

- Scientific Publishers. pp: 131-135.
4. Instituto Nacional de la Yerba Mate. <http://www.inym.org.ar/imagenes/Estadisticas/2013-12-Estadisticas.pdf>
 5. Kitajima E.W., y Nome C.F. 1999. Microscopía electrónica en virología vegetal. En: Métodos para detectar patógenos sistémicos (D.M. Docampo y S.L. Lenardon, eds.). Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal (IFFIVE) INTA-JICA. pp: 75-77.
 6. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Secretaria de Desarrollo Rural y Agricultura Familiar. Subsecretaria de Desarrollo de Economías Regionales, 2010. Informe de coyuntura cadena infusiones: YERBA MATE (erva mate, maté). Performans 2009. http://www.minagri.gob.ar/SAGPyA/economias_regionales/Indec.php.
 7. Schmelzer K. 1962. Untersuchungen and viren der Zier- und Wild-geholze. 1. Virosen an Viburnum und Ribes. Phytopathologische Zeitschrift 46: 17-52.
 8. Schwenk F.W., Smith S.H., and Williams H.E. 1971. Component ratio differences in strains in *Alfalfa mosaic virus*. Phytopathology 61: 1159-1163.
 9. Ruter J.M., and Gitaitis R.D. 1993. Impatiens necrotic spot virus in woody landscape plants in Georgia. Plant Disease 77: 318.
 10. Sosa D.A., Barbaro S., Alvarenga F.A., De Coll O., Ohashi D.V., Rybak M., y Agostini J.P. 2011

Técnicas de cultivo *in vitro* y almacenamiento a baja temperatura para la conservación de explantes de té

Sandra Molina¹, María Pérez², Hebe Rey² y Luis Mroginski²

1- INTA EEA Cerro Azul. 2- UNNE, Fac. de Cs. Agrarias, IBONE.

Correo-e: molina.sandra@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

Las plantas propagadas clonalmente son usualmente mantenidas en jardines botánicos y preservadas por multiplicación continua de estacas (10). Este procedimiento es laborioso y expone a las plantas a factores bióticos y abióticos adversos (7 y 10).

El almacenamiento *in vitro* a baja temperatura de germoplasma es una alternativa para la preservación de una variedad de especies vegetales (2). Las mayores ventajas de esta técnica son los requerimientos reducidos en labor y espacio, la eliminación de problemas relacionados a patógenos y la reducción de la erosión genética si las condiciones de almacenamiento son logradas (4).

La técnica más aplicada es la reducción de temperatura, combinada con una reducción en la concentración de elementos nutritivos o disminución en la intensidad de luz o alma-

cenamiento en oscuridad. Corredoira *et al.* (3), han logrado definir las condiciones para el desarrollo y mantenimiento a mediano plazo de un banco de germoplasma *in vitro* de varias especies leñosas, entre ellas dos del género *Camellia*, a partir de explantes nodales y ápices caulinares.

Con el objetivo de conocer si es posible la conservación de plantas de té a baja temperatura y determinar el tiempo máximo de sobrevivencia, se ejecutó el presente ensayo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Como explantes se utilizaron segmentos unnodales, yemas axilares y meristemas provenientes de plantas madres del Clon CH 14 INTA, perteneciente al programa de mejoramiento de la EEA Cerro Azul-INTA, en la provincia de Misiones.

La desinfección y aislamiento de los explantes se realizó según Molina *et al.* (8). Los explantes fueron cultivados en medio basal MS (9) a la mitad de la concentración de macro y micronutrientes, suplementado con BAP (1,0 mg L⁻¹). El pH del medio fue ajustado a 5,8 antes del agregado de 0,7% de agar Sigma (A-1296) y luego esterilizado en autoclave a 121°C por 15 minutos.

Los explantes cultivados fueron mantenidos en heladera a una temperatura de 4°C sin subcultivo. Los tratamientos consistieron de distintos períodos de tiempo en heladera: 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 días, luego de los cuales fueron transferidos a cámara de cultivo (25 ± 2°C). El testigo corresponde al tratamiento no conservado en heladera. Transcurridos 30 días en estas condiciones se evaluaron: sobrevivencia (%), formación de vástagos (%) y longitud promedio de vástagos (cm).

El experimento fue repetido tres veces con 10 réplicas por cada repetición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los mejores resultados, en términos de sobrevivencia y formación de vástagos, se obtuvieron cuando se utilizaron segmentos uninodales y yemas axilares como explantes (Figuras 1 y 2). En cambio, con el uso de

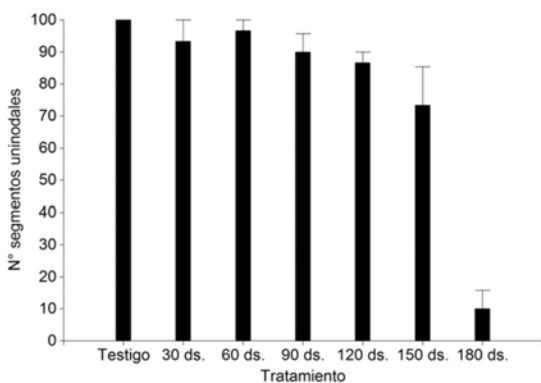


Figura 1. Sobrevivencia (%) de segmentos uninodales de té almacenados a 4°C durante distintos tiempos de exposición.

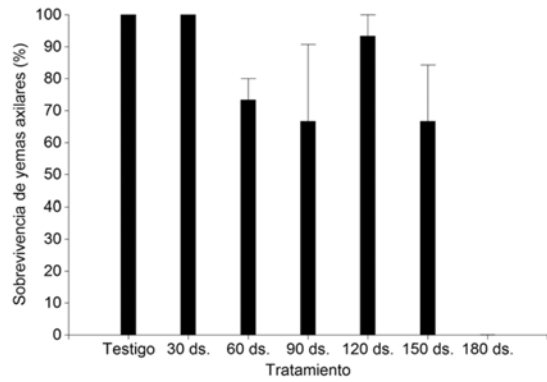


Figura 2. Sobrevivencia (%) de yemas axilares de té, almacenados a 4°C durante distintos tiempos de exposición.

meristemas, los valores de estos parámetros fueron significativamente más bajos (Figura 3). La sobrevivencia de los segmentos uninodales fue elevada hasta los 150 días de conservación a bajas temperaturas, registrándose valores promedio entre 73 y 97%. A partir de los 180 días, dicho parámetro disminuye drásticamente hasta valores del 10% (Figura 1). Similar comportamiento fue observado con las yemas axilares (Figura 2).

Si bien no existen diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de sobrevivencia hasta los 150 días, se observa una disminución progresiva a medida que el período de almacenamiento aumenta. Resultados similares fueron encontrados por Ahmed *et al.* (1) en la conservación de ger-

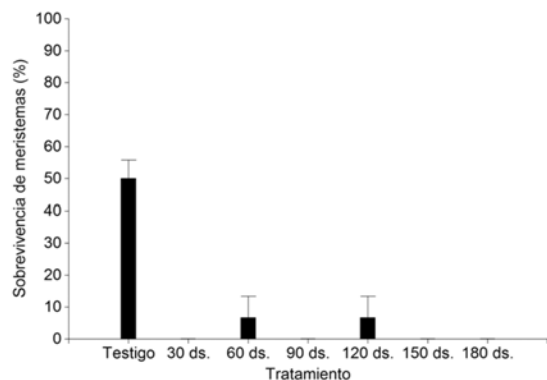


Figura 3. Sobrevivencia (%) de meristemas de té, almacenados a 4°C durante distintos tiempos de exposición.

moplasma de *Pyrus*.

Un mayor tiempo de exposición provocó el amarronamiento y posterior muerte de los explantes. Según Janeiro *et al.* (5), la necrosis de los explantes es común cuando se realiza el almacenamiento a baja temperatura, pudiendo los mismos regenerar especialmente desde yemas laterales que permanecen inmersas en el agar.

Kulkarni *et al.* (6), trabajando con yemas axilares encapsuladas y conservadas a 4°C encontraron que es posible el almacenamiento de micropropágulos de té por períodos de hasta 60 días. La alta sobrevivencia lograda en el presente trabajo indica el mejor comportamiento de segmentos uninodales al almacenamiento a bajas temperaturas de una manera más simple y económica comparada con el encapsulamiento.

Respecto a la variable formación de vástagos, se observó en general el mismo comportamiento en los tres explantes utilizados. Los valores más altos correspondieron al testigo y a períodos de conservación más cortos. A medida que aumentó el tiempo de conservación a baja temperatura, disminuyó la formación de vástagos. Los segmentos uninodales presentaron los mayores porcentajes de formación de vástagos, seguidos por las yemas axilares, siendo los meristemas los explantes con me-

nor capacidad de regenerar, luego de la conservación a baja temperatura (Cuadro 1).

Para la variable longitud de vástagos, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los distintos tratamientos. Sólo se observó una mayor longitud de vástagos cuando se utilizaron segmentos uninodales como explante, con valores entre 1,03 y 1,23 cm hasta los 150 días de conservación a 4°C (Cuadro 2). En general, los vástagos no presentan necrosis ni amarronamiento (Figura 4).

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo permiten concluir que es posible la conservación a corto/mediano plazo de explantes de té mediante el uso de la baja temperatura.

La sobrevivencia, formación de vástagos y longitud de vástagos son influenciados por el tiempo de exposición a las bajas temperaturas. Es posible la conservación de plantas de té utilizando segmentos uninodales a bajas temperaturas, por un período máximo de 5 meses sin subcultivo, momento a partir del cual la sobrevivencia y calidad de los explantes declinan rápidamente.

Los segmentos uninodales y yemas axilares son los explantes que permiten una mejor conservación y generación de vástagos.

Cuadro 1. Formación de vástagos promedio (%) en segmentos uninodales, yemas axilares y meristemas de té conservados a baja temperatura (4°C), durante diferentes períodos de tiempo.

| Tratamiento | Segmentos uninodales | Yemas axilares | Meristemas |
|-------------------------|----------------------|----------------------|-------------------|
| Testigo (sin conservar) | 100,0 ^{a*} | 50,0 ^a | 36,7 ^a |
| 30 días a 4°C | 73,3 ^{ab} | 46,7 ^{ab} | 6,7 ^b |
| 60 días a 4°C | 76,7 ^{ab} | 40,0 ^{abc} | 6,7 ^b |
| 90 días a 4°C | 76,7 ^{ab} | 26,7 ^{abcd} | 0,0 ^b |
| 120 días a 4°C | 70,0 ^b | 13,3 ^{bcd} | 0,0 ^b |
| 150 días a 4°C | 56,7 ^b | 6,7 ^{cd} | 0,0 ^b |
| 180 días a 4°C | 6,7 ^c | 0,0 ^d | 0,0 ^b |

* Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas para p<0,05.

Cuadro 2. Longitud promedio (cm) de vástagos formados a partir de segmentos uninodales, yemas axilares y meristemas de té, conservados a baja temperatura (4°C), durante diferentes períodos de tiempo.

| Tratamiento | Segmentos uninodales | Yemas axilares | Meristemas |
|-------------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| Testigo (sin conservar) | 1,17 ^{a*} | 0,70 ^a | 0,50 ^a |
| 30 días a 4°C | 1,03 ^a | 0,53 ^{ab} | 0,17 ^{ab} |
| 60 días a 4°C | 1,03 ^a | 0,60 ^{ab} | 0,17 ^{ab} |
| 90 días a 4°C | 1,17 ^a | 0,53 ^{ab} | 0,0 ^b |
| 120 días a 4°C | 1,23 ^a | 0,43 ^{ab} | 0,0 ^b |
| 150 días a 4°C | 0,77 ^a | 0,17 ^{ab} | 0,0 ^b |
| 180 días a 4°C | 0,73 ^a | 0,0 ^b | 0,0 ^b |

* Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas para $p < 0,05$.

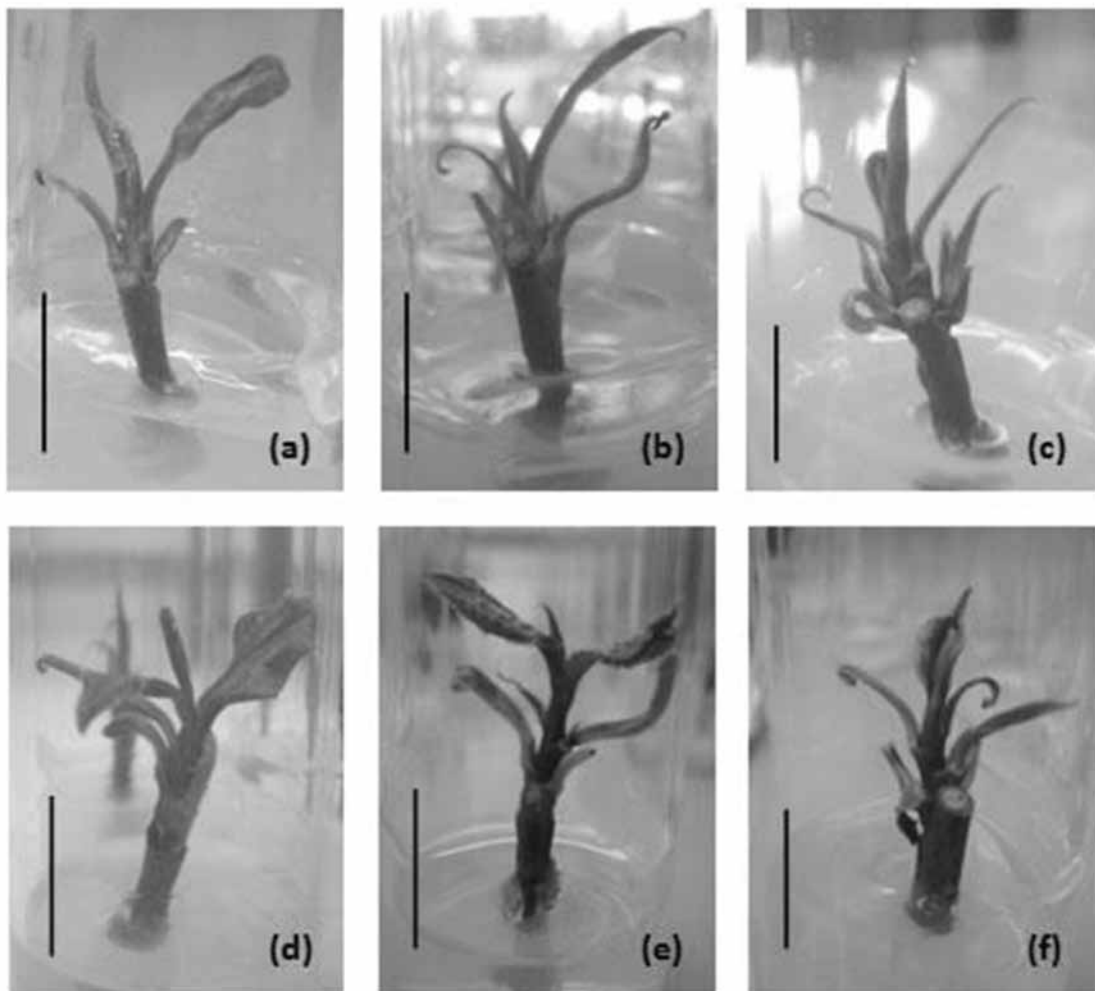


Figura 4. Vástagos formados en segmentos uninodales de té, conservados a baja temperatura (4°C), durante diferentes períodos de tiempo: a) 30 días, b) 60 días, c) 90 días, d) 120 días, e) 150 días y f) 180 días. (Las barras verticales indican 1,0 cm).

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- 1- Ahmed M., Anjum M.A., Shah A.H. and Hamid A. 2010. *In vitro* preservation of *Pyrus* germplasm with minimal growth using different temperature regimes. *Pakistan Journal of Botany* 42: 1639-1650.
- 2- Ballester A., Janeiro L.V. and Vieitez A.M. 1997. Cold storage of shoot cultures and alginate encapsulation of shoot tips of *Camellia japonica* L. and *Camellia reticulata* Lindley. *Scientia Horticulturae* 71: 67-78.
- 3- Corredoira E., San José M.C., Martínez T., Valladares S., Couselo J.L., Janeiro L., Vieitez A.M. y Ballester A. 2011. Conservación de germoplasma en especies leñosas con técnicas de cultivo *in vitro* y almacenamiento en frío. *Spanish Journal of Rural Development* 2: 15-24.
- 4- Engelmann F. 1991. *In vitro* conservation of tropical plant germplasm – a review. *Euphytica* 57: 227-243.
- 5- Janeiro L.V., Vieitez A.M. and Ballester A. 1995. Cold storage of *in vitro* cultures of wild cherry, chestnut and oak. *Annals of Forest Science* 52: 287-293.
- 6- Kulkarni V.M., Varshney L.R., Bapat V.A. and Rao P.S. 2002. Propagation of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) by shoot proliferation of alginate-encapsulated axillary buds stored at 4°C. *Current Science* 83: 941-944.
- 7- Kuranuki Y. and Sakai A. 1995. Cryopreservation of *in vitro*-grown shoot tips of tea (*Camellia sinensis*) by vitrification. *CryoLetters* 16: 345-352.
- 8- Molina S.P., Pérez M.L., Rey H.Y. y Mroginski L.A. 2013. Regeneración de plantas de té (*Camellia sinensis*) por cultivo *in vitro* de meristemas, yemas axilares y segmentos uninodales. *Rev. FCA UNCUYO* 45: 127-134.
- 9- Murashige T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- 10- Shibli R.A., Shatnawi M.A., Subaih W.S. and Ajlouni M.M. 2006. *In vitro* conservation and cryopreservation of plant genetic resources: a review. *World Journal of Agricultural Sciences* 2: 372-382.

Presencia de reovirus y torradovirus en co-infección con un potexvirus en cultivos de mandioca en Argentina

Andrea Zanini¹, Liliana Di Feo¹, Andrés Luque² y Patricia Rodríguez Pardina¹

1- Instituto de Patología Vegetal (IPAVE) CIAP- INTA. 2- Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales (IFRGV) CIAP- INTA. Córdoba.

Correo-e: ldifeoar@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, las infecciones virales en cultivos de mandioca en África, han tenido un efecto devastador sobre la producción de raíces tuberosas y, en América, hay evidencia de la aparición de varias enfermedades virales que causan pérdidas de rendimiento significativas (1).

Algunos de estos virus se han asociado con distintos síntomas foliares, como por ejemplo el *Cassava vein mosaic virus* (CsVMV),

reportado únicamente en Brasil (2) y el *Cassava common mosaic virus* (CsCMV), con amplia distribución en Brasil, Colombia, Paraguay, África y Asia y recientemente citado en Argentina (3-7). Al menos uno de estos patógenos, el *Cassava frogskin-associated virus* (CsFSaV), está asociado con síntomas radiculares graves (enfermedad del “cuero de sapo”). Este virus se distribuye en Brasil, Venezuela, Costa Rica, Panamá y Perú, y la patología en la que participa es la principal limitante de la producción de mandioca en