

66169

100/00

**CLAYUCA**

*Consortio Latinoamericano y del Caribe de Apoyo  
a la Investigación y Desarrollo de la Yuca*



Bioteconología de Colombia Ltda.

**Adaptación y evaluación técnica y económica de un sistema de  
multiplicación rápida de material de siembra de yuca basado en el método  
de inmersión temporal**

**INFORME FINAL**

**Noviembre de 2001**



**Adaptación y evaluación técnica y económica de un sistema de multiplicación rápida de material de siembra de yuca basado en el método de inmersión temporal**

**Informe Final**

**1. Introducción**

El presente proyecto se realizó con apoyo financiero de la Federación Nacional de Avicultores de Colombia (FENAVI), a través de un convenio suscrito con el Consorcio Latinoamericano y del Caribe de Apoyo a la Investigación y Desarrollo de la Yuca (CLAYUCA), representado por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). La ejecución de las actividades estuvo a cargo de CLAYUCA y la empresa Biotecnología de Colombia LTDA, BIOTECOL.

El proyecto buscaba ensamblar y evaluar un sistema de multiplicación rápida de material de siembra de yuca, basado en el sistema de inmersión temporal de yuca, con el objetivo de proveer a los agricultores de yuca en diversas regiones de Colombia material de siembra de excelente calidad y en las cantidades adecuadas.

Para apoyar el logro de los objetivos propuestos se contó con la colaboración del Instituto Nacional de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT), a través del envío de un técnico especializado en el montaje de sistemas de propagación rápida de yuca basados en la metodología de inmersión temporal rápido. Los recursos financieros otorgados por FENAVI permitieron cubrir los gastos de pasaje, hospedaje, alimentación y honorarios del técnico cubano y comprar los equipos necesarios.

La empresa BIOTECOL, asociada a CLAYUCA, facilitó las instalaciones para el montaje del equipo, colocó operarios a disposición y aportó asistencia técnica especializada en la persona de la Dra. Paulina Pineda, Gerente de Producción.

El Consorcio Latinoamericano y del Caribe de apoyo a la Investigación y Desarrollo de la Yuca - CLAYUCA – expresa sus agradecimientos a Armando Bedoya (Técnico de invernadero), Roberto Segovia (Ingeniero Agrónomo Paisajista) y William Triviño por el empeño y ahínco con que trabajaron durante todo este año haciendo posible la realización de este proyecto.

## 2. Plan de trabajo

La implementación de este proyecto ha tenido el siguiente cronograma:

	Sept 2000	Oct. 2000	Nov. 2000	Dic. 2000	Ene. 2001	Feb. 2001	Mar. 2001	Abr. 2001	May. 2001	Jun. 2001	Jul. 2001	Ago. 2001	Sep. 2001	Oct. 2001
Planificación del proyecto, discusión y aprobación	■	■												
Asesoría científica por parte del Ing. Víctor Mederos, INIVIT, Cuba			■	■	■									
Instalación del Sistema SIT en la sede de Biotecol y funcionamiento de cinco baterías SIT				■	■									
Seminario sobre Micropropagación de yuca usando el Sistema SIT (Víctor Medero-INIVIT)				■	■									
Funcionamiento de otras cinco baterías SIT				■	■									
Ingreso de cinco plantas <i>in vitro</i> de cada una de las variedades a propagar					■									
Adaptación y multiplicación de variedades por el sistema tradicional <i>in vitro</i> para lograr las poblaciones requeridas					■	■	■	■						
Trabajo en las baterías SIT con las variedades seleccionadas								■	■	■	■	■		
Multiplicación de las variedades seleccionadas (se produjeron un total de 73,000 plantas)								■	■	■	■	■		
Ensayos de aclimatación en invernadero (1,200 plantas)										■				
Aclimatación y endurecimiento de plantas en invernadero (33,000 plantas)											■	■		
Ajustes en la metodología de endurecimiento de plantas													■	
Incubación de plantas (40,000 plantas)														■
Siembra en campo de plantas endurecidas (2 ha)														■

### **3. Productos esperados**

Los productos esperados en el presente proyecto y los resultados obtenidos son descritos a continuación:

#### **Producto 1. Implementación y puesta en funcionamiento del Sistema de Inmersión Temporal para apoyar trabajos de multiplicación rápida de material de siembra de yuca**

##### **Resultados**

Gracias a la asesoría científica del Ingeniero Victor Medero Vega, del Instituto Nacional de Viandas Tropicales de Cuba (INIVIT), y el apoyo financiero recibido por parte de FENAVI y el Fondo Nacional de la Avicultura (FONAV), se realizó esta actividad. El Sistema de Inmersión Temporal (SIT) se instaló en la sede de la empresa Biotecol de Colombia LTDA., socia de CLAYUCA y coejecutora del presente proyecto.

El Anexo 1 presenta un informe completo de esta fase incluyendo fotografías y planos del sistema y recomendaciones del Consultor.

En general, se puede concluir que el equipo está funcionando en perfectas condiciones desde el punto de vista mecánico; el funcionamiento durante los últimos meses ha permitido realizar algunos ajustes buscando optimizar su desempeño, especialmente en lo relacionado con el tipo de Erlenmeyer utilizado. El sistema presenta aún niveles de contaminación relativamente altos y todavía no se ha detectado con exactitud la causa de esta contaminación. Existen posibles causas que están siendo investigadas, por lo que será necesario seguir realizando ensayos y ajustes hasta solucionar este problema. Este punto será discutido mas adelante en este informe.

#### **Producto 2. Optimización de factores de laboratorio que son críticos en el protocolo de propagación para un grupo de genotipos elite de yuca**

##### **Resultados**

##### **2.1 Manejo de los explantes a propagar**

Para aprovechar la presencia del asesor cubano en la operación inicial del Sistema SIT fue necesario solicitar al INIVIT un envío de 100 plantas *in vitro* de la variedad CMC-40, debido a que las variedades solicitadas al Banco de Germoplasma del CIAT sólo estuvieron disponibles el 4 de enero. La operación de un Sistema SIT requiere un número mínimo de plantas de por lo menos 50 de cada variedad, por lo que inicialmente se procedió a multiplicar las plantas

recibidas del CIAT. La multiplicación se efectuó por el sistema tradicional de cultivo de tejidos, en un medio contenido en frascos de vidrio de 100 cm<sup>3</sup> de capacidad, pero con 20 mililitros del medio solidificado, y una población de tres plantas por frasco (Tabla 2.1.1).

Variedades recibidas	No. de plantas por variedad
CM 4574-7	5
CM 6740-7	5
TAI - 8	5
CM 6438-14	5
MCOL 1468	5

**Tabla 2.1.1 Variedades recibidas del CIAT para multiplicación en el Sistema SIT**

Desde la fecha en que se recibieron hasta finales del mes de abril, las variedades mencionadas se continuaron trabajando por los métodos rutinarios hasta lograr poblaciones suficientes para instalarlas en los SIT. Pasaron por cuatro divisiones y sus respuestas presentaron variaciones en función de la variedad utilizada (Tabla 2.1.2)

Variedades:	Tasa de Multiplicación:
CM 4574-7	2.8
CM 6438-14	3.9
CM 6740-7	5.2
MCOL 1468	3.5
TAI-8	2.9

**Tabla 2.1.2 Tasas de multiplicación de variedades de yuca por método tradicional.**

La tasa de multiplicación se refiere a la cantidad de plantas hijas que genera una planta madre en cada división. Esta información es un parámetro importante para poder comparar luego con las tasas de multiplicación obtenidas por el sistema SIT.

## 2.2. Medio de Cultivo

Se empleó el medio desarrollado y utilizado por el CIAT desde 1991 (Roca et al, 1991), que también corresponde al mismo medio utilizado en Cuba. En el presente proyecto se introdujo un cambio en la última etapa para inducir el enraizamiento, bajando a 1/3 las sales minerales de Murashige and Skoog, el medio tradicional utilizado para multiplicación de plantas *in vitro*. Se obtuvieron buenos resultados ya que se logró producir plantas con tallos más fuertes y menor incidencia de la elongación (etiolación) de la planta.

### 2.3. Tiempos de esterilización

Normalmente los materiales se autoclavan a 15 libras de presión, 120 °C de temperatura y un tiempo de autoclavado de 15 minutos. Con los problemas de contaminación que se han presentado en la operación del sistema se ensayaron varios tiempos de autoclavado, encontrándose que un tiempo de 25 minutos, con presión de 18 a 10 libras, resulta en un medio con precipitados pero que no afecta el normal desarrollo de las plantas.

### 2.4. Volumen de medio y número de explantes

Se realizaron varios ensayos para determinar el efecto de los volúmenes de medio utilizado y el número de plantas colocadas en el sistema. Los resultados encontrados indican que el volumen óptimo es 1 litro de medio líquido en un Erlenmeyer con capacidad de 3 litros. En cuanto al número de plantas a utilizar, se encontró que un rango de 35 a 40 es el número máximo que se puede usar en el volumen de 1 litro.

El tamaño ideal de los explantes varía entre 1 a 3 cm, siendo lo ideal un tamaño entre 1.5 a 2.0 cm

### 2.5. Frecuencia y tiempos de inmersión sobre los coeficientes de multiplicación

Los diferentes ensayos realizados permitieron definir los siguientes parámetros óptimos de funcionamiento del sistema:

Parámetro	Condiciones ideales
Tiempo de inmersión	8 minutos
Frecuencia	4 veces en 24 horas
Volumen de medio	1.0 litro en Erlenmeyer de 3.0 litros.
Temperatura	27 °C
Luminosidad	3.500 Lux
Tiempos de luz	14 horas luz, 10 de oscuridad
Tiempo de incubación	30 días

## 2.6 Historial de cada Sistema SIT durante su funcionamiento:

SIT No.	Resultados	
	Instalación	Cosecha
1	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se instaló en diciembre 29 de 2001</li> <li>Se emplearon 35 explantes de la variedad CMC-40</li> <li>En enero 15 de 2001 se manipuló tres veces por problemas con el tapón de caucho</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se cosechó en febrero 15 de 2001 con una tasa de multiplicación de 14</li> <li>Algunas plantas presentaron vitrificación</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se montó nuevamente con 40 explantes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fue descartado el 22 de febrero por presentar contaminación</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se montó nuevamente el 25 de febrero</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se volvió a eliminar por contaminación</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se instala nuevamente el 9 de abril con CMC 6740-7</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El sistema presentó problemas con el filtro</li> <li>Se cosechó el 30 de abril por problemas de contaminación</li> <li>El material rescatado salió con una tasa de 1.3</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se instaló nuevamente el 9 de abril con la misma variedad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se reemplazó el tapón de caucho por tapón de silicona</li> <li>Presentó contaminación al tercer día</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Durante los meses de junio, julio, agosto y septiembre se montó siete veces más</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Presentó contaminación en todos los casos, a los 3 a 5 días de instalado</li> </ul>

SIT No.	Resultados	
	Instalación	Cosecha
2	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se instaló con la variedad CMC 40 con 60 explantes el 29 de diciembre de 2000.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El 2 de enero ya estaba contaminado.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se monta nuevamente el 2 de enero con 30 explantes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se retiró el 29 de enero por contaminación</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>El 31 de Enero se monta con 35 explantes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>En marzo 7 se cosecha y se obtiene una tasa del 8.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se instala nuevamente con la variedad MCOL 22 15 el 7 de marzo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fue eliminado el 26 de marzo por contaminación.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se trasladó a este lugar el SIT No. 8 conteniendo la misma variedad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El 6 de abril se cosecha dando una tasa del 7.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>En abril 30 se instala con la variedad CM 64 38 – 14 con 36 explantes. Se cambia a tapón de silicona</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Al tercer día presentó contaminación</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Durante los meses de junio, julio, agosto y septiembre se instaló siete veces más</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>En todas las veces se observó contaminación.</li> </ul>

SIT No.	Resultados	
	Instalación	Cosecha
3	<ul style="list-style-type: none"> <li>En enero 22 se instaló con la variedad CMC 40 con 40 explantes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se retiró por taponamiento en la malla de absorción.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se vuelve a sembrar con la misma variedad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>En enero 27 se retiró por contaminación.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se instaló en enero 31 con la variedad MCOL 15 – 05, con 40 explantes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se cosechó en marzo 7, con una tasa del 8, el material presentó formación de callos los cuales no son deseables en este tipo de multiplicación.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>En marzo 7 se montó nuevamente con la misma variedad e igual número de explantes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>En marzo 26 se eliminó por contaminación.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se traslada a este sitio el SIT No. 6 conteniendo CMC 40</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>En abril 30 fue cosechado, con una tasa del 7.5, en plantas muy pequeñas.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>En abril 30 se instaló con el mismo material e igual número de explantes, con los nuevos tapones de silicona</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Al tercer día presentó contaminación.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Durante los meses de junio a septiembre se montó siete veces más</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>En todos los casos fue eliminado por contaminación.</li> </ul>



SIT No.	Resultados	
	Instalación	Cosecha
4	<ul style="list-style-type: none"> <li>El 29 de diciembre de 2000 se instaló con la variedad CMC 40 con 50 explantes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se eliminó el 13 de enero por contaminación</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>El 15 de enero se monta nuevamente con 30 explantes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El 31 de enero se manipuló el sistema por problemas con el tapón</li> <li>El 13 de febrero se cambió el medio debido a poco crecimiento de las plantas</li> <li>En febrero 27 se retiró debido a que las plántulas no presentaron ningún desarrollo</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>El 27 de febrero se instaló con la variedad MCOL 22-15, con 35 explantes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>En abril 9 se cosechó con una tasa del 7.7. Plantas muy elongadas, pocos entrenudos, hojas malformadas, enrollamientos, vitrificación</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se instala nuevamente en abril 9 con la misma variedad y con 35 explantes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fue eliminado el 30 de abril por contaminación</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se instaló nuevamente en abril 30 con la variedad MCOL 14-68, con 33 explantes, con los nuevos tapones de silicona</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se retiró al tercer día por contaminación</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Durante los meses de junio, julio, agosto y septiembre se instaló siete veces más</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>En todas las veces se observó contaminación</li> </ul>

SIT No.	Resultados	
	Instalación	Cosecha
5	<ul style="list-style-type: none"> <li>El 29 de diciembre de 2000 se instaló con la variedad CMC 40 con 60 explantes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se cosechó en febrero 13 con una tasa del 11.5.</li> <li>Se dificultó mucho la sacada del material por la boca del Erlenmeyer lo cual causó pérdida de material, la tasa pudo ser aún más alta</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>En febrero 13 se monta nuevamente con la misma variedad, con 40 explantes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se retiró en marzo 22 por estar contaminado</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se instaló en marzo 22 con CMC-40 con 40 explantes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se retiró en marzo 26 por presentar contaminación</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se trasladó a este lugar el SIT No.10</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Al cosechar, presentó tamaño normal (5 nudos), pero tenía hojas amarillas y excesiva formación de raíces. Dio una tasa de 5.6</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>En abril 9 se instaló con CMC-40, con 40 explantes Se reemplazó el tapón de caucho por tapón de silicona y fue el único SIT con este tipo de tapón que no se contaminó</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se obtuvo una tasa de 4.8 plantas, con muy poco brote y mucha vitrificación.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Durante los meses de junio, julio, agosto y septiembre se instaló siete veces más</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>En todas las veces se observó contaminación.</li> </ul>

## 2.5. Funcionamiento de los SIT No. 6 al 10

Los SIT No. 6 al 10 fueron utilizados para realizar ajustes y ensayos sobre los siguientes parámetros:

1. No. de explantes
2. Volúmenes de medio de cultivo
3. Tiempos de autoclavado del medio de cultivo
4. Distancias a la fuente de luz
5. Luz por arriba y/o por abajo
6. Presión de los sistemas
7. Tiempos de incubación
8. Otros parámetros

De este grupo, el único SIT que se pudo cosechar fue el No. 9, el cual fue instalado con la variedad MCOL 15-05 y dio una tasa del 12.

En resumen, durante el período de funcionamiento de los 10 SIT se efectuaron un total de 140 instalaciones, con un promedio de 14 cambios, debido,

principalmente, a contaminación. Se ha tenido éxito en cinco de ellas, lo que corresponde a un 3.5% de todos los sistemas instalados.

Las tasas de multiplicación se han visto incrementadas de 3.0%, como se da en el sistema "*in vitro*" convencional (estacionario), al 12% y 14% que se dan en los sistemas SIT, es decir, un incremento del 400%. La superioridad de esta nueva tecnología está dada por la renovación constante de O<sub>2</sub> y la eliminación de gases tóxicos. Los explantes se exponen al medio líquido por períodos de tiempo controlados, lo cual favorece la disponibilidad de nutrientes, evitando la muerte de las plantas por asfixia, lográndose una producción de plantas de alta calidad y vigor.

El problema que aún existe es el de la contaminación que se ha presentado desde el inicio de las operaciones, el cual ha alcanzado niveles altos. Aún así, a pesar de estos inconvenientes, durante el período de operaciones se logró producir más de 50000 plantas.

Todas las condiciones han sido probadas, evaluadas, sometidas a variaciones con el fin de optimizar el sistema, es importante rescatar que tradicionalmente el laboratorio maneja condiciones de contaminación por debajo del 2%; la lucha por encontrar y resolver el alto porcentaje de contaminación que presentan los SIT se ha llevado a medidas extremas, pero se debe continuar hasta detectar las fuentes de contaminación y poder bajar ese alto porcentaje

### **Producto 3. Establecimiento de los parámetros de campo que permiten optimizar la aclimatación y el crecimiento de las plantas generadas por el método de inmersión temporal rápida**

A pesar de los problemas presentados con los altos niveles de contaminación en el funcionamiento del Sistema SIT, se logró producir un número considerable de plantas que fueron utilizadas para evaluar los parámetros de campo que intervienen en la fase de aclimatación de las plantas.

Una vez que el sistema SIT empieza a producir plantas en gran cantidad, se pueden presentar problemas con el manejo de las plantas por falta de espacio en invernaderos o en casas de malla. En el presente proyecto ocurrió esta situación ya que los invernaderos y casas de malla del CIAT estaban ocupados. Este factor no permitió una buena coordinación entre la producción de plantas en el SIT y la entrega de los plantines a CLAYUCA para la fase de aclimatación. En las etapas iniciales de esta fase, la mayoría de las plantas llegaron en estado muy avanzado de etiolación lo que dificultó su endurecimiento y sobrevivencia. Posteriormente, se mejoró la coordinación, las plantas llegaron en mejor estado y los resultados de endurecimiento y sobrevivencia alcanzaron niveles aceptables.

A continuación se describen los resultados obtenidos, haciendo énfasis en aquellas condiciones que fueron encontradas como las más aceptables para garantizar niveles óptimos de aclimatación y endurecimiento de las plantas que son generadas en el SIT.

Fecha	Variedad	Vitro-plantas recibidas por CLAYUCA
Julio 10/2001	CMC-40	5500
Julio 17/2001	CMC-40	7000
Agosto 17/2001	CMC-40	5000
Agosto 8/2001	CMC-40	4350
Agosto 13/2001	MCOL 1505	5500
Septiembre 25	TAI 8	500
Octubre 7/2001	CMC-40 MCOL 2215	2500
<b>TOTAL</b>		<b>30350</b>

## Resultados :

**3.1 Luz:** Se evaluaron diferentes colores de recipientes que cubrían las vitroplantas después del trasplante inicial. Las plántulas ubicadas en los recipientes de color azul mostraron un crecimiento del tallo y hojas superior al testigo y a las ubicadas en recipientes de color amarillo y rojo.

**3.2 Humedad relativa:** Se evaluaron diferentes clases de cámaras húmedas:

- ✓ Una cámara húmeda con humidificador controlado por un reloj control. En este método se sembraron las plantas en una bandeja de enraizamiento.
- ✓ Una minicámara húmeda proporcionada por pequeños vasos de icopor que cubrían cada plántula. En este método, las plantas están sembradas en vasos de icopor o vasos jiffy.
- ✓ Una minicámara proporcionada por una bolsa plástica transparente la cual cubría las plántulas. En este método, las plantas se sembraron en bolsas plásticas las cuales se depositan en una canasta plástica. Este método fue muy funcional ya que el porcentaje de pérdida de plántulas fue mínimo (1% a 2%).

**3.3 Temperatura:** En todos los ensayos se pudieron determinar que temperaturas superiores a 43 °C en los primeros tres días, generan un porcentaje de pérdida de plántulas superior al 90%. Este efecto es más pronunciado cuando las plantas están muy etioladas al salir del sistema SIT.

**3.4 Espacio y materiales:** Si se utilizan bandejas (45 cm x 30 cm x 25) en las cuales se pueden colocar 54 bolsas (7 cm x 14), se hace necesario un espacio en casa de malla de 25 m<sup>2</sup> de área útil para 10.000 plántulas, lo cual representa una disminución de espacio considerable en comparación con el sistema tradicional de endurecimiento. Con la utilización de las canastas plásticas en lugar de las bandejas, el número de bolsas plásticas que se pueden acomodar en cada canasta sube a 80. Con una área de casa de malla disponible de 26 x 6 metros, se pueden ubicar 48 mesas. En cada mesa caben 10 canastas plásticas. Entonces se pueden manejar 38.800 plantas al mismo tiempo

**3.5 Mano de obra para riego:** La utilización de un sistema de riego por micro-aspersores, reduce la utilización de mano de obra en un 90%, con respecto al sistema tradicional de endurecimiento.

**3.6 Sistema de siembra:** El sistema de siembra que dio mejores resultados consiste en llenar las bolsas con  $\frac{3}{4}$  de la mezcla, colocar la planta y, luego, adicionar el  $\frac{1}{4}$  restante de mezcla. Este método redujo drásticamente las pérdidas cuando se manejaron cantidades grandes de plantas. Esta práctica es muy importante cuando no se dispone de mano de obra calificada para manejar las plantas.

#### **4. Acondicionamiento de las plantas que salen del Sistema SIT**

El éxito en el proceso de "endurecimiento" depende de muchos factores que deben manejarse en una forma integral, desde la recepción de las vitro-plantas hasta el trasplante en el sitio definitivo.

**a.- Recepción de vitro-plantas:** En las condiciones en que implementó el presente proyecto, las plantas generadas en el SIT fueron acondicionadas en frascos con un número de cinco plantas por frasco y transportadas en cajas con capacidad para 90 a 100 frascos, es decir, entre 450 a 500 plantas por caja. Cuando llegan las cajas con los respectivos frascos debe procederse a retirarlas rápidamente de las cajas y colocarlos en forma separada en un lugar fresco y con iluminación adecuada. Esta es una oportunidad para realizar una preselección, eliminando frascos que se observe que están contaminados, quebrados o maltratados.

**b.- Pre-adaptación de plántulas:** En algunas ocasiones, el número de plantas recibidas de una sola vez fue muy alto y la capacidad disponible de mano de obra no permitió una manipulación rápida del material, debiendo permanecer éste varios días en las cajas. En estas condiciones se observó una tasa de mortalidad alta. Cuando esto sucede, se recomienda guardar los frascos en un lugar fresco y con luz adecuada, durante 1 ó 2 días. En este período se retira la cinta plástica que rodea la tapa de los frascos para aclimatar la plántula a las condiciones del lugar. Se aconseja que todo el proceso del trasplante se inicie a partir de las 4:00 p.m., todos los días, con el fin de evitar la deshidratación de las plántulas, especialmente si el trabajo se realiza en una casa de malla.

**c.- Substrato para el trasplante:** Los mejores resultados que se obtuvieron en el presente proyecto en cuanto al sustrato a usar para el endurecimiento fueron con la mezcla de 1 parte de suelo molido o zarandeado (capa arable no arcillosa) y tres partes de arena (arena gruesa lavada).

En todos los casos, el sustrato fue esterilizado a vapor para minimizar riesgos de presencia de hongos y nematodos del suelo. En caso de que no se cuente con el equipo de "esterilización" se puede depositar la arena en una caneca metálica que contenga agua y, posteriormente, someterla a calor. Respecto al suelo, se puede extender una delgada capa de suelo en un plástico, cubrirla con otro plástico negro en forma hermética y dejarla una semana expuesta al sol.

## 5. Proceso inicial de trasplante

Basándose en las experiencias obtenidas durante el presente proyecto, se ha logrado definir una metodología que se considera la más adecuada para manejar la fase de trasplante de las plántulas generadas en el sistema SIT. Los pasos recomendados son:

- a- Llenar las bolsas plásticas con la mezcla de suelo.
- b- Seleccionar frascos que contengan las plántulas más vigorosas (color verde intenso, erguidas) con un tamaño entre 3 y 6 cm.
- c- Extraer la plántula del frasco.
- d- Lavar las raíces para eliminar el agar.
- e- Transplantar las vitro-plantas a las bolsas plásticas que previamente se han ubicado en una canasta plástica. El tamaño de bolsa utilizado es de 7 x 14 cm y en una canasta plástica caben 80 bolsas.
- f- Regar inmediatamente después del trasplante ( $10 \text{ cm}^3$  de agua por bolsa). Este primer riego debe contener un fungicida para hongos del suelo y un fertilizante rico en fósforo que estimule el enraizamiento.
- g- Cámara húmeda: La canasta plástica con las respectivas plántulas se cubre con una bolsa plástica, la cual se cierra creando así el efecto de una cámara húmeda que ayuda a minimizar el estrés de la planta recién transplantada.
- h- El paso siguiente es llevar las canastas plásticas a una casa de malla en la cual permanecerán en la siguiente fase del proceso de endurecimiento. No se recomienda utilizar el invernadero ya que los costos de operación son muy altos. Una casa de malla puede ser construida con menores

costos y se adapta perfectamente a las necesidades de condiciones ambientales que se requieren en esta etapa.

En esta fase se debe estar muy atento a los cambios micro-climáticos dentro de las instalaciones, a la nutrición de las plántulas, al riego y a la presencia de plagas y enfermedades.

## **6. Manejo de las plantas después del transplante inicial**

En general, las experiencias obtenidas por el CIAT en el manejo de plantas producidas por métodos de propagación rápida fueron desarrolladas manejando un número pequeño de plantas, para el cual las necesidades de espacio y de manejo no son tan exigentes. Con la utilización de métodos, como el de *Inmersión Temporal*, ahora es posible producir un número muy grande de plantas, en períodos de tiempo cortos, por lo que existe la necesidad de generar metodologías de manejo que permitan recuperar y mantener las plantas en buenas condiciones hasta que son llevadas al campo.

En la metodología generada durante el presente proyecto, esta fase empieza a partir del momento en que las plantas, debidamente acondicionadas, son colocadas en la casa de malla. A partir de allí, los pasos sugeridos son los siguientes:

- a. Al octavo día de tener las plantas en la casa de malla se retira el amarre de la bolsa plástica, permitiendo a las plántulas que se vayan adaptando al micro ambiente de las instalaciones.
- b. Riego: Si las condiciones son normales y no hay marchites fisiológica, se hace el segundo riego de mantenimiento a los 10 ó 12 días después del transplante. Este segundo riego (10 cm<sup>3</sup> por planta) va acompañado con una mezcla de fertilizante rico en fósforo para continuar estimulando el desarrollo de las raíces. Dependiendo de las condiciones micro-climáticas que se tienen en la casa de malla y del estado de turgencia de las plántulas, se puede programar uno o dos riegos diariamente.
- c. Riego automático en casa de malla: Cuando el número de plantas sobrepasa las 1500, se justifica el riego por microaspersión, el cual debe estar controlado por un reloj y una válvula solenoide. Cuando se utiliza este sistema de riego se deben realizar inspecciones rigurosas para detectar cualquier problema fitopatológico.
- d. Fertilización: Cada ocho días se realiza la fertilización con un abono rico en fósforo, alternándolo con un fertilizante completo que contenga los elementos mayores y menores. Si se presentan síntomas puntuales de la deficiencia de un elemento se puede realizar una fertilización foliar con fertilizantes simples o completos.

- e. Segundo transplante: Cuando las plántulas tengan entre 45 y 60 días del primer transplante es necesario realizar un nuevo transplante a bolsas plásticas con una capacidad de 500 gramos de suelo, en el cual se puede adicionar micorrizas, si se considera necesario, según los análisis del suelo en el cual las plantas van a ser sembradas definitivamente.
- f. Transplante al sitio definitivo: Entre los 2 y 3 meses de permanecer en la casa de malla, las plantas están listas para ser llevadas al sitio definitivo. Durante este período, es importante estar atento a deficiencias nutricionales o problemas de plagas y enfermedades

Las informaciones anteriores han sido obtenidas en un período de trabajo de aproximadamente un año. En la actualidad, se ha empezado la fase final que consiste en llevar las plantas endurecidas a condiciones de campo. Este proceso se terminará en los próximos dos meses y será monitoreado de cerca por el personal técnico de CLAYUCA para determinar el comportamiento de las plantas y sus niveles de rendimiento.

Las Infografías presentadas en los Anexos 2, 3 y 4 complementan las informaciones técnicas presentadas en este informe.



## **Anexo 1**

### **Informe final sobre el montaje y puesta en funcionamiento del SIT**

**Por:** Ing. Víctor R. Medero Vega, MSc.  
INIVIT- CUBA.

En el marco del proyecto "Adaptación y evaluación técnica y económica de un sistema de multiplicación rápida de material de siembra de yuca basado en el método de inmersión temporal", se realizó una visita de asesoría científica (21 de noviembre de 2000 al 20 de enero de 2001) de un investigador del INIVIT, Cuba, con el objetivo de dar cumplimiento a la actividad 1 del proyecto.

Durante la asesoría se trabajó en el desarrollo y transferencia de la tecnología del SIT, desarrollada por el INIVIT, a CLAYUCA y BIOTECOL, teniendo en cuenta los siguientes aspectos:

- Entregar el listado de los componentes del equipo y su posible localización en el mercado nacional.
- Montar el sistema tecnológico.
- Entregar la información tecnológica y la puesta en práctica del protocolo establecido para yuca.

A partir del 22 de noviembre comenzó el trabajo de búsqueda y la localización de los componentes del SIT en catálogos, laboratorios del CIAT y en la ciudad de Cali. Después de la compra de los componentes, el montaje electrónico se realizó con el apoyo del área de mantenimiento del CIAT. La instalación en BIOTECOL se ejecutó el 19 de diciembre.

Los filtros, la manguera de silicona, los tapones y los clamps no se consiguieron en la ciudad de Cali y fue necesario importar estos productos de los Estados Unidos; por este motivo, la colaboración del Dr. Joe Thome y la Unidad de Biotecnología permitió disponer de estos componentes y lograr el funcionamiento exitoso del SIT el día 26 de diciembre, y la siembra de las primeras 5 baterías el día 29 de diciembre. La manguera de silicona restante para la instalación completa del equipo llegó al CIAT el día 10 de enero, y el 11 del mismo mes se completó el sistema y funcionó perfectamente.

En general, se logró la instalación de un SIT, conformado por 10 baterías de Erlenmeyers de 3 litros de volumen y distribuidas en dos pisos (ver Anexo 1 y 2). En conjunto con la Dra. Paulina Pineda de BIOTECOL Ltda, se discutió el protocolo de multiplicación de la yuca y se le entregó copia por escrito, así como una estrategia a seguir para la producción del material que se necesita de este cultivo.

El INIVIT aportó 100 vitro-plantas del clon 'CMC - 40' a CLAYUCA, para la puesta a punto del SIT en BIOTECOL Ltda. Los materiales biológicos restantes de interés para CLAYUCA, fueron donados por el CIAT.

Además, se explicó en reiteradas ocasiones todo el funcionamiento del SIT al personal de BIOTECOL Ltda, así como se realizó una explicación y demostración práctica del manejo de las vitro-plantas de yuca en fase de aclimatización. También, el 10 de enero del presente año, en la Sala Nariño del CIAT, se impartió un seminario sobre los resultados obtenidos en Cuba en materia de Biotecnología en yuca, el cual fue ajustado al tiempo establecido y respondió a las preguntas formuladas. Este seminario se realizó dentro del ciclo de seminarios semanales que se dictan en el CIAT.

### **Recomendaciones**

- Mantener un estricto seguimiento del funcionamiento del sistema y del montaje de los diseños para la puesta a punto de los protocolos de interés para CLAYUCA.
- Aplicar correctamente la metodología de propagación *in vitro* de la yuca, suministrada por el INIVIT.
- Esterilizar el medio de cultivo por separado para alargar la vida útil de los filtros.
- Prestar especial cuidado al material que se selecciona para sembrar en el SIT para evitar las pérdidas por contaminación. Es necesario utilizar medios selectivos.
- La batería que se contamine hay que reponerla inmediatamente.
- Se debe manipular lo menos posible el material en los laminares.
- Realizar diariamente el drenaje del tanque de aire del compresor. Para el mantenimiento del compresor u otra eventualidad, dirigirse al proveedor.
- Cualquier dificultad de tipo electrónica, contactar al Sr. Alvaro Azcárate del CIAT.
- Cualquier necesidad de material biológico, contactar al Lic. Roosevelt Escobar del CIAT.

Cualquier dificultad de tipo técnico, por favor contáctese en el INIVIT a la siguiente dirección electrónica: [inivit@ip.etecsa.cu](mailto:inivit@ip.etecsa.cu), Tel.: 53 (424) 2103, 2344. \_\_

## **Agradecimientos**

A los señores Dr. Aart van Schoonhoven, Dr. Bernardo Ospina y el Dr. Guillermo Gálvez. Gracias por la confianza depositada en el INIVIT para el montaje del SIT y, en lo personal, por la posibilidad de estar en el CIAT y ampliar con otros colegas las perspectivas de trabajo en materia de biotecnología en yuca.

A FENAVI, por el apoyo financiero para la ejecución práctica del proyecto.

A la Unidad de Biotecnología, en especial al Dr. Joe Thome y su equipo de investigadores, por la hospitalidad, apoyo y el intercambio durante la realización del trabajo.

Al colectivo de CLAYUCA y de BIOTECOL por la receptividad y el apoyo constante.

A la Unidad de Mantenimiento del CIAT, en especial a su Técnico Electricista Alvaro Azcárate, por su valiosa contribución en el montaje del SIT.

A todos, muchas gracias.

### Componentes del SIT

<u>Elementos</u>	<u>Localización</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Costo</u> <u>US\$</u>
Compresor libre de aceite	Fluido Mecánica LTDA.	1	607.38
Arrancador para motor eléctrico	Fluido Mecánica LTDA.	1	129.71
Filtro con drenaje automático	Fluido Mecánica LTDA.	1	167.29
Válvula de flujo de aire	Fluido Mecánica LTDA.	1	76.89
Válvula universal y niples	Fluido Mecánica LTDA.	1	32.42
Válvulas de 3 vías	Fluido Mecánica LTDA.	2	331.84
Conector rápido recto	Fluido Mecánica LTDA.	10	36.61
Conector rápido codo	Fluido Mecánica LTDA.	14	76.89
Conector recto en bronce	Fluido Mecánica LTDA.	22	89.62
Conector rápido en tee	Fluido Mecánica LTDA.	24	165.21
Manguera 6 mm	Fluido Mecánica LTDA.	15 m	27.46
Erlenmeyers de 3 Lts.	Walter Velasco	24	627.74
Tapones en caucho	Walter Velasco	22	12.07
Timer	Walter Velasco	1	132.00
Cable y misceláneas			*
Manguera de silicona			*
Tapones de silicona			*
Filtros de 0.22 micras			*
Clamps			*
<b>Total</b>			<b>2513.13</b>

- **Nota:** Items que no relacionan costos; éstos dependen de su valor de compra en EU, se estima en US\$500.00. aproximadamente.

# Sistema Neumático de Inmersión Temporal

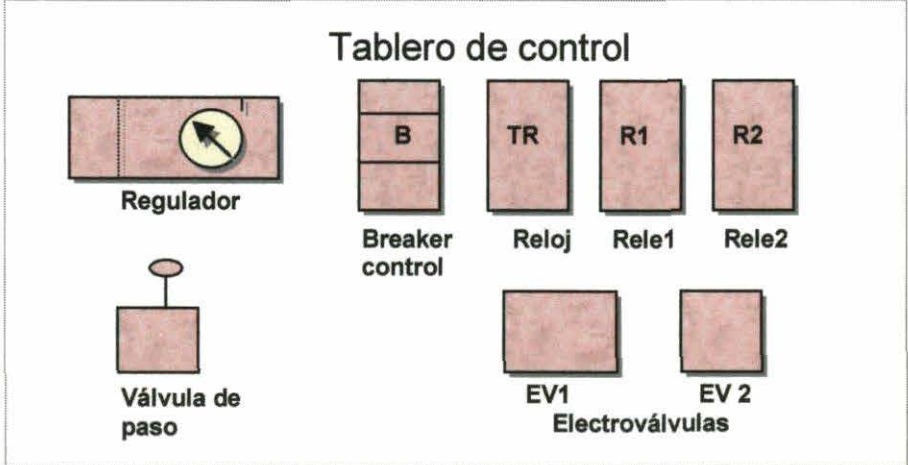
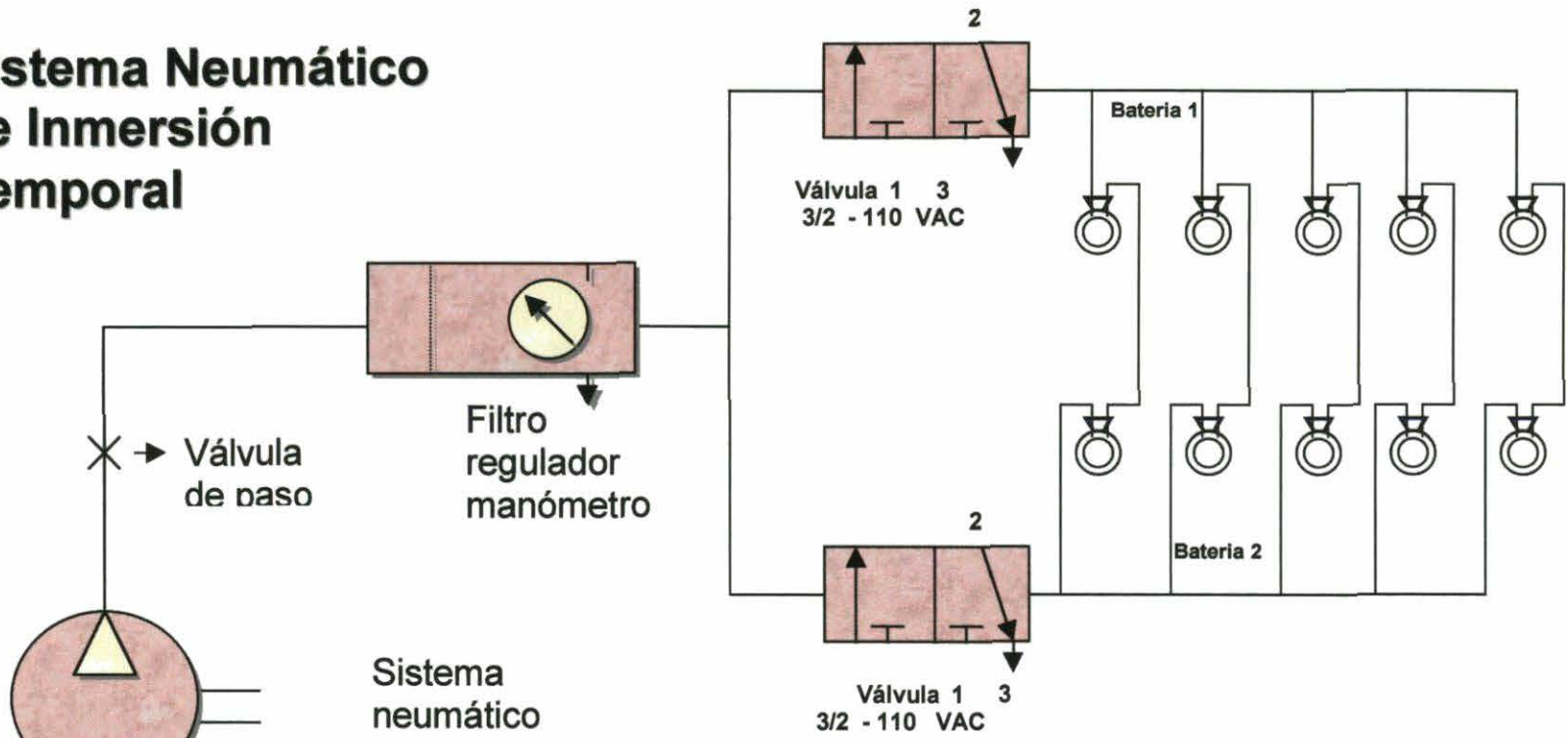
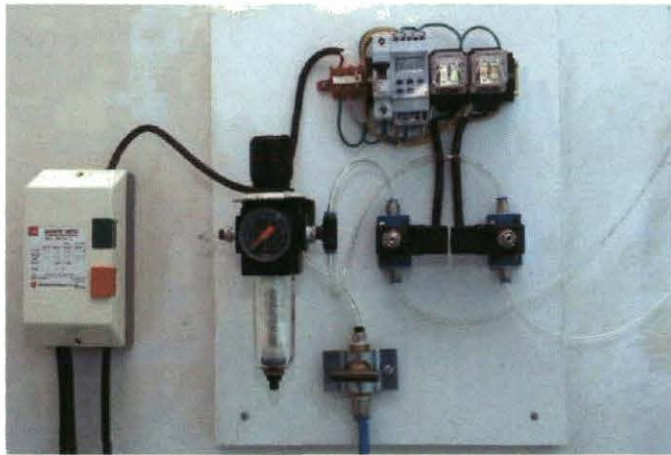


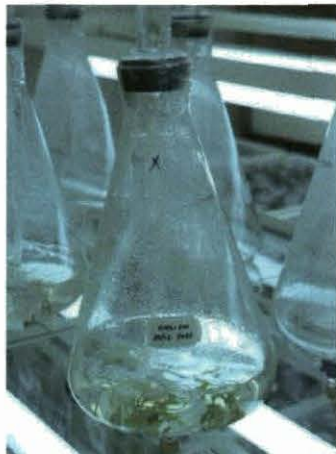
Diagrama del funcionamiento del Sistema de Inmersión Temporal (SIT), Instalado en BIOTECOL Ltda.



**Panel de control electrónico**



**Baterías "sembradas" con yuca, clon 'CMC-40'**



**Inmersión del material**



**Sistema de Inmersión Temporal – SIT, Biotecol Ltda.**



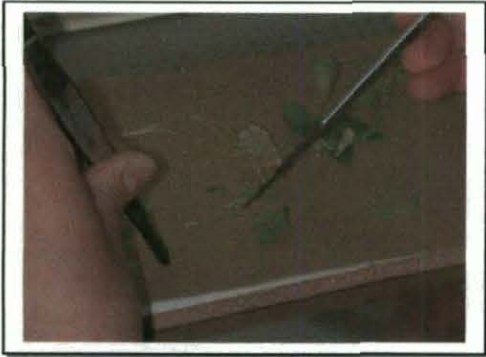
**Compresor libre de aceite**

**Anexo 2.**

**INFOGRAFÍA 1**



**Batería SIT**



**Preparación de plantas para despacho en frascos**



**Frascos listos para despacho**



## INFOGRAFÍA 2



**Efecto de luz**



**Humedad relativa**



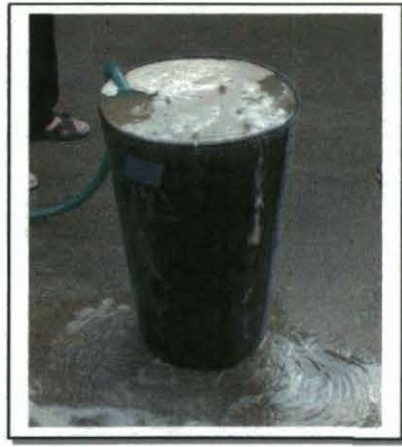
**Recipientes para colocar las plantas en casa de malla**



### INFOGRAFÍA 3



**Desinfección**



**Lavado**



**Cernido**



**Molienda**

## INFOGRAFÍA 4



**Instalaciones para endurecimiento de plantas**

## INFOGRAFÍA 5



**Plantas listas para trasplante**



**Riego de planta recién transplantada**



**Trasplante**



**Hueco para trasplante**



**Planta recién transplantada**



**Lote de siembra**