



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

La Ceiba-Honduras, marzo 15-2023



Reproducción y propagación

- Sexual

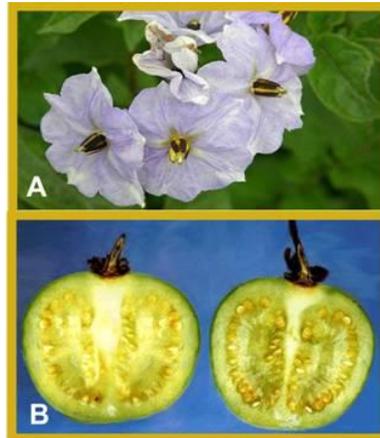


Figura 15. Flores (A) y fruto(B) de papa correspondiente a una baya de tipo bilocular, en que se aprecia una gran cantidad de semillas.
Fuente: www.redpapa.org, documento en Biblioteca INIA Remehue, apunte preparado por Sitec IX

- 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>Concepto base: 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>Concepto base: 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>Concepto base: 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***

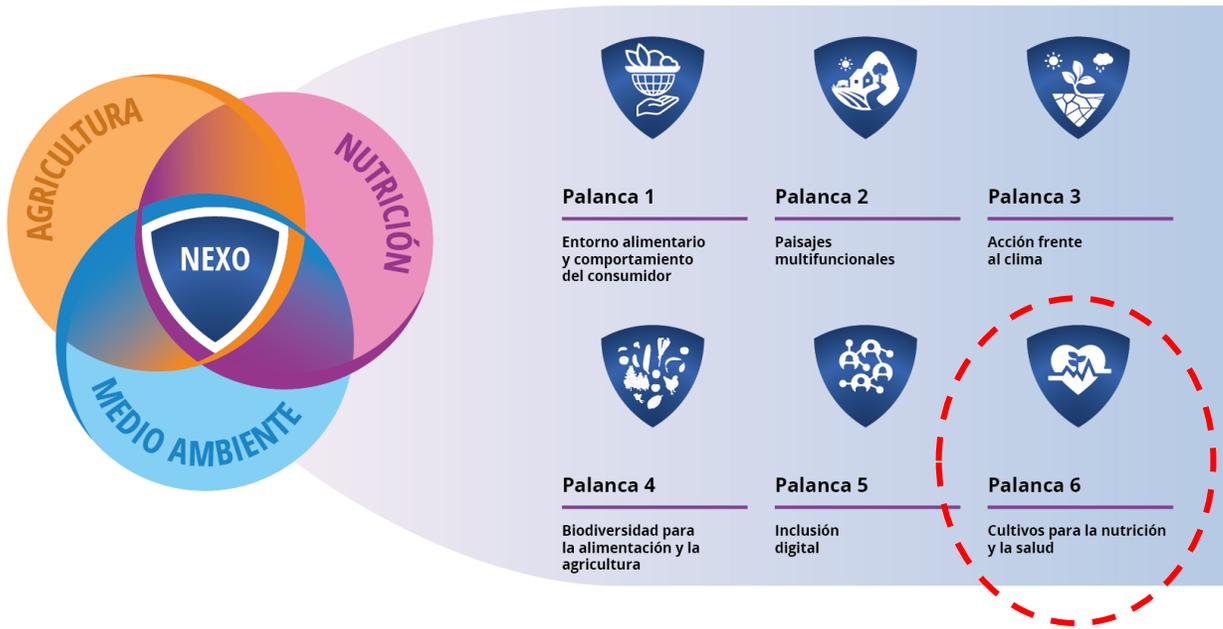
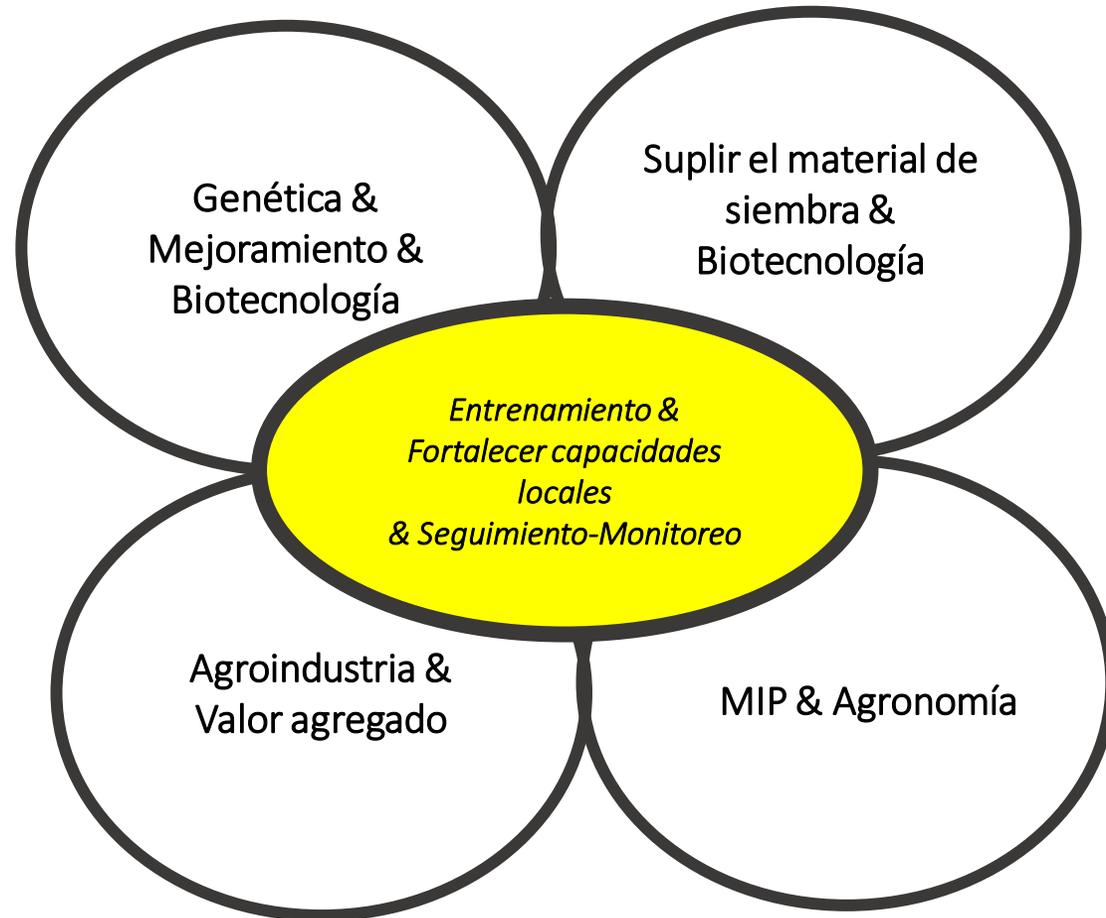


Figure 1: Cassava program research and service areas

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)

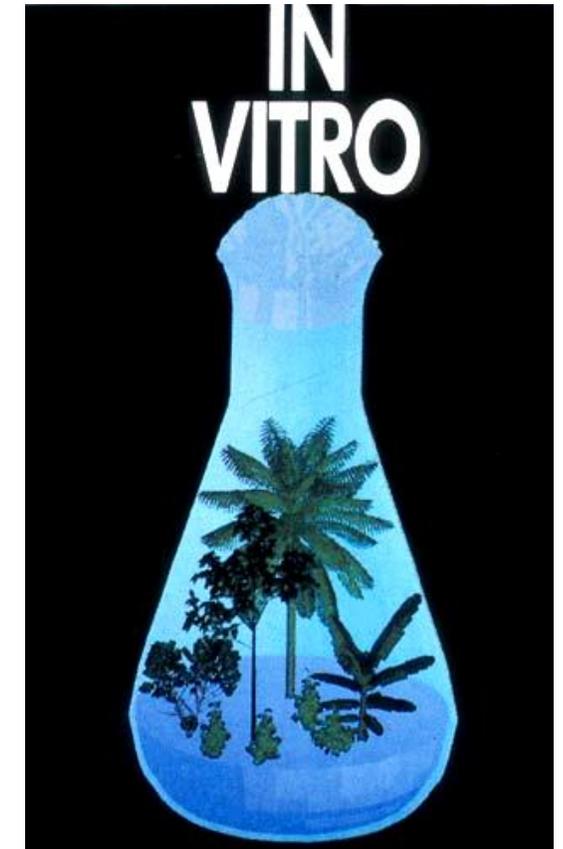
Algunas aplicaciones de la biotecnología a la agricultura tropical

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

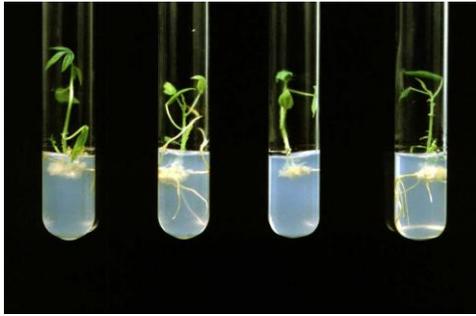
2 Simplificación de protocolos para disminuir costos adaptando equipos y procesos.

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



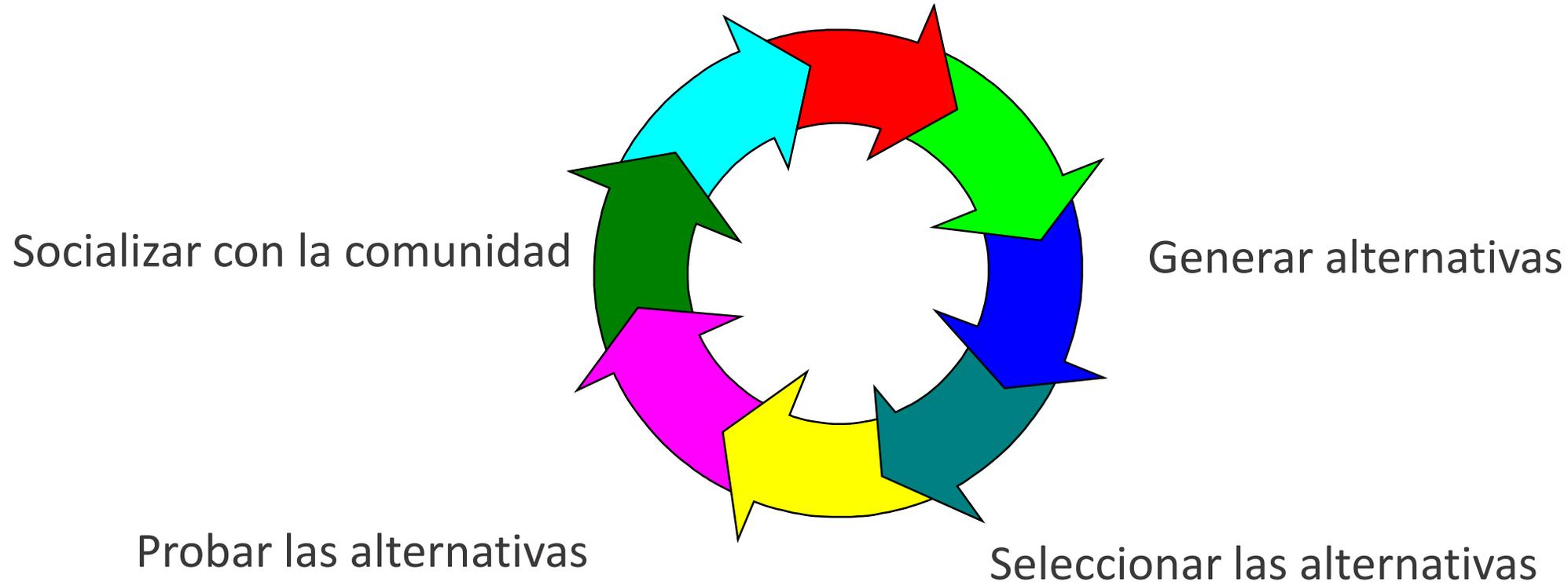
Batata



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 Pílamó



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

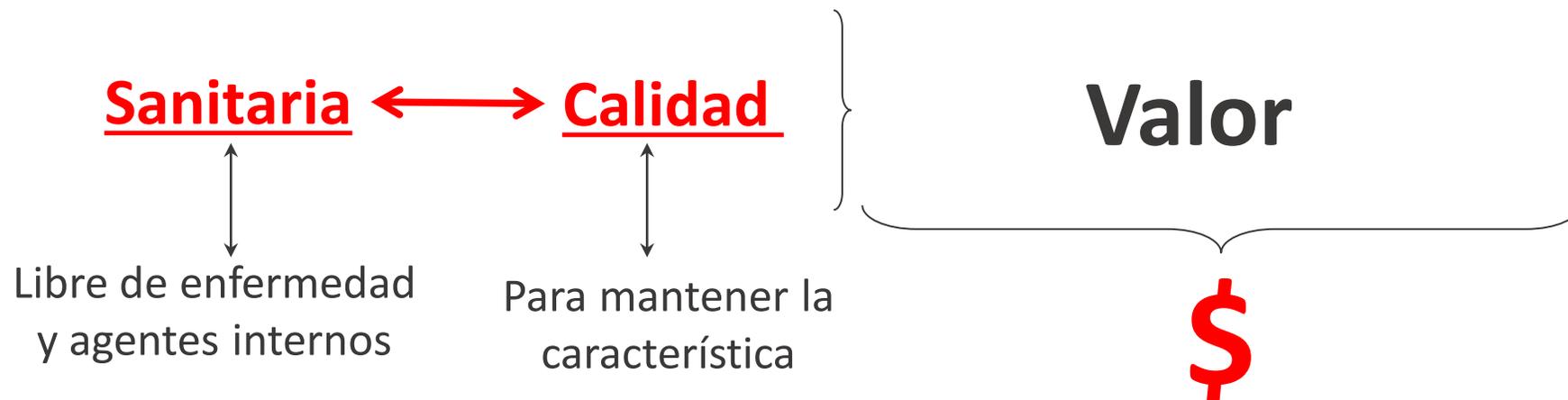
Esquema 2: Uso de material de siembra por la asociación de campesinos

Esquema 3: Iniciativas de escalamiento rural a partir de material proveniente de 1^{er} ciclo

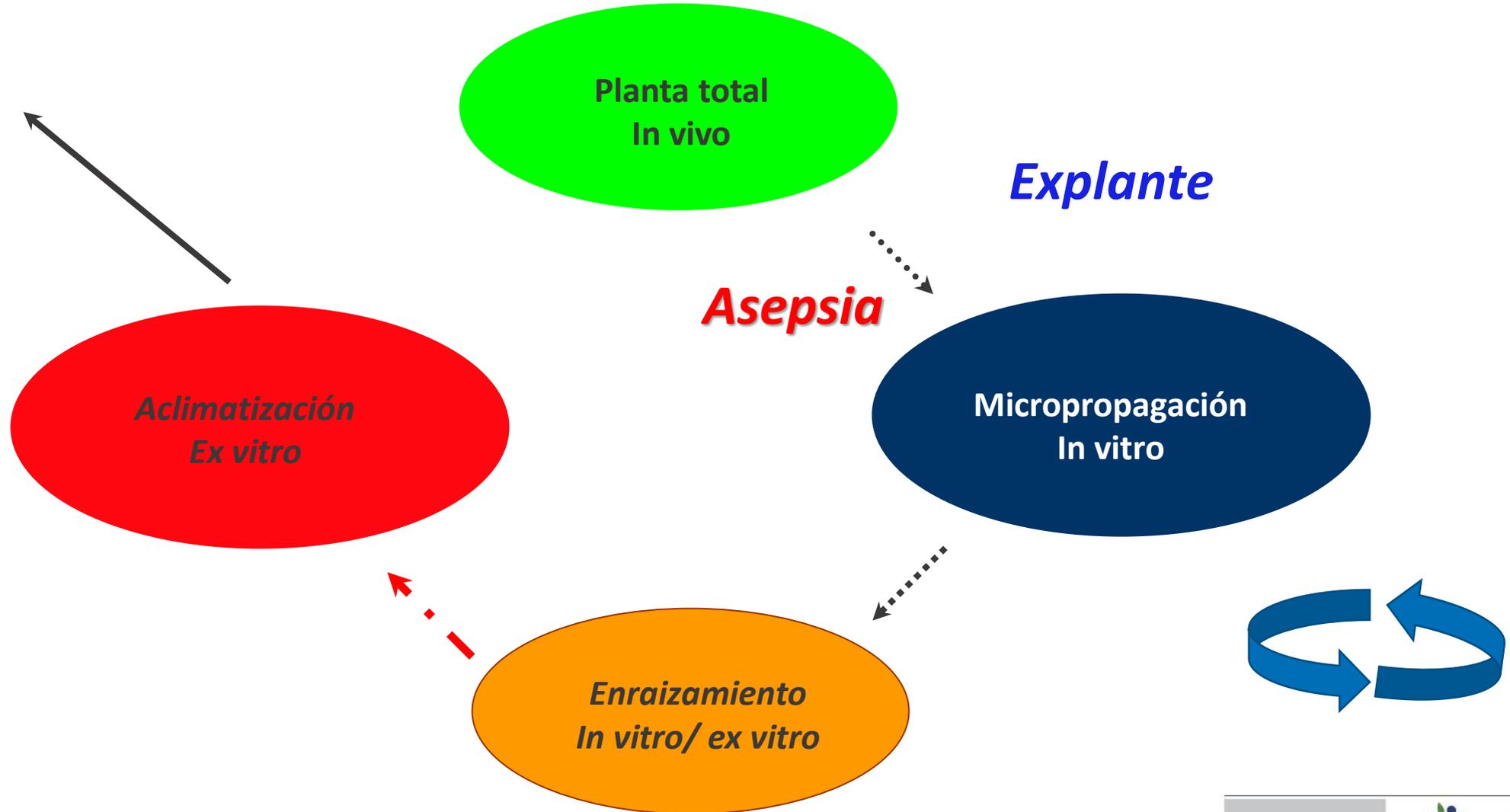
Requerimientos en el proceso in vitro

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



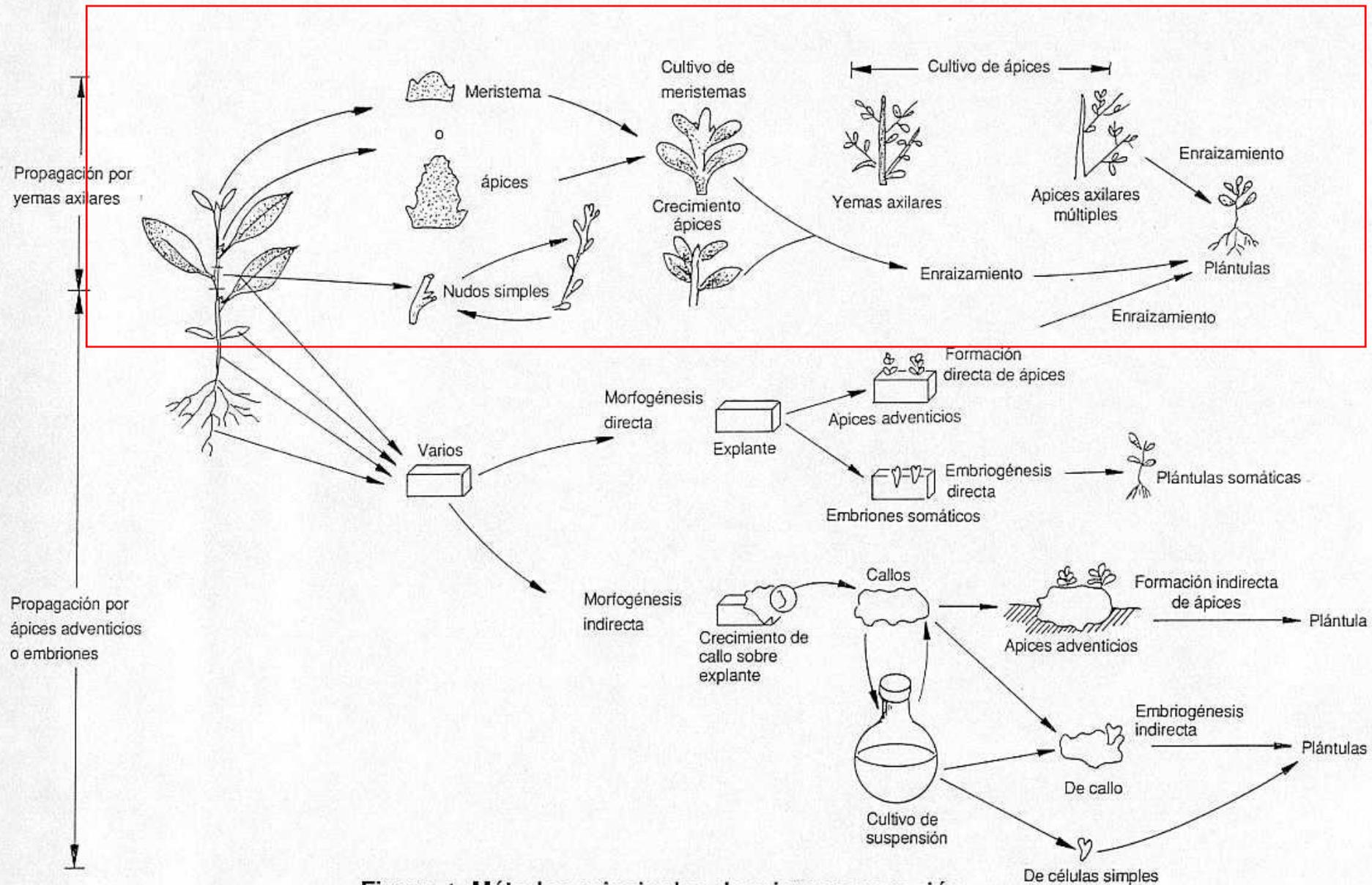
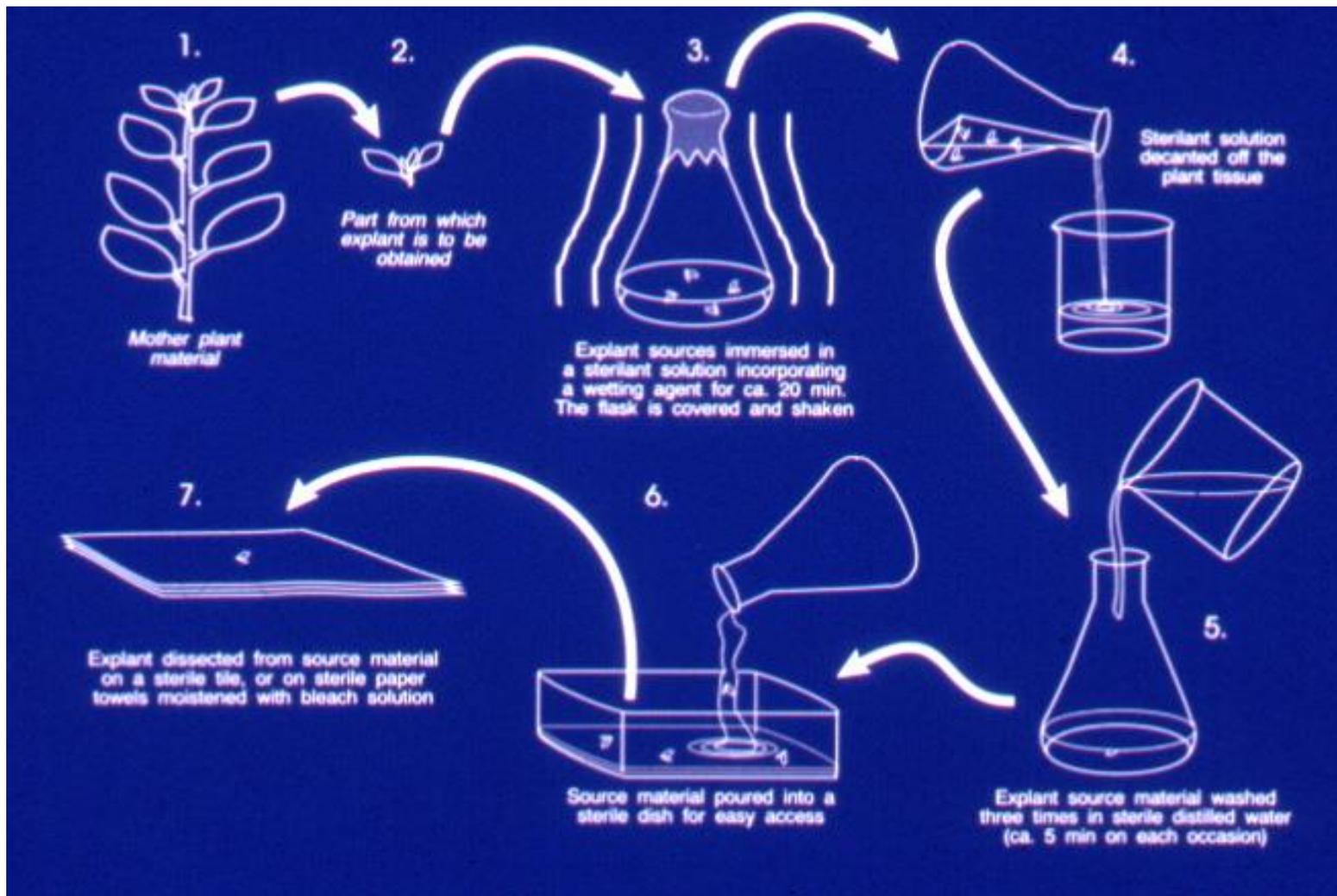
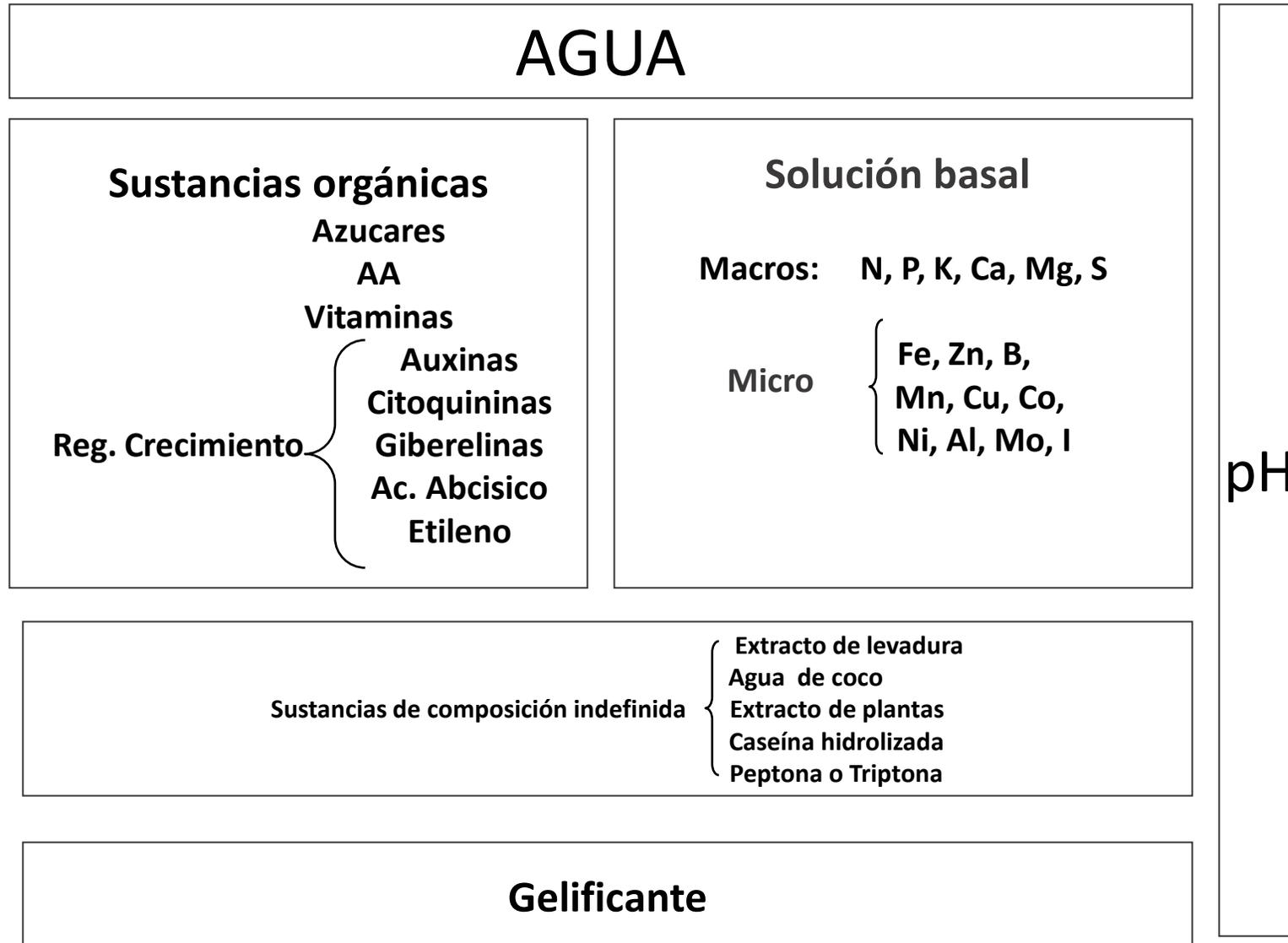


Figura 1. Métodos principales de micropropagación (E. George and Sherrington, 1984). Tomado de "Plant Propagation by Tissue Culture".

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) ^a			
	MS	B5	N6	Wh
NH ₄ NO ₃	1650	—	—	—
KNO ₃	1900	2500	2830	80
KH ₂ PO ₄	170	—	400	—
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	150	166	—
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	250	185	737
(NH ₄) ₂ SO ₄	—	134	463	—
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	—	—	—	288
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	—	150	—	19
KCl	—	—	—	65
Na ₂ SO ₄	—	—	—	200
KI	0.83	0.75	0.80	0.75
H ₃ BO ₃	6.20	3.00	1.60	1.50
MnSO ₄ ·H ₂ O	—	10.00	—	—
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.30	—	4.40	6.65
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.60	2.00	1.50	2.67
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	0.25	—	—
H ₂ MoO ₄	—	—	—	0.001
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	0.025	—	0.01
Fe ₂ (SO ₄) ₃	—	—	—	2.50
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.80	27.80	27.85	—
Na ₃ EDTA	37.30	37.30	37.25	—
CoCl ₂ ·6H ₂ 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*

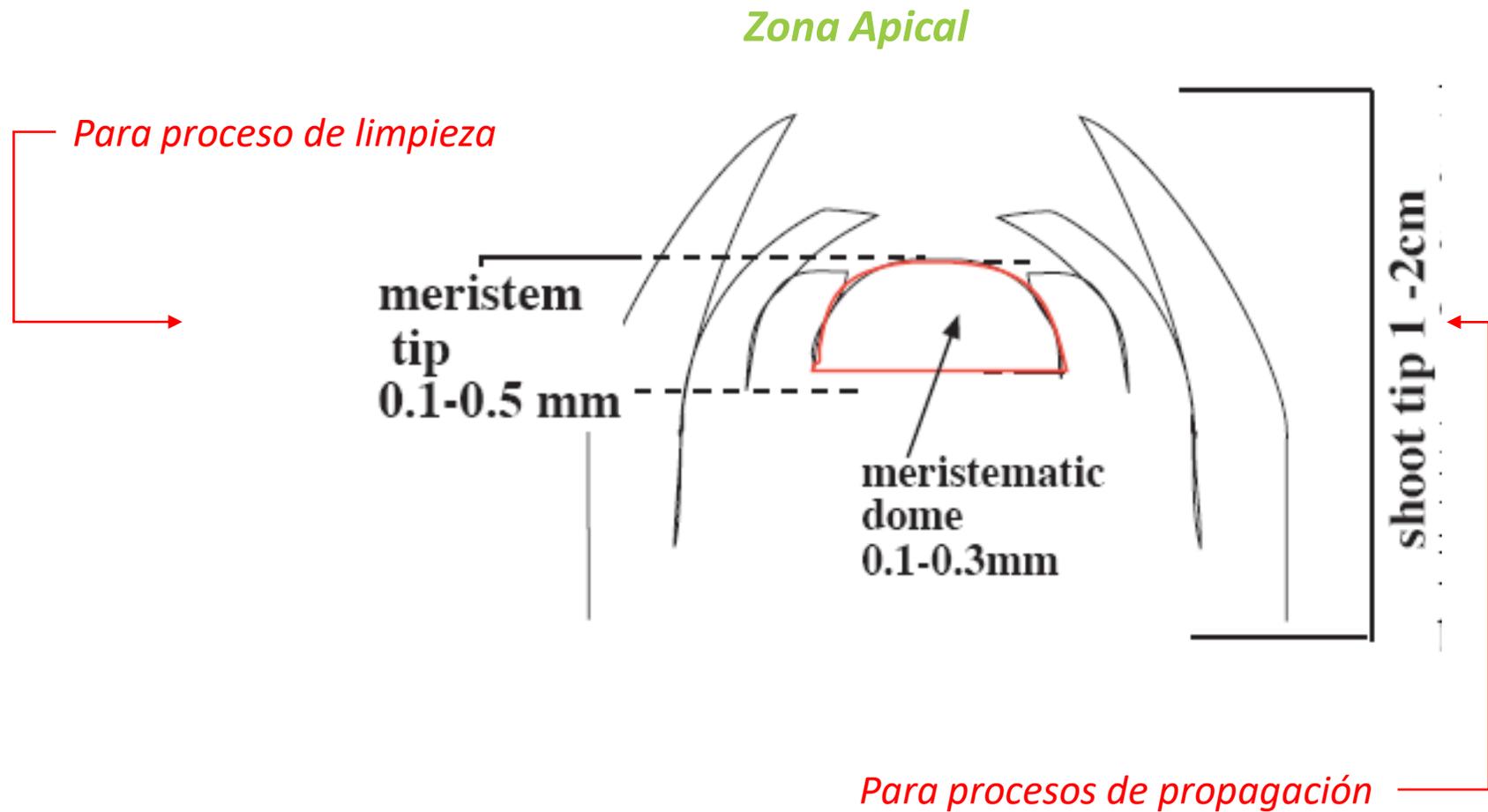
Interacción auxina - citoquinina



Aplicaciones del cultivo in vitro

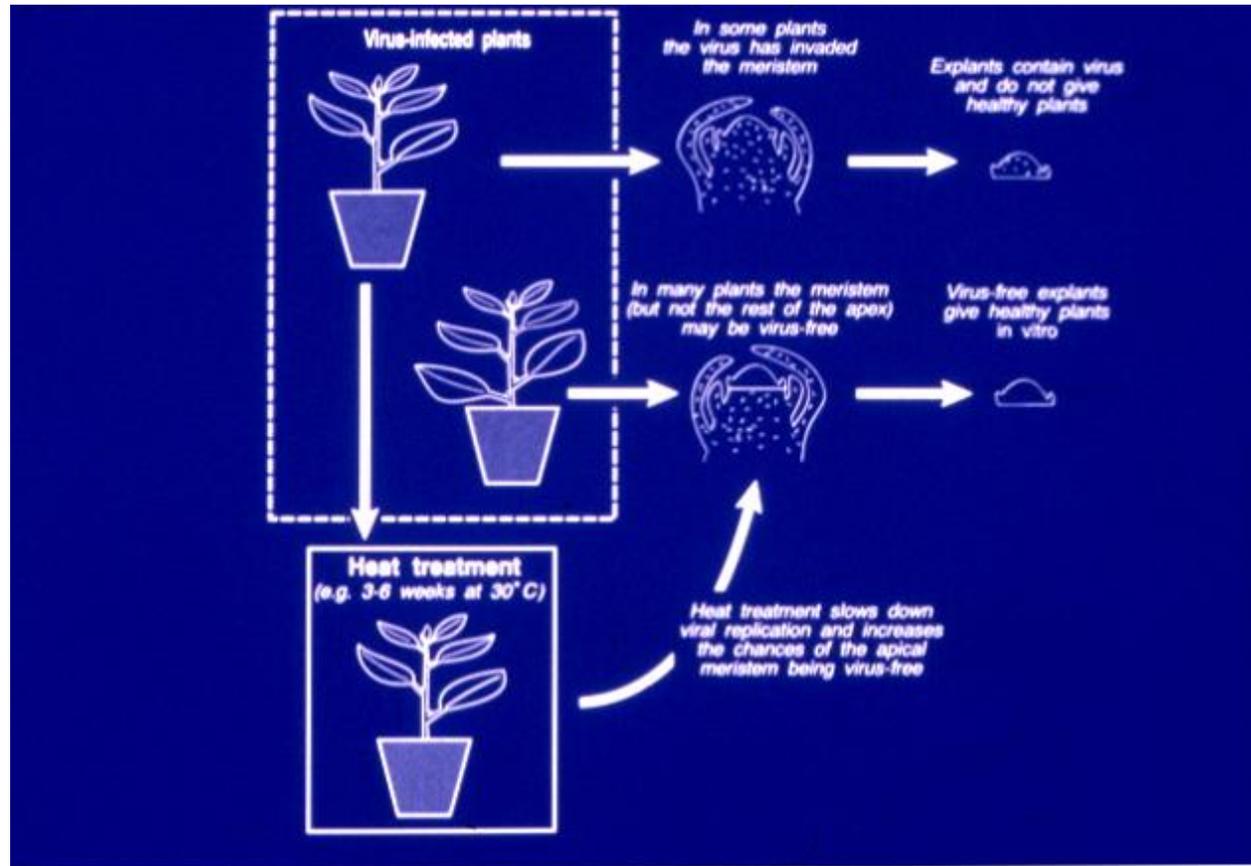
Limpieza o saneamiento de germoplasma

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

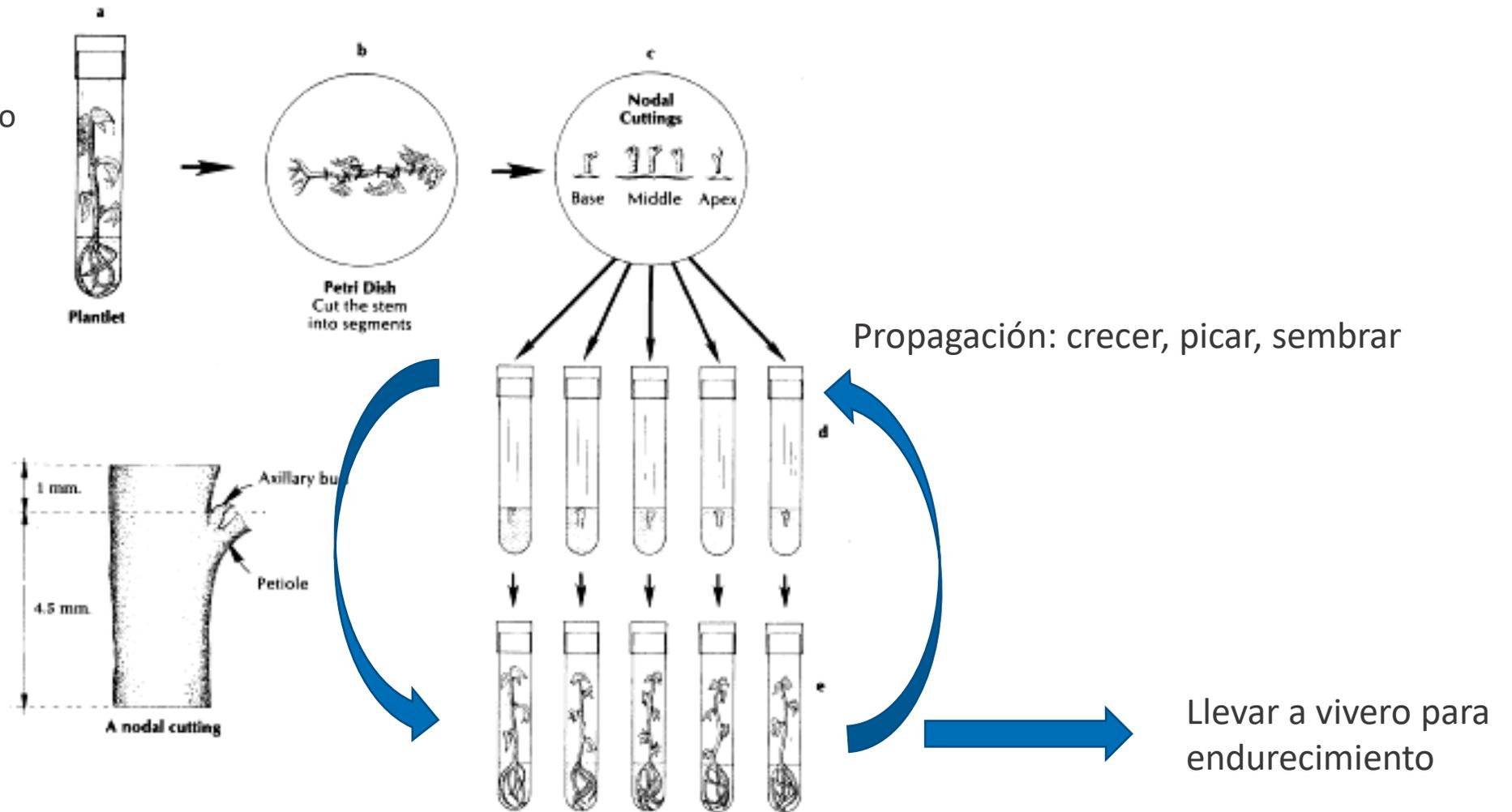
Quimioterapia
Rivavirin 10mg/L

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



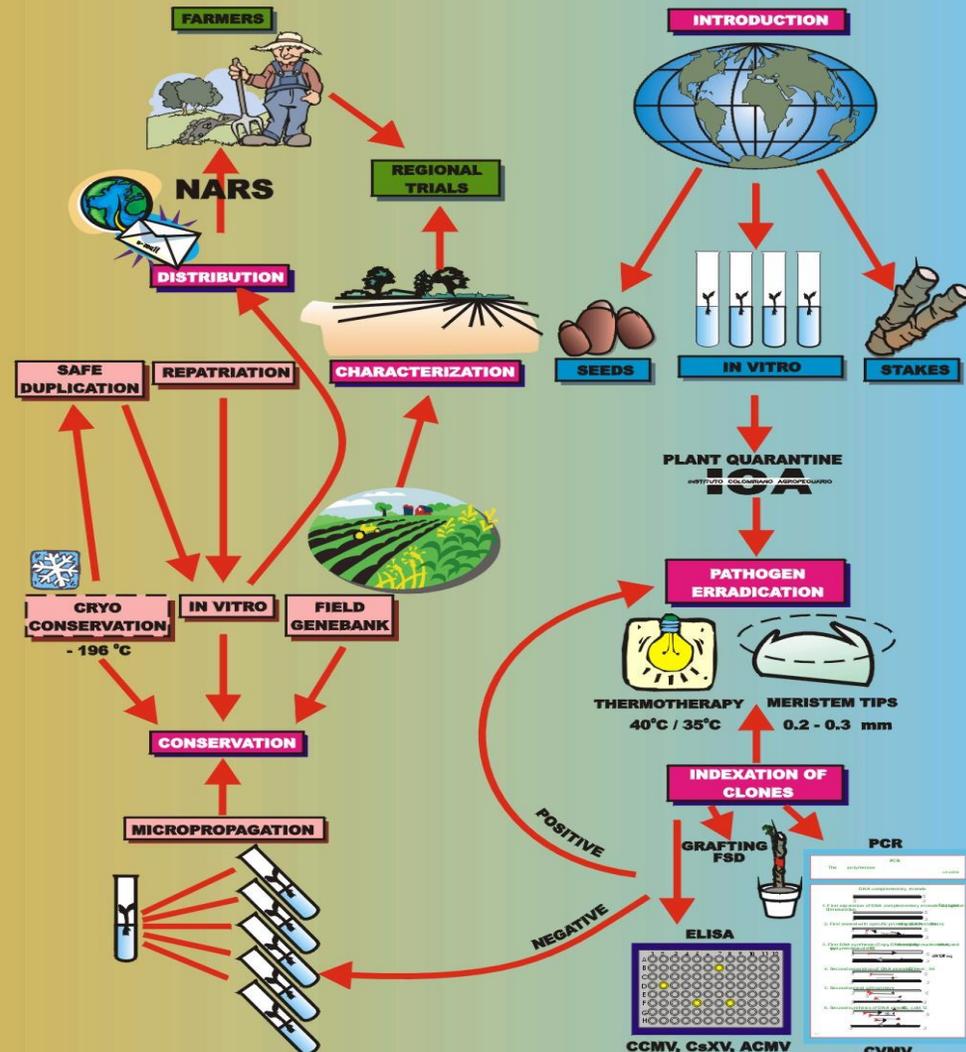
- De puede conservar todo lo que se posible, independiente de su calidad sanitaria (lo que importa es la diversidad y el evento/genotipo/fenotipo)

- 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



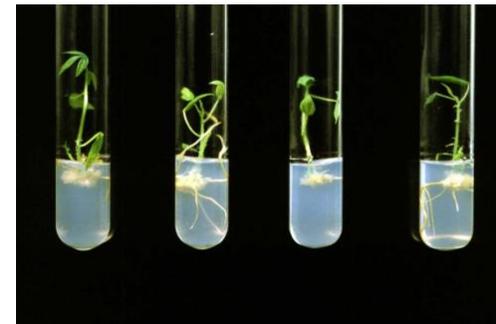
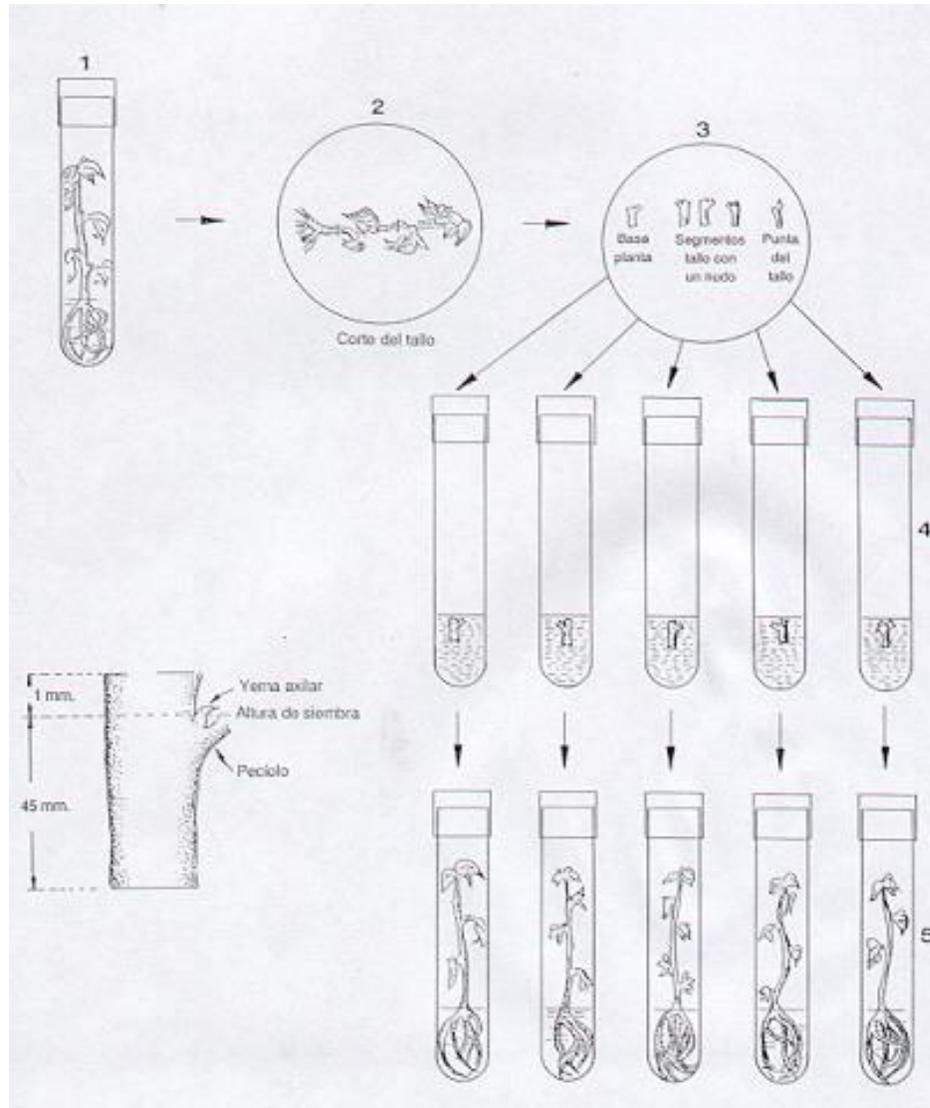
Propagación clonal + *Sanidad*



→ **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

