

18.474

18474

CIAT
SERVICIOS DE DOCUMENTACION

DISTRIBUCION INTERNACIONAL DE CLONES DE YUCA *IN VITRO*

William M. Roca

Fisiólogo, Unidad de Recursos Genéticos, CIAT, Cali, Colombia

Jorge Rodríguez

Asistente de Investig., Unidad de Recursos Genéticos, CIAT, Cali, Colombia

Resumen

La yuca se propaga tradicionalmente en forma vegetativa, y casi siempre a partir de partes de tallo. Este tipo de propagación permite mantener indefinidamente la pureza genética de un clon o variedad además de su variabilidad o heterocigocidad.

La propagación de la yuca mediante la semilla sexual es menos común pero es útil en trabajos genéticos y también para introducir yuca en países que pueden manejar este tipo de material. Cada uno de los métodos de propagación mencionados tiene sus ventajas y desventajas respecto a la introducción de nuevas variedades promisorias a un país, la cual acarrea también el peligro de introducir plagas y enfermedades.

En contraste con lo anterior, el cultivo *in vitro* de meristemas caulinares y sus modificaciones constituyen la técnica más útil de propagación de la yuca. El cultivo de meristemas mantiene aislado el material vegetativo de posibles contaminantes, material que puede considerarse prácticamente libre de problemas patogénicos. Debido a que este sistema de cultivo ocupa poco espacio y tiene una alta tasa de propagación potencial, puede ser usado en el intercambio internacional de clones de yuca.

Introducción

La yuca se propaga preferentemente en forma vegetativa. La propagación vegetativa no sólo sirve al agricultor en la producción de materiales para la siembra sino que permite también al fitomejorador utilizar y mantener indefinidamente un genotipo deseado una vez que éste ha sido identificado. Además, mediante la propagación vegetativa la planta de yuca conserva toda su variabilidad genética (heterocigocidad) en un solo individuo; por el contrario, los caracteres de la planta segregan mucho cuando ésta se propaga sexualmente (Martin, 1976). Varios problemas son inherentes a la propagación vegetativa de la yuca; aquélla se puede convertir en una forma de diseminación de plagas y enfermedades, sobre todo —entre éstas últimas— de las causadas por organismos sistémicos como los de tipo viral, muy peligrosos por su alta trasmisibilidad y difícil detección. Por esta razón, numerosas variedades se han infectado completamente con uno o más virus, lo que ha disminuido su rendimiento y deteriorado la calidad de las raíces.

La diseminación de enfermedades con el material vegetativo de la yuca adquiere mayor peligrosidad cuando ese material se emplea para el intercambio de germoplasma entre países o regiones. El peligro puede ser aún mayor cuando las estacas se despachan del centro de origen de la yuca a otras regiones, ya que aquél también es, por lo general, centro de diversificación de plagas y enfermedades.

Avances recientes en los métodos de cultivo de tejidos permiten la propagación *in vitro* de la yuca (Kantha et al., 1974; CIAT, 1979), con ventajas evidentes sobre las formas convencionales de propagación.

Propagación de la yuca *in vitro*

El cultivo de meristemas caulinares y sus modificaciones (CIAT, 1980) se considera la técnica más práctica de propagación de la yuca *in vitro*. El cultivo de meristemas permite conservar el material vegetativo aislado de contaminantes, por lo cual aquél se puede considerar como “cultivo áxeno de la yuca”. Debido a que requieren espacio pequeño y a su alta propagación potencial, los cultivos de meristemas pueden ser usados para el mantenimiento e intercambio internacional de clones de yuca. Es posible mantener bancos de germoplasma como cultivo *in vitro* con la ventaja de que ocuparán un espacio reducido, estarán limpios de enfermedades y protegidos de ellas, y su costo será menor que si se mantienen como clones en el campo. En el CIAT se realiza este tipo de trabajos (CIAT, 1980).

En una planta infectada, el número relativo de patógenos tiende a disminuir acropetalmente hacia el meristema apical del tallo (Quak, 1977). Aunque existen pocos ejemplos de la presencia de patógenos de tipo viral

en los meristemas, se puede generalizar la afirmación de que la posibilidad de la ausencia de virus en los meristemas es mayor que en los tejidos más diferenciados de la planta (Walker y Webb, 1968). Por tanto, el aislamiento cuidadoso de los meristemas apicales del tallo y su cultivo en un medio nutritivo estéril hasta lograr el crecimiento y desarrollo de plantas, constituyen un sistema de propagación vegetativa de material limpio.

El grado de limpieza aumenta si se expone el material enfermo a tratamientos físicos o químicos —o de ambas clases— que ejercen efectos deletéreos sobre la multiplicación y generalmente, sobre el movimiento del patógeno en la planta (Walkey y Cooper, 1975). El número de plantas de yuca libres de los síntomas de la enfermedad cuero de sapo fue superior al 90% cuando se cultivaron meristemas de 0.4 a 10.6 mm de tamaño, procedentes de yemas brotadas a 40°C (temperatura diurna) y 35°C (temperatura nocturna) durante tres semanas. Esta condición de limpieza se mantiene después de varias generaciones de propagación vegetativa de los materiales.

La propagación de plantas limpias de virus que se pueden obtener por el cultivo de meristemas es variable, dependiendo del virus, de la variedad y del uso apropiado de la técnica. Por este motivo, se hace necesario comprobar la limpieza de las plantas mediante la aplicación de técnicas sensitivas de detección. El conocimiento de estos métodos en la yuca es todavía fragmentario pero se realizan esfuerzos para completarlo (CIAT, 1980).

Una vez que un clon ha sido limpiado de enfermedades, debe ser multiplicado en cantidad suficiente aplicando técnicas de propagación rápida para la producción de "semilla" básica, proceso en el cual deben adoptarse medidas fitosanitarias para minimizar la contaminación de los materiales por enfermedades. Sin embargo, es de esperar siempre cierto grado de contaminación —aunque ésta puede ser prácticamente eliminada— al menos en las primeras fases de producción de semilla básica mediante el uso de técnicas *in vitro*. La modificación de las condiciones químicas y físicas del cultivo ha permitido inducir la proliferación de tallos múltiples a partir de ápices meristemáticos, tallos que pueden ser micro-propagados, a su vez, por medio del cultivo de nudos *in vitro*. El potencial de multiplicación de esta técnica eleva la producción por un factor de 10 cada mes (CIAT, 1981). El material producido por esta multiplicación puede ser mantenido, como también distribuido, *in vitro*.

Distribución de clones *in vitro*

Plántulas mantenidas *in vitro* en un medio nutritivo artificial estéril, que se desarrollaron partiendo de meristemas de 0.4-0.6 mm de tamaño cortados de brotes crecidos en termoterapia, deben considerarse libres de insectos.

tos, ácaros, nematodos, hongos y bacterias (Kahn, 1977). Una contaminación —de haberla— podría ser detectada por su aparición en el mismo medio de cultivo. Si se trata de organismos fastidiosos, estos podrían ser detectados usando un medio de cultivo que pueda soportar su crecimiento. Para comprobar la ausencia de parásitos obligados, como los virus, se deberán aplicar las técnicas de detección disponibles.

Los cultivos *in vitro*, por su relativa limpieza de enfermedades, son uno de los métodos más eficaces para minimizar los riesgos de diseminación de plagas y enfermedades en el intercambio de clones de yuca. Además, por su tamaño pequeño, los cultivos *in vitro* pueden satisfacer las reglamentaciones cuarentenarias.

Esos reglamentos varían enormemente de un país a otro. Hay algunos que admiten la introducción de estacas, como ocurre en varios países de América Latina y de Asia del Sur; otros, en Africa y en América Latina, prohíben terminantemente esa introducción. La posibilidad de que se establezca un microorganismo de significación cuarentenaria de la yuca (Lozano, 1977) en una región será mayor cuanto más alta sea la frecuencia de introducciones de material vegetativo en la ausencia de barreras cuarentenarias. La función de los programas de cuarentena es evitar la introducción y posible establecimiento de plagas y enfermedades peligrosas; en este sentido, el uso de los cultivos *in vitro* constituye una forma de protección adicional contra dicho peligro.

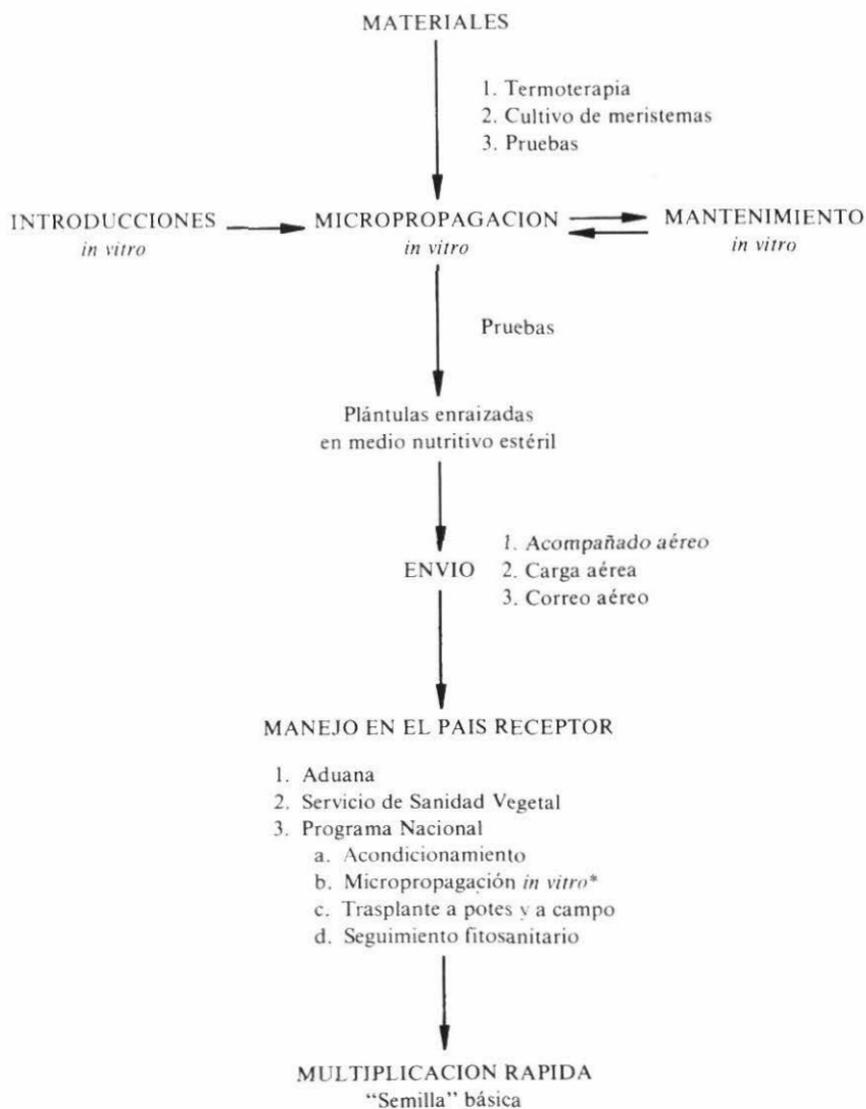
El proceso de transferencia de clones de yuca *in vitro* comprende los siguientes pasos (Figura 1):

1. *Establecimiento de los cultivos in vitro.* Se debe tener en cuenta que cuanto más sensibles sean las técnicas de detección de patógenos, mayor será la seguridad de la limpieza de los materiales para su distribución.

La forma más práctica de envío de los cultivos *in vitro*, desde el punto de vista de su facilidad de manejo en el país receptor, es como plántulas enraizadas en un medio nutritivo gelatinizado con agar.

El material clonal que se distribuye *in vitro* comprende variedades comerciales conocidas, germoplasma básico e híbridos promisorios con combinaciones de características deseables.

2. *Empaque y envío.* Los tubos se empaquetan en cajas de poliestireno que, a su vez, están protegidas por empaques de cartón. Cada paquete debe ser debidamente marcado para facilitar su rápido tránsito por las aduanas hacia los servicios de Sanidad Vegetal de cada país y de allí, al programa nacional de yuca que lo solicitó. Cada envío se hace acompañar de los documentos fitosanitarios requeridos así como de una lista de los materiales, sus características y una explicación sobre cómo deberán ser manejados.



* Opcional

Figura 1. Etapas en la distribución internacional de clones de yuca in vitro.

Los envíos se deben hacer, de preferencia, por vía aérea y si fuere posible, como equipaje acompañado; también pueden hacerse como carga o correo aéreo. La yuca es altamente sensible a la falta de luz, por lo que el tiempo de duración de un envío debe ser muy corto. Se ha podido determinar que envíos de duración mayor de las dos semanas producen etiolación, clorosis y por último, deterioro de los tejidos, todo lo cual dificulta la recuperación de las plantas en el país receptor. Sin embargo, ha sido posible recuperar plantas de cultivos fuertemente afectados por viajes largos enviados a varios países de Asia del Sur, Australia y Africa del Sur. El éxito logrado en estos casos se debió a la buena preparación del personal de esos países en las técnicas de micropropagación *in vitro* y de trasplante de los cultivos a macetas y al campo.

3. *Manejo en el país receptor.* Este es el paso más crítico de todo el proceso de transferencia; como ya se indicó, depende en gran medida de la preparación técnica del personal que recibe el material así como de la existencia de facilidades mínimas de laboratorio e invernadero.

Después de pasar por la aduana y por el servicio de Sanidad Vegetal, el manejo consiste básicamente en aclimatar los cultivos para su trasplante y luego hacer el trasplante a macetas usando un sustrato esterilizado, bajo condiciones de alta humedad que reduzcan la pérdida de agua de las plantas. El riego de las plantas con un fertilizante rico en fósforo durante las dos primeras semanas es crucial para lograr un buen arraigo y un crecimiento rápido de las mismas.

Cuando las plantas tienen aproximadamente 15 ó 20 cm de altura y están aparentemente adaptadas en el invernadero, se consideran listas para el trasplante al campo definitivo, que es de observación y multiplicación a la vez.

Durante el crecimiento de las plantas en el invernadero, y más tarde en el campo, se deben practicar observaciones fitosanitarias para confirmar la seguridad que se tiene de su limpieza, utilizando, si fuere posible, técnicas sensibles de detección.

Entre 1979 y 1981 se han distribuido más de 140 variedades del CIAT a numerosos países de América en forma de cultivos *in vitro*. Asimismo se han enviado más de 50 variedades a varios países de Asia del Sur, y 15 clones a otros países.

El método *in vitro* también se está utilizando para introducir en el CIAT germoplasma nuevo de yuca procedente de varios países latinoamericanos y asiáticos. Entre 1979 y 1981 se introdujeron en el CIAT cerca de 300 variedades en forma de cultivos de meristemas. Estos materiales, después

de ser micropropagados *in vitro* y trasplantados al invernadero, han sido llevados al campo para su multiplicación y uso futuro en evaluaciones de germoplasma.

El empleo sistemático de los cultivos *in vitro* sólo será efectivo si se cuenta con personal bien entrenado y con un nivel mínimo de instalaciones de laboratorio e invernadero. Aunque el costo de esas instalaciones básicas no es elevado, la experiencia ganada en la aplicación de este sistema demuestra que la creatividad para adaptar facilidades ya existentes a esta tarea y el apoyo administrativo que el personal técnico requiere, juegan un papel muy importante. Otra necesidad es el desarrollo de técnicas para la detección de virus en el material vegetativo de yuca, aplicadas tanto antes de su distribución internacional como en los países receptores.

Actualmente, resulta difícil la propagación de especies silvestres de *Manihot* por medio del cultivo de meristemas. Mientras se adecúan los métodos para lograrlo, el material silvestre de yuca se intercambia en forma de semilla sexual. El cultivo *in vitro* de embriones de estas especies permite producir plantas a partir de las semillas, salvando así el problema de la escasa germinación de estos materiales. La mayoría de las enfermedades conocidas de la yuca no se transmiten por la semilla sexual que, por este motivo, es muy aceptada para la introducción de germoplasma a varios países (Elango y Lozano, 1980); sin embargo, es también necesario que se tomen medidas sanitarias cuando se intercambian semillas que podrían diseminar patógenos desconocidos.

Bibliografía

- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1979. Cassava program; cassava tissue culture. En: CIAT Annual Report 1978. Cali, Colombia. p. 82-88.
- _____. 1980. Cassava program; pathology section. En: CIAT Annual Report 1979. Cali, Colombia p. 19-26.
- _____. 1981. Cassava program; cassava tissue culture. En: CIAT Annual Report 1980, Cali Colombia. p. 79-85.
- Elango, F. y Lozano, J.C. 1980. Transmission of *Xanthomonas manihotis* in seed of cassava (*Manihot esculenta*). Plant Disease 64:784-786.
- Kahn, R. P. 1977. Plant quarantine; principles, methodology and suggested approaches. En: Hewitt, W.B. y Chiarappa, L. (eds.). Plant health and quarantine in international transfer of genetic resources. CRC Press, Cleveland, Ohio. p. 289-307.
- Kartha, K. K.; Gamborg, O. L.; Constabel, F.; y Shyluk, J. 1974. Regeneration of cassava plants from shoot apical meristems. Plant Sci. Lett. 2:107-113.

- Lozano, J.C. 1977. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). En: Hewitt, W. B. y Chiarappa, L. (eds.). Plant health and quarantine in international transfer of genetic resources. CRC Press, Cleveland, Ohio. p. 103-109.
- Martin, F. W. 1976. Cytogenetics and plant breeding of cassava; a review. Plant Breed. Abs. 46:909-916.
- Quak, F. 1977. Meristem culture and virus-free plants. En: Reinert, J. y Bajaj, Y. P. S. (eds.). Plant cell tissue and organ culture. Springer-Verlag, New York.
- Walkey, D. G. A. y Webb, M. J. W. 1968. Virus in plant apical meristems. J. Gen. Virol. 3:311-313.
- Walkey, D. G. A. y Cooper, V. C. 1975. Effects of temperatures on virus eradication and growth of infected tissue cultures. Ann. Appl. Biol. 80:185-190.