

**BIOTECNOLOGIA PARA EL MEJORAMIENTO  
GENETICO DE LULO (*Solanum quitoense*)**



# LULO (*Solanum quitoense*)

- Planta arbustiva perteneciente a la familia de las solanáceas
- Fruta rica en minerales y vitamina C
- Excelentes cualidades para la preparación de jugos y postres
- Sembradas **4790.2** Ha, con una producción de **37313.3** Ton/año (<http://www.cci.org.co/2000>)
- Expuesta enemigos naturales como plagas y enfermedades



# OBJETIVOS

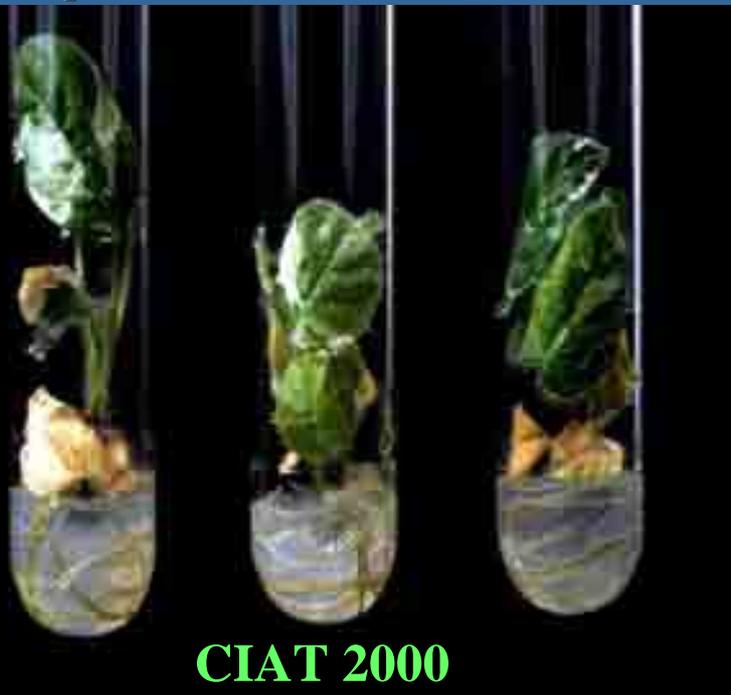
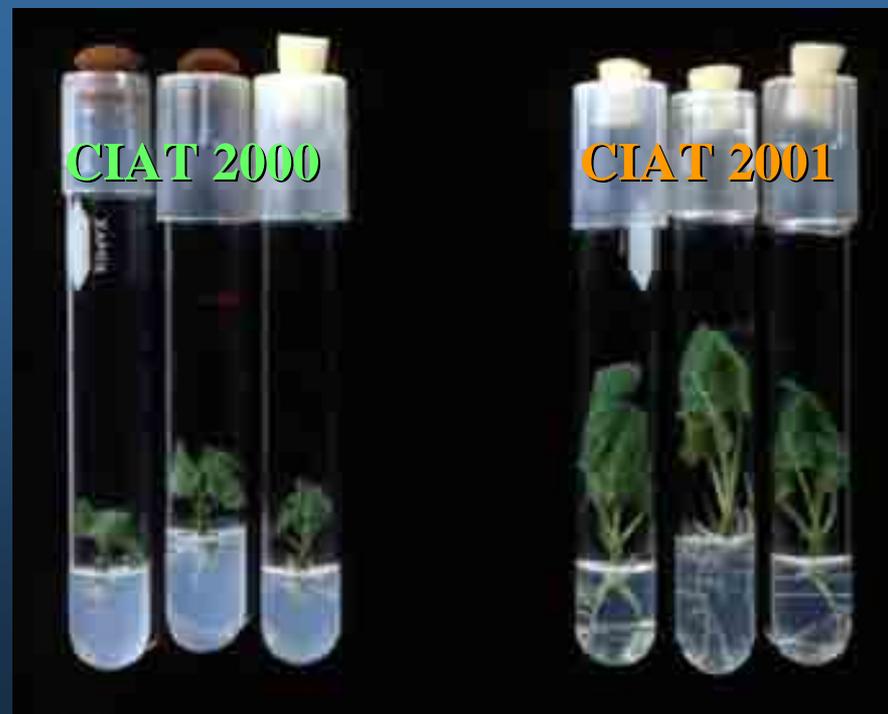
- Desarrollar metodología para la conservación de germoplasma *in vitro*
- Desarrollar metodología para la multiplicación masiva y rápida de material élite de interés comercial libre de patógenos
- Desarrollar métodos moleculares para la incorporación de genes nuevos en materiales élites

# Cultivo de tejidos *in vitro*

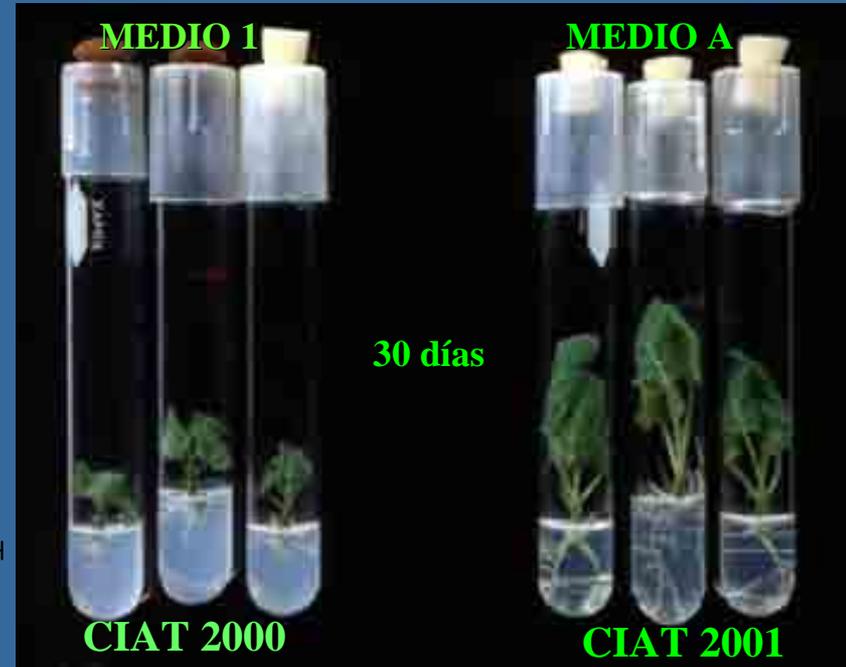
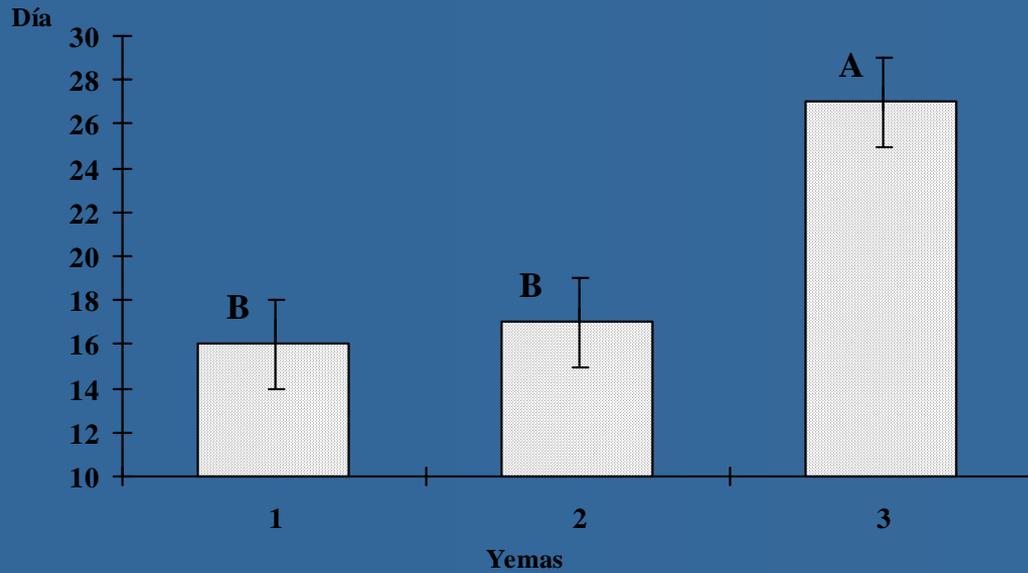
# Lulo

## Micropropagación *in vitro*

- Lulo con espinas y sin espinas (Clones seleccionados-CEFA)
- Evaluación de diferentes medios de micropropagación
- Propagación masiva de variedades e híbridos
- Facilidad de distribución de material de siembra
- Producción de plantas libres de enfermedades
- Multiplicación de clones seleccionados



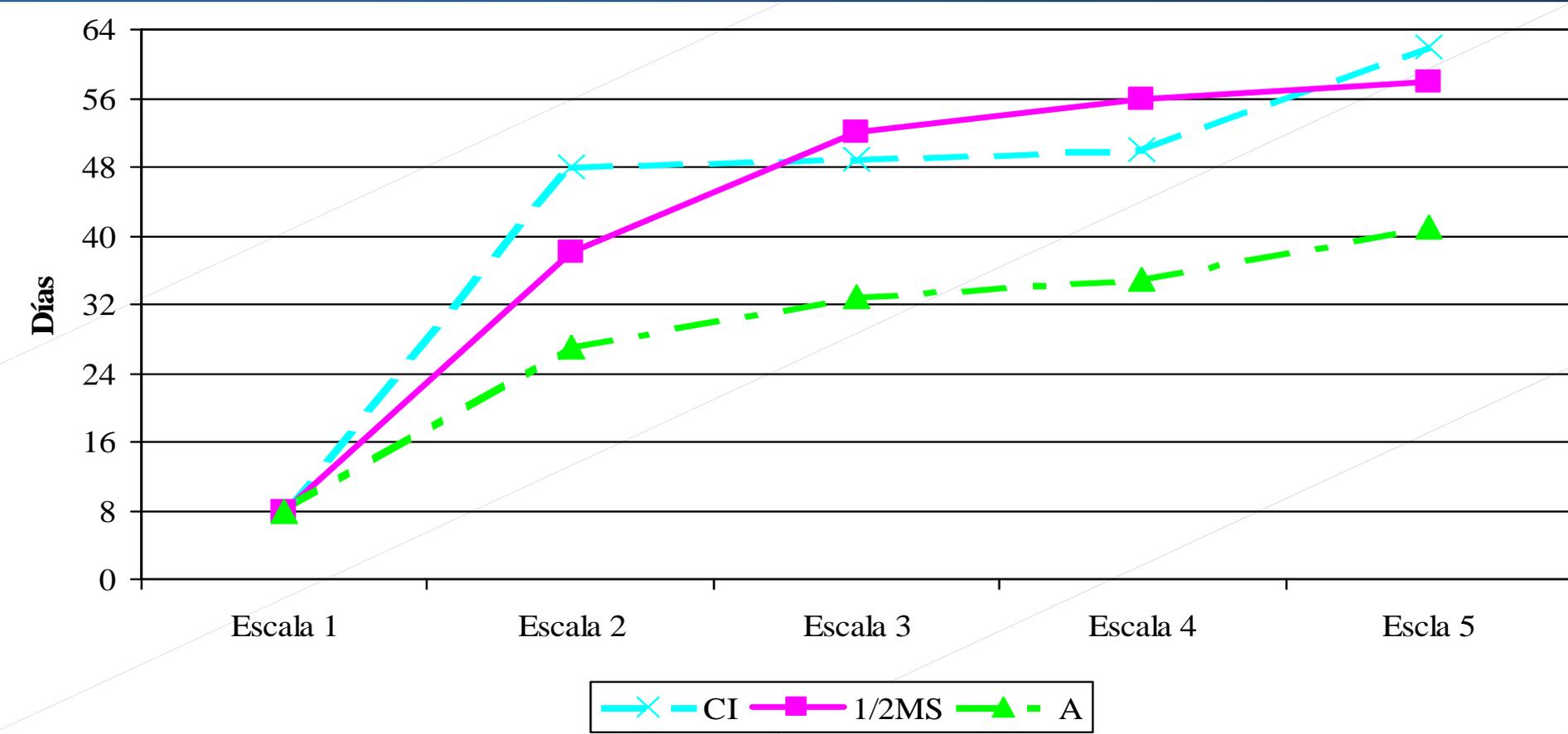
2002



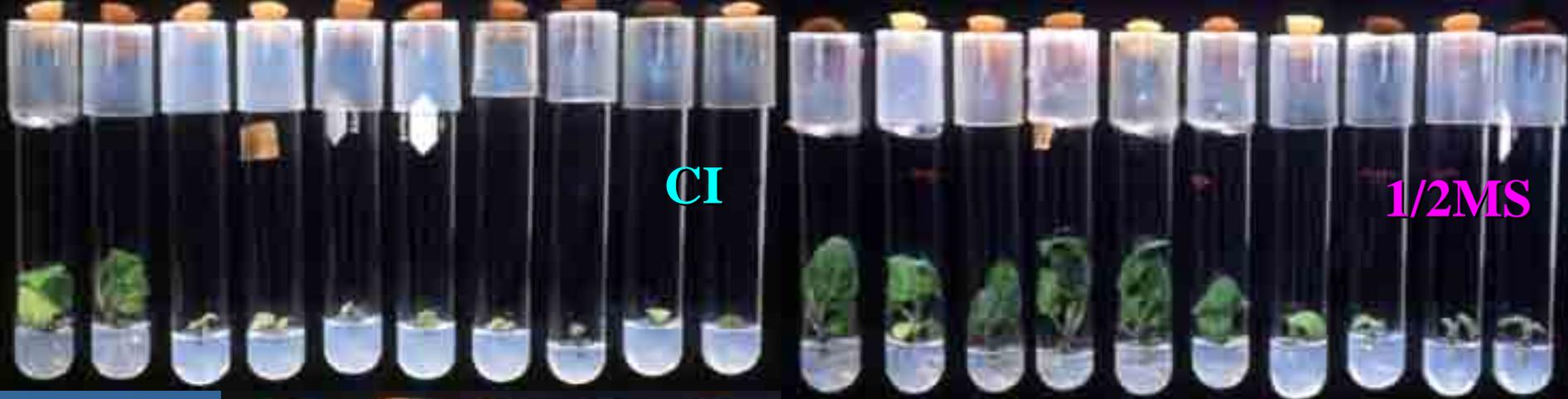
Análisis estadísticos permitieron seleccionar las yemas 1 y 2 como el mejor tejido para micropropagación en el medio A, obteniendo más eficiencia en el tiempo de obtención de plantas completas.

# Comparación de medios CIAT con medio CORPOICA

→ A y 1/2 MS      → Más eficientes  
→ CI

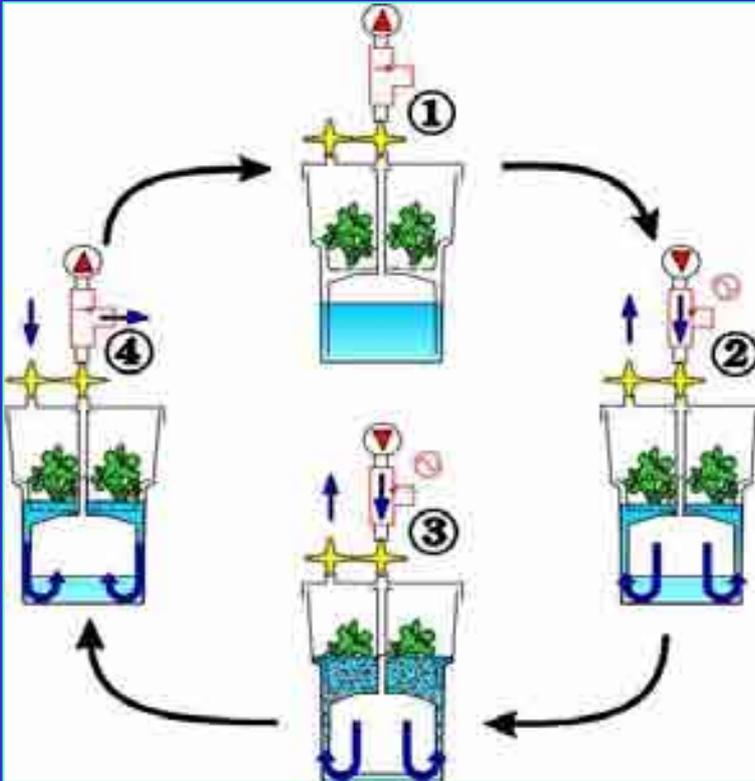


	Escala				
	1	2	3	4	5
No.hojas	2	3	4	5	+5
Ancho hoja promedio (cm)	0.3-0.5	0.5-1.5	1.5-2.5	2.5-3.5	3.5-4.5
Altura (cm)	1-1.5	1.5-2.5	2.5-3.5	3.5-5.5	5.5-7.0
No Raíces	0	1-2	3	4	+4



**El mejor medio en eficiencia y  
obtención de plantas completas**

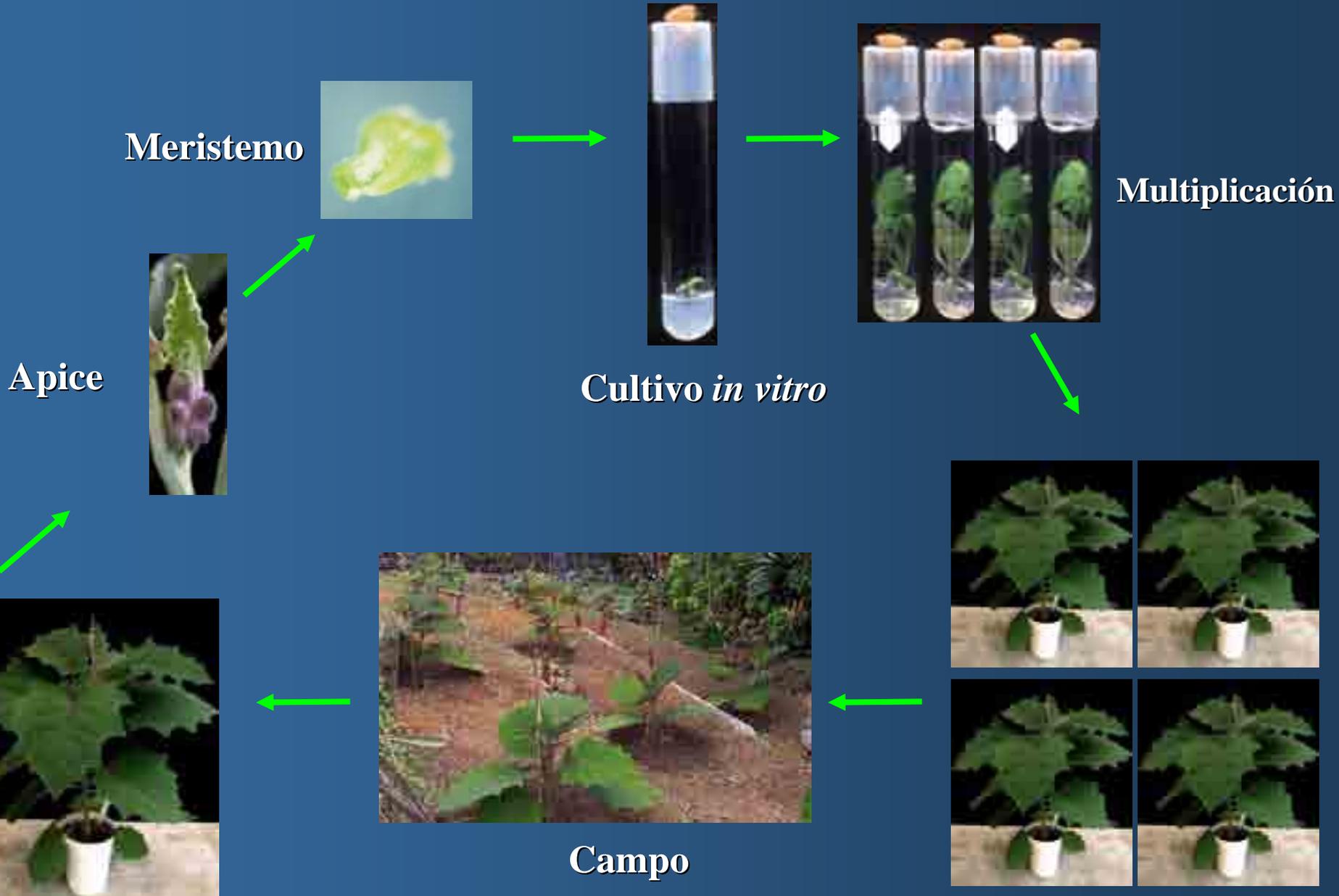
# Sistema de Inmersión Temporal (RITA) del CIRAD, Francia



El sistema permite la automatización, producción a gran escala, incrementa la aireación, cambios de medios fácil, limpieza fácil



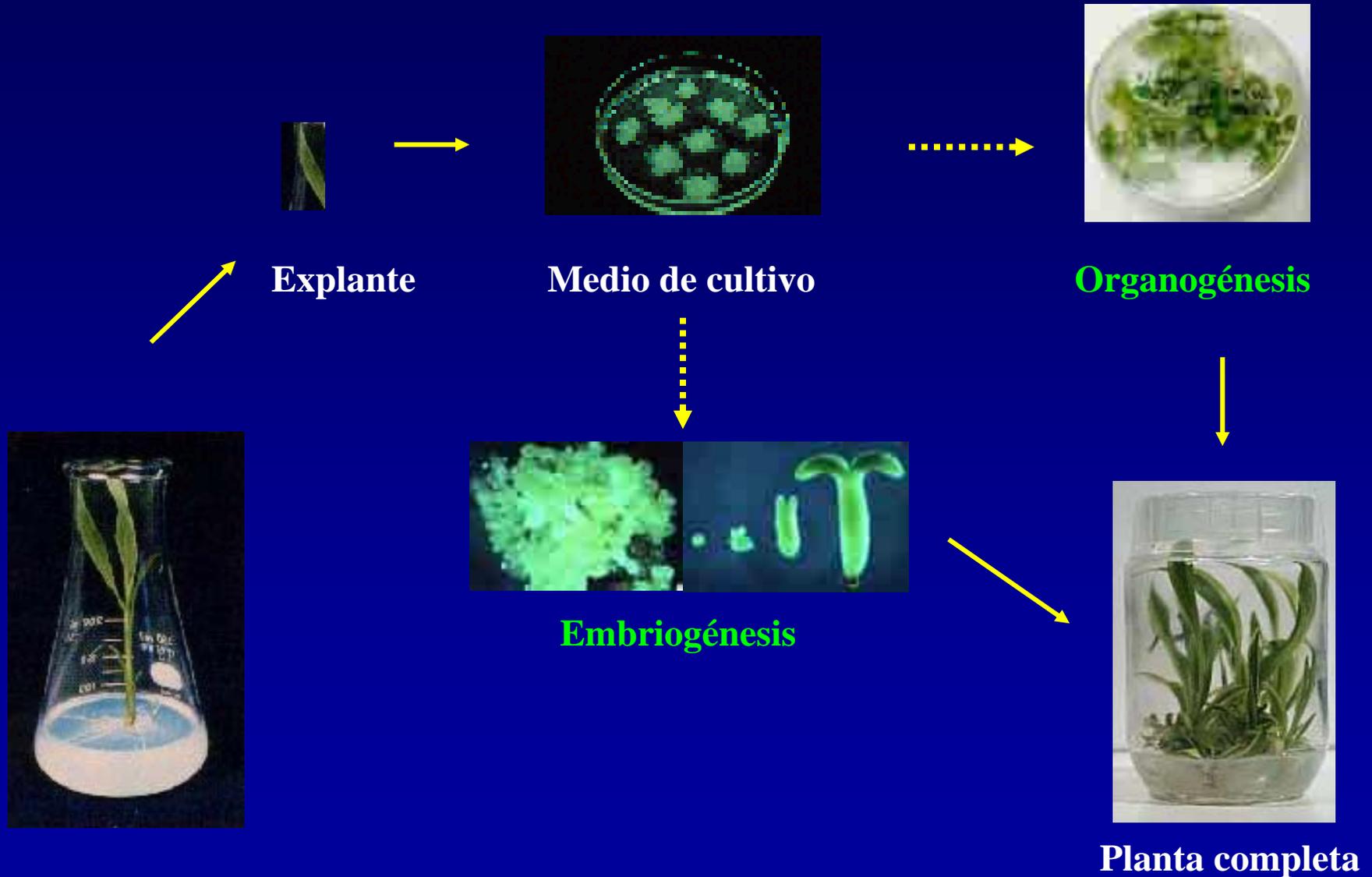
# Recuperación de plantas a partir de meristemas



# REGENERACION DE PLANTAS



# REGENERACION



## *Embriogénesis*

**Protocolo de Guimaraes (1988)**

**Dif. Concentraciones Hormonales**

## *Observaciones*

**Formación estructuras globulares**

**Callo friable en los tejidos**

**Ausencia de brotes regenerados**

## *Organogénesis*

**Protocolo *Litz* (1986)**

**Protocolo *Ultzen* (1995)**

**Dif. Concentraciones Hormona**

**Ensanchamiento de hojas**

**Fenolización en los tejidos**

**Ausencia de yemas regeneradas**

# REGENERACION POR ORGANOGENESIS



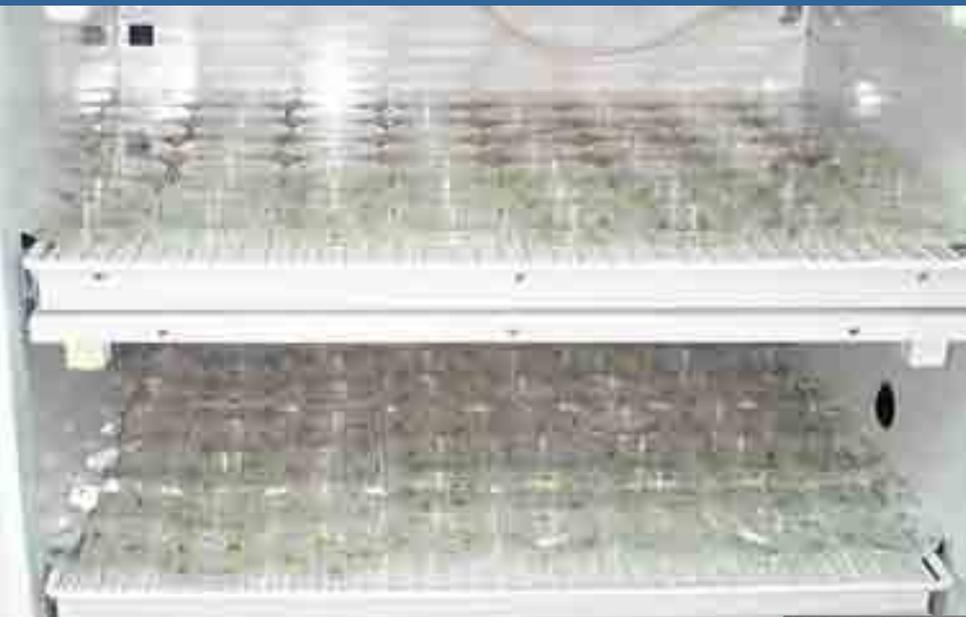
- Hojas y pecíolos
- 25.5 °C
- 2 días oscuridad → luz plena

Medios de Cultivo

-Litz M

-Ultzen (1995)

↑  
\*Pretratamiento (sonicador)

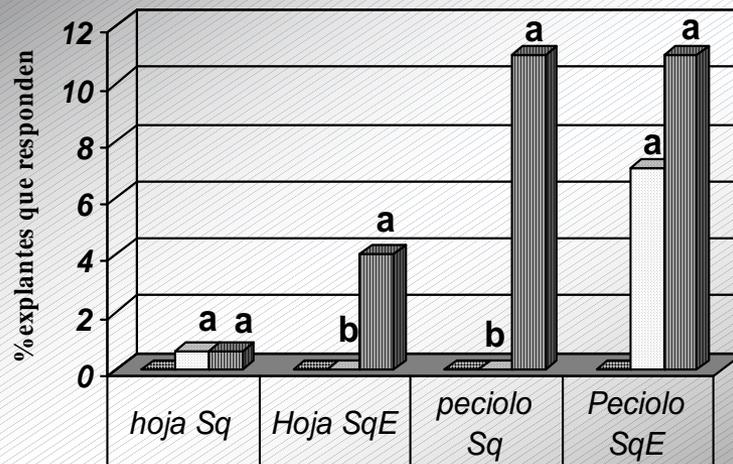


Comparación a gran escala:

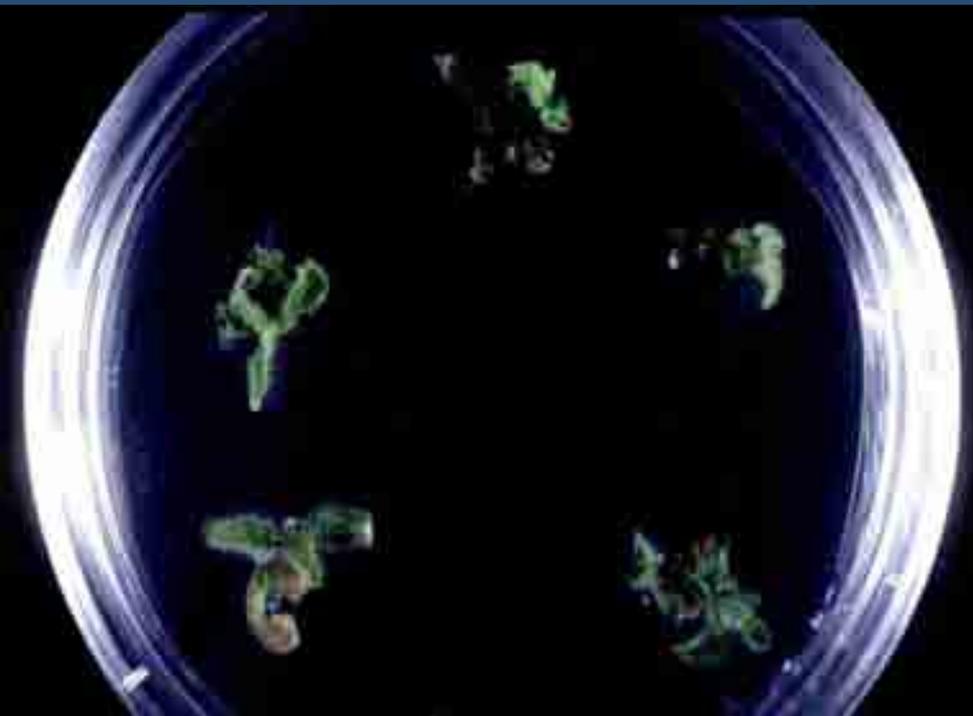
- Diferentes medios de regeneración.
- Diferentes explantes de lulo
- Dos genotipos (Sq y SqE)

Mejor Combinación:  
 Genotipo SqE (espinas)  
 Peciolo  
 Medio Ultzen

GA= 19.044; prob.=0.001; gl=1



■ Hendix	0	0	0	0
□ HM	0.63	0	0	7
■ Ultzen	0.63	4	11	11

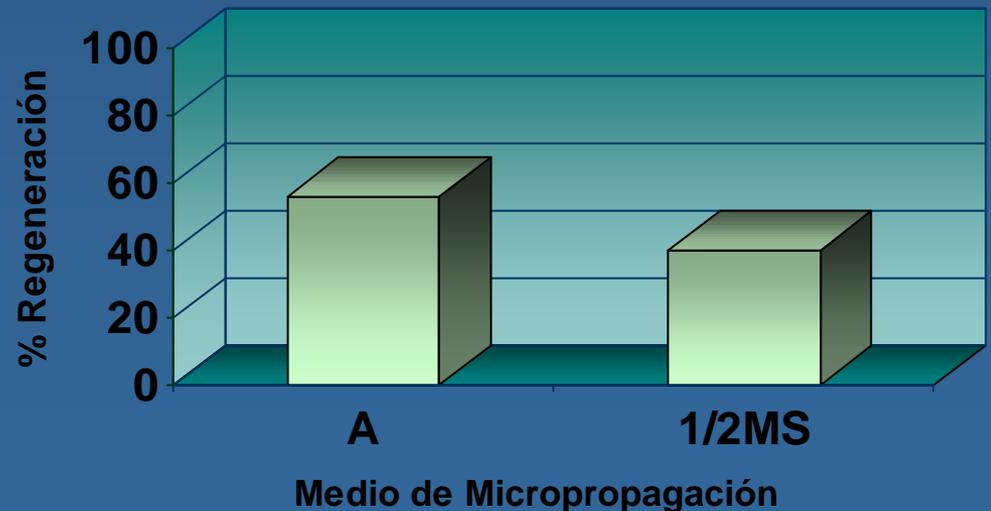


Regeneración es afectada por el medio de micropropagación utilizado en la planta madre

Ensayos con la mejor combinación (SqE+pecíolo+Ultzen)

Se obtuvo más regeneración en plantas que provienen de medio A.

$X^2= 3.846$        $gl=1$        $prob.=0.05$



# **PLANTAS REGENERADAS EN INVERNADERO Y CAMPO**

- **Ensayo preliminar**

**Ensayo pequeño. Observaciones hasta fructificación.**

- **Ensayo a gran escala:**

**Comparación de plantas regeneradas Vs clones mantenidos *in vitro*. Análisis estadístico.**



4



3



2



1

Ensayo preliminar

DAPA = 12 individuos

Desarrollo normal hasta fructificación

5

Invernadero



Sq

SqE

campo





**Asesoría de Ing. Carlos Reyes**



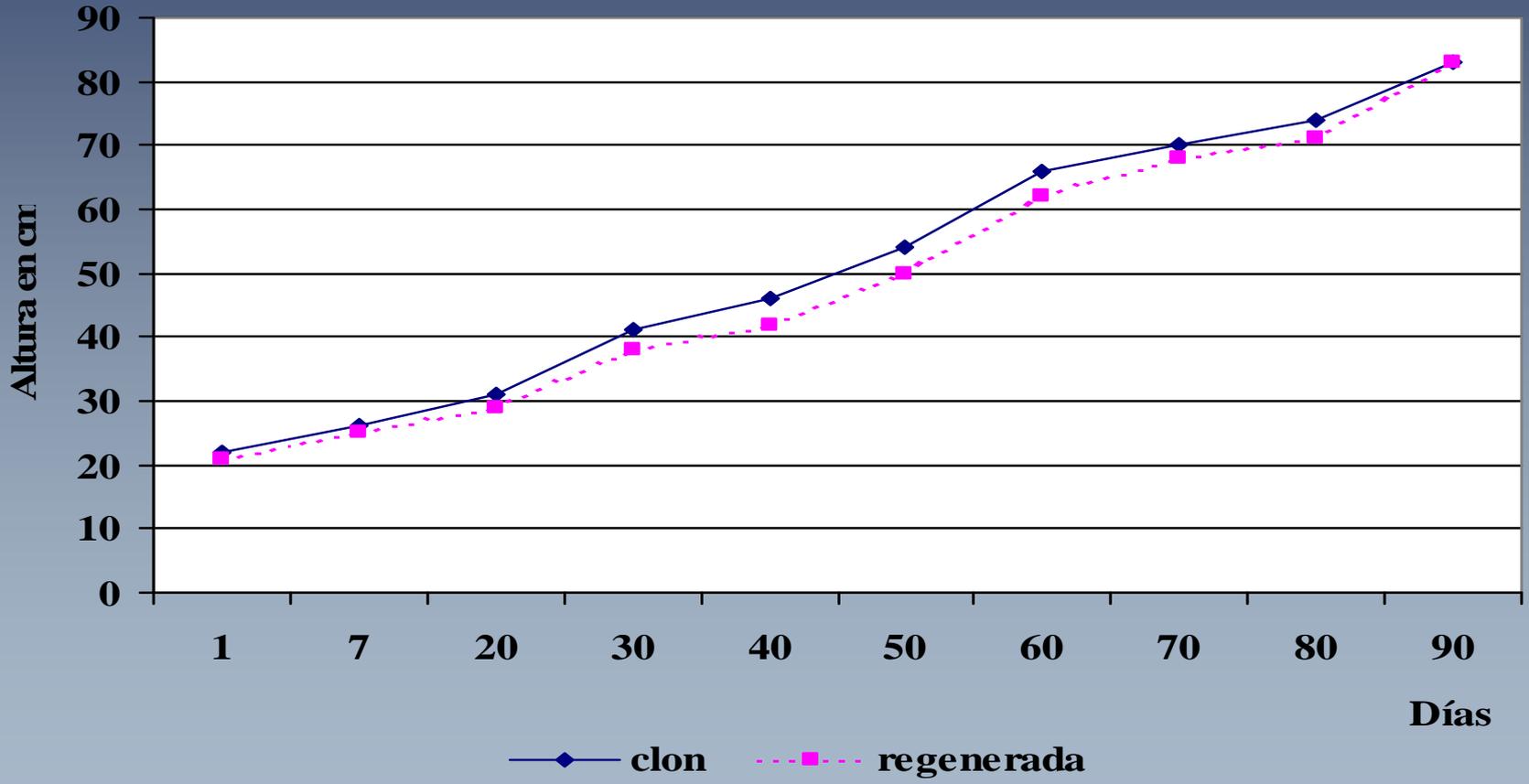


**Fase vegetativa  
hasta la floración**

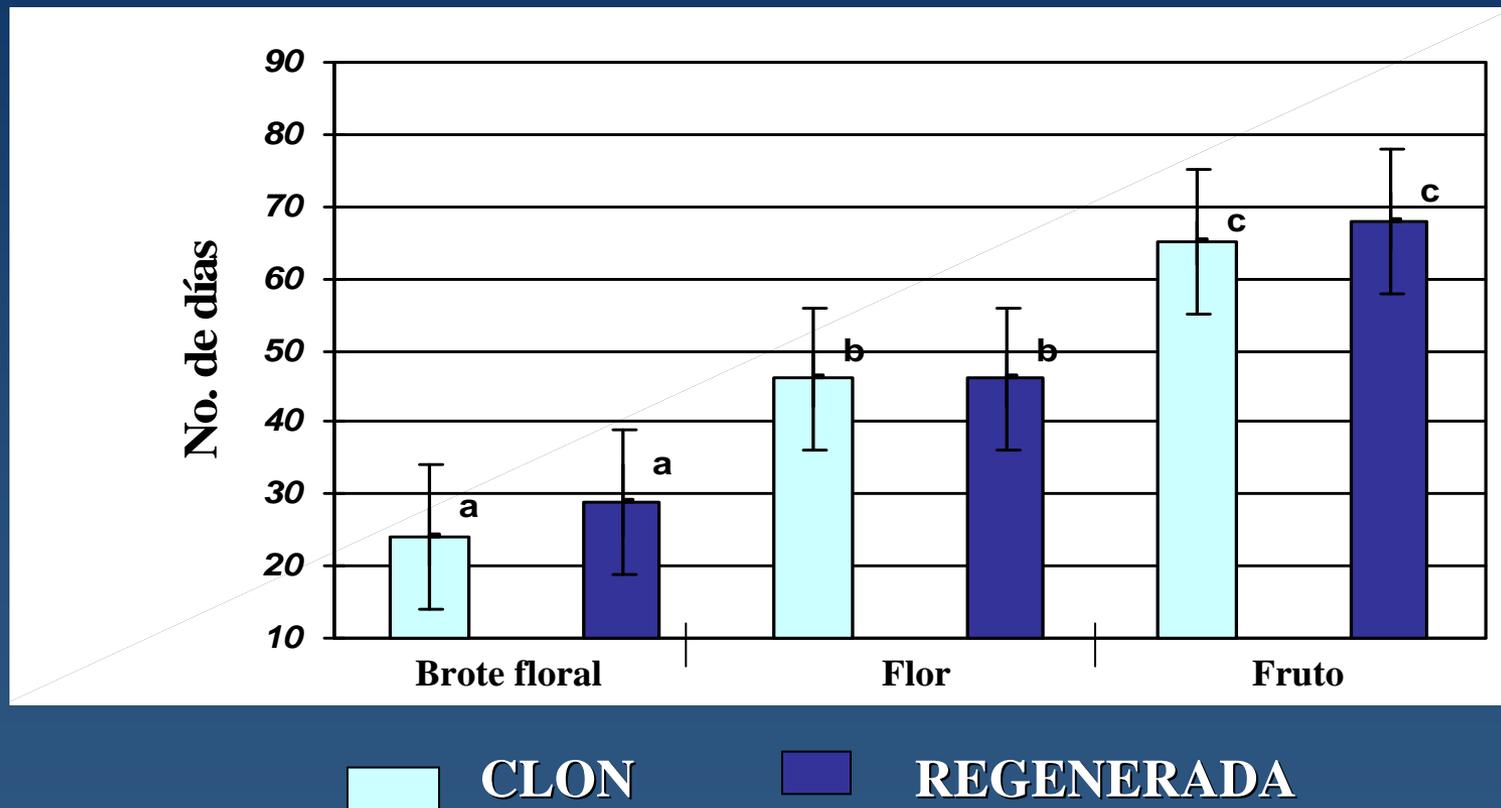


**Desarrollo normal de  
clones y regenerados**

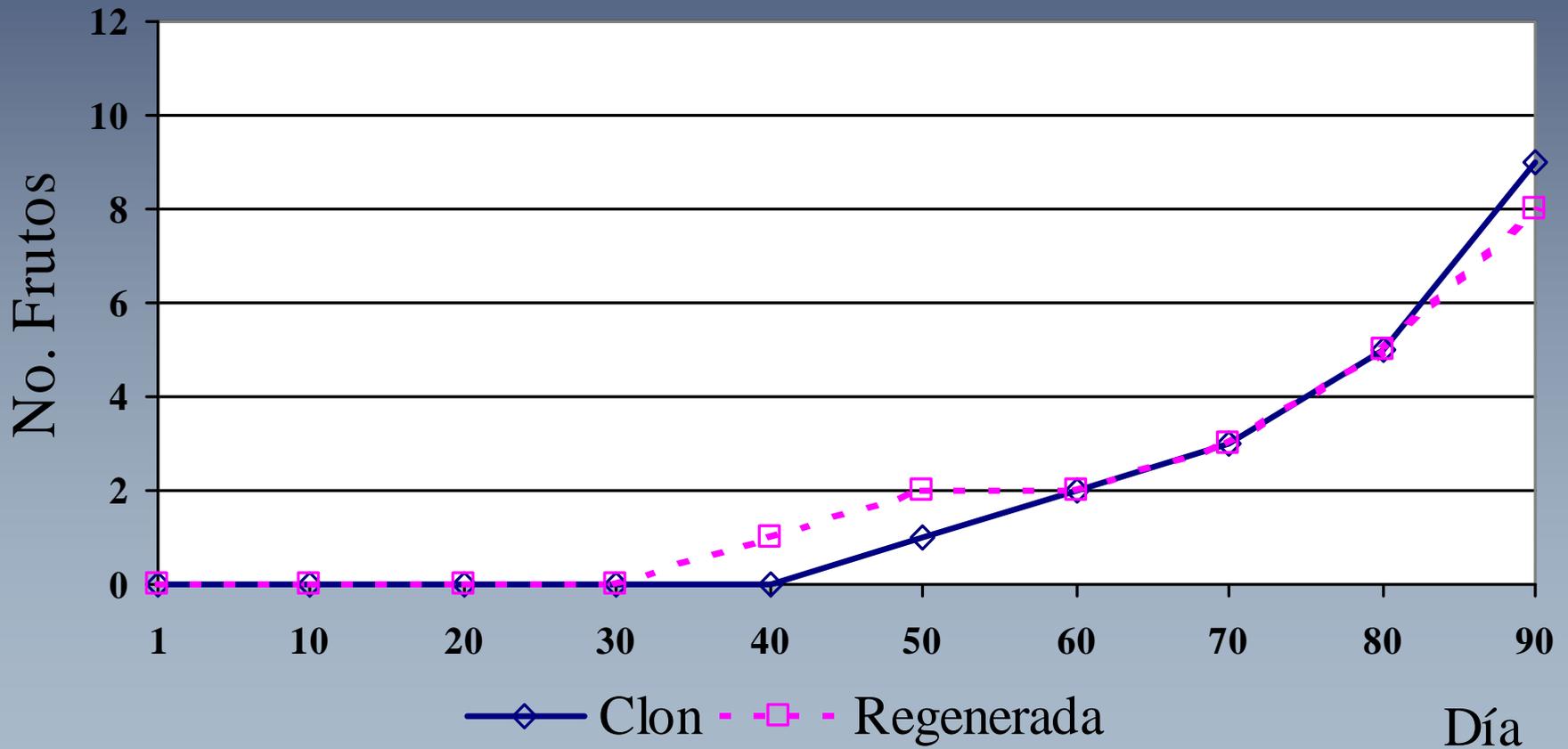
# En altura = comportamiento equivalente entre clones y regenerados



# Comparación en tiempo de emisión de Brote Floral, Flor y Fruto



# Tiempo de llenado de fruto = Equivalentes entre clones y regenerados



# Producción

**SqE** = Más Susceptible al ataque  
de enemigos naturales

**Sq**



- **Se analizaron 8 cosechas**
- **Clasificación de frutos por clase** (No comercial, comercial y premium)
- **Análisis fisicoquímicos**
- **Ensayos de maduración**

## Evaluación de la producción de 8 cosechas de plantas de lulo

Tipo	Plantas evaluadas	Total Frutos	Frutos por planta	Peso total Kg	Kg planta	Clasificación por clase (%)		
						No comercial	Comercial	Premium
<b>Sq</b>	11	1316	119.6	54	5	10	87.2	2.5
<b>SqR</b>	12	1290	107.5	47	4	19	80.3	0.5
<b>SqE</b>	6	280	46.6	13	2	8.5	78.2	13.2
<b>SqER</b>	9	599	66.5	26	3	8.3	85.3	6.3

Hay diferencias Significativas entre Sq y SqE, entre (Sq, SqR) y (SqE, SqER) no hay diferencias

# Análisis Físicoquímicos

<b>Determinación</b>	<b>SqR</b>	<b>Sq</b>	<b>SqER</b>	<b>SqE</b>	<b>Mercado</b>
Grados Brix (a 20 °)	11.5	11.6	11	10	10.5
Humedad (%)	86.8	85.2	79.8	87	82.4
Azúcares reductores	4.6	5.5	1.2	4.9	0.7
Azúcares Totales	3.1	3.4	2.7	3.1	2.7
.pH	3.2	3.2	3.2	3.3	3.2
Vitamina C (mg/100g)	38.2	37.3	48.8	64.2	39.1

# Ensayos de maduración

Escala

1

2

3

4

5



Valor/croma

6/6(5GY)

8/10(5Y)

8/12 (5Y)

7/14 (5YR)

7/14(2.5YR)

Tabla Munsell

Día 1

Día 4

Día 8

Día 15



	<b>Amarillo 8/12(5Y)</b> (Días)	<b>Naranja 7/14(2.5YR)</b> (Días)	
<b>Sq</b>	<b>6.7</b>	<b>13.4</b>	<b>NS</b>
<b>SqR</b>	<b>6.9</b>	<b>13</b>	<b>NS</b>
<b>SqE</b>	<b>6.3</b>	<b>12.1</b>	<b>NS</b>
<b>SqER</b>	<b>6.3</b>	<b>12</b>	<b>**</b>

**\*\*prob.=5%**

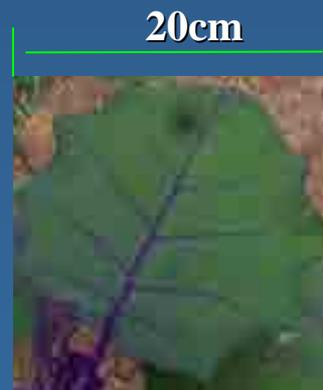


→ **Posible somaclon derivado de planta regenerada**

**Variante pequeño**

**Clon sin espinas**

**Pubescencia morada**



**En lulo tradicionalmente se utiliza semilla  
extraída del fruto para establecer cultivo**



**Obtengo diferentes plantas de un  
mismo fruto**

**Riesgo a enfermedades (estacas)**

**Producción empieza de 8-12 meses**



**Selección de  
Plantas madre  
Altamente  
Productoras**



**Multiplicación de  
Plantas seleccionadas  
En laboratorio**





## VENTAJAS

- **Producción de plantas iguales**
- **Material libre de enfermedades**
- **Garantiza calidad de fruta**
- **Permite conservar plantas seleccionadas**
- **Floración temprana = produce mas rápido**

# Transferencia de la Tecnología Propagación *In Vitro* a los Agricultores

## ❖ CIAT

- Biotecnología
- Proyecto Frutas
- Investigación Participativa

## ❖ Corpoica Popayán

## ❖ Corpoica La Selva

## ❖ Asobersurca (Cauca)

# Objetivos

1. Ofrecer a los productores beneficios de multiplicación clonal *in vitro* de los materiales regionales seleccionados por el CIAT, y por los mismos agricultores y compradores. Para incrementar la disponibilidad de semilla de clones mejorando también sus condiciones fitosanitarias.
2. Determinar posibles criterios de selección de los productores y compradores en la selección de cultivares de lulo, a través de técnicas participativas.

# Objetivos (cont.)

3. Desarrollar mecanismos para establecer sistemas comerciales viables para la multiplicación de los materiales seleccionadas.
4. Diseñar procedimientos que combinen la reproducción clonal y la investigación participativa para su aplicación como modelo en lulo y otros frutales.



**Optimización del protocolo  
utilizando  
el pecíolo como explante para  
transformación mediada por  
Agrobacterium**

ACTIVIDAD	OBJETIVO	META/LOGRO
<p>Transferencia de la metodología desarrollada para propagación masiva <i>in vitro</i> y regeneración de plantas a Corpoica y otras entidades Nacionales</p>	<p>Divulgación a las entidades Nacionales de la metodología desarrollada y experiencia obtenida para el mantenimiento a largo plazo del banco <i>in vitro</i> de germoplasma de lulo, y el sistema masivo de propagación y regeneración de plantas</p>	<p>Capacitación a las entidades Nacionales responsables del mantenimiento del banco de germoplasma de lulo, propagación de materiales de lulo libre de patógenos para los agricultores, y de investigación en biotecnología de lulo</p>
<p>Evaluación en campo de agricultores de materiales de lulo propagados <i>in vitro</i></p>	<p>Validación de la metodología en campo de agricultores de lulo</p>	<p>Retroalimentación sobre la cualidades del material y establecer si la metodología desarrollada es apta de escalamiento</p>
<p>Evaluación y adaptación de protocolos de transformación mediada por <i>Agrobacterium tumefaciens</i> en lulo</p>	<p>Desarrollo de una metodología eficiente de transformación de lulo mediante <i>Agrobacterium tumefaciens</i></p>	<p>Método eficiente de transferencia directa de genes en lulo para la inserción de características importantes limitadas por fitomejoramiento convencional</p>