

Implementación del sistema RITA® en la propagación a gran escala y en la embriogénesis somática de yuca



R.H. Escobar, L. Muñoz, J. E. Montoya, J. Tohme y W.M. Roca*
 Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) - AA 6713 Cali-Colombia
 (*) Centro Internacional de la Papa-CIP, Apartado 1558, Lima 12, Perú

Introducción

En la costa norte colombiana, la yuca (*Manihot esculenta* Crantz), se considera un cultivo de alta importancia ya que es, tal vez, el único cultivo capaz de producir bajo condiciones adversas de suelo y con mínimos insumos.

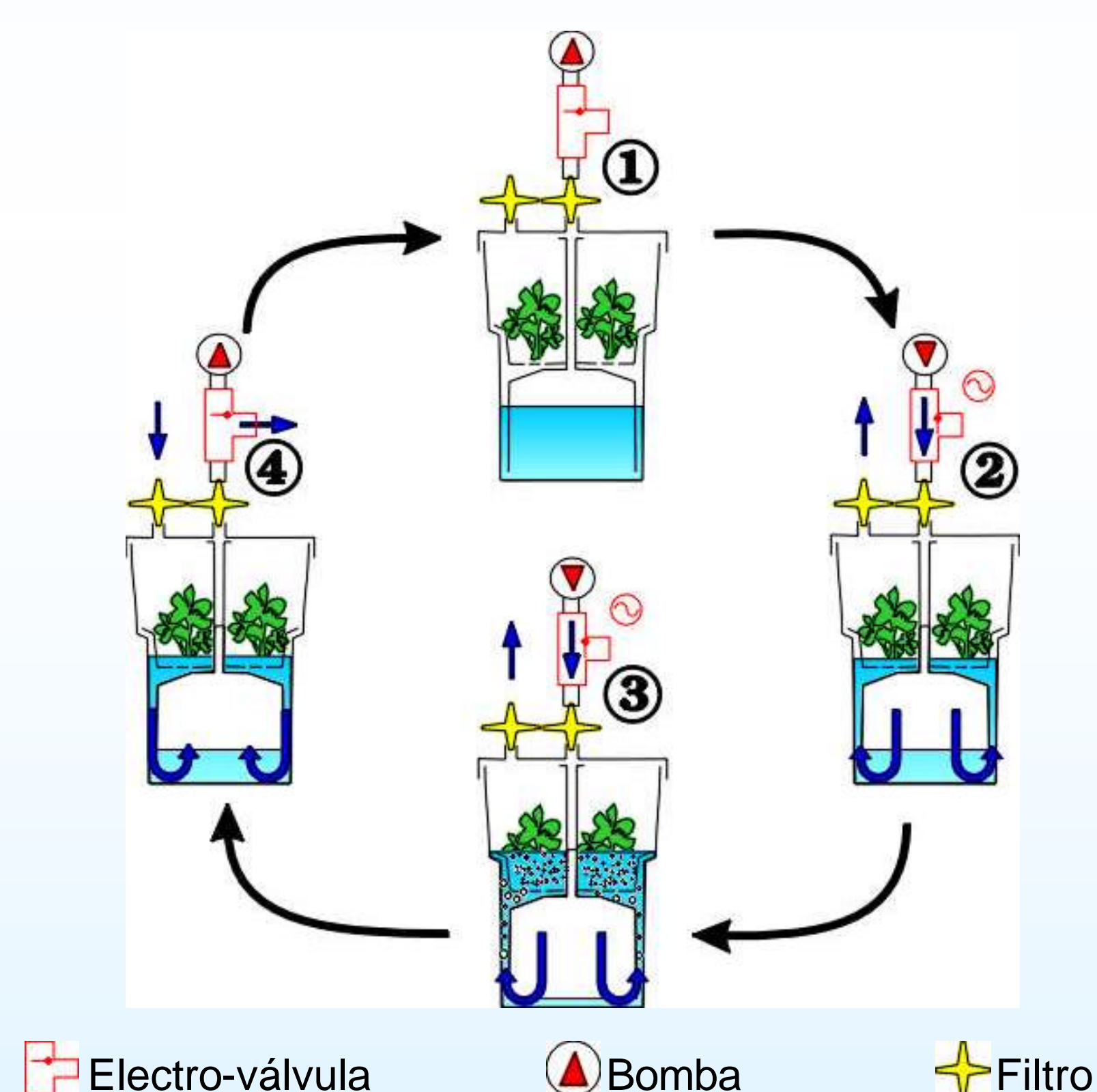
El cultivo de tejidos ofrece muchas ventajas para la agricultura. Por ejemplo, limpieza de germoplasma, producción de material para siembra independiente de condiciones ambientales, conservación e intercambio internacional seguro de germoplasma entre otras aplicaciones. Roca (1984) estableció los sistemas de propagación, conservación y limpieza en yuca (especialmente de enfermedades virales como el cuero de sapo y CMV entre otras).

Con el incremento de las áreas de siembra y del interés de varios actores en el sector agrícola en Colombia, se llegó a la conclusión que los sistemas convencionales no satisfacían las expectativas, ni en cantidad ni en calidad, de aquellos materiales de interés comercial (Buitrago 1999).

Recientemente Teisson y Alvard (1995) describieron un sistema de propagación a gran escala denominada RITA®. Este sistema ha sido probado con éxito en embriogénesis y organogénesis para propagación en diferentes especies tales como banano (Alvard et al 1993), café (Berthouly 1991), caucho (Etienne et al 1993) y caña de azúcar (Lorenzo et al 1998). Con el apoyo financiero de la Corporación para el Desarrollo Participativo y Sostenible de los Pequeños Agricultores Colombianos -PBA, se inició un proyecto para la implementación del sistema RITA® en yuca para solucionar el cuello de botella de la falta de material para la siembra de clones deseados, con alta calidad sanitaria, para los pequeños y medianos productores, y como apoyo a los sistemas de transformación genética en la conversión embrión-planta.

Cómo funciona el sistema RITA®

El sistema consiste en un recipiente plástico (RITA®) dividido en dos compartimentos. En el superior se coloca el tejido (por ejemplo nudos) y en la parte inferior el medio de cultivo. Este sistema cuenta con dos filtros hidrófobos de 0.2µm reutilizables: uno central (entrada de aire) y uno lateral (salida de aire). El filtro central se conecta al sistema de aireación (bomba), a una presión de salida de 0.2 bar para que impulse el medio del compartimento inferior al superior durante un periodo corto (periodo de inmersión). Este baño temporal que reciben los explantes se controla por un reloj temporizador (automatización) que permite la apertura de una electro-válvula que controla el sistema.



Metodología

Para la etapa de multiplicación inicialmente se tomaron como modelos de trabajos dos variedades (MCol 2215 y MCol 1505) de amplia aceptación en la zona. Estos materiales fueron multiplicados en medio 4E (Roca 1984) usando ápices y nudos.

Se estableció un sistema de 8 baterías, con capacidad para 24 unidades RITA c/u, con diferentes periodos de inmersión (cada 4, 6, 8 ó 12 horas) y duración del ciclo (1, 5, 8 ó 10 min.). Como control se mantuvo el sistema convencional en sistema semisólido. Diferentes combinaciones de reguladores hormonales se usaron en los medios de cultivo (BAP, Kinetina, TDZ, 2iP entre otros) y pulsos cortos de CO₂ al sistema.

La evaluación se realizó a ocho semanas de cultivo y se expresó en términos del número de nuevos explantes por tejido inicial usado. Este sistema se validó con 16 clones comerciales

Para conversión embrión-planta, se usaron embriones somáticos provenientes de Callo Embriogénico Friable -CEF, de las variedades MCol2215 y MNig11. Los medios de regeneración fueron suplementados con BAP o ANA.

Resultados

La tasa de propagación con el sistema RITA® es dependiente del genotipo y del tipo y concentración del regulador hormonal usado. El TDZ produjo una mejor tasa de propagación que el BAP. Con RITA® la tasa aumentó de 1:3, en sistema convencional semisólido, hasta 1:5 a 1:11 (Tabla 1).

La adición de CO₂ favoreció el desarrollo de yemas axilares, más no su elongación. Se requiere un mayor tiempo para la elongación de las estructuras inducidas.

Actualmente en CIAT se está adaptando un sistema similar al RITA®, a bajo costo, que permita la implementación y reducción de costos para transferirlo a usuarios de esta metodología. Esto permitiría el desarrollo de una plataforma de bajo costo con diversos cultivos de interés para pequeños y medianos agricultores.

Código CIAT	Nombre común	Tejido recuperado		Tasa de propagación
		Ápices	Nudos	
CM 3306-4	Ica Negrita	50	51	10.1
CM 4574-7	-	40	25	6.5
CM 523-7	Catumare	46	60	10.6
MB ra 383	Bras ileña	43	25	6.8
MB ra 507	Tucuma	43	35	7.8
MCol 2215	Venezolana	58	30	8.8
MCol 1505	Verdecita o P12	28	25	5.3
MCol 74	Señorita	31	42	7.3
ME cu 72	Injerta	26	42	6.8
MTai 8	Rayon 60	26	35	6.1
SG B 765-2	Caribeña	37	20	5.7
SBG 765-4	Rojita	27	32	5.9
CM 6740-7	Reina	32	18	5.0
CM 3555-6	-	46	40	8.6
CG 1141-1	Ica Costeña	48	40	8.8
MVen 25	Querepa amarga	40	40	8.0

Tabla 1: Respuesta de 16 clones comerciales a la propagación en RITA® (n = 10 nudos)



Figura 1: (A) Inducción múltiple de yemas en RITA®. (B, C, D) Detalle del tipo de respuesta obtenido en un nudo de las variedades MCol 2215, CG 1141-1 y MTai 8 respectivamente.

La respuesta en la conversión embrión-planta es genotipo dependiente. Para MNig 11 la respuesta se vio favorecida por la adición de BAP, mientras que a MCol 2215 la favoreció la adición de ANA. Comparado con el medio semisólido, el uso de RITA® aumentó la germinación de embriones (Figura 2).

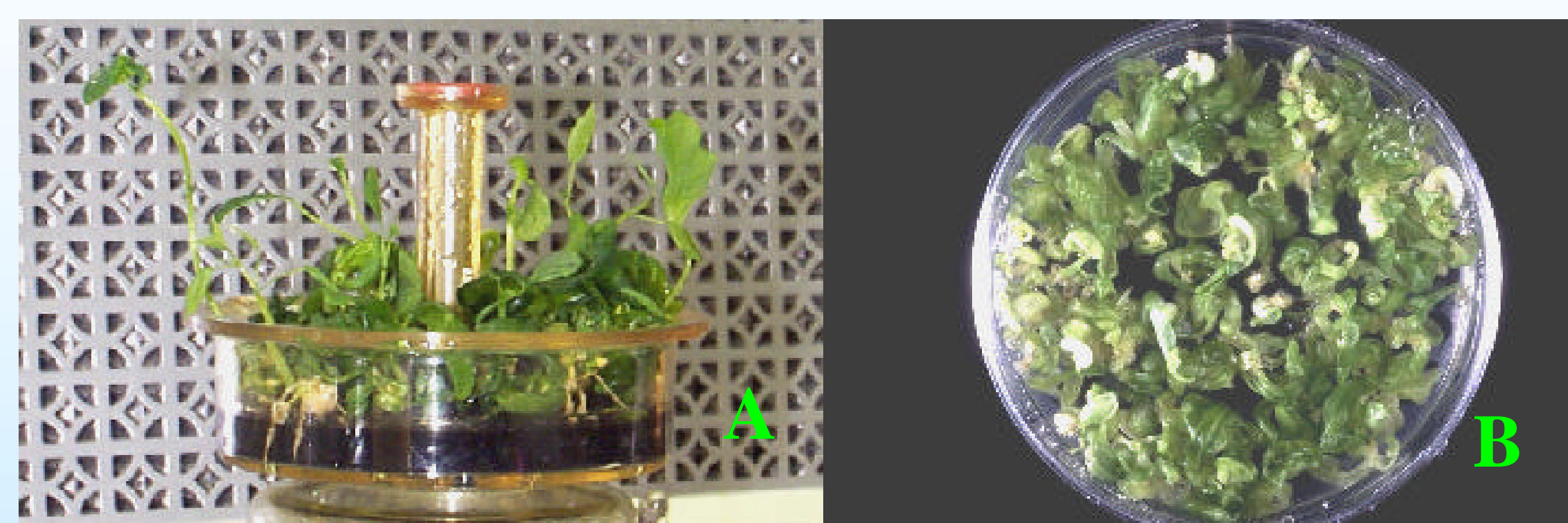


Figura 2: Conversión de embriones somáticos a planta en RITA® de CM3306-4 (A) comparado con medio semisólido (B)

Conclusiones

- La tasa de propagación en yuca se incrementó sustancialmente con el uso del sistema RITA® en comparación al sistema semisólido convencional.
- La respuesta a la propagación y a la conversión embrión-planta depende del genotipo y del regulador hormonal
- RITA® puede ser adaptado a otros cultivos, sistemas de propagación (organogénesis y embriogénesis). La transferencia de esta tecnología se facilitaría con la reducción de los costos de instalación.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Corporación para el Desarrollo Participativo y Sostenible de los Pequeños Agricultores Colombianos -PBA, por su apoyo financiero en la ejecución del proyecto y a los pequeños y medianos agricultores de la Costa Norte de Colombia.

Referencias

- Alvard, D. et al. 1993. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 32: 55-60
- Buitrago J. 1999. Ingenio yuquero. Estudio de prefactibilidad. FDI, CIAT and Fenavi. Cali-Colombia
- Etienne, H. et al. 1997. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant 33: 81-87
- Lorenzo, J.C. et al. 1998. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 52: 197-200
- Roca W.M. 1984. Handbook of Plant Cell Culture. V2. Pp 269-301
- Teisson, C. & Alvard, D. 1994. VIIIth International Congress of Plant Tissue and Cell Culture. pp S2-2