

Priorización, Limpieza Viral, Producción de Semilla de Calidad Básica y Devolución de Cultivares Nativos Libres de Virus

Víctor Iriarte, Ana G. Badani, Carmen L. Villarroel, Gino Aguirre, Enrique N. Fernández-Northcote¹

Resumen

Ocho instituciones colaboradoras (AGRUCO, CENDA, CPA, ACRA, PIABS, CESA, UTO, COPLA), y las comunidades a las que apoyan, han seleccionado en zonas con características extremas, cultivares de papa nativa cultivados la mayoría en alturas superiores a los 3,500 m. De ellos 24 fueron priorizados con PROINPA para su limpieza viral, en base a sus características sobresalientes de alta rusticidad frente a factores abióticos y por su importancia social en la elaboración de chuño (tubérculo deshidratado negro), tunta (tubérculo deshidratado blanco), waicu (tubérculo cocido con cáscara), y cocido en fresco. Con el uso de anticuerpos apropiados para la detección de variantes andinas de los virus comunes de la papa en DAS-ELISA, se ha limpiado de virus los 24 cultivares de papa nativa, de los cuales se ha producido semilla de calidad básica en la E.E. Toralapa y en condiciones *in situ* en camas protegidas construidas con materiales rústicos del lugar. Asimismo a la fecha se han producido tubérculos-semillas de alta calidad en parcelas semillaras de los mismos agricultores. Los cultivares nativos de papa, limpios, han sido devueltos a sus centros de recolección a través de los sindicatos de agricultores e instituciones involucradas. Se ha realizado la comparación preliminar de semilla libre de virus con la semilla proveniente de selección positiva y semilla del agricultor, con resultados muy satisfactorios. Se realizaron eventos de capacitación a 282 agricultores para el manejo de los cultivares libres de virus. La demanda al presente por los cultivares nativos limpios contribuirá al mantenimiento de la biodiversidad y apoyará a una agricultura más sostenible.

¹ Programa de Investigación de la Papa PROINPA (IBTA-CIP-COSUDE). Al presente Fundación PROINPA. Casilla 4285, Cochabamba, Bolivia. Correo electrónico: e.fernandez@cgjar.org.

Palabras claves adicionales: Degeneración, virus, PVY, PLRV, PTV-p (PVV).

Prioritization, Virus Clean-Up, Basic Quality Seed Production, and Return to Farmers of Virus-Free Native Cultivars

Summary

Eight collaborating institutions (AGRUCO, CENDA, CPA, ACRA, PIABS, CESA, UTO, COPLA) and the communities that these institutions support, selected potato native cultivars grown 3,500 m. Twenty-four of them were prioritized with IPA for virus clean up. These cultivars have excellent characteristics like rustiness against abiotic factors, and social importance for factors such as the preparation of "chuño" (black rated potato), "tunta" (white dehydrated potato), "waicu" (potato cooked with its peel), and cooked fresh. Basic seed have been produced from the 24 native cultivars in the Oralapa Experimental Station or *in situ* in protected rustic beds. High quality seed tubers have also been produced in farmers' plots. The virus-free native cultivars have been returned to the original communities where the cultivars were collected. From preliminary tests, the yield from the virus-free seed tubers is very satisfactory, with regards to the farmers' seed tubers or to those from positive selection. The demand for the virus-free native cultivars will contribute to maintaining biodiversity and will contribute to a sustainable agriculture.

Additional index words: Degeneration, virus, PVY, PLRV, PTV-p (PVV).

Introducción

La papa es un cultivo básico y de seguridad alimentaria para la población boliviana. Para más de 200,000 familias de pequeños agricultores que constituyen entre el 30 y 40% del total de campesinos del país (Zeballos, 1997), la papa constituye la principal de alimento e ingresos. El consumo per capita entre 100 a 120

kg/año (Zeballos, 1997) es uno de los más altos en el mundo. Cerca de 130,000 ha son dedicadas a su cultivo con un rendimiento promedio en los Andes Bolivianos de 5 t/ha, mientras que el mundial es de 14 t/ha y de 26 t/ha en los países desarrollados (Horton, 1992) (Zeballos, 1997). La papa, es el cultivo más importante en la economía agrícola del país (Bojanic, 1995). Sin embargo, los rendimientos son bajos debido a diversos factores limitantes siendo uno de los más importantes, la mala calidad de la semilla debido a su degeneración.

La utilización de tubérculos-semillas provenientes de plantas infectadas con virus en sucesivas campañas de siembra producen menos tubérculos o estos son más pequeños que los de las plantas sanas. Ello conduce a la degeneración del cultivar con pérdidas en los rendimientos superiores al 80%. El agricultor bajo estas condiciones no desea utilizar tubérculos-semillas de su propia cosecha (semilla "cansada") y busca una fuente de semilla limpia, si ésta no está disponible los cultivares nativos degenerados son descartados por los agricultores y reemplazados por otros cultivares o cultivos, perdiéndose la diversidad genética nativa.

Se estima que al presente se cultivan en el país alrededor de 1,500 cultivares nativos, una muestra de alrededor de 700 de ellos se mantienen en el Banco Nacional de Germoplasma de Bolivia, en la Estación Experimental de Toralapa. Más del 50% de las plantas de estos cultivares han sido descartadas mediante una selección negativa por expresiones de virosis y degeneración (Fernández-Northcote, 1992; M.L. Ugarte, comunicación personal) y al presente más del 80% de ellos muestran síntomas o infección por virus.

Debido al problema de la degeneración de los cultivares (semilla cansada), los agricultores constantemente demandan una semilla de mejor calidad de sus cultivares preferidos. Por lo tanto, a solicitud de ocho instituciones a nivel nacional: Agroecología Universidad Cochabamba (AGRUCO), Centro de Comunicación y Desarrollo Andino (CENDA), Central de Productores Agropecuarios (CPA), Asociación de Cooperación en África y América Latina (ACRA), Proyecto de Investigación Agraria Bautista Saavedra (PIABS), Centro de Servicios Agropecuarios (CESA), Universidad Técnica de Oruro (UTO), y Centro Orureño de Planificación (COPLA) y de las comunidades a las que apoyan, se seleccionaron diversos cultivares nativos de los cuales 24 fueron priorizados con PROINPA para su limpieza viral, en base a sus características sobresalientes de alta

rusticidad frente a factores abióticos y por su importancia social en la elaboración de chuño (tubérculo deshidratado negro), tunta (tubérculo deshidratado blanco), waiku (tubérculos cocidos con cáscara) y cocido en fresco. En el presente trabajo, se reporta su limpieza viral, producción de semilla básica que luego era devuelta a las comunidades de origen así como entregada a otras interesadas.

Avances del presente trabajo han sido previamente reportados (Badani et al., 1996, Iriarte et al. 1996, Iriarte et al., 1998)

Materiales y Métodos

Priorización y recolección

Se priorizaron cultivares nativos de los Departamentos de Cochabamba, La Paz, Oruro y Tarija (Figura 1). Luego se procedió a la recolección de seis tubérculos por cultivar, procedentes de plantas de preferencia previamente marcadas por selección positiva, de acuerdo a los siguientes criterios: sanidad, buena constitución, vigor, desarrollo foliar, y características típicas del cultivar.

Los tubérculos colectados fueron sembrados en invernadero donde a los 30 días de la emergencia se realizó una detección de infección viral pre-termoterapia mediante la prueba de inmunoadsorción con conjugados enzimáticos, modalidad directa de emparejado de doble anticuerpo (DAS-ELISA), para los virus de papa, virus X (PVX), virus Y (PVY), virus S (PVS), virus latente andino de la papa (APLV), virus del moteado andino de la papa (ApoMV), virus del enrollamiento de las hojas (PLRV), y virus peruano del tomate-strain de papa (PVT-p) conocido también como virus V de la papa (PVV). Se utilizó además anticuerpos PVXY que detectan probablemente variantes diferentes de PVX y de PVY o PVT-p. Se utilizaron anticuerpos y conjugados producidos en el Centro Internacional de la Papa (CIP) y de BIOREBA.

Para la limpieza viral se seleccionó, por cultivar, la planta con menos problemas patológicos. Se procedió al corte y desinfección de esquejes, para su posterior establecimiento *in vitro*.

Previa micropropagación se sometieron a termoterapia (37°C/24 h, luz/cuatro semanas), plántulas *in vitro* de cada cultivar. Luego de la termoterapia con la ayuda de un microscopio-estereoscópico, se

procedió a la escisión de 20 meristemas apicales por cultivar, los cuales fueron sembrados para su regeneración en un medio de cultivo que contenía sales de MS (Murashige & Skoog, 1962), ácido giberélico (0.1 ppm), ácido nicotínico (0.5 ppm), kinetina (0.04 ppm), sacarosa (2.5%), y agar (0.75 %), a pH 5.7. Luego de la regeneración se seleccionaron hasta seis clones de las plántulas más pequeñas, las cuales fueron aclimatadas, desarrolladas en invernadero (plantas madre) para su verificación sanitaria mediante ELISA y en el material negativo a virus por plantas indicadoras para los virus indicados anteriormente. Se hizo una segunda verificación sanitaria en las plantas provenientes de la primera generación de tubérculos de la planta madre.

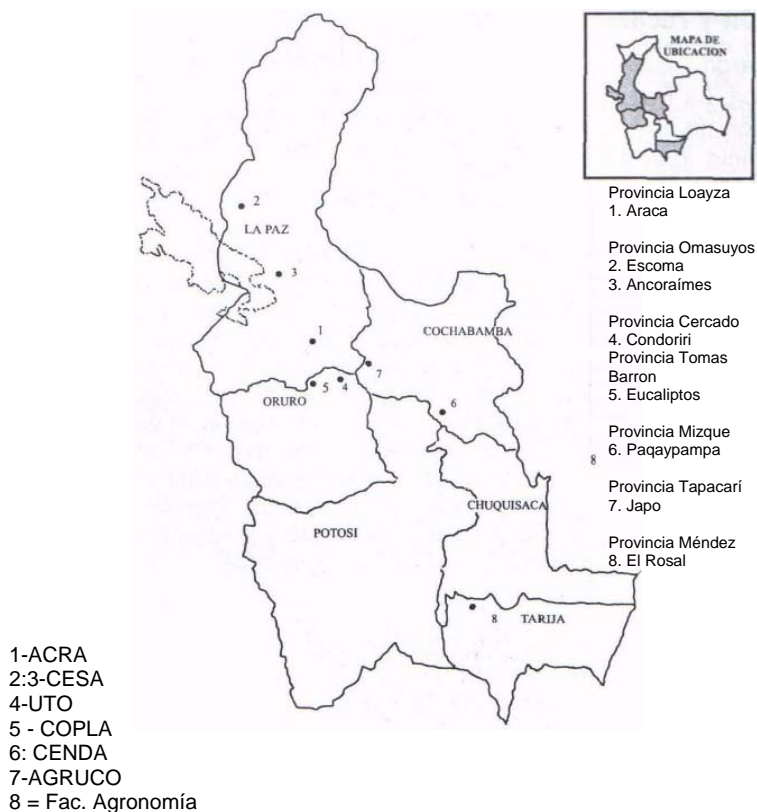


Figura 1. Ubicación de las localidades donde se cultiva y fueron colectados los 24 cultivares de papa nativa priorizados para su limpieza: Instituciones involucradas

Una vez confirmada la sanidad de las plantas, en laboratorio se procedió a la multiplicación *in vitro* de un clon limpio (clon libre de patógenos de acuerdo a las pruebas de detección realizadas) por cultivar mantenido *in vitro*. Paralelamente otros dos clones limpios incluyendo el clon en multiplicación se mantuvieron *in vitro* en conservación (8°C, con retardantes de crecimiento).

Plántulas *in vitro* de cada cultivar limpio fueron aclimatadas en el invernadero de la E.E. Toralapa para la producción de semilla prebásica o el futuro trasplante a camas protegidas para la producción de semilla básica. Con la semilla prebásica se produjo también semilla básica en camas protegidas. La semilla básica fue producida *ex situ* en la E.E. Toralapa e *in situ* en varias de las comunidades de origen de los cultivares nativos. Posteriormente se comparó en parcelas semilleras tres calidades de semilla: semilla libre de virus, semilla proveniente de selección positiva y semilla del agricultor.

La devolución de la semilla prebásica o básica a sus localidades de origen se realizó en coordinación con el sindicato de agricultores y las instituciones involucradas.

Se identificaron zonas para la construcción de camas protegidas de 15 m² (10 m largo x 1.5 m de ancho). Se tomó en cuenta la disponibilidad de agua, de material en el lugar para la construcción de la cama protegida, y cercanía a la casa del agricultor. Asimismo se tomó en consideración la orientación del sol y la pendiente del terreno (Aguilera 1995.)

Paralelamente a la devolución se capacitó agricultores y técnicos en la construcción, siembra y manejo de camas protegidas, pestes y enfermedades priorizadas en la zona, cosecha, almacenamiento, selección positiva y multiplicación rápida a partir de brotes (Canaviri, 1995.)

La evaluación del impacto del material devuelto se realizó a través de un monitoreo del manejo de la producción de semilla, verificando la sanidad, organizando su futura distribución, y realizando la caracterización *in situ* de los cultivares limpios.

Resultados

Priorización

Se priorizaron y limpiaron 24 cultivares nativos (Tabla 1). La diversidad de nombres en los cultivares nativos seleccionados dificultaron la adecuada identificación de los cultivares priorizados que de una comunidad a otra podría haber cambiado de nombre. Por esta razón se realizaron análisis morfológicos y pruebas electroforesis con la colaboración de la Ing. M.L. Ugarte (Dpto. Recursos Genéticos, PROINPA), para determinar la similitud o diferencia de los cultivares. Además se consideró la apreciación de técnicos y agricultores.

Limpieza viral

Los virus más comunes detectados en las pruebas serológicas termoterapia fueron: PVX, PVA (muy posiblemente no PVA variantes andinas de PVY o PTV-p) utilizando anticuerpos BIOREBA, y PTV-p (PVV) (Tablas 2, 3).

Se logró la limpieza viral de los 24 cultivares nativos priorizados (Tabla 1 y Figura 2).

Durante el proceso de limpieza se presentaron contaminaciones bacterianas las cuales fueron controladas agregando Rifampicina (30 ppm) al medio de cultivo, después de su autoclaveado.

En la fase de termoterapia pocos fueron los cultivares que soportaron los 37°C/4 semanas, esto dificultó su manejo implantación del meristema en el medio de cultivo, donde algún estos meristemas llegaron a deshidratarse. La mayoría de meristemas regeneraron en un tiempo de dos a tres meses embargo, los meristemas regeneraron mucho más rápido cuando fueron sometidos a luz natural.

Tabla 1. Instituciones colaboradoras, comunidades solicitantes, y cultivares nativos de papa priorizados libres de virus

Cultivar	Especie	Colaboradores	Provincia	Zona o Comunidad	Altitud (msnm)
Milagro	<i>S. stenotomum</i>	ACRA (La Paz)	Loayza	Collana	4100
Pali Rojo	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	ACRA (La Paz)	Loayza	Collana	4100
Pali Negra	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	ACRA (La Paz)	Loayza	Collana	4100
Sani Negra	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	ACRA (La Paz)	Loayza	Collana	4100
Bola Luk'i	<i>S. curtilobum</i>	AGRUCO (Cbba.)	Tapacarí	Japo	4200
Chojlla Luk'i	<i>S. juzepczukii</i>	AGRUCO (Cbba.)	Tapacarí	Japo	4200
Khuchi Sullu	<i>S. stenotomun</i>	AGRUCO (Cbba.)	Tapacarí	Japo	4200
Majarillo	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	AGRUCO (Cbba.)	Tapacarí	Japo	4200
Peraza Luk'i	<i>S. juzepczukii</i>	AGRUCO (Cbba.)	Tapacarí	Japo	4200
Q'ala Ajanhuiri	<i>S. ajanhuiri</i>	AGRUCO (Cbba.)	Tapacarí	Japo	4200
Qetu Luk'i	<i>S. juzepczukii</i>	AGRUCO (Cbba.)	Tapacarí	Challa Grande	3850
Moroq'o Luk'i	<i>S. juzepczukii</i>	AGRUCO (Cbba.)	Tapacarí	Challa Grande	3900
Laqmu	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	CENDA (Cbba.)	Mizque	Rumimuku	2900
Puka Ñawi	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	CENDA (Cbba.)	Mizque	Rumimuku	2900
Isla	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	CESA (La Paz)	Omasuyos	Macamaca	3900
Wila Imilla	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	CESA (La Paz) Central de Prod.	Omasuyos	Macamaca	3900
Yacu Imilla	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	Agropecuarios (La Paz)	Loayza	Cochira	2900
Runa Amarga	<i>S. juzepczukii</i>	COPLA (Oruro)	Tomás Barrón	Chapicollo	3765
Sakampaya	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	COPLA (Oruro)	Tomás Barrón	Chapicollo	3765
Collareja Larga	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	PROINPA(Tarija)	Méndez	Papachacra	3450
Mayu Rumi	<i>S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	PIABS (La Paz)	B. Saavedra	Chullina	3900
Yurak Luk'i	<i>S. curtilobum</i>	PIABS (La Paz)	B. Saavedra	Chullina	3900
Luk'i Moroq'o Blanco	<i>S. juzepczukii</i>	UTO (Oruro)	Cercado	Condoriri	3830
Pali Morado	<i>S. S. tuberosum</i> ssp. <i>andigena</i>	UTO (Oruro)	Cercado	Condoriri	3830

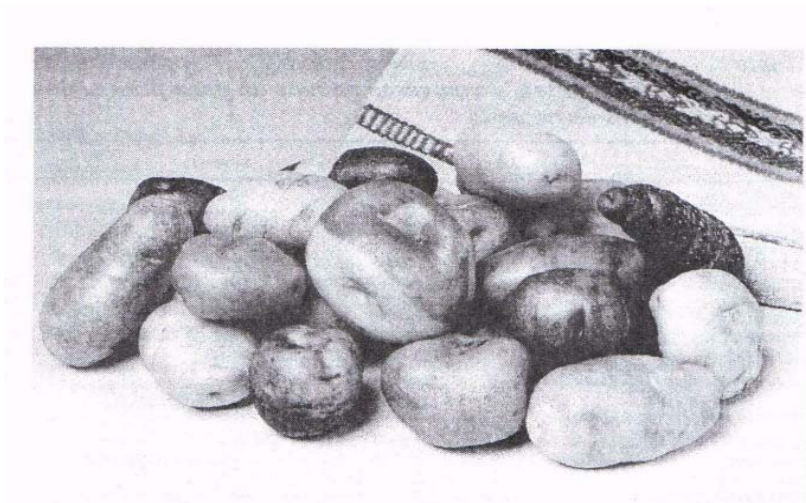


Figura 2. Muestra de tubérculos de cultivares nativos luego del proceso de limpieza viral.

Tabla 2. Análisis serológico (DAS-ELISA) pre-termoterapia de cultivares priorizados en 1992-93.

Cultivar	Virus detectados							
	PVX	PVXY**	PVY	PVA**	PVS	PLRV	APLV	ApoMV
Moroq'o Luk'i	+	+	-	-	-	-	-	-
Qetu Luk'i	+	+	-	-	-	-	-	-
Chojlla Luk'i	+	+	-	-	-	-	-	-
Majarillo	+	+	-	-	-	-	-	-
Puka Ñawi	-	-	-	-	-	-	-	-
Q'ala Ajanhuiri	-	-	-	-	-	-	+	-
Peraza Luk'i	-	+	-	-	-	-	-	-
Khuchi Sullu	-	+	-	-	-	-	-	-
Bola Luk'i	-	-	-	-	-	-	-	-
% muestra positivas	44	66	0	0	0	0	11	0

* No se hizo DAS-ELISA para PTV-p (PVV).

** Los anticuerpos en PVXY (CIP) y PVA (BIOREBA), detectan probablemente variantes andinas diferentes de PVX o PVY, y de PVY o PTV-p y no de PVA respectivamente

Tabla 3. *Porcentaje de virus detectados en 15 cultivares de papa nativa priorizados en la gestión 1994-95.*

Porcentaje de virus detectados pre-termoterapia									
Cultivares	PVX	PVXY*	PVY	PVA*	PTV-p	PVS	PLRV	APLV	ApoMV
Papa nativa	7	40	13	47	33	27	0	7	13

* Los anticuerpos en PVXY (CIP) y PVA (BIOREBA), detectan probablemente variantes andinas diferentes de PVX o PVY, y de PVY o PTV-p y no de PVA, respectivamente.

En dos de los cultivares, Bola Luk'i, y Puka Ñawi, no se detectó virus (Tabla 2). Sin embargo, estos cultivares en la zona de recolección presentan síntomas de virosis. Es probable que las plantas pre-termoterapia utilizadas en DAS-ELISA, hayan estado infectadas con PTV-p (PVV) u otras variantes de virus no detectados con los reactivos utilizados en la fase de pre-termoterapia. Luego del proceso de limpieza viral estos dos cultivares así como los otros 22, no mostraron síntomas de virosis, ni se ha detectado virus en las DAS-ELISA e inoculación en plantas indicadoras realizadas.

El método utilizado para la limpieza viral (termoterapia en plántulas y escisión de meristemas), ha tenido un 98% de eficiencia, es decir que en la mayoría de las plantas regeneradas de meristemas, al pasar por la verificación sanitaria en las dos etapas, no se detectó la presencia de virus.

Las Instituciones colaboradoras, asumieron la responsabilidad de apoyar a las comunidades interesadas en la multiplicación y manejo apropiado de los cultivares limpios a fin de mantener su calidad y su difusión.

Multiplicación y devolución a las zonas de origen de los cultivares nativos

Luego de realizada la verificación sanitaria se procedió a la multiplicación de plántulas *in vitro* de nueve cultivares limpios (priorizados en 1992-1993) (Tabla 2) para la producción de semilla prebásica en el invernadero de la Estación Experimental de Toralapa. El total de semilla prebásica obtenida fue de 40 kg (4,708 tubérculos) (Tabla 4).

Tabla 4. Rendimiento total en tamaño, número y peso de tubérculos-semilla de nueve cultivares nativos (Campaña 94-95). Invernadero E.E. Tora lapa.

Cultivar	Tamaños				No. total	Peso total (kg)
	II	III	IV	V		
Bola Luk'i	48	142	206	206	602	5.8
Chojlla Luk'i	115	163	131	131	409	2.7
Q'ala Ahanhuiri	20	129	105	135	389	4.4
Qetu Luk'i	135	340	251	251	690	4.7
Khuchi Sullu	38	77	153	148	416	2.4
Majarillo	260	370	210	210	840	5.6
Moroq'o Luk'i	111	345	500	500	956	5.2
Peraza Luk'i	15	230	225	225	470	4
Puka Nawi	50	104	123	61	336	5.2
Total					4708	40

A fin de acelerar la entrega de semilla de calidad básica de los nueve cultivares limpios, éstos fueron multiplicados en camas protegidas, tanto en la Estación Experimental Toralapa (*ex situ*) como en sus centros de recolección (*in situ*) a partir de la semilla prebásica producida en el invernadero (Figura 3). Tres cultivares fueron plantados en camas protegidas, tanto en su comunidad de recolección (*in situ*) como en la E.E. Toralapa (*ex situ*). En el caso de los seis restantes, por disponibilidad de semilla, sólo se plantaron en camas protegidas de la E. E. Toralapa. Las observaciones sintomatológicas y los análisis serológicos (DAS-ELISA) realizados no indicaron infección por virus.



Figura 3. Producción de semilla de calidad básica de un cultivar nativo limpio en una cama protegida de la comunidad de Llallagua a partir de la semilla prebásica producida en el invernadero de la E.E. Tooralapa.

Se obtuvieron mejores rendimientos *in situ* debido probablemente a factores de adaptación de los cultivares y/o a un mejor sustrato (puruma, virgen) utilizado en las camas protegidas especialmente en Japo, con relación al de la E.E. Toralapa (Tabla 5).

Tabla 5. Rendimiento en camas protegidas de cultivares de papa nativa *in situ* y *ex situ* (1995-1996).

Cultivares	<i>In situ</i>				<i>Ex situ</i>		Producción total (Kg.)
	Japo		Tapacarí		E.E. Toralapa		
	Tub./pl	Kg./m ²	Tub./pl	Kg./m ²	Tub./pl	Kg./m ²	
Puka Nawi			10	4	12	4	113
Majarillo	14	5			6	3	125
Qetu Luk'i	15-18	5			8	2	98
Moroq'o Luk'i	14-32	9			6-8	2	158
Kala Ajanhuiri					10-12	2	30
Kuchi Sullu					10-12	2	30
Peraza Luk'i					8-10	2	30
Bola Luk'i					10-12	3	45
Chojlla Luk'i					12	2	0

En esta etapa, se realizaron eventos de capacitación a 282 agricultores de las comunidades de origen: 40 agricultores líderes de Raqaypampa Provincia Mizque, 62 agricultores en Japo Provincia Tapacari, 50 agricultores en Chullina Provincia Bautista Saavedra, 45 agricultores en Maca Maca, 42 agricultores en Chontamarca Provincia Omasuyos, 40 agricultores en Ayjadera Provincia Loayza y 45 agricultores en Eucaliptos Provincia Tomás Barrón, lo que contribuyó al buen manejo de los cultivos en las camas protegidas *in situ* e incentivó la construcción por ellos mismos de más camas protegidas para la próxima campaña, a fin de acelerar la difusión de los cultivos limpios. También estuvieron motivados e interesados para una multiplicación rápida a través de brotes.

La producción obtenida fue entregada a los agricultores de Japo-Tapacari en coordinación con las instituciones que promovieron su limpieza. Se inició además con ellos un monitoreo de la semilla entregada. Esta fue manejada por familias mejoradoras de semilla de la comunidad y asociación de productores de semilla en un sistema rotativo, comprometiéndose a la devolución de un 50% más de la cantidad inicialmente entregada.

Luego la semilla de calidad básica se plantó en parcelas semilleras de agricultores, realizando una comparación con la semilla de agricultor proveniente de selección positiva y semilla del agricultor si selección positiva.

Plántulas *in vitro* de los 15 cultivos priorizados en 1994-1995 además de los nueve priorizados en 1992-1993 fueron trasplantadas a camas protegidas *in situ* o *ex situ*, a razón de 234 plántulas por cultivar a fin de acelerar su devolución; de esta manera se redujo la campaña en la devolución de semilla de calidad básica a sus centros de origen.

Para el trasplante *in situ* las plántulas fueron transportadas en sus magentas de desarrollo tomando la precaución de que el medio de cultivo esté un poco endurecido (en proceso de secamiento). El transporte tomó entre dos a tres días. *In situ* las plántulas fueron aclimatadas en las camas protegidas construidas por los mismos agricultores. El prendimiento estuvo entre el 90 al 100 %. Los rendimientos fueron mejores *in situ* dependiendo del cultivar nativo (Tabla 6).

Tabla 6. Rendimiento (Kg.) de 24 cultivos de papa nativa en camas protegidas (15 m²) *in situ* y *ex situ*, a partir de plántulas *in vitro*.

Cultivar	<i>In situ</i>						<i>Ex situ</i>	Prod. total Kg.
	Tapacarí	M i z q u e	Loayza	Omasuyos	B. Saavedra	C e r c a d o	E.Toralapa	
Pukañawi		18					12	30
Majarillo	38						14	52
Q'etu Luk'i	7						18	25
Morok'o Luk'i	10						21	31
Q'ala	21						17	38
Ajanhuiri								
Kuchi Sullu	12						22	34
Peraza Luk'i	5						23	28
Bola Luk'i	37						31	68
Chojlla Lukí	20						19	39
Sani Negra			29				12	41
Pali Rojo			29				42	71
Pali Negra			29				22	51
Milagro			59				46	105
Wila Imilla							55	55
Isla				28			32	60
Yurak Luk'i					25		25	50
Mayu Rumi							En proceso	
Yaku Imilla							38	38
Luk'i Moroq'o B.						39	24	63
Runa						48	33	81
Amarga								
Sakampaya							44	44
Pali Morado							25	25
Collareja							En proceso	
Lagmu							En proceso	
Total kg.				454			575	1.029

Toda la semilla producida en las camas protegidas fue devuelta para la multiplicación en las comunidades de origen en los departamentos de, La Paz involucradas con las instituciones CESA, ACRA, CPA, IABS; en Oruro con la institución UTO, y en Tarija con la Regional ROINPA. Los tubérculos-semillas de tamaño menor a 35 mm de diámetro fueron multiplicados en camas protegidas, y los de tamaño mayor a 35 mm de diámetro en parcelas semilleras.

Los cultivares más productivos, tanto *in situ* como *ex situ*, fueron Bola Lukí, Majarillo, y Chojlla Lukí entre los cultivares priorizados en 1992-1993 y entre los cultivares nativos priorizados en la gestión 1994-1995, estuvieron Milagro, Runa Amarga, Pali Rojo, e Isla. Los elevados rendimientos alcanzados por estos últimos cultivares incentivaron a los agricultores para construir más camas protegidas a

fin de remultiplicar la semilla producida.

Producción de semilla de calidad básica en sukakollus

En el departamento de La Paz se coordinó con la institución PROSUKO y Regional PROINPA para acelerar la multiplicación de once de los cultivares nativos para la plantación de plántulas aclimatadas en Sukakollus (Tabla 7). Los Sukakollus son camas a campo abierto para el desarrollo de plantas bordeados por surcos donde circula agua constantemente con el fin de evitar daños por heladas.

Tabla 7. Rendimiento en sukakollus de la comunidad Batallas en la provincia Los Andes del departamento Paz de cultivares de papa nativa priorizados en los años 1992-93 y 1994-95 (Campaña 1996-1997).

Cultivar	Rend. por Sukakollu (17m ²)
Qetu Luk' i	32
Bola Luk' i	42
Puka Ñawi	27
Pali Negra	18
Yaku Imilla	23
Chojlla Luk' i	34
Runa Amarga	46
Q'ala Ajanhuiri	33

Los cultivares más productivos en la campaña 1996-97 fueron los cultivares Runa Amarga, Bola Luk'i, y Chojlla Luk'i, debido a su respuesta bajo estas estructuras llamadas sukakollus, que proporcionaron una humedad apropiada para el desarrollo planta. El ensayo resultó ser una alternativa más para la multiplicación y producción de tubérculos-semillas de alta calidad bajo condiciones de alto riesgo climático especialmente de heladas y sequías.

Multiplicación en parcelas semilleros. Campaña 1996- 1997

Se identificaron parcelas semilleras *in situ* en coordinación con una institución involucrada (AGRUCO) y dirigentes de las comunidades previa reunión establecida por ellos mismos en sus comunidades de origen. Así mismo se establecieron parcelas semilleras *ex situ* en

Totora Kocha (Cerca a la E.E.Toralapa) y en la provincia Aroma con la institución (CNS). Se plantaron los nueve cultivares de la primera priorización con la semilla de calidad básica obtenida previamente en camas protegidas.

En Tapacarí participaron diferentes agricultores en ocho comunidades obteniéndose los rendimientos más altos con los cultivares Bola Luk'i, Majarillo, Kuchi Sullu y Qetu Luk'i (Tabla 8) así mismo en la provincia Aroma, se obtuvieron los mejores rendimientos con los cultivares Yacu Imilla y Wila Imilla. Lo producido en las parcelas semilleras de Totora Kocha equivale a una semilla Básica II. Se produjo un total de 3,674 Kg. de semilla de alta calidad. El área cubierta utilizada total fue aproximadamente de 0.13 ha. La producción promedio lograda (28 t/ha) impactó a los agricultores.

Tabla 8. Rendimiento (Kg.) en parcelas semilleras in situ y ex situ de 15 cultivares de papa nativa priorizados en los años 1992-93 y 1994-95

Cultivares	Provincia Tapacarí <i>in situ</i>	Provincia Aroma <i>ex situ</i>	Totora Kocha <i>ex situ</i>	Producción Total
Bola Luk'i	1,386		171	1,557
Q'ala Ajanhuiri	100		85	185
Peraza Luk'i	79		55	134
Khuchi Sullu	260		56	316
Qetu Luk'i	125		184	309
Puka Ñawi			49	49
Majarillo	279		256	535
Chójlla Luk'i	80		52	132
Morok'o Luk'i	75		170	245
Yacu Imilla		67		67
Pali Negra		32		32
Sani Negra		47		47
Wila Imilla		66		66
Total	2,384	212	1,078	3,674

Comparación *in situ* de la semilla limpia con otras calidades de semilla

Para una comparación preliminar se instalaron parcelas compuestas de tres surcos de 30 m de largo con distanciamiento de 0.65 m surcos y 0.30 entre plantas.

Se realizaron observaciones en el desarrollo del follaje, apreciándose que la semilla libre de virus (SLV) presentó un mayor desarrollo foliar (altura de planta, cobertura foliar, número de flores, longitud del pedúnculo e intensidad en el color de las hojas) en relación a la semilla proveniente de selección positiva (SSP) y la semilla del agricultor (SA).

La SLV produjo mayor número de tubérculos-semillas en relación a la SSP y a la SA. (Tabla 9). Sin embargo, el rendimiento fue similar en las comunidades de Japo Chaka Cimiento, y Japo Karacochi. En la comunidad Chaka se obtuvo una clara diferencia entre las tres calidades de semilla del cultivar Bola Luk'i donde la SLV rindió de dos a tres veces más en cuanto a número y entre el 57 al 80% más en peso, con relación a las otras dos calidades.

Es importante mencionar que cuando las parcelas con la SLV encontraban todavía en floración, las parcelas con las otras calidades de semilla ya estaban en senescencia, por lo tanto los ataques de heladas que se presentaron en este período afectaron más la producción de tubérculos de mayor tamaño y peso en las parcelas con SLV que con las otras calidades de semilla por lo tan resultados preliminares obtenidos son alentadores indicando mayor potencial productivo en la semilla libre de virus.

En otras comparaciones realizadas en la comunidad Ahyjadera (3200) de la provincia Loayza en el departamento de La Paz obtenido 19 t/ha con la semilla limpia y 9 t/ha con la semilla del agricultor, del cultivar Pali Rojo, y 18.3 t/ha con la semilla limpia y 8,6 t/ha con la semilla del agricultor del cultivar Sani Negra, en parcelas semilleros.

Tabla 9. Comparación de rendimientos de semilla libre de virus (SLV), semilla proveniente de selección positiva (SSP) y semilla del agricultor (SA.), en parcelas semilleras in situ, de dos cultivares de papa nativa priorizados en los años 1992-93. Provincia Tapacarí.

Cultivar	Comunidad	Categoría *	No de Tub/pl	Superficie M ²	Rendimiento kg
Bola Luk'i	Japo Chaka Cimiento	SLV	35-50	112	304
		SSP	20-35	112	320
		SA	20-35	112	336
Chojlla Luk'i	Japo Karacochi	SLV	28-36	55	40
		SSP	18-25	55	43
		SA	20-25	55	71
Bola Luk'i	Chaka	SLV	19-61	96	363
		SSP	19-30	96	248
		SA	20-32	96	202

* Semilla libre de virus (SLV); Semilla proveniente de selección positiva (SSP); Semilla del agricultor (SA).

Discusión

La metodología seguida ha sido altamente satisfactoria para la limpieza de 24 cultivares nativos de Bolivia pertenecientes a *S. juzepczukii*, *S. ajanhuiri*, *S. curtilobum*, *S. stenotomum*, y a *S. tuberosum* ssp. *andigena*.

La metodología de limpieza, estuvo basada en experiencias previas PROINPA (Aguirre, 1990, Valdivieso, 1994) y en un esquema de limpieza establecido en PROINPA (Villarroel et al., 1998) para la producción de semilla prebásica de los cultivares nativos de *S. tuberosum* ssp. *andigena* 'Imilla Negra', 'Sani Runa', 'Runa Redonda', 'Gendarme' y 'Wira Malcacho', así como de dos cultivares mejorados Americana y Radosa Rosada, todos ellos de alta importancia comercial en el país.

Aspecto importante en el proceso de limpieza fue el uso de anticuerpos apropiados para la detección mediante DAS-ELISA de variantes andinas de los virus comunes de la papa PVX, PVY y especialmente del PVT-p (PVV) que se presenta como el virus loablemente más importante que afecta y degenera cultivares nativos de papa de altura (Alvarez y Fernández - Northcote, 1996)

En las pruebas serológicas previas a la termoterapia se detectó que los virus más comúnmente detectados fueron aquellos cuya transmisión por contacto se conoce, como es el caso del PVX y de otros que en trabajos preliminares de PROINPA indican que probablemente también son variantes transmitidas por contacto como el PVY (variante necrótico) y el PTV-p (PVV).

En reportes previos para el Perú (Bertschinger et al., 1990) la baja detección de los virus PVX o PVY en los cultivares nativos Huayro Ccompis, podría deberse al uso de anticuerpos inapropiados para la detección de variantes andinas de dichos virus. En la zona Andina Central del Perú, en el valle del Mantaro, el virus más común en el cultivar nativo Huayro (*Solanum chaucha*) cultivado a 3,600-4,000 m fue el APLV que se transmite por contacto. No se detectó PVY, PLRV y sólo se detectó un 1% de PVX. En muestras de cultivares mejorados tomados a menor altura (3,200-3,400 m) los virus más comunes fueron también los que se transmiten por contacto PVS, y APMV. El PVY y el PLRV fueron detectados en menos de un 4%. En la zona Andina sur del Perú, en el departamento de Cusco, los virus más comúnmente detectados en el cultivar nativo Ccompis (*S. tuberosum* ssp. *andigena*) cultivado en áreas (3,200 m) donde se alterna con cultivares mejorados, fueron el PVX (43%) seguido de PVS, PVY y PLRV en menos del 20% de las muestras.

Los reportes sobre pérdidas en el rendimiento ocasionados por la infección virótica en la zona andina están referidos a cultivares mejorados cultivados por debajo de los 3,500 m donde sólo lo PVY y PLRV transmitidos por áfidos son los que afectan significativamente. Las pérdidas ocasionadas están alrededor del 50% de la producción potencial (Scheidegger et al., 1995; Iporre, et al. 1996). Pérdidas similares se han observado en el cultivar Sani Imilla en zonas de Bolivia (3,450 m) donde variantes de estos virus han sido probablemente introducidas (Benitez et al. 1997; Grover et al., 1998) y se presentan poblaciones apropiadas áfidos vectores (Buitrago et al., 1998).

Al presente, en Bolivia varios trabajos han mostrado un incremento entre el 26 al 100% en la producción, logrado con el empleo de semilla de calidad de los cultivares nativos Waycha y Sani Imilla. Estos son cultivados comúnmente hasta los 3,500 m, en donde es de esperarse un proceso de degeneración por virus transmitidos por contacto y por áfidos (Gonzáles et al., 1994; Iriarte, 1994; Wissar,

1995; Iporre et al. 1996). En el Perú los resultados obtenidos con el nativo Huayro son similares (Granados y Escalante, 1997).

La mayor parte de los cultivares que se han limpiado en el presente trabajo se cultivan a alturas superiores a los 3,500 m (3,765-4,200 m), donde el proceso de degeneración probablemente está asociado a los virus transmitidos por contacto. El PTV-p (PVV) probablemente juega un rol muy importante en la degeneración de los cultivares nativos cultivados en zonas altiplánicas.

Las pruebas para determinar el potencial productivo y la tasa de degeneración de los cultivares que fueron limpiados en comparación con la semilla degenerada del agricultor y la que en colaboración con instituciones han obtenido por selección positiva, son todavía preliminares, por cuanto los cultivares limpios están en una fase de multiplicación. Sin embargo, los resultados al presente son halagadores aún cuando es más dramático en algunos cultivares que en otros. Así, en el caso del cultivar Bola Luky se viene obteniendo un incremento en los rendimientos del orden del 80%, justificando la preocupación de los agricultores para disponer de semilla "no cansada" (no degenerada) y poder conservar sus cultivares preferidos que reúnen otras características favorables a condiciones y factores limitantes adversos que han permitido su supervivencia. No hay otros reportes en la literatura sobre el efecto benéfico de la limpieza de cultivares nativos altiplánicos.

En el caso de aquellos cultivares nativos en que el potencial productivo y rango de adaptación de la semilla limpia es mayor, es de esperar un incremento sustancial en el área dedicada a su cultivo. En efecto, se viene apreciando un creciente interés por agricultores de zonas diferentes a las del origen del cultivar nativo colectado, en los que el material limpio viene siendo evaluado por PROINPA. Tal es la experiencia previa con el cultivar Imilla Negra (Yana Imilla o Chiar Imilla) (*S. tuberosum* ssp. *andigena*), que luego de su rescate y limpieza a solicitud de las comunidades e instituciones interesadas, es un cultivar al presente inserto en el proceso formal de producción de semilla por su alta demanda (Aguirre, 1998).

Al presente, se viene observando una gran demanda para la producción *in situ* de los cultivares nativos que se han limpiado, lo cual favorecerá su conservación, contribuirá a disminuir la pérdida de biodiversidad y apoyará a una agricultura más sostenible para el bien socioeconómico de una gran masa de pequeños agricultores.

El uso de las camas protegidas (Aguilar G., 1990; Aguilera J., 1995) permitió el empleo de pequeñas cantidades de material limpio para acelerar su multiplicación a partir de tubérculos-semillas o plántulas *in vitro* protegiéndolos de condiciones adversas (principalmente heladas y granizadas) habiéndose producido 454 Kg. de semilla de alta calidad *in situ* y 575 Kg. *ex situ* en el término de dos años. Con esta semilla se ha obtenido en parcelas semilleras 2,384 Kg. *in situ* y 1,078 Kg. *ex situ*. Los sukakollus también se presentan como una buena alternativa para la multiplicación y producción de tubérculos-semillas de alta calidad bajo condiciones de alto riesgo climático. Tanto con las camas protegidas como con los sukakollus los agricultores de bajos recursos económicos pueden empezar a renovar sus cultivos degenerados empezando con pequeñas cantidades de semilla (3-5 Kg.) de alta calidad y valor económico.

Con el presente trabajo se ha logrado el rescate de 24 cultivares nativos de alta importancia local y que estuvieron en peligro de desaparecer por procesos degenerativos, por lo que las comunidades nativas y las instituciones que las apoyan solicitaron su limpieza. Su devolución a las comunidades de origen ha creado una gran expectativa entre los agricultores quienes entre los de mayor edad están apreciando las diferencias morfológicas y potencial productivo en relación a lo que tienen en proceso de degeneración, y entre los más jóvenes conociendo lo que fue común en sus ancestros, pero que dejaron de conocer por el proceso de desaparición de estos cultivares.

Agradecimiento

Los autores agradecen la asistencia de la Técnico de Laboratorio Tatiana Villafañe (PROINPA), así como al Programa Colaborativo Biodiversidad de Raíces y Tubérculos Andinos, coordinado por el CIP y Financiado por la Cooperación Suiza para el Desarrollo (COSUDE) que posibilitó la ejecución del presente trabajo.

Referencias Bibliográficas

1. Aguilar, G. 1990. Producción de semilla básica de papa en invernaderos rústicos de bajo costo. SEINPA, Puno, Perú.

2. Aguilera, J. 1995. Producción de tubérculos-semilla de papa en camas protegidas. Cochabamba, Bolivia, IBTA-PROINPA, Manual Técnico 1.
3. Aguirre, G. 1990. Culture de meristemes et Thermotheapie de varietes boliviennes de *Solanum tuberosum* L. spp. *andigena*, *Ullucus tuberosus* (Lind.) et *Oxalis tuberosa* (Mol.) en vue de leus assainissement virologique. Tesis M.Sc. Faculté de Sciences Agronomiques. Gembloux, Bélgica.
4. Aguirre, G.; Villarroel, C.L 1998. Contribución a la difusión de cultivares de papa de alta importancia comercial en Bolivia. Página 222 en: Compendio de Exposiciones XVIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de la Papa. Febrero 9-13,1998. Cochabamba, Bolivia.
5. Álvarez, V.; Fernández-Northcote, E.N. 1996. Natural occurrence of Perú Tomato Virus potato strain (PTV-p) in Bolivian native potato cultivars. Abstracts of Conference Papers, Posters and demonstrations. 13 th Triennial Conference of the European Association for Potato Research. July 14-19, 1996. Veldhoven, the Netherlands.
6. Badani, A. G.; Iriarte, V.; Villarroel, C. L.; Aguirre, G.; Fernández-Northcote, E. N. 1996. Priorización y limpieza viral de cultivares de papa nativa. En: Memorias de la IV Reunión Nacional de la Papa. Octubre 8-11,1996. Cochabamba, Bolivia.
7. Benítez, E.; Iporre, G.; Alvarez.V.; Fernández-Northcote, E.N. 1997. La enfermedad planta morada en las zonas productoras de papa en Potosí, Bolivia. En: Libro de Resúmenes IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Octubre 12-17, 1997. Montevideo Uruguay.
8. Bertschinger, L.; Scheidegger.U.; Luther, K.; Pinillos.O.; Hidalgo, A. 1990. La incidencia de virus de papa en cultivares nativos y mejorados en la Sierra Peruana. Revista Latinoamericana de la Papa 3(1):62-79.
9. Bojanic, A. 1995. Sondeo sobre demanda nacional de semilla de papa para el sector formal y su pertinencia para la UPS/SEPA. Informe. Cooperación Técnica Suiza. La Paz, Bolivia.
10. Canaviri, M. 1995. Uso de brotes como alternativa para incrementar las unidades de siembra y la multiplicación de semilla de papa en campo y camas protegidas Tesina Tec. Agr. Universidad Mayor de San Simón.

11. Fernández-Northcote, E.N., 1992. Importancia de los virus en la producción de la papa. En: Memorias II Reunión Nacional de la Papa. Noviembre 1992. Cochabamba, Bolivia.
12. Gonzales, S.; Devaux, A.; Fernández-Northcote, E.N.; Alvarez, V., 1994. Evaluación agronómica de la semilla certificada bajo condiciones de producción de agricultores. En: Compendio de exposiciones III Reunión Nacional de la Papa. Septiembre 20-23 1994. Cochabamba, Bolivia.
13. Granados, C.; Escalante, B. 1997. Eficiencia de la erradicación de virus en el rendimiento de variedades nativas de papa (*Solanum tuberosum* L.) a nivel de campo en Cajamarca. En: Libro de Resúmenes. IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos. Abril 22-25 1997. Cusco, Perú. p. 71.
14. Horton, D. 1992. La Papa: Producción, Comercialización y Programas. CIP, Lima y Hemisferio Sur, Montevideo.
15. Iporre, G.; Alvarez, V.; Fernández-Northcote, E.N. 1996. Determinación de la tasa de degeneración de cultivares y clones promisorios en las pampas de Lequesana, Potosí. En: Compendio de Exposiciones, IV Reunión Nacional de la Papa Octubre 08-11.1996. Cochabamba, Bolivia.
16. Iporre, G.; Alvarez, V.; Fernández-Northcote, E.N. 1998. Como reconocer y evitar la planta morada en el cultivo de la papa. Serie Ficha Técnica 9/98, Fitopatología, PROINPA.
17. Iriarte, V. 1994 Evaluación de la degeneración del tubérculo semilla de papa del cultivar Waycha en la provincia Arani. En: Compendio de Exposiciones III Reunión Nacional de la Papa. Septiembre 20-23, 1994. Cochabamba, Bolivia.
18. Iriarte, V.; Aguirre, G.; Villarroel, C. L.; Badani, A. G.; Fernández-Northcote, E. N. 1998. Recuperación y Producción de cultivares nativos de papa en Bolivia. En: Compendio de Exposiciones Reunión de la Asociación Latinoamericana de la Papa. Febr 13, 1998. Cochabamba, Bolivia.
19. Iriarte, V.; Badani, A. G.; Villarroel, C. L.; Aguirre, G.; Fernández-Northcote, E. N. 1996. Producción de semilla de calidad básica de cultivares nativos de papa libres de virus en camas protegidas En: Memorias de la IV Reunión Nacional de la Papa. Octubre 11,1996. Cochabamba, Bolivia.

20. Valdivieso, R. 1994. Obtención de cinco cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.) libres de patógenos mediante cultivo de meristemas y termoterapia *in vitro*. Tesis Ing. Agr. Universidad Mayor de San Simón.
22. Villarroel, C.L.; Aguirre, G.; Fernández-Northcote, E.N. 1998. Proceso de limpieza viral establecido en PROINPA. En: Compendio de Exposiciones XVIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de la Papa. Febrero 9-13, 1998. Cochabamba, Bolivia.
23. Scheidegger, U.; Bertschinger, L.; Luther, K.; Pinillos O.; Muñoz, J.; Hidalgo, A. 1995. El efecto de diferentes virus sobre el rendimiento potencial de la papa en la sierra central del Perú, Revista Latinoamericana de la papa. 7/8(1):25-35.
24. Wissar, R. 1995. Producción de tubérculos-semilla de papa con pequeños agricultores en la región de Potosí- Bolivia. Revista Latinoamericana de la Papa. 7/8(1):1-15.
25. Zeballos, H. 1997. Aspectos económicos de la producción de papa en Bolivia. COSUDE-CIP, Lima, Perú.