.
- Investigar el mejor medio y condiciones para la micropropagación de los materiales saneados.
- Identificar los mejores sistemas de diagnóstico avanzado de los patógenos principales de las especies vegetales cubiertos por el proyecto (técnicas serológicas, microscopía electrónica, electroforesis e hibridación de ácidos nucleicos).

#### 5. METAS.

##### 5.1 Meta Final del proyecto:

- Obtener semillas vegetativas libres de enfermedades que permitan una mayor producción de los cultivos en estudio.

##### 5.2 Metas esperadas para 1990:

- Evaluar el material de Solanum phureja contra los virus: PVA (virus del mosaico suave); PVS (Virus de la papa); PVY (virus del mosaico rugoso); PLRV (virus del enrollamiento de la hoja) y PVX (virus de la papa).

##### 5.3 Metas esperadas para 1991:

- Ajustar metodologías que permitan utilizar a nivel intensivo, técnicas de diagnóstico de antisueros e hibridación de ácidos nucleicos para PSTV (potato spindle tuber viroid) y otros virus y viroides de importancia económica en los cultivos cubiertos por el proyecto.

6. RELACION DE ACTIVIDADES DEL PROYECTO.

| Título de la Actividad  | Cant. | Unidad<br>Medida | Localización |               |
|---|-------|------------------|--------------|---------------|
|   |       |                  | Reg.         | Unidad.Opert. |
| Cultivo en invernadero o vivero del material para limpieza.         | 3     | Semestre         | 1            | Tibaitatá     |
| Termoterapia  | 4     | semestre         | 1            | Tibaitatá     |
| Cultivo de meristemas y microinjertación                            | 4     | semestres        | 1,5          | Tibait.Palm.  |
| Pruebas virológicas (serológicas, hibridación de ácidos nucleicos). | 4     | semestres        | 1,5          | Tibait.Palm.  |
| Micropropagación  | 4     | semestres        | 1,5          | Tibait.Palm.  |
| Propagación en invernadero o casa malla.                            | 3     | semestres        | 1            | Tibaitatá     |
| Propagación en campo.   | 2     | semestres        | 1            | Tibaitatá     |

7. GASTOS GENERALES VARIABLES Y DE INVERSION PARA EL PROYECTO.

| Concepto del Gastos            | 1990          | 1991          |
|--------------------------------|---------------|---------------|
| Materiales y suministros       | 12.000        | 8.000         |
| Impresos y publicaciones       | 500           | 1.400         |
| Mantenimiento                  | 6.000         | 2.000         |
| Viáticos y gastos de viaje.    | 1.800         | 600           |
| Inversiones                    | 25.000        | 10.000        |
| <b>TOTAL GASTOS GENERALES:</b> | <b>20.300</b> | <b>12.000</b> |

## BIBLIOGRAFIA

ARTUNDUAGA, I.R. 1988. Hacia un enfoque biotecnológico unificado en el área agrícola. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. 52 p.

\_\_\_\_\_. 1987. Development and evaluation of techniques for regenerating plantlets from somatic and gametophytic tissues of selected grasses. Oklahoma State University, Agronomy Department. Technical report No. 39, 45p.

\_\_\_\_\_, Talia Ferro C., and B. Johnson. 1987. Effects of casein hydrolysate and 2,4-D concentration on growth of Embryogenic callus from Bermudagrass. Agronomy abstracts p. 147.

\_\_\_\_\_. 1986. Haploid plants from pollen grains. Proceeding of the 45th Southern Pasture and Forage Crop Improvement Conference Held in New Orleans. p. 18-25.

\_\_\_\_\_. 1985. Cell and Tissue Culture of Forage Grasses. Proceeding of the Southern Regional Projected Meeting on Cellular and Molecular Mechanism for Crop Improvement held in Atlanta in September 1985.

GOODMAN, R.A., HAUGTLI, H.I. CROSSWAY, A. and KNAUF. 1987. Genetransfer in crop improvement. Science, v 236. p.48-54.

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. 1988. La Biotecnología en el ICA, situación actual tendencia y perspectivas. ICA. 115 p.

KENNY, B. and Y.J. KLOPPENBURG. 1986. The IARCS and the development and application of biotechnologies in developing countries. IICA p. 387.

ROCA, W., AMEZQUITA, M. y V.M. VILLALOBOS. 1986. Estado actual y perspectivas de la Biotecnología Agraria en América Latina y el Caribe. Encuesta 1986. Seminario Internacional sobre temas agropecuarios en América Latina y el Caribe. ICA-CIAT-BID, Cali, Colombia. 1986.

INSTITUTO AGROPECUARIO

RUTTAN, V.M. 1987. Study of the external review processes in the CGIAR. University of Minnesota, Department of Agricultural and Applied Economics. January 27.

SZABADOS, L. 1987. Technical Assistance of tissue culture and Somatic cell genetics (application of Plant Tissue Culture Programs in the Activities of ICA). Final report. 37. p.