

20. OBTENCION DE SEMILLA DE PAPA LIBRE DE VIRUS Y OTROS PATOGENOS

Victoria E. Cervantes de Kacán *

Las enfermedades causadas por virus han llegado a considerarse importantes por el hecho de que una vez presentes en una planta no hay tratamiento práctico que permita su curación. Es por eso, que en el caso de la papa, por ser una planta propagada vegetativamente, las principales medidas de control van dirigidas al uso de tubérculos-semilla, libres de todo tipo de patógenos (Matthews, 1970).

Son varios los métodos que se han usado para tratar de obtener plantas sin virus, entre ellos se encuentra la identificación de material libre en condiciones naturales (Matthews, 1970); que se hace bastante difícil en cultivos propagados vegetativamente, pues en ellos es donde, por la alta transmisibilidad de los virus en los materiales de propagación, se encuentran variedades con una infestación tan alta que es difícil encontrar en condiciones naturales plantas libres de virus (Matthews, 1970; Hollings, 1965).

Es necesario anotar aquí, que el término "libre de virus" se refiere realmente a libre de ciertos virus, aquellos para los cuales se realizan pruebas de indiciación y no para todos los virus que puedan estar presentes en los tejidos (Hollings, 1965).

Otros métodos que están dirigidos a tratar de liberar clones de variedades infectadas con uno o más virus, son la termoterapia, el cultivo de meristemas y la combinación de estos dos procedimientos (Matthews, 1970; Kassanis, 1965; Quak, 1972; Stace-Smith y Mellor, 1968), aunque estas técnicas en ningún momento inmunizan la planta, son efectivas en la erradicación de algunos virus (Quak, 1972A).

20.1. TERMOTERAPIA

La técnica de termoterapia consiste en someter ya sea órganos de reproducción, como en la papa son los tubérculos, o plantas en crecimiento a temperaturas lo suficientemente elevadas para que inactiven los virus y no causen su muerte (Quak, 1972 B). Por este método según Kassanis y Posnette (1961) se han podido eliminar más de la mitad de los virus que afectan las plantas hortícolas. En la papa las temperaturas usadas y el tiempo de tratamiento varían según la variedad entre 30 y 38°C hasta por 15 semanas y han permitido eliminar de algunas variedades los virus PVA, PLRV, PVY, PVS, PVX, potato mosaic, potato mop top y tobacco rattle (Hollings, 1965; Carlson et al, 1972).

* Químico. Programa de Tuberosas, ICA - Tibaitatá

Según algunos investigadores (Quak, 1972 B; Hollings, 1965; Hollings y Stone, 1968) el efecto terapéutico del calor está propiciado por una alteración del balance entre síntesis y degradación de virus en la planta. Algunos virus logran ser desactivados mientras otros permanecen latentes hasta cuando se presenten condiciones favorables.

20.2. CULTIVO DE MERISTEMOS

La técnica del cultivo de meristemas es otro método que se introdujo para curar plantas enfermas, debido a que los tratamientos con altas temperaturas no permitían la eliminación de todos los virus. Hay algunas hipótesis que tratan o han tratado de explicar porque es posible obtener plantas libres de virus por el cultivo de meristemas. Entre ellas está la ausencia de virus en los tejidos meristemáticos por la distribución desuniforme de los virus en la planta, que ha sido muy discutida en base a estudios de microscopía electrónica. Otras hipótesis que sugieren la existencia de una competencia entre la síntesis de las nucleoproteínas normales de la planta y las virales en la zona meristemática, indicándose un balance favorable a las primeras. También hay otras basadas en evidencias que indican que los virus son inactivados cuando el tejido crece en un medio artificial de cultivo (Quak, 1972 A; Hollings, 1972; Limasett et al, 1949; Murasige y Jones, 1974).

El método de cultivo de meristemas, o en forma más correcta, de puntas meristemáticas consiste en separar de una planta en crecimiento los meristemas apicales, solos o acompañados de uno o dos primordios foliares (retirando las hojas que conforman la yema), tejidos que tienen un tamaño entre 0.1 y 0.5 mm. de longitud (Hollings, 1965; Murashige, 1974; Quak, 1972 A). Los cuales se cultivan asépticamente en tubos de ensayo con un medio de cultivo apropiado que permite su desarrollo y diferenciación en una nueva planta.

20.2.1. Medio de cultivo

El medio de cultivo es un factor importante que gobierna el éxito del cultivo de tejidos in vitro debido a que existen diferencias en el comportamiento entre especies y entre variedades de una misma especie (Quak, 1972 B; Hollings, 1965; Murashige y Skoog, 1962). Son factores importantes de considerar, la composición, el estado físico (solidificado con agar o líquido), el pH y la cantidad de medio nutritivo (Stace-Smith y Mellor, 1968; Murashige, 1974).

Específicamente para el cultivo de puntas meristemáticas de papa, en Colombia se ha empleado el medio básico de Murashige y Skoog (1962) y diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento de acuerdo a la respuesta de cada variedad de papa en estudio (Cervantes de Kacán et al, 1977; Weaver, 1976).

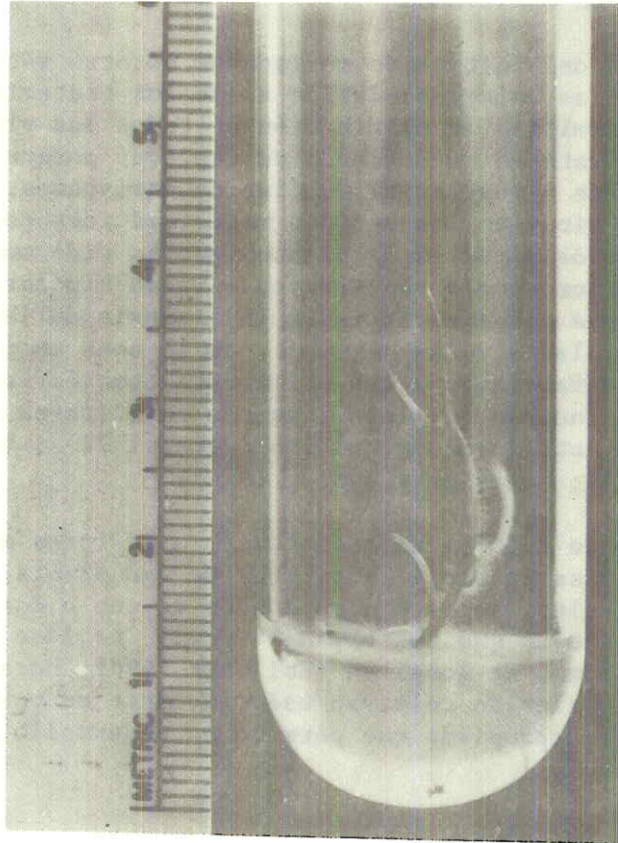


Figura 1. Plántula de papa procedente de meristemo en tubo de ensayo.

Una vez vez separado el tejido meristemático del tallo se lleva al tubo de ensayo el cual se coloca en una incubadora a una temperatura aproximada de 25°C y una intensidad lumínica de 100 lux, que inicialmente puede ser luz continua y posteriormente con fotoperíodos de 12 horas luz y 12 horas oscuridad ó 16 horas luz y 8 oscuridad según las necesidades de las variedades en estudio (Stace-Smith y Mellor, 1968; Cervantes y Martínez L., 1976).

Un medio de cultivo y unas condiciones de incubación se pueden considerar apropiadas para una variedad de papa cuando entre cuatro y diez semanas se obtiene un buen crecimiento y diferenciación del tejido meristemático.

20.2.2. Transplante a suelo

Una plántula completa, en tubo de ensayo con uno o dos centímetros de altura puede transplantarse directamente al suelo esterilizado. Las dos primeras semanas después del transplante debe cubrirse con un vaso de vidrio para evitar su deshidratación mientras se adapta al ambiente del invernadero a temperatura ambiente. El suelo se utiliza esterilizado con el fin de evitar recontaminaciones tempranas.

Una vez se retira el vaso, la plántula debe protegerse del ataque de insectos vectores de virus para lo cual se mantiene en casa o jaula de malla apropiada, hasta la cosecha de los tubérculos.

Durante el ciclo vegetativo de la planta en el suelo, es importante realizar por lo menos dos pruebas de indiciación, o pruebas para detectar presencia de virus con el fin de poder certificar su sanidad. Aunque con el uso de esta técnica y su combinación con termoterapia se espera la obtención de plantas libres de virus con bastante certeza, no siempre se logra y por ello, deben hacerse las pruebas de identificación.

20: 3. BIBLIOGRAFIA

1. CARLSON, P.S.; H.H. SMITH and R.D. DEARING. 1.972 Parasexual interespecific plant hybridization. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 70: 598-602.
2. CERVANTES de KECAN, V. y G. MARTINEZ-LOPEZ. 1.976 Desarrollo de adaptación de las técnicas de termoterapia y el cultivo de tejidos meristemáticos para la obtención de plantas de papa libres de virus. En: Camacho-B S.E. (ed) Informe Anual de Progreso 1.975 del Programa Nacional de Fisiología Vegetal, ICA, Instituto Colombiano Agropecuario. p. 98-105.
3. CERVANTES de KECAN. V.; G. MARTINEZ-LOPEZ y S. CAMACHO-B. 1.977 Comportamiento in vitro de meristemas de cinco variedades de papa en cinco medios de cultivo. En: Camacho-B, S.E. (ed.) Informe Anual de Progreso 1.976 del Programa Nacional de Fisiología Vegetal, ICA, Instituto Colombiano Agropecuario. p. 138-148.
4. HOLLINGS, M. 1.965. Disease control through virus-free stock. Annu. Rev. Phytopathol. 3: 367-396.
5. HOLLINGS, M. 1.972. Pathogen-free stock scheme: some problems in the production and use of virus-free planting material. Repr. Glasshouse Crops Res. Inst. 1.971. pp. 130-135.
6. HOLLINGS, M. and STONE. 1.968. Techniques and problems in the production of virus tested material. Sci. Hort. 20: 57-72.
7. KASSANIS, B. 1.965. Therapy of virus-infected plant. J. Roy. Agric. Soc. Engl. 126: 105-114.
8. KASSANIS, B. and A.F. POSNETTE. 1.961 Thermotherapy of virus-infected plants. Recent. Advan. in Botany. I: 557-563.
9. LIMASSET, P.; P. CORNUET; and Y. GERDRON. 1.949 Titration du virus de la Mosaïque de tabac (Marmor tabaci Holmes) dans les organes aériens de tabacs infectés. C.R. Seances Acad. Agr. (Francia) 228: 1888-1890.
10. MATTHEWS, R.E.F. 1.970. Plant Virology. Academic Press. New York. p. 1-11.
11. MURASHIGE, T. 1.974. Plant propagation through tissue cultures. Annu. Rev. Plant Physiol. 25: 135-166.
12. MURASHIGE, T. and J.B. JONES. 1.974 Cell and organ culture methods in virus disease therapy. In: R.H. Lawson and M.K. Corbett (eds) Proc.

3rd. Int. Conf. Ornamental plant Viruses. the Hague. p. 207-221.

13. MURASHIGE, T. and F. SKOOG. 1.962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Phisiol. Plant. 15: 473-497.
14. QUAK, F. 1.972 A. Review of heat treatment and meristem tip culture as methods to obtain virus-free plants. Proc. 18th. Int. Congr. 3: 12-25.
15. QUAK, F. 1.972 B. Therapy. In: J.A. de Bolx (ed). Viruses of potatoes and seed-potato production. Ctr, Agr. Publish. Docum. Wageningen. p. 158-166.
16. STACE-SMITH, R. and F.C. MELLOR. 1.968 Eradication of potato viruses X and S by thermotherapy and axillary bud culture. Phytopathology 58: 199-203.
17. WEAVER, R.J. 1.976. Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura. Editorial Trillas, Méjico. p. 17-141.