



Alliance



# La propagación in vitro: Conceptos básicos y aplicaciones.

**Roosevelt H. Escobar Pérez**  
Asociado Senior de Investigación  
Cultivos para la Nutrición y la Salud

[r.escobar@cgiar.org](mailto:r.escobar@cgiar.org)

La Ceiba-Honduras, marzo 15-2023



# Reproducción y propagación

- Sexual

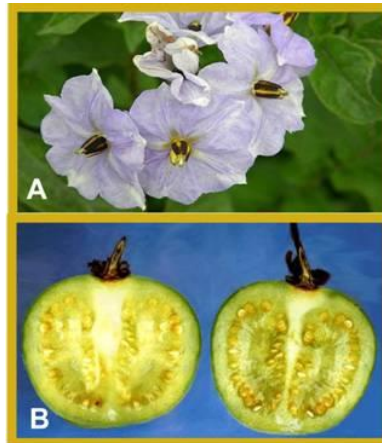


Figura 15. Flores (A) y fruto(B) de papa correspondiente a una baya de tipo bilocular, en que se aprecia una gran cantidad de semillas.  
Fuente: [www.redpapa.org](http://www.redpapa.org), documento en Biblioteca INIA Remehue, apunte preparado por Sitec IX

- Vegetativa



# La reproducción en plantas

## Sexual

Angiospermas      Gimnospermas

Desarrollo de estructuras florales



## Asexual

Vegetativa

Potencialidad fundamental de las plantas

Teoría celular (1948)

***Totipotencia celular***

# APOMIXIS

# Sistemas de propagación vegetativa

Mediante partes vegetativas	Mediante injertación	Mediante técnica in vitro
<p><b>Concepto base:</b> Se usa una porción de la planta madre (esqueje o explante) y se induce el desarrollo de raíces y crecimiento hasta lograr una copia</p>	<p><b>Concepto base:</b> Combinación de dos características. Una yema de mejor comportamiento agronómico y se posa/adhiere sobre un patrón que brinda ventajas (rusticidad, resistencia a patógenos de suelo, raíz pivotante) comparativas en el suelo.</p> <p>Una vez fusionado las dos partes (copa y patrón), se induce el desarrollo de la parte productiva sobre un patrón con un buen desarrollo radical y se clona la copa</p>	<p><b>Concepto base:</b> Se usa una porción de la planta madre (explante) y se induce su desarrollo bajo condiciones controladas: Asépticas, nutricionales, y ambientales.</p>
Por Rizomas (plátano, banano)	Aguacate, cacao, guayaba, mango, arándano, rosa, cítricos, borojón, uva caimarona,	Permite realizarlo en cualquier especie, con cualquier tejido
Por estacas (yuca y caña de azúcar)		Permite y facilita la limpieza de contaminantes internos (virus y fitoplasmas)
Por bulbos (cebolla)		Conservación en espacio reducido
Por tubérculos (papa)		Permite el intercambio internacional (cumple con la reglamentación cuarentenarias)
Por estolones (fresa, pastos)		Permite realizar a gran escala \$\$\$\$\$
Por hojas (violetas, begonias)		



- ¿plagas y enfermedades?
- ¿mezcla de variedades?
- ¿materiales no adaptados?
- ¿materiales poco rendidores o agotados?
- Bajo acceso a nuevos materiales (baja tasa propagación)

# Calidad de semilla

- Física
- Genética
- Sanitaria
- Fisiológica

• *Calidad de material de siembra*

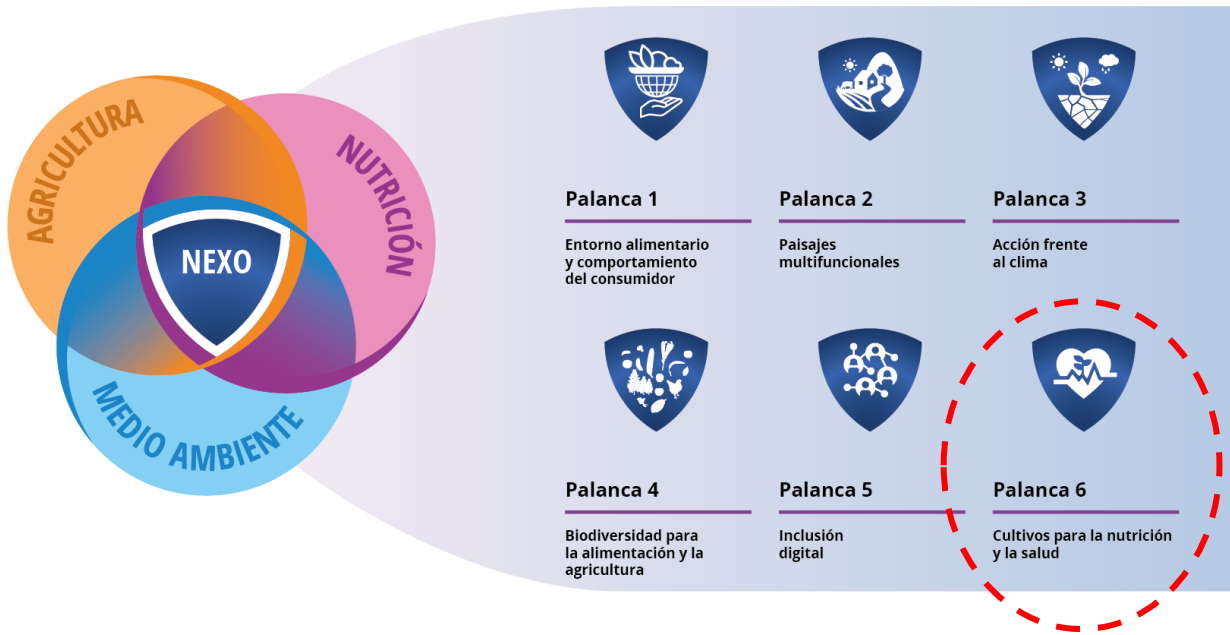
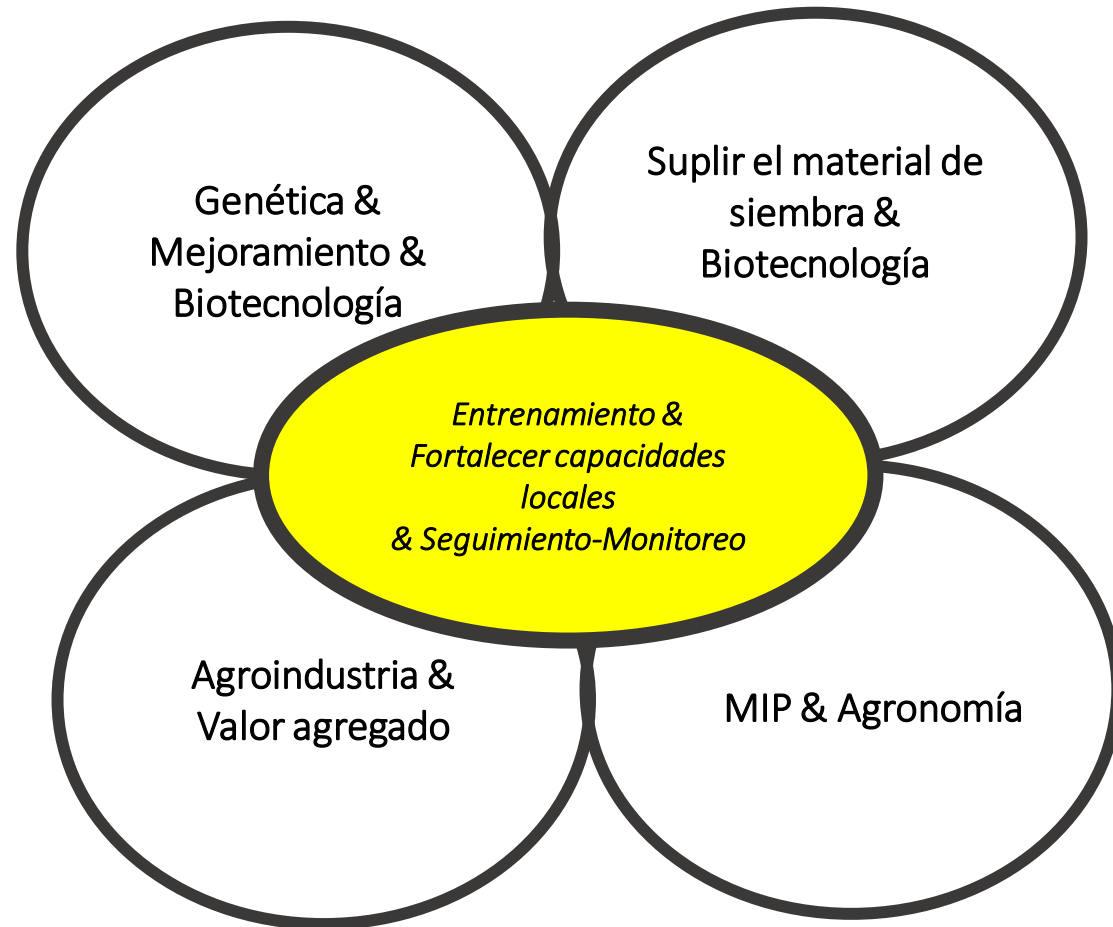


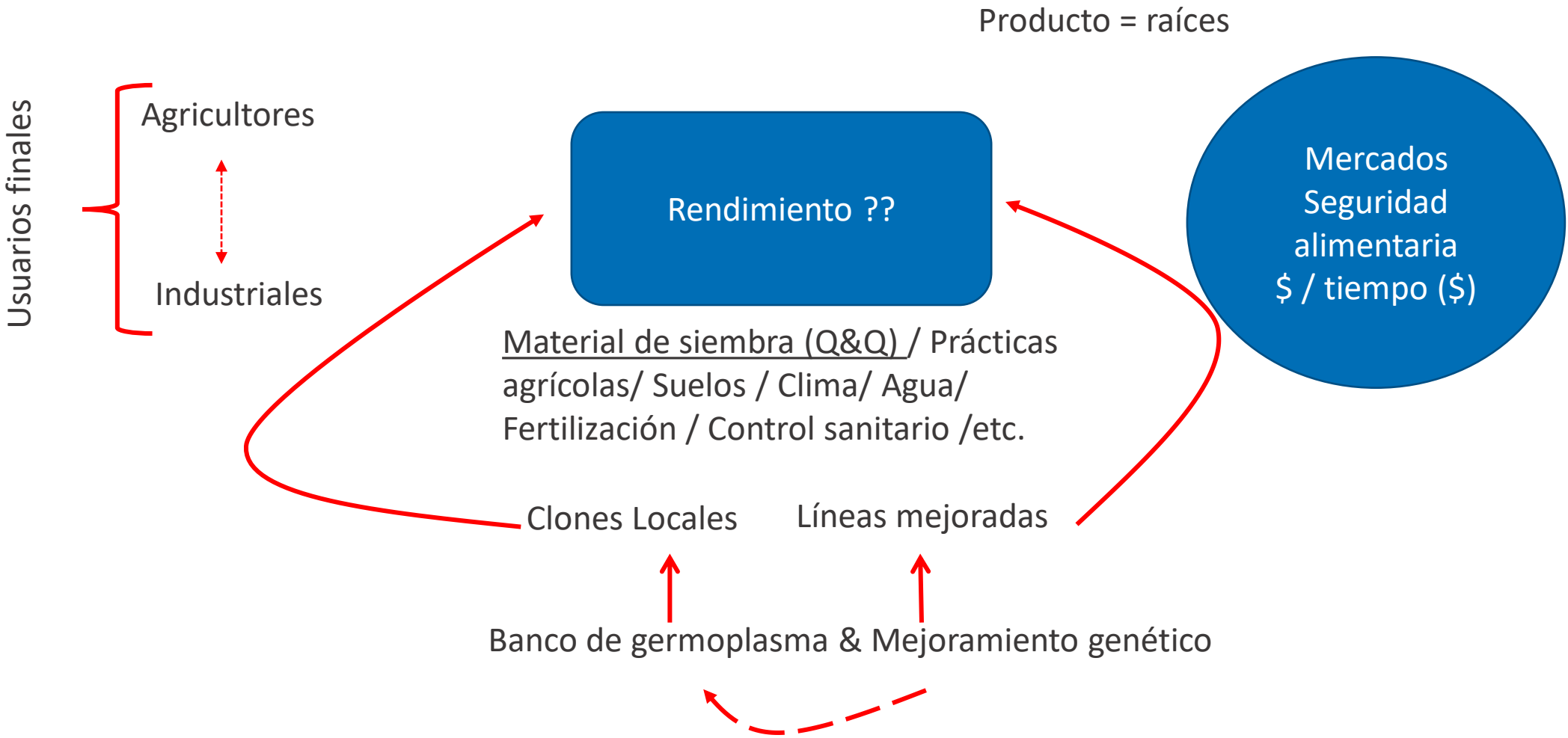
Figure 1: Cassava program research and service areas

# Áreas temáticas para implementar un CSS (SSY) eficiente





# ¿Porqué un SSY?



# ¿Porqué, Para qué y Para Quién un SSY?

Para tener la capacidad de soportar programas de liberación y dar acceso a material de siembra de clones locales o mejorados con calidad (genética y fitosanitaria) a los usuarios del sistema de yuca (asociaciones de productores, industriales, PPP, NARs, ONGs, Universidades, entre otros)

- Facilita el acceso a material de siembra libre de enfermedades
- Asegura la calidad del material de siembra (QC)
- Permite escalar el proceso (acceso)
- Acelera y reduce los tiempos de liberación
- Facilita procesos de renovación, refrescamiento y recambio de clones en el proceso (nuevos proyectos)

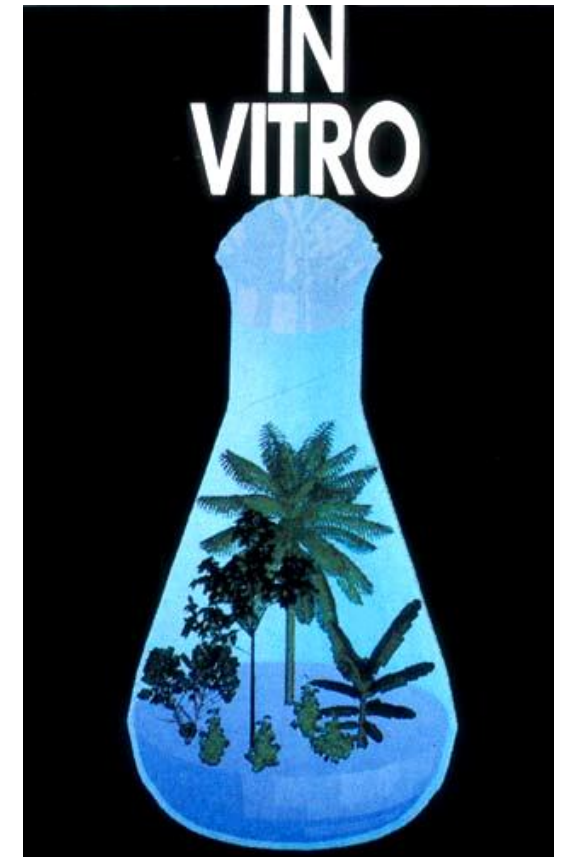
# Algunas aplicaciones de la biotecnología a la agricultura tropical

## *A corto plazo*

- Propagación rápida y constante
  - • Aplicación Comercial - Promoción
  - Repoblación, Reposición, Recuperación
- Producción de metabolitos secundarios y bio-conversión
- Diagnóstico
  - Genético (pureza)
  - Sanitario (Limpieza)
- Fitomejoramiento
  - Apoyo a Cruzas distantes
  - Dobles haploides
  - Mapeo de genes
  - Rescate de embriones

## *A mediano y largo plazo*

- Conservación a corto y largo plazo
- Intercambio de germoplasma
- Incremento de la variabilidad genética (Transgénesis, Edición genética)
- Estudios básicos en fisiología, genética, bioquímica , etc



Alianza



# Ventajas de la micropropagación

- Reproducción clonal (copias idénticas)
- Altas tasas de propagación/ciclo
  - Ventaja económica sobre otros sistemas
  - Calidad genética y sanitaria del material generado
- Efecto nulo de factores ambientales sobre el desarrollo in vitro

# Desventajas de la micropropagación

- Posibilidad de ocurrencia de materiales fuera de tipo (variantes somaclonales)
- Inversión (infraestructura) \$\$
- Mano de obra especializada

# ENFOQUE DEL SISTEMA DE SEMILLAS DE YUCA DE LA ALIANZA

**1** Implementación de técnicas de propagación relevantes y a diferente escala.  
· A nivel de industrias  
· A nivel de asociación de agricultores

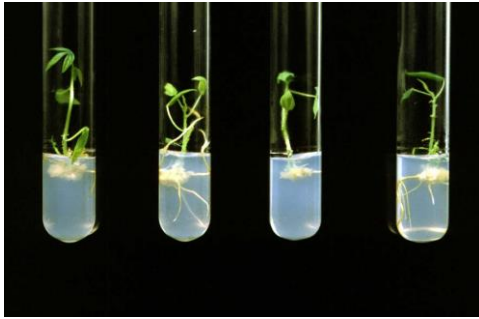
**2** Simplificación de protocolos para disminuir costos adaptando equipos y procesos.

**3** Integración de una plataforma de alto rendimiento y pruebas en distintos cultivos.



# Esquemas de propagación in-vitro implementados en CIAT (ABC)

## Sistema convencional



TP: 1:3-4

Roca 1984

## Sistemas masivos



TP: 1:6-23

Escobar et al 2008-2009



A nivel de finca

Escobar et al 2006



A nivel de la escuela

Escobar et al 2004  
Escobar et al 2010



Yuca



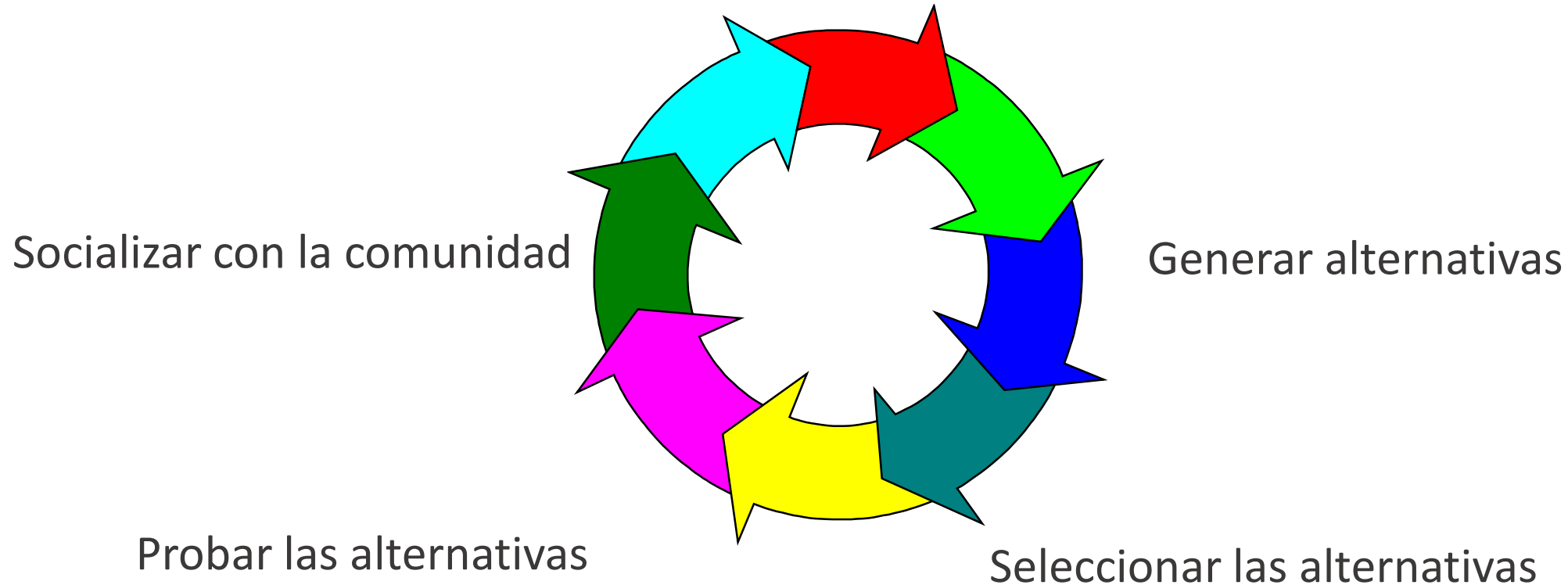
Batata



Ñame

# Los sistemas participativos y el sistema de semillas

Establecer metas (necesidades del usuario)



Weltzein et al, 2000.

Alliance



# Socialización con la comunidad de procesos de biotecnología rural a bajo costo



Consejo Comunitario de Pílamo



Esquema 1: Producción de material de siembra por y en la comunidad

Esquema 2: Uso de material de siembra por la asociación de campesinos

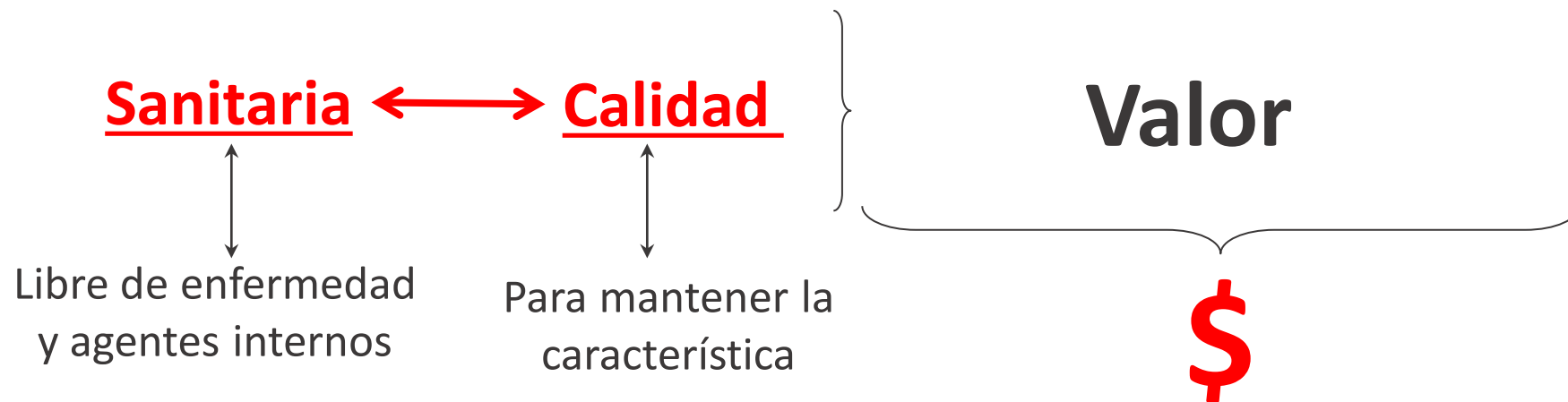
Esquema 3: Iniciativas de escalamiento rural a partir de material proveniente de 1<sup>er</sup> ciclo



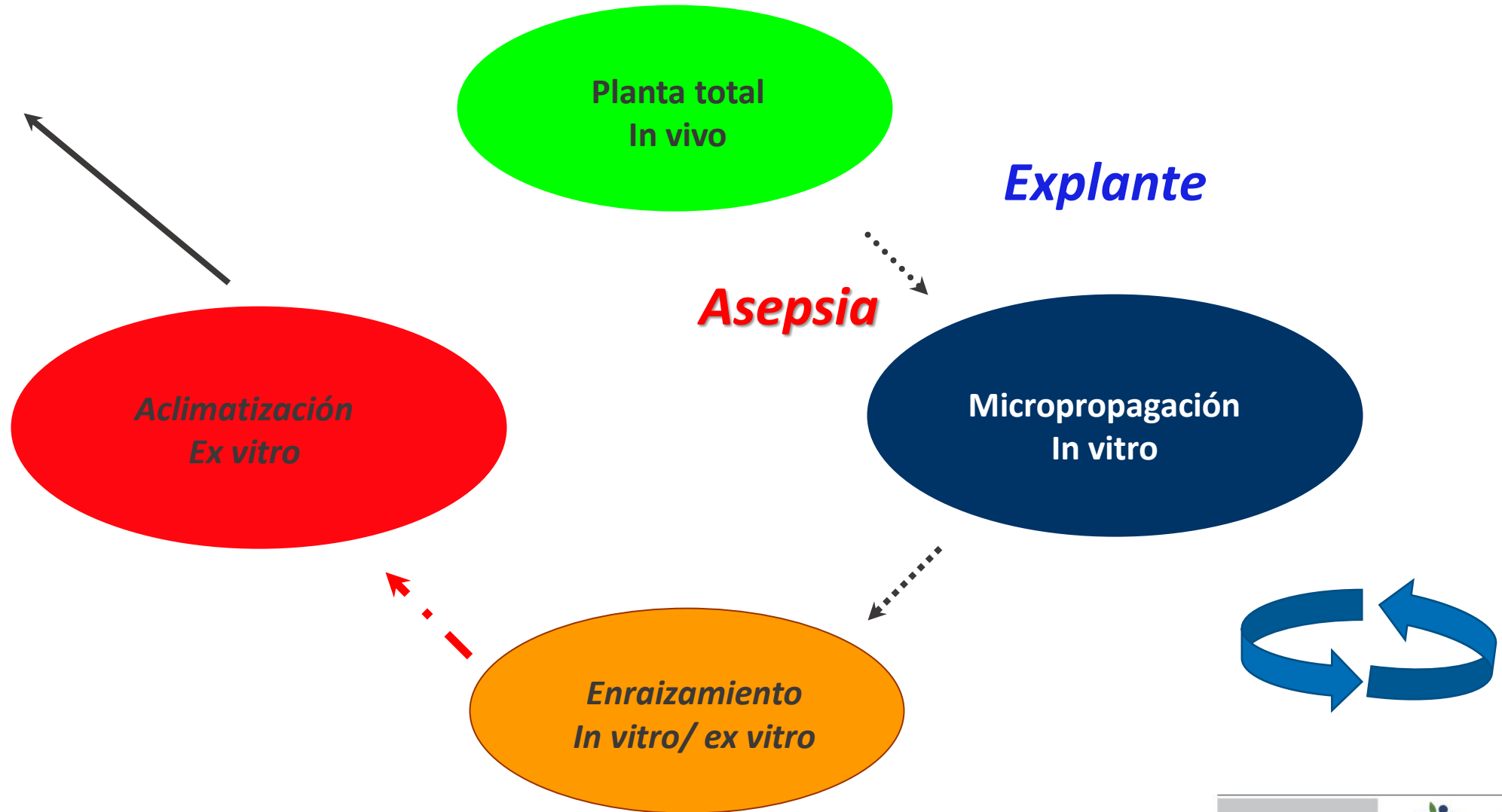
# Requerimientos en el proceso in vitro

# Cultivos de propagación clonal

- Hacer copias idénticas de un organismo (clonar)
- Reproducir su potencial
- Se debe iniciar de la “mejor” selección



# Pasos básicos en la micro-propagación



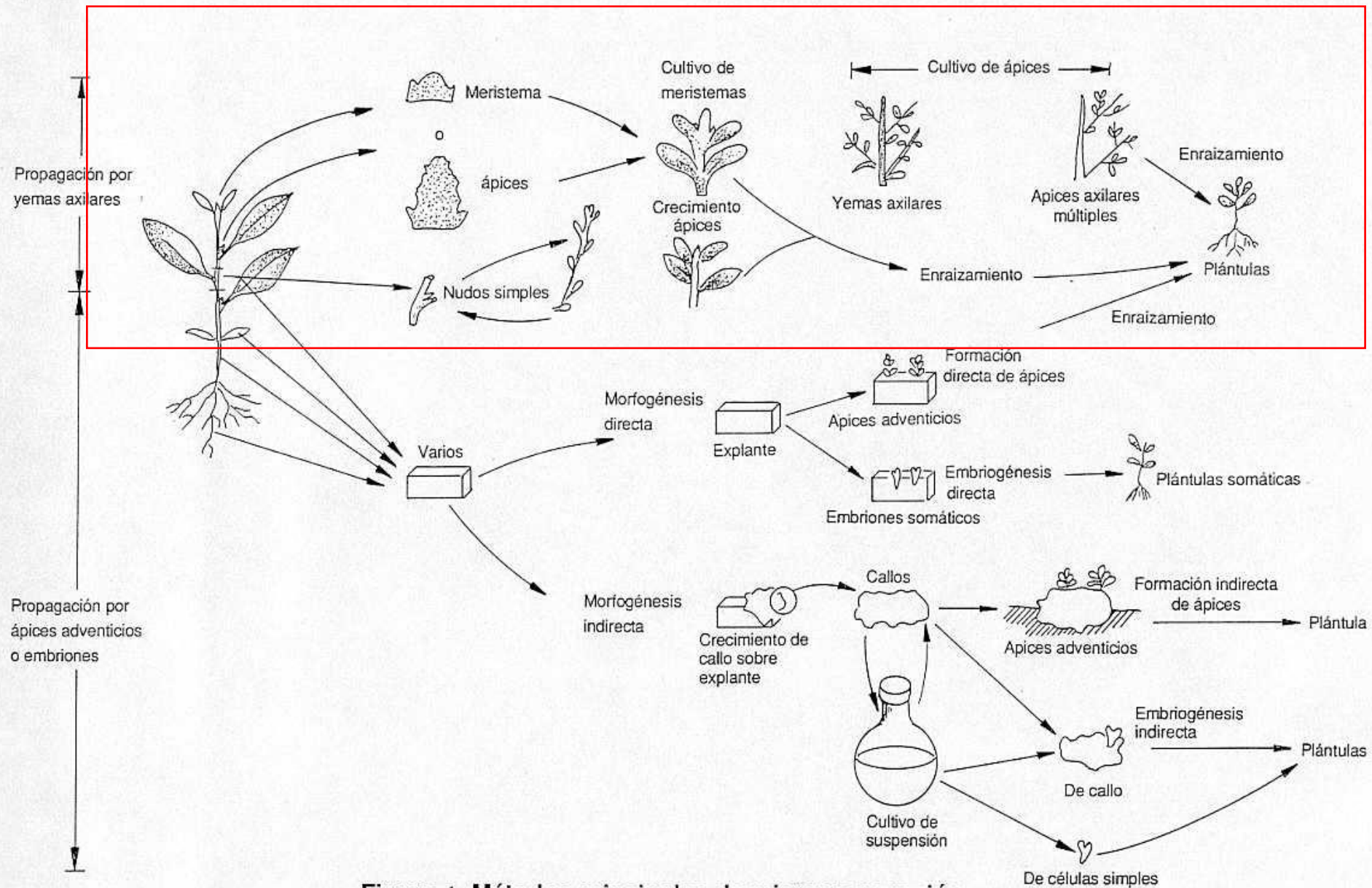
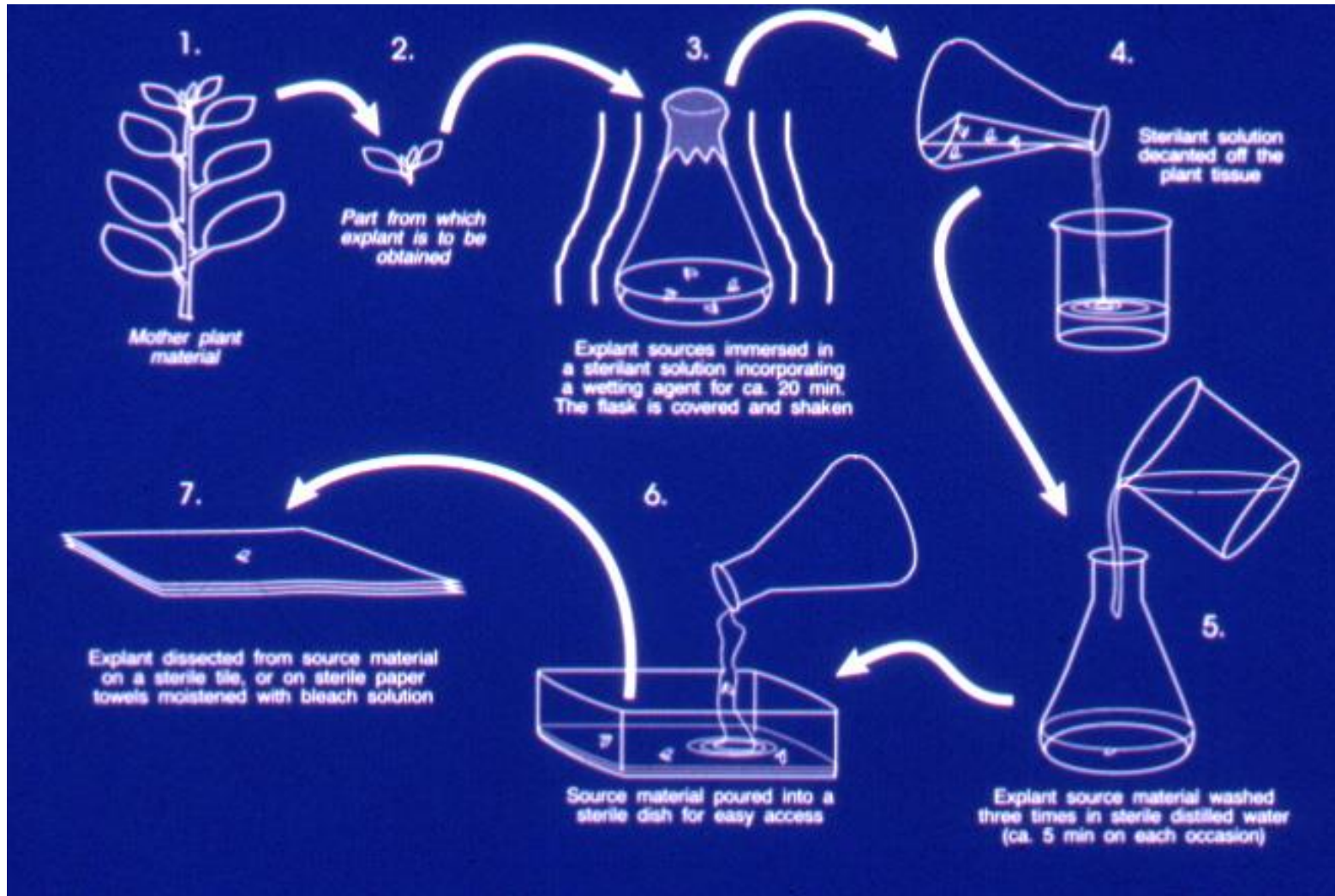
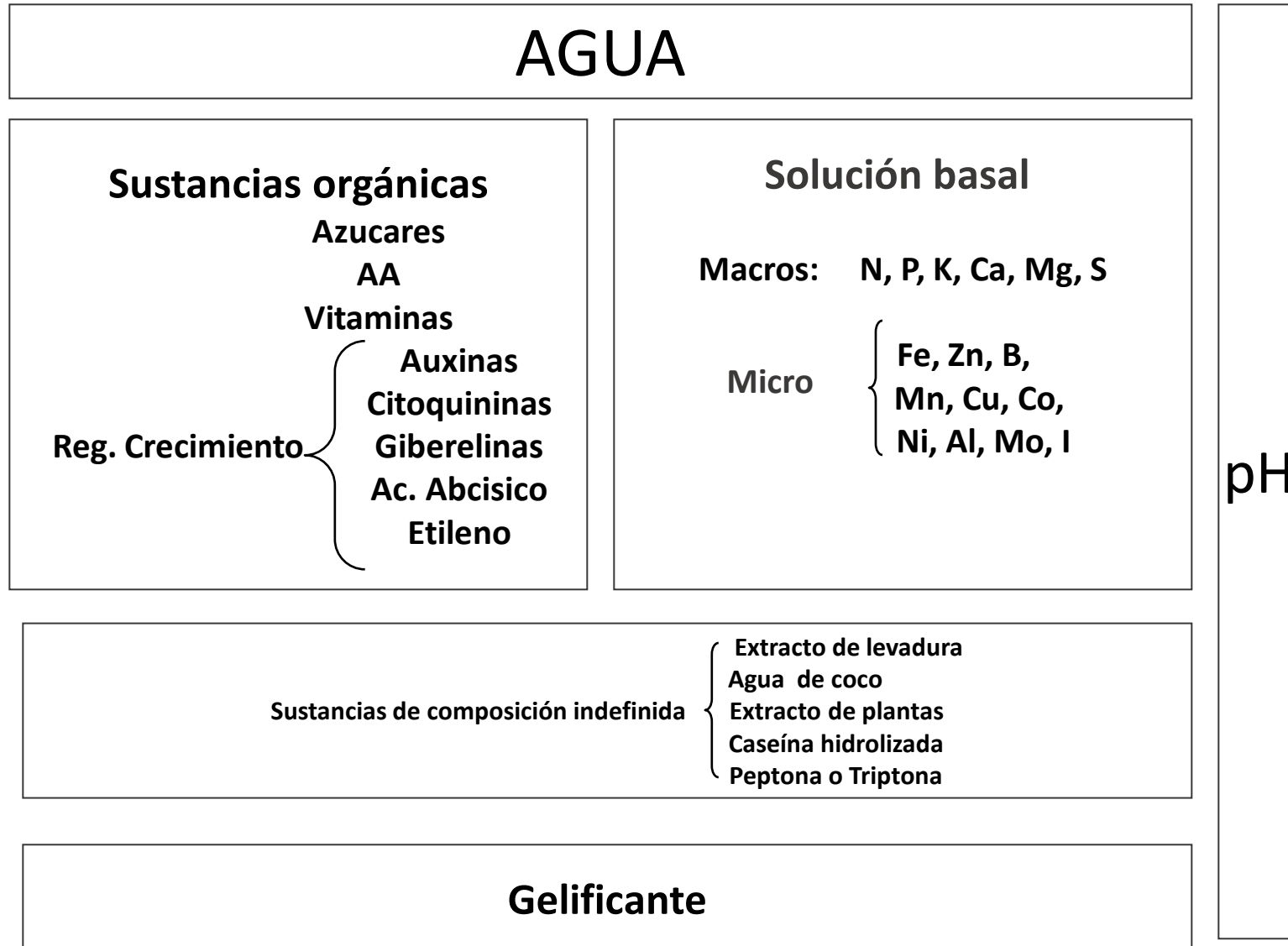


Figura 1. Métodos principales de micropropagación  
(E. George and Sherrington, 1984).  
Tomado de "Plant Propagation by Tissue Culture".

# La Asepsia: Método o procedimiento para evitar que los gérmenes infecten una cosa o un lugar.



# Medio de cultivo



Cuadro 2.2. Composición de cuatro medios básicos (MB) para el cultivo in vitro de tejidos.

Componentes	Contenidos en cada medio (mg/litro) <sup>a</sup>			
	MS	B5	N6	Wh
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	—	—	—
KNO <sub>3</sub>	1900	2500	2830	80
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	—	400	—
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440	150	166	—
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370	250	185	737
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	—	134	463	—
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	—	—	—	288
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	—	150	—	19
KCl	—	—	—	65
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	—	—	—	200
KI	0.83	0.75	0.80	0.75
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.20	3.00	1.60	1.50
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	—	10.00	—	—
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	22.30	—	4.40	6.65
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8.60	2.00	1.50	2.67
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25	0.25	—	—
H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	—	—	—	0.001
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025	0.025	—	0.01
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	—	—	—	2.50
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.80	27.80	27.85	—
Na <sub>3</sub> EDTA	37.30	37.30	37.25	—
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025	0.025	—	—
Glicina	2.00	—	2.00	3.00
Tiamina-HCl	0.10	10.00	1.00	0.10
Piridoxina-HCl	0.50	1.00	0.50	0.10
Acido nicotínico	0.50	1.00	0.50	0.50
Micinositol	100.00	100.00	—	100.00
Sacarosa	30,000	20,000	50,000	20,000
pH	5.7	5.5	5.8	5.5

a. MS = Murashige et al., 1962; B5 = Gamborg et al., 1968; N6 = Chu et al., 1975; Wh = White, 1943. Con modificaciones de Yeoman et al., 1977 y Singh et al., 1981.

**Los Reguladores de crecimiento:** Compuestos orgánicos que en pequeñas cantidades estimulan, promueven, inhiben o modifican de algún modo un proceso fisiológico de la planta.

### *Tipos de reguladores de crecimiento*

- Auxinas
  - Citoquininas
  - Giberelinas
  - Etileno
  - Acido abscísico
  - Otros (poliaminas, ácido jasmónico, brasinoides, florigen, juvenona).
- Propagación*
- Conservación*



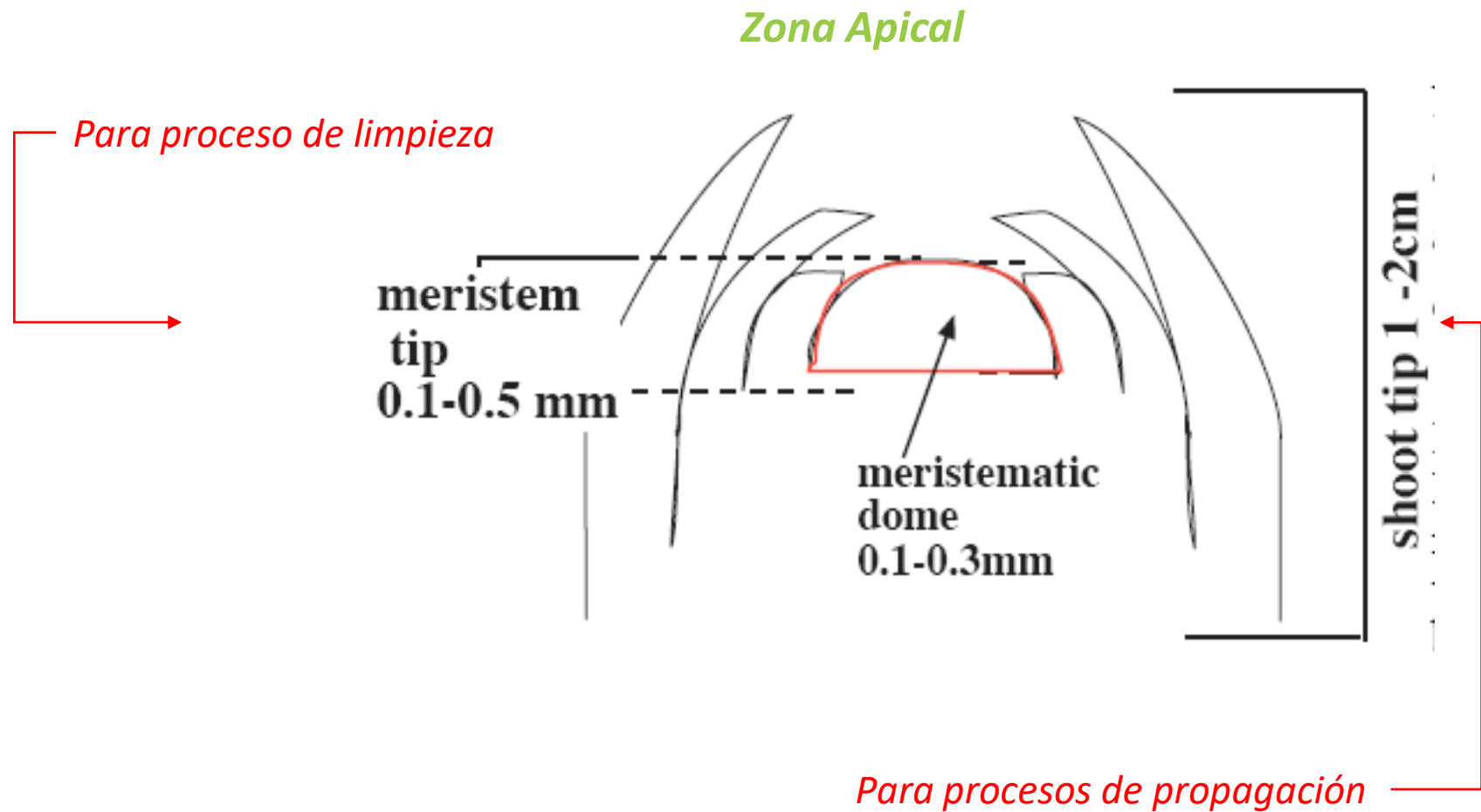
# Interacción auxina - citoquinina



# Aplicaciones del cultivo in vitro

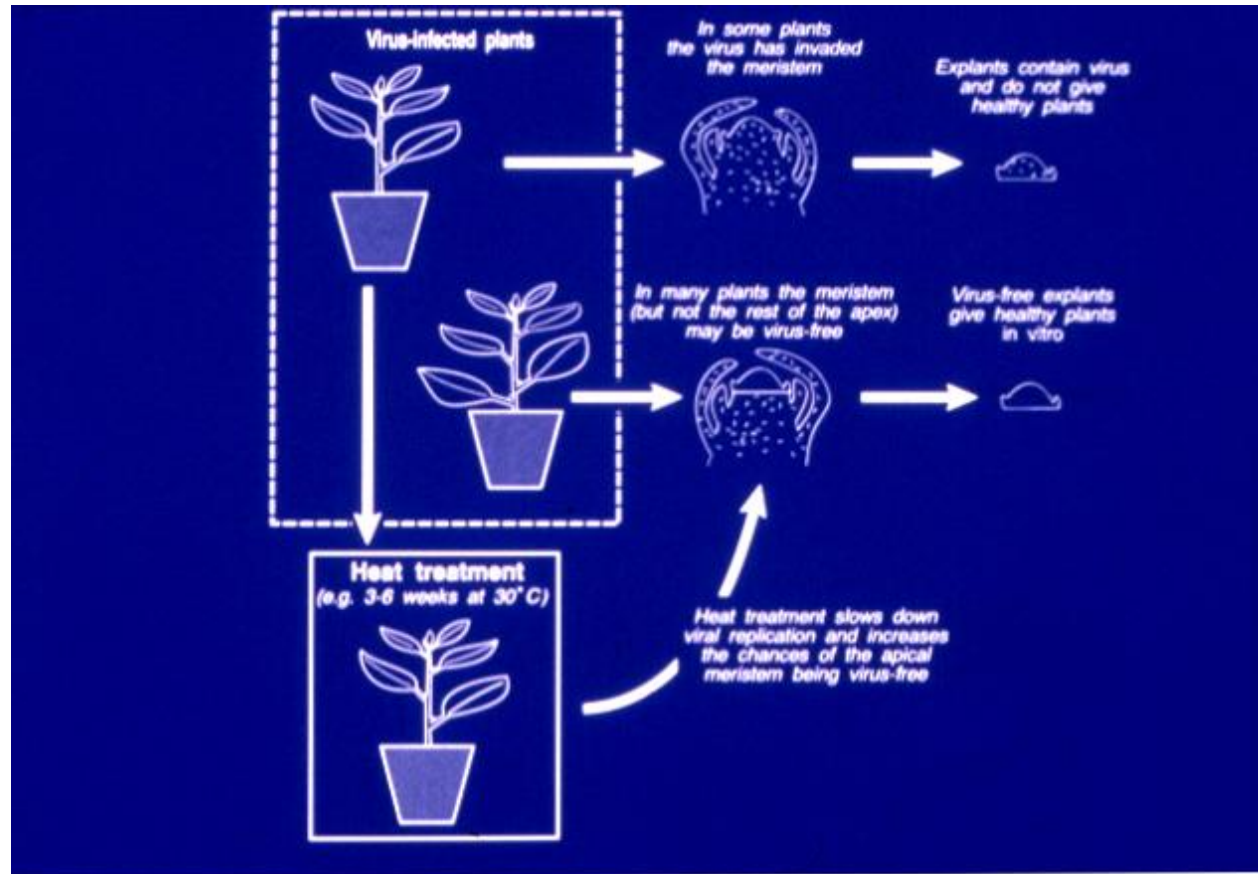
# Limpieza o saneamiento de germoplasma

# Estructura del meristemo apical



# Proceso de limpieza de contaminantes internos (virus + phytoplasma + bacterias + hongos)

## Cultivo de meristemas +



Termoterapia  
30-52°C ó 4 °C

Crioterapia  
N.L

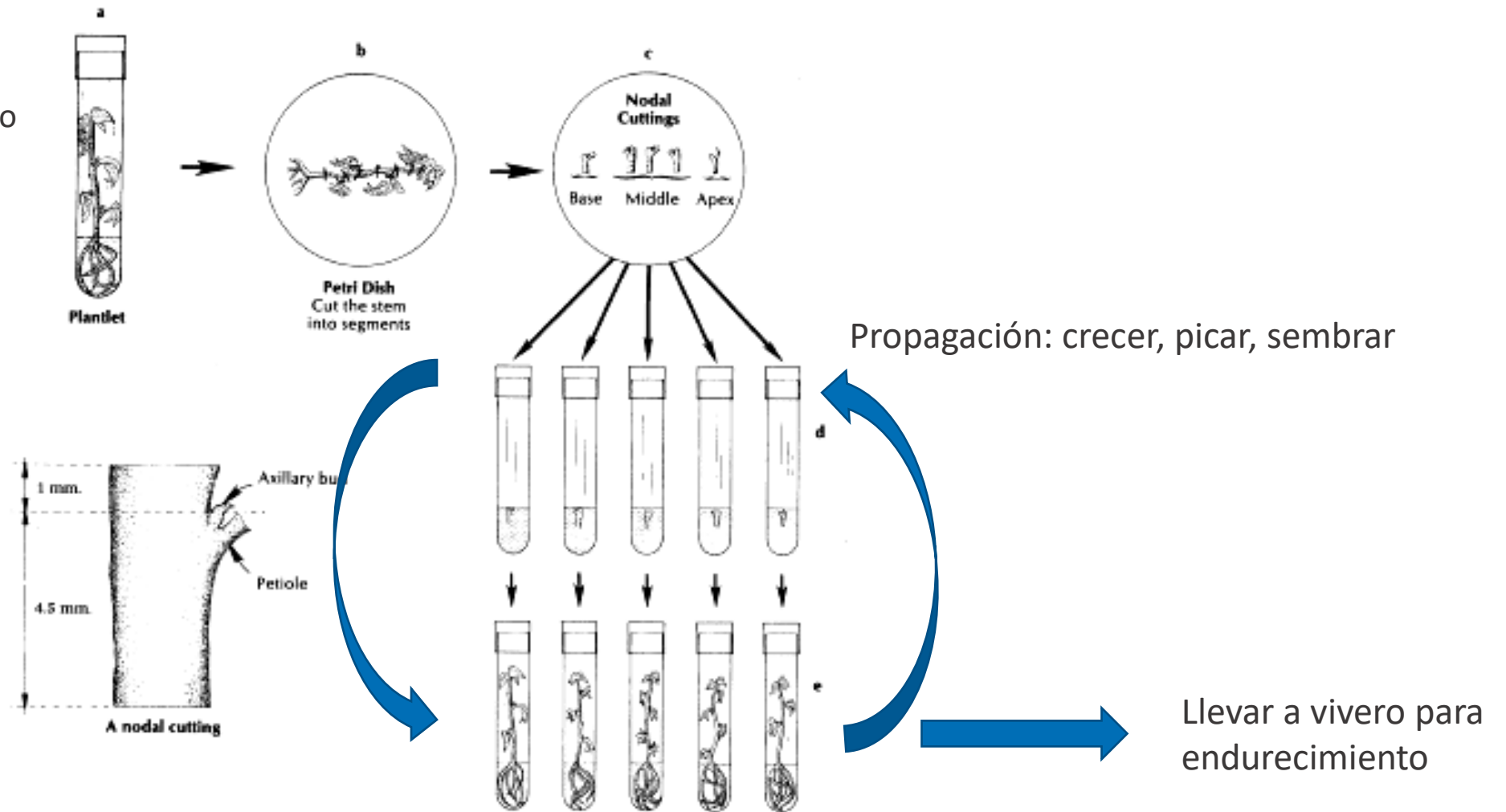
Quimioterapia  
Rivavirin 10mg/L

Electroterapia  
10-30volt/5-30min

# La técnica del repique o micro propagación in vitro

- El uso de un medio de cultivo
- El uso de tejido creciendo in vitro
- Un area dónde se crece
- Unas condiciones donde crecer

Asepsia



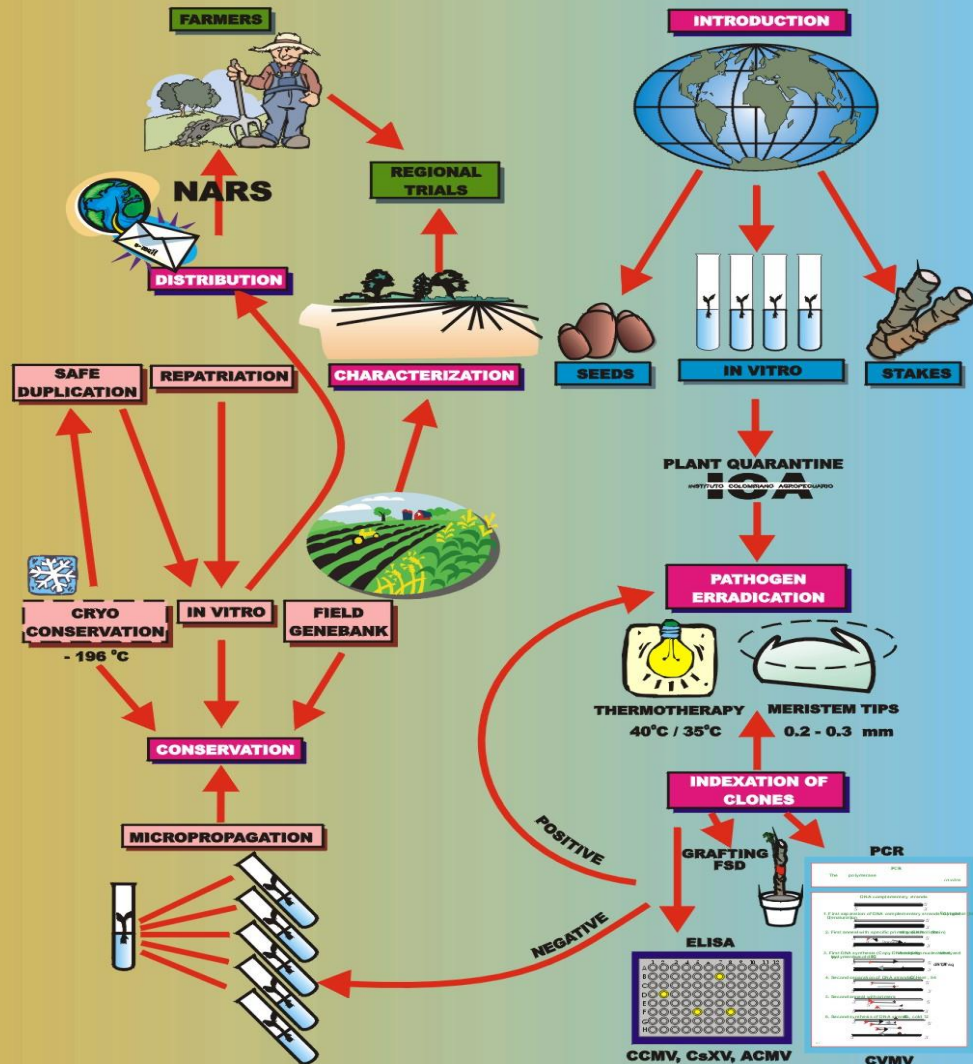
- De puede conservar todo lo que se posible, independiente de su calidad sanitaria (lo que importa es la diversidad y el evento/genotipo/fenotipo)

- Solo se distribuye lo que esta evaluado y verificado libre de patógenos cuarentenarios

- Se distribuye como libre de enfermedad

- Se acompaña el material despachado con certificados

## in vitro MANAGEMENT OF Manihot GERmplasm AT CIAT



# Conectar con la BD yuca

Alliance





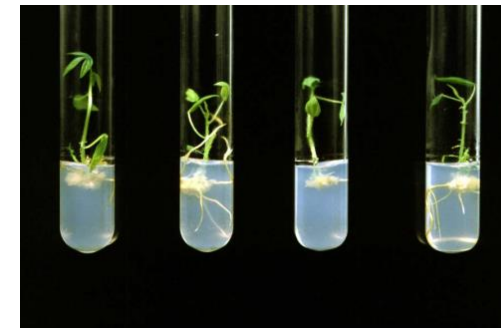
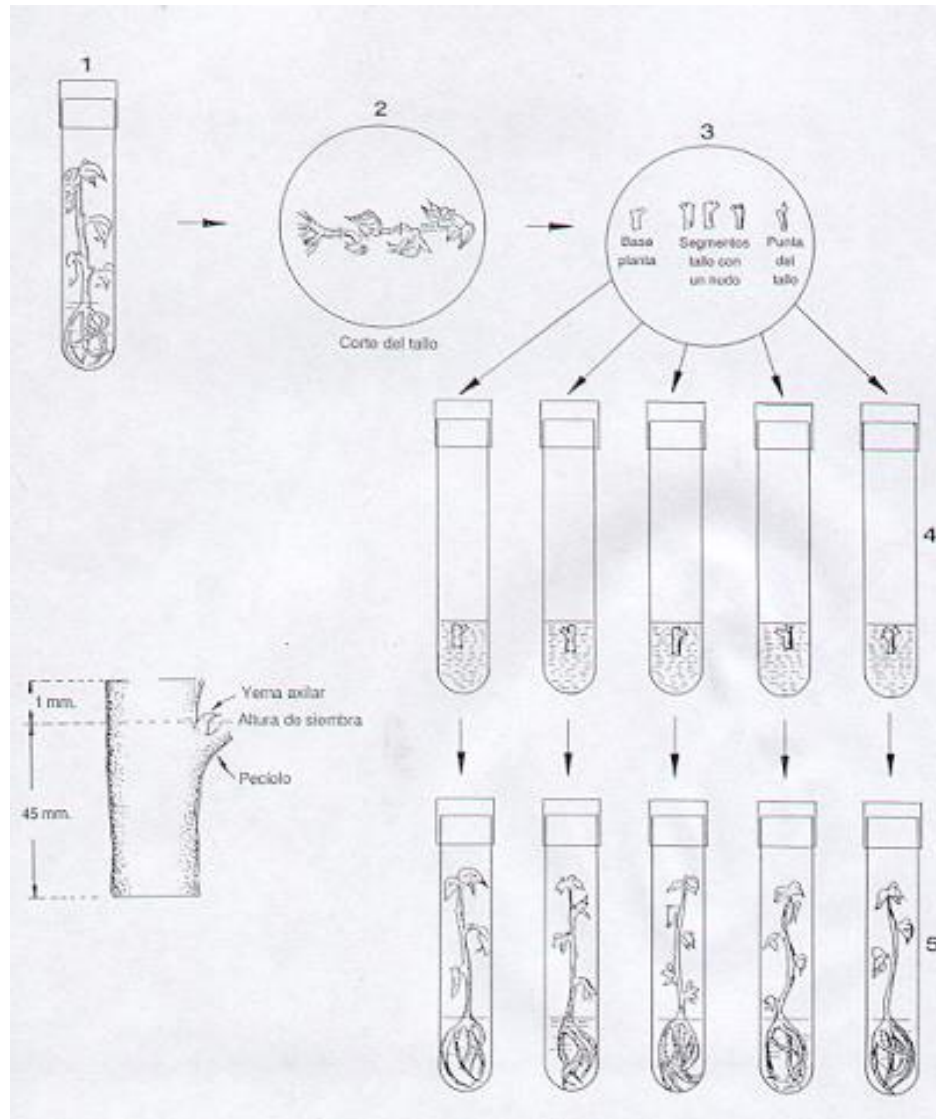
*Propagación clonal* + *Sanidad*



→ **Diferencial Calidad**

**Distribución y/o venta de material**

# Proceso de propagación in vitro



# Repique o micro propagación de batata





Alliance



International Center for Tropical Agriculture  
Since 1967 Science to cultivate change

# Gracias

Roosevelt H. Escobar-Pérez

[r.escobar@cgiar.org](mailto:r.escobar@cgiar.org)



Biodiversity International and the International Center for Tropical Agriculture (CIAT) are CGIAR Research Centers.  
CGIAR is a global research partnership for a food-secure future.