

Banco de Germoplasma Activo de Frutilla (BGA): Modalidades de Conservación.

Arias, Marta Eugenia^(1,2); Lemme, María Cecilia⁽³⁾;
Debes, Mario Alberto⁽²⁾; Diaz, Marisa⁽³⁾; Salazar, Sergio Miguel⁽⁴⁾;
Luque, Ana Catalina⁽²⁾; Castagnaro, Atilio Pedro⁽³⁾ y
Juan Carlos Diaz Ricci⁽³⁾

1: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Catamarca (UNCa).

2: Facultad de Ciencias Naturales e I.M.L - Universidad Nacional de Tucumán (UNT).

arias@csnat.unt.edu.ar

3: Instituto Superior de Biología (INSIBIO-CONICET).

4: Facultad de Agronomía y Zootecnia – UNT. Correo postal: Miguel Lillo 205 (4000) Tucumán.

Active Germplasm Bank of Strawberry (BGA): Conservation Modes

Abstract

The BGA maintains different genotypes related to the cultivated strawberry *Fragaria x ananassa*, that belong to the species: *Duchesnea indica* (two botanical forms: *indica* and *albocapout*) *Duchesnea chrysantha*, *Potentilla tucumanensis*, *Fragaria chiloensis*, *Fragaria vesca*, *Fragaria virginiana*, and numerous cultivars and hybrids of *Fragaria x ananassa*. The main objectives of BGA are: to maintain biodiversity, conserve genotypes for breeding programs and enable the development of many research lines (graduate, post-graduate and post-doctoral thesis). The BGA uses three conservation modes: 1) *in vitro* multiplication of materials under laboratory conditions, 2) *in vivo* multiplication -in Fitotrón- under controlled conditions and 3) *in vivo* multiplication, under nursery in field conditions. The *in vitro* multiplication is carried out from apices of stolons under sterile conditions, in glass bottles using two different media: agar with salts for rooting and agar with hormones for vegetal multiplication. In Fitotrón, the material multiplied *in vitro* is removed from the artificial substrate and treated with contact fungicide by immersion, then transferred to a sterile growth substrate soil/ perlome (2:1). Seedlings of 3 cm diameter wells were used and placed in larger trays (containers). Watering is carried out every 48 hours with distilled water making a film of 1 cm at the base of the tray. Trays are then covered with paper film for 30 days to preserve dehydration stress of seedlings. After that, trays are uncovered gradually for rustication of seedlings. They were then transplanted to individual pots with substrate: soil/perlome (2:1). The conditions of the Fitotron pots are regulated for stolonization (16 hours light and 28° C). Stolons with 2 leaves completely unfolded, are used for agamic propagation. The material is conserved in field in two forms: in shadow (mother collection) and greenhouse (work collection). The first form permits a better approximation to natural conditions. Plants are transferred to

individual 250 cm² quarries, direct to ground and separated 40-50 cm from one quarry to the other.

The mother plants of the collection remain under shadow over the year and as they get old and weak they are replaced by new plants of the same genotype (obtained by agamic multiplication). The plants of the work-collection are placed in 40 cm x 40 cm deep pots in substrate soil/perlome (2:1). In summer, the pots are transferred to the shadow to avoid excessive dehydration. These types of conservation enable keeping several replicas of the vegetal material and ensuring the preservation of genotypes in the BGA.

Key words: Conservation, biodiversity, strawberry germoplasm, *Fragaria*, *Duchesnea*, *Potentilla*.

Resumen

El BGA conserva diferentes genotipos relacionados con la frutilla cultivada *Fragaria x ananassa*; estos corresponden a las especies: *Duchesnea indica* (con dos formas botánicas: *indica* y *albocapout*), *Duchesnea chrysantha*, *Potentilla tucumanensis*, *Fragaria chiloensis*, *Fragaria vesca*, *Fragaria virginiana*, y numerosos cultivares e híbridos de *Fragaria x ananassa*. Los objetivos principales del BGA son: mantener la biodiversidad, conservar genotipos de interés para programas de mejoramiento y posibilitar el desarrollo de diversas líneas de investigación (tesis de grado, post-grado y post-doctorales). El BGA utiliza tres modalidades de conservación: 1) material *in vitro*, bajo condiciones de laboratorio; 2) material *in vivo*, bajo condiciones controladas de Fitotrón y 3) material *in vivo*, bajo condiciones de vivero a campo. El material *in vitro* se propaga a partir de ápices de estolones, bajo condiciones de esterilidad, en frascos de vidrio con 2 medios diferentes: agar enriquecido con sales para enraizar y agar más hormonas para multiplicar. En Fitotrón, el material es removido del sustrato artificial y colocado en un baño con fungicida de contacto; seguidamente es transferido a un sustrato de crecimiento de tierra estéril/perlome (2:1). Como soporte se utilizan bandejas (plugs) de celdas de 3 cm de diámetro, colocadas en bandejas mayores (contenedoras). El riego se realiza cada 48 hs, con agua destilada logrando una película de 1 cm en la base del plug; las bandejas son cubiertas con papel film durante 30 días para garantizar el estado hídrico de las plántulas. Durante los 15 días siguientes, las bandejas son destapadas paulatinamente permitiendo la rusticación de las plántulas; luego son transplantadas a macetas individuales de 9 cm de diámetro con sustrato: tierra/perlome (2:1). Las condiciones del Fitotrón, 16 hs de luz y 28°C, están reguladas para favorecer la estolonización. Cuando los nudos de los estolones presentan 2 hojas completamente desplegadas, son fijados para propagar agámicamente dichas plantas. El material a campo se conserva en sombráculo (colección madre) y en invernadero (colección de trabajo). El primero, permite una mejor aproximación a las condiciones naturales. Las plantas son colocadas en canteros individuales de 250 cm², a suelo directo, distanciado 40-50 cm de otros canteros. Las plantas de la colección madre permanecen todo año en el sombráculo, a medida que van envejeciendo y perdiendo vigor, son reemplazadas por nuevas plantas del mismo genotipo (obtenidas por reproducción agámica). Las plantas de la colección de trabajo son colocadas en macetas de 40 cm de diámetros x 40 cm de profundidad en un sustrato de tierra-mantillo/perlome (2:1). Esto permite manipular libremente dichos genotipos sin necesidad de recurrir a

plantas de la colección madre. En época estival, las macetas son trasladadas al sombráculo para evitar la deshidratación excesiva. Estas modalidades de conservación permiten tener varias réplicas del material vegetal asegurando la preservación de los genotipos en el BGA.

Palabras clave: Conservación; Biodiversidad; Germoplasma de frutilla; *Fragaria*; *Duchesnea*; *Potentilla*.

Introducción

Los bancos de germoplasma, también llamados “Centros de Recursos Genéticos”, aspiran a proteger especies de interés que satisfagan tanto una demanda actual, como así también, aquellas que aún no presentan características de uso inmediato y que tal vez podrán en un futuro ser consideradas valiosas. Entre las especies preservadas, normalmente se incluyen: cultivos alimenticios económicamente importantes, plantas hortícolas, forrajeras, medicinales, árboles, entre otras. Los recursos genéticos destinados a alimentación y agricultura, incluyen la diversidad del material genético contenido en variedades tradicionales y modernas, como así también el existente en las especies silvestres relacionadas. El término “recurso genético” implica que el material posee algún valor económico o utilitario y el mismo radica en que la diversidad genética se utiliza para generar nuevas variedades con altos rendimientos o características específicas de importancia económica (Claussen, A.M; Ferrer, M.E.; Cámara Hernández, J. 2005). Argentina cuenta con importantes cultivos (como papa, maíz, maní, poroto, mandioca, batata, ajíes, especies forrajeras y ciertas especies de interés local, entre otros) que manifiestan una amplia variabilidad genética en sus poblaciones y/o en especies silvestres emparentadas, como consecuencia de sus variados ecosistemas y ambientes (<http://www.vaca.agro.uncor.edu/~mejogeve/Bancos.pdf>).

El riesgo de extinción de los recursos genéticos frente a la presión demográfica, la creciente degradación del medio ambiente y la amenaza de reemplazo por el avance de la agricultura moderna (con elevados niveles de producción sobre una agricultura de subsistencia) condujo al desarrollo de estructuras nacionales organizadas de conservación (Bancos de Germoplasma, Jardines Botánicos, Colecciones, etc.).

En las décadas del 30 y 40 se inicia la organización de colecciones de germoplasma, intensificándose en la década del 50. En los años 60 y 70 el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), crea los bancos de germoplasma de maíz en la EEA Pergamino y de papa en la EEA Balcarce, respectivamente. Estas acciones fueron contemporáneas con actividades de conservación iniciadas por FAO (Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), IPGRI (Instituto Internacional de Recursos Genéticos de Plantas) y CGIAR (Grupo Consultivo para la Investigación Agrícola Internacional), en el ámbito mundial. En Argentina, en 1994 se crea la Red de Bancos de Germoplasma de INTA con estrategias básicas de conservación *ex situ* (conservación de semillas, órganos vegetativos y colecciones vivas a campo). Con el objetivo de preservar germoplasma vegetal se han creado además, Bancos y Jardines Botánicos pertenecientes a diferentes Universidades, Institutos y Fundaciones.

En la década del 90 y en el marco del Programa Nacional de Mejoramiento Genético de Frutilla (Pro/Frutilla), se crea con un enfoque interdisciplinario, el Banco de Germoplasma Activo de Frutilla (BGA). En el BGA, el germoplasma es caracterizado siguiendo un enfoque botánico, genético, molecular, fitopatológico y agronómico; actualmente el 80 al 90% de las accesiones están caracterizadas, habiéndose detectado distintos grados de resistencia a patógenos fúngicos; esta información se encuentra documentada y almacenada en la base de datos de un sistema informático (DBGERMO), diseñado especialmente para Bancos de Germoplasma. El BGA representa un referente nacional y regional (único en Latinoamérica) del germoplasma de frutillas, con accesiones provenientes de diferentes sitios del país (colectas a campo, viveros) y del exterior (bancos de semilla de frutilla de USA y Japón), inventariadas con sus datos correspondientes de recolección, procedencia, caracterización botánica, pedigree, etc. (Arias M., *et al.* 2006). Las especies conservadas en este banco son: *Duchesnea indica* (Andrews) Focke (con dos formas botánicas: *indica* y *albocapout*), *Duchesnea chrysantha* (Zoll. & Moritzi) Miq., *Potentilla tucumanensis* Castagnaro & Arias, *Fragaria chiloensis* (L.) Duchesne, *Fragaria vesca* L., *Fragaria virginiana* Duch., y numerosos cultivares de *Fragaria x ananassa* Duch. Desde su inicio, el BGA surge con un doble propósito: 1)- Preservar y mantener la biodiversidad existente en frutillas a partir de material genético de variedades cultivadas (tradicionales, en uso y

en desuso) y de especies silvestres relacionadas, y 2)- Obtener, a partir de su programa de mejoramiento, nuevos cultivares adaptados a la región. En la actualidad, el BGA provee material vegetal para diferentes líneas de investigación (estudios de grado, post-grado y post-doctorales), y conserva y multiplica los genotipos empleados en bioensayos y programas de mejoramiento.

Materiales y Métodos

El Banco de Germoplasma Activo de frutilla está conformado por tres tipos de instalaciones; la primera de ellas, corresponde a módulos de campo (sombráculo e invernadero) emplazados en predios de la finca experimental “El Manantial”, de la Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Nacional de Tucumán (FAZ-UNT). Las otras dos instalaciones, corresponden a laboratorios especiales, ubicados en dependencias de la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia de la UNT y del Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO, UNT-CONICET). La correcta articulación y arbitraje entre las diferentes unidades del BGA, posibilita y garantiza la adecuada conservación del germoplasma. Existen cuatro modalidades de conservación:

1. Material *in vitro*, bajo condiciones de laboratorio. (ver Lámina 1).
2. Material *in vivo*, bajo condiciones de laboratorio (Fitotrón) (ver Lámina 1).
3. Material *in vivo*, bajo condiciones de vivero a campo (ver Lámina 2).
4. Semillas, bajo condiciones de bajas temperaturas.

1. Material *in vitro*

En el laboratorio de cultivos *in vitro* de INSIBIO, ubicado en la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), el material vegetal es propagado y saneadas por cultivo “*in vitro*” de meristemas de ápices de estolones (Vellicce *et al.*, 2003). Los estolones seleccionados para multiplicación, son obtenidos a partir de ejemplares de una colección madre; eventualmente, también pueden ser provistos por plantas del Fitotrón. El

procedimiento de micropropagación de frutilla, se lleva a cabo en tres etapas: iniciación, multiplicación y enraizamiento.

Iniciación:

- *Desinfección:* primeramente, los estolones son lavados con agua corriente con unas gotas de detergente y enjuagando varias veces. Luego, en el flujo laminar, son colocados en frascos de vidrio (limpios) que contienen alcohol 70° durante 1-2 minutos; seguidamente se descarta el alcohol y se coloca lavandina al 10 % y se deja reposar durante 10-15 minutos. Finalmente, se enjuagan 3 veces con agua destilada estéril y se dejan en agua para evitar su deshidratación.

- *Obtención de meristemas:* bajo la lupa y en el flujo, se coloca un estolón en una caja de Petri estéril y cuidadosamente con bisturí se extraen las hojas y pelos hasta obtener el meristema. Luego se implanta el meristema en un tubo que contiene medio de iniciación, y se procede a tapar con film y rotular el envase. El medio de iniciación corresponde a agar enriquecido con sales minerales (NH_4NO_3 , KNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , Na-Fe-EDTA, CaNO_3 , KCl y Micronutrientes), compuestos orgánicos (Hidratos de carbono: sacarosa, vitaminas y azúcar-alcohol: Myo-Inositol) y hormonas (Auxinas, Citoquininas y Giberelinas). Aproximadamente 30 días después, este meristema dará lugar a una pequeña planta que será transferida a un medio de multiplicación. Condiciones de cultivo: 28° C y fotoperíodo de 16 horas de luz (4000 lux) / día.

Multiplicación:

Una vez que se transfiere la planta al medio de multiplicación, se deben realizar repiques periódicos durante intervalos de 1 mes aproximadamente. El número de multiplicaciones que se realicen dependerá de la cantidad de plantas que se deseen obtener, siendo aconsejable no realizar más de 5 multiplicaciones. Procedimiento: se toma con una pinza un grupo de plantas y colocar en una caja de Petri; luego se dividen cuidadosamente las plantas con ayuda de pinza y bisturí. Finalmente, se las plantas se colocan en frascos con medio de multiplicación fresco, tapan con film y rotulan. El medio de

multiplicación es un medio N₃₀K, con sales minerales (NH₄NO₃, KNO₃, MgSO₄.7H₂O, KH₂PO₄, Na-Fe-EDTA, CaNO₃, KCl y Micronutrientes), compuestos orgánicos (Hidratos de carbono: sacarosa, vitaminas y azúcar-alcohol: Myo-Inositol) y hormonas (Citoquininas). Condiciones de propagación iguales a las arriba mencionadas.

Enraizamiento:

Luego de 4 multiplicaciones, las plantas son transferidas a frascos que contienen medio de enraizamiento. En ellos, se las dejará 30 días y finalmente se las transferirá al Fitotrón para ser rusticadas.

2. Material *in vivo* (en Fitotrón)

En el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales y transgénesis -Fitotrón- “Dra. Hortensia Moreno de Zarbá”, ubicado en la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia - UNT, tiene lugar el crecimiento y la rusticación de los plantines propagados *in vitro*. Este laboratorio presenta 2 cámaras en cuyo interior se disponen estanterías metálicas con tubos fluorescentes en la parte superior de cada estante (4 tubos de 40 Wats). Los tubos constituyen la fuente luminosa necesaria para alcanzar el fotoperíodo, se trabaja con una intensidad lumínica de 4200 lux (medido con luxómetro de mano). En Fitotrón, el material obtenido *in vitro* (5 plantines por frasco) es removido del sustrato artificial, lavado y colocado en un baño con fungicida de contacto; luego, el material es transferido a un nuevo sustrato de crecimiento, constituido por tierra estéril y perlome (sustrato inerte) en una proporción 2:1. La tierra utilizada es esterilizada en autoclave a 1 atmósfera de presión, durante 20 minutos. Las plantas son colocadas en bandejas (Plugs) con celdas de 3 cm de diámetro, y ellas a su vez, en bandejas mayores (contenedoras) que facilitan su manipulación. El riego se realiza cada 48hs, con agua destilada logrando una película (aproximadamente 1 cm) sobre la base del plugs; las bandejas contenedoras son cubiertas con papel film durante 30 días para garantizar el estado hídrico de las plántulas. Durante los 15 días siguientes, las bandejas son destapadas paulatinamente permitiendo la rusticación de las plántulas; luego son transplantadas a macetas individuales de PVC de 9 cm de diámetro con sustrato: tierra estéril/perlome (2:1). Las condiciones del Fitotrón están

reguladas para favorecer la estolonización (16hs de luz y 28° C), lo que permite producir nuevo material por multiplicación vegetativa, como así también nuevos recursos para propagación *in vitro*. La propagación agámica de dichas plantas se realiza a partir de la fijación de estolones (nudos radicantes), cuando estos presentan 2 hojas completamente desplegadas.

En Fitotrón, también tiene lugar la germinación de aquenios híbridos obtenidos por cruzamiento y la evaluación de las plántulas respectivas. Previo a la siembra, se realiza una escarificación química de los aquenios con ácido sulfúrico y sucesivos lavados con agua destilada (lavaje por inversión). La siembra se realiza en bandejas (Plugs) que contienen un sustrato conformado por tierra estéril y perlome (2:1). Esta metodología presenta dos ventajas con respecto a la técnica "*in vitro*" (Terada *et al.*, 1998): es más económica y evita el engorroso proceso de aclimatación. Una vez completada esta etapa se procede al tamañado del material en macetas.

Tratamientos fitosanitarios: El material vegetal recibe aplicaciones cada 15 días (dosis 1c/l) de productos acaricidas para evitar la ocurrencia de "arañuelas" (ácaros del género *Tetranychus* sp) que afectan la calidad de las plántulas.

3. Material *in vivo*

El material se conserva en dos tipos de instalaciones: A)- Sombráculo y B)- Invernadero. El primero, permite una mejor aproximación a las condiciones naturales de desarrollo y crecimiento de estas plantas. Los genotipos contenidos en él, constituyen la "Colección Madre" del BGA. Al incorporarse nuevas accesiones a la colección, las mismas son colocadas directamente en canteros individuales de 250 cm², a suelo directo, distanciado 40-50 cm unos de otros. Las plantas de la colección madre permanecen todo año en el sombráculo; a medida que van envejeciendo y perdiendo vigor, éstas son reemplazadas por nuevos ejemplares obtenidos por reproducción agámica. Esto permite mantener en forma activa y de manera invariable cada uno de los genotipos de la colección madre. La segunda, el invernadero, constituye una valiosa herramienta para el manejo de las accesiones, tanto para su mantenimiento, como así también para el empleo de las mismas en ensayos de mejoramiento vegetal. Los genotipos ubicados en dicha instalación, constituyen las réplicas de trabajo. Estos ejemplares se obtienen por

reproducción agámica de plantas de la colección madre. Una ventaja importante de estas réplicas, es que permiten manipular libremente los genotipos sin necesidad de recurrir a plantas de la colección madre. Estos ejemplares son colocados en macetas individuales de 30 x 40 cm (diámetro/profundidad), con sustrato de tierra/perlome (2:1) o tierra/mantillo (2:1) y su correspondiente identificación. Las condiciones de invernadero permiten prolongar las etapas de crecimiento vegetativo y reproductivo de las accesiones, incrementando consecuentemente la estolonización, la floración y la fructificación de las mismas.

Los genotipos de la colección madre y los correspondientes a las réplicas de trabajo, son periódicamente controlados y saneados mediante aplicaciones periódicas de productos debidamente seleccionados, de acuerdo al siguiente plan fitosanitario:

- Fungicida - insecticida: Mancozeb; Dosis: 2 g/l.
- Fungicida: Oxicloruro de Cobre; Dosis: 2 g/l.
- Fungicida (de contacto): Captam; Dosis: 2 g/l.
- Fungicida (sistémico): Carbendazin; Dosis: 1 cc/l
- Insecticida-acaricida: Clorpirifós; Dosis: 1cc/l. (refuerzos: 0,75 cc/l).
- Fertilizante foliar (aporte de Nitrógeno): Yoguen I; Dosis: 2 g/l.
- Insecticida - Hormiguicida: Mirex; (granulado).

• *Colecta de nuevo material:* al momento de seleccionar sitios de procedencia de nuevas accesiones, se establecieron dos premisas: 1) que el lugar de estudio presente ciertas particularidades ecológicas, 2) que no coincida con puntos de recolección de otros ejemplares ya incorporados al BGA. Para ello, previo a los viajes de colecta, se realizan estudios zonales de distribución, determinando áreas faltantes en la colección madre y áreas propensas a la pérdida de habitats/especies (por fotointerpretación); también se recopila información mediante entrevistas y consultas a pobladores del lugar, turistas, profesionales y público en general. El material colectado, previamente seleccionado, es ingresado en forma provisoria a los módulos de campo del BGA.

- *Obtención de híbridos*: estas prácticas forman parte de los objetivos no sólo del programa de mejoramiento vegetal del BGA, sino también, de líneas de investigación específicas de grado y postgrado.

Los ensayos de cruzamientos entre diferentes genotipos son llevados a cabo en el invernadero, a partir de material perteneciente a las réplicas de trabajo. Los cruzamientos sexuales se realizan siguiendo un esquema de selección recurrente entre los cultivares comerciales (Castagnaro *et al.*, 2004).

- *Protocolo de cruzamiento*: consiste en la emasculación del botón floral (eliminación de estambres, sépalos y pétalos) del ejemplar escogido como progenitor femenino y su posterior cobertura durante 72hs. (para evitar la caída de polen foráneo y favorecer la maduración del gineceo). Al cabo de este período, se realiza la polinización del pimpollo emasculado con polen de la planta seleccionada como progenitor masculino. 48hs post-polinización se remueven los pistilos para análisis pre-cigótico. A los 7 días, se verifica la formación del fruto (cuajado) que es cosechado entre los 21 y 30 días post-polinización. Los aquenios híbridos son extraídos a la madurez del fruto para su posterior germinación.

- *Propagación agámica*: tiene por objeto multiplicar las plantas antes de su evaluación. En esta etapa se realiza la primera selección del Pro/Frutilla, descartando todo genotipo híbrido que produzca menos de 20 plantines hijos (1º Etapa de Evaluación y Selección Clonal, ESC).

- *Desarrollo de las etapas de evaluación y selección clonal*: estas etapas se llevan a cabo con diferentes condiciones agro-ecológicas para la producción de fruta. La selección en la primera etapa se realiza en base a características cualitativas de la fruta y por resistencia a enfermedades bajo inoculación artificial en condiciones de campo. La segunda etapa involucra una evaluación cuantitativa de las propiedades productivas de los clones (Salazar *et al.*, 2007). La tercera y última etapa, consiste en la realización de ensayos comparativos de rendimiento en al menos dos localidades y en la evaluación de resistencia bajo condiciones controladas. Se evalúan componentes asociados al rendimiento total de plantas: peso y número de frutos de calidad comercial

(fruto ≥ 10 g), descarte por planta y peso medio de los mismos (Julio-
Noviembre).

Se evalúa también la calidad de fruta, determinando: firmeza, color externo e interno, acidez, °Brix y peso medio del fruto (tomando muestras al azar).

4. Semillas

Una cuarta modalidad de conservación es llevada a cabo en el BGA para una de sus accesiones, *Potentilla tucumanensis*, cuyo ciclo de vida es anual y por lo cual, la manutención de su germoplasma *in vivo* resulta dificultosa. En este caso puntual, el BGA conserva las semillas de dicha accesión (obtenidas a la madurez de sus frutos) a temperaturas de 4°C.

Resultados

El material conservado bajo condiciones de Fitotrón corresponde a: 12 variedades de *Fragaria x ananassa* (Red Chief, Milsey Tudla, Aroma, Chandler, Pájaro Cafayate, Pájaro Mendoza, Seascape, Trensure, Camarosa, Camino Real, Calciant, Ventana), 9 series de híbridos intra e inter-específicos (series: 96/6-5, 96/6-6, R5 A₁, R56 A₁, A R56₁, A R64₁, A R79₁, R64 A₁ y R67 A₁) y 3 especies silvestres (*Fragaria virginiana*, *Duchesnea indica* y *D. chrysantha*).

En la colección madre del BGA se conservan las siguientes accesiones: *Fragaria vesca* (2), *F. chiloensis* (1), *F. virginiana* (1), *Fragaria x ananassa* (22 cultivares diferentes), *P. tucumanensis* (1), *Duchesnea chrysantha* (1), *D. indica* (13), *D. indica* f. *albocapout* (1), clones híbridos (19).

Con respecto al Programa de mejoramiento vegetal, anualmente, se realizan numerosos cruzamientos entre los genotipos conservados en el BGA.

Se ha logrado también un protocolo para cada una de las modalidades de conservación existente en el BGA, ajustados a las necesidades de cada genotipo de frutilla y especies relacionadas.



Laboratorios de tejidos *in vitro*.



Laboratorio de tejidos *in vivo*, con condiciones controladas - Fitotrón.

Lámina 1: Laboratorio del Banco de Germoplasma Activo de Frutilla



Genotipos de la Colección madre.



Duchesnea indica



Potentilla tucumanensis



D. crhyantha.



Fragaria x ananassa.



F. vesca.

Lámina 2: Sombráculo del Banco de Germoplasma Activo de Frutilla



Genotipos de las réplicas de trabajo y clones promisorios.



Detalle réplica de trabajo

Híbrido intraespecífico



Práctica de cruzamiento; secuencia de realización.

Lámina 3: Invernadero del Banco de Germoplasma Activo de Frutilla

Discusión y Conclusión

Las modalidades de conservación existentes en el BGA permiten tener varias réplicas del material vegetal, asegurando con ello, la preservación de los genotipos contenidos en sus colecciones. El invernadero y el sombráculo, constituyen óptimas instalaciones para la conservación activa de germoplasma de frutilla. Los efectos adversos de las bajas temperaturas durante el período invernal, son atenuados por las condiciones de invernadero; sin embargo, las condiciones suministradas por el sombráculo son más apropiadas para el período estival, (cuando las condiciones en el invernadero deben ser continuamente reguladas para evitar la deshidratación).

El BGA conserva entre sus accesiones, genotipos considerados de gran interés por tratarse de: A)- *Potentilla tucumanensis*, una nueva especie silvestre, reportada como endémica para nuestra región; B)- *Duchesnea indica* f. *albocapout*, una nueva variedad para Argentina, recolectada en 1995 en la localidad de Raco - Tucumán (y que pese a numerosos viajes de colecta, no ha sido hallada hasta la actualidad); C)- Híbridos intra e inter-específicos obtenidos por cruzamiento (cinco de los cuales se encuentran en la última etapa de evaluación para ser caracterizados según los descriptores del Instituto Nacional de Semilla (INASE). Algunos genotipos del BGA, han sido depositados en el herbario de la Fundación Miguel Lillo (LIL), como un registro que documenta la existencia de ellos en su sitio original de donde fueron recolectados. Actualmente, debido a la envergadura de las colecciones del BGA y al marcado crecimiento por incorporación de nuevos genotipos silvestres y clones promisorios, está siendo gestionada la institucionalización del Banco de Germoplasma Activo de frutilla en la Universidad Nacional de Tucumán (Arias *et al* 2007).

Bibliografía

1. Arias M., Salazar S., Kirsbaum D., Castagnaro A.P. y Díaz Ricci J.C. 2006. Banco de germoplasma de frutilla. XXIX Congreso Argentino de Horticultura. I Simposio Internacional de Nogalicultura. I Simposio Internacional de Olivicultura y III Simposio Latinoamericano de Producción de Plantas Aromáticas, Medicinales y Condimentarias. Realizado desde el 20 al 23 de Septiembre en Catamarca.
2. Arias M.E. 2007. Frutillas silvestres y especies relacionadas con la cultivada. Ed. UNT. ISBN: 978-950-554-527-8.
3. Castagnaro, A.P., Salazar, S.M.; Zembo, J.C. y Díaz Ricci, J.C. 2004. Aproximación biotecnológica integrada para un manejo sustentable del estrés biótico en frutilla. En *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal*. Editores Dra. Viviana Echenique, Dra. Clara Rubinstein e Ing. Agr. Luis Mroginski. Ed. INTA. Cap. 13, III: 367-372.
4. Clausen A.M., Ferrer, M.E., Cámara Hernández, J. 2005. El valor de la conservación de los recursos genéticos vegetales cultivados de papa y maíz. Actas XXXIV Congreso Argentino de Genética: 57-58. En: Revista Sociedad Argentina de Genética. Vol. 17 (Suplemento). Ed.: Sociedad Argentina de Genética. Bs. As. ISSN: BAG 1666-0390.
5. Salazar S.M.; Mariotti Martínez J.A.; Jeréz E.F.; Kirschbaum D.S., Díaz Ricci J.C. y Castagnaro A.P. 2007. Evaluación del rendimiento de clones híbridos de frutilla (*Fragaria x ananassa* Duch.) a lo largo del ciclo productivo en el subtropical de Argentina. XXIV Jornadas Científicas de la Asociación de Biología de Tucumán (ABT). Tafí del Valle, Argentina.
6. Terada G., Flachsland E., Vellicce G., Scocchi A., Salazar S., Cancelarich S., Filippone P., Mroginski L. y Castagnaro, A.P. 1998. Obtención de plantas de frutilla a partir de aquenios, micropropagación y criopreservación. IX Congreso Latinoamericano de Horticultura. Santiago, Chile.
7. Vellicce G.R., Coll Y., Castagnaro, A.P. y Díaz Ricci, J.C. 2003. Transformation of a strawberry cultivar using a modified regeneration medium. HortScience 38: 277-280.
8. **Sitio Web:** <http://www.vaca.agro.uncor.edu/~mejogeve/Bancos.pdf>.