

**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*

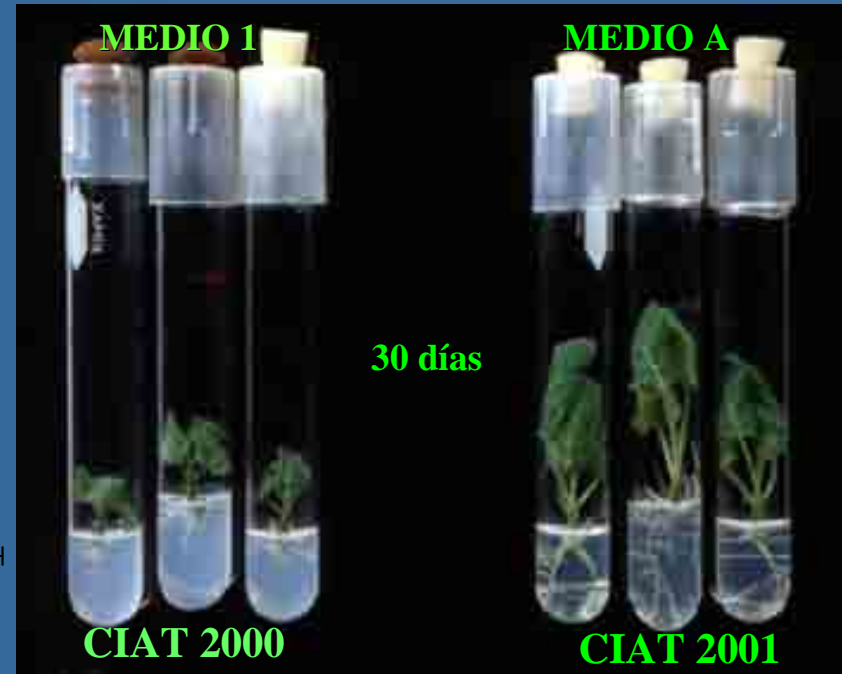
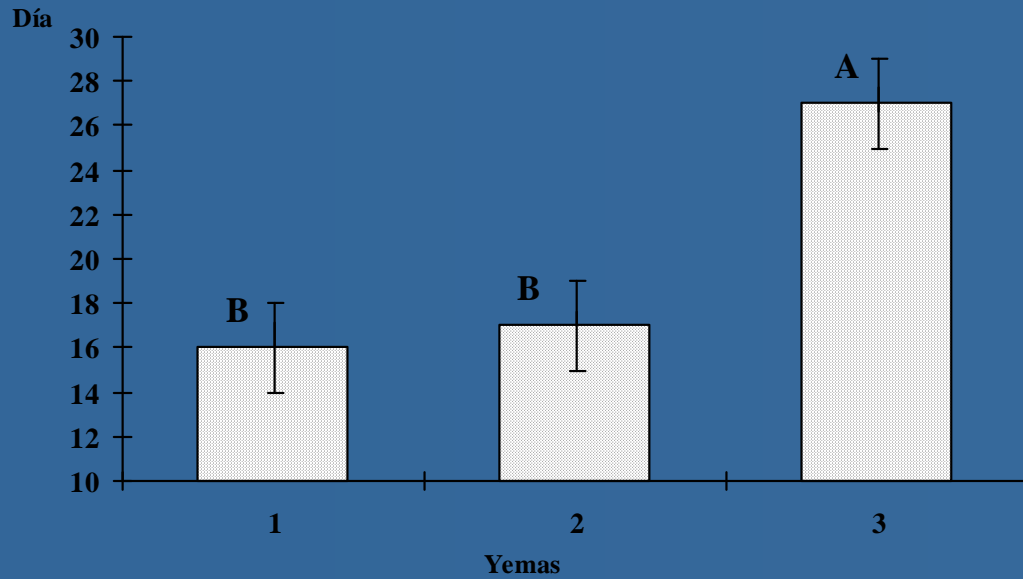
Lulo

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



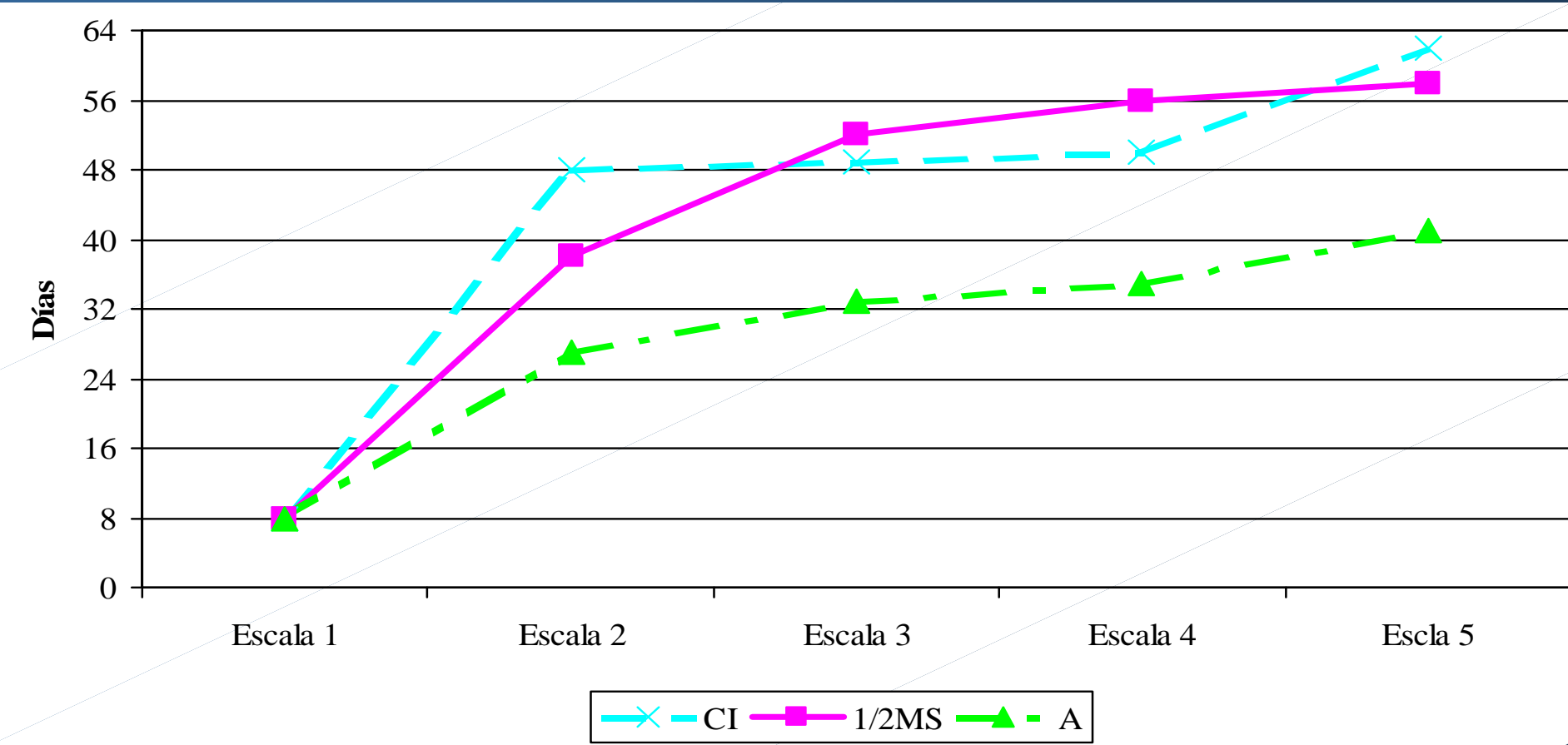
2002



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

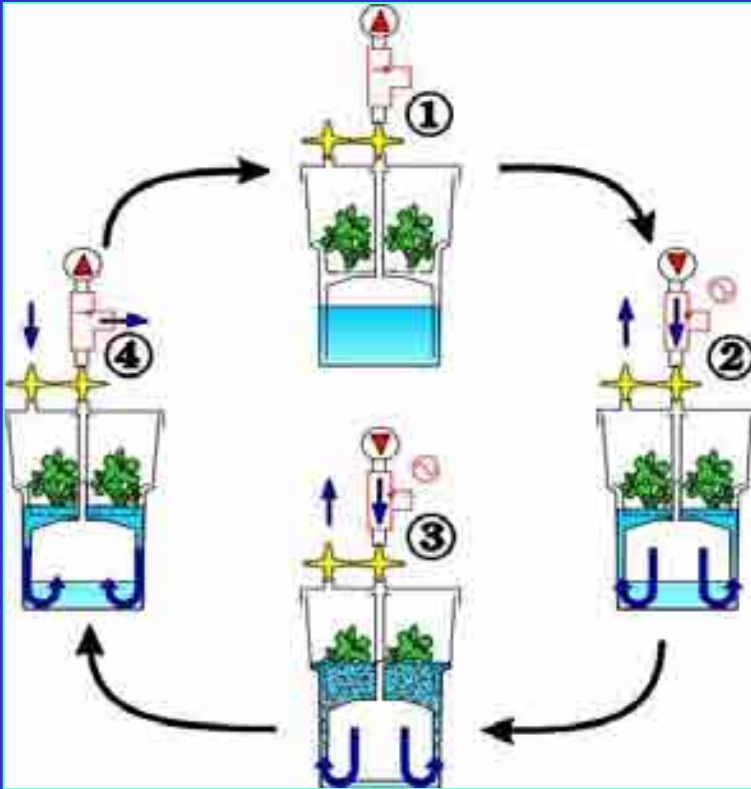


	Escala				
	1	2	3	4	5
No.hojas	2	3	4	5	+5
Ancho hoja promedio (cm)	0.3-0.5	0.5-1.5	1.5-2.5	2.5-3.5	3.5-4.5
Altura (cm)	1-1.5	1.5-2.5	2.5-3.5	3.5-5.5	5.5-7.0
No Raíces	0	1-2	3	4	+4



**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



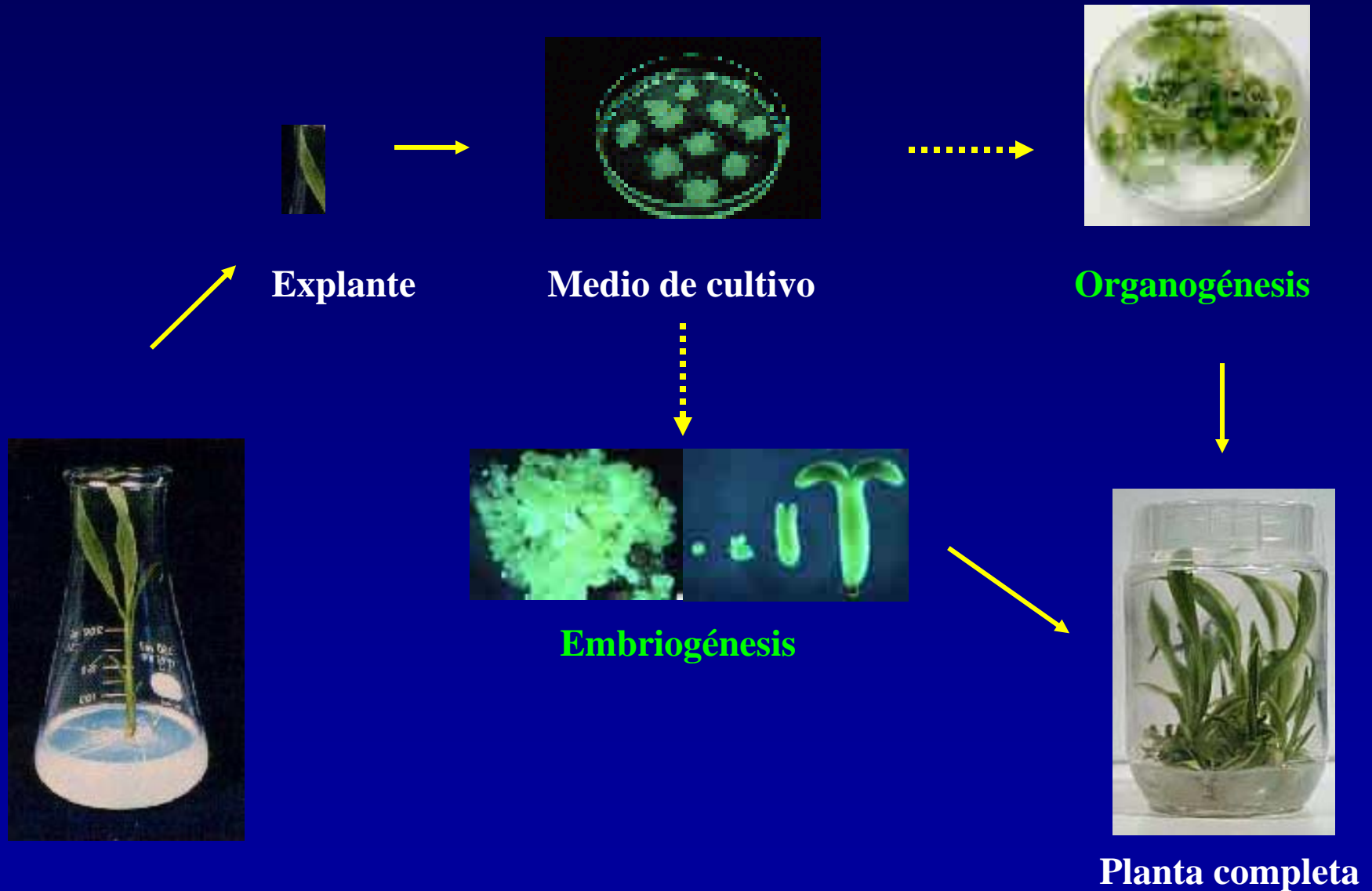
Recuperación de plantas a partir de meristemos



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)

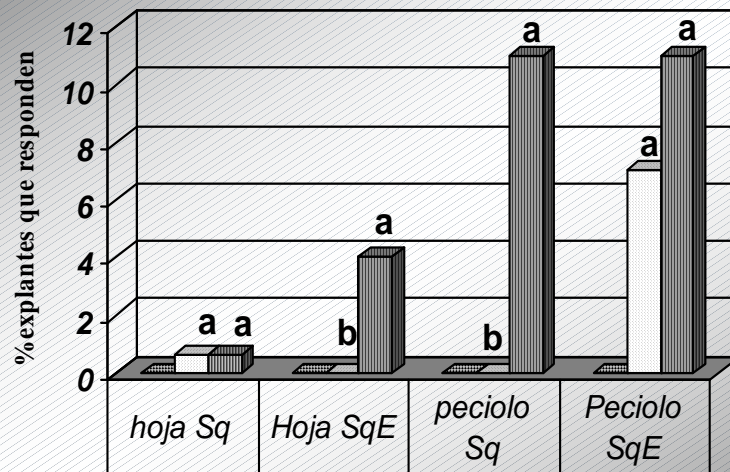


Comparación a gran escala:

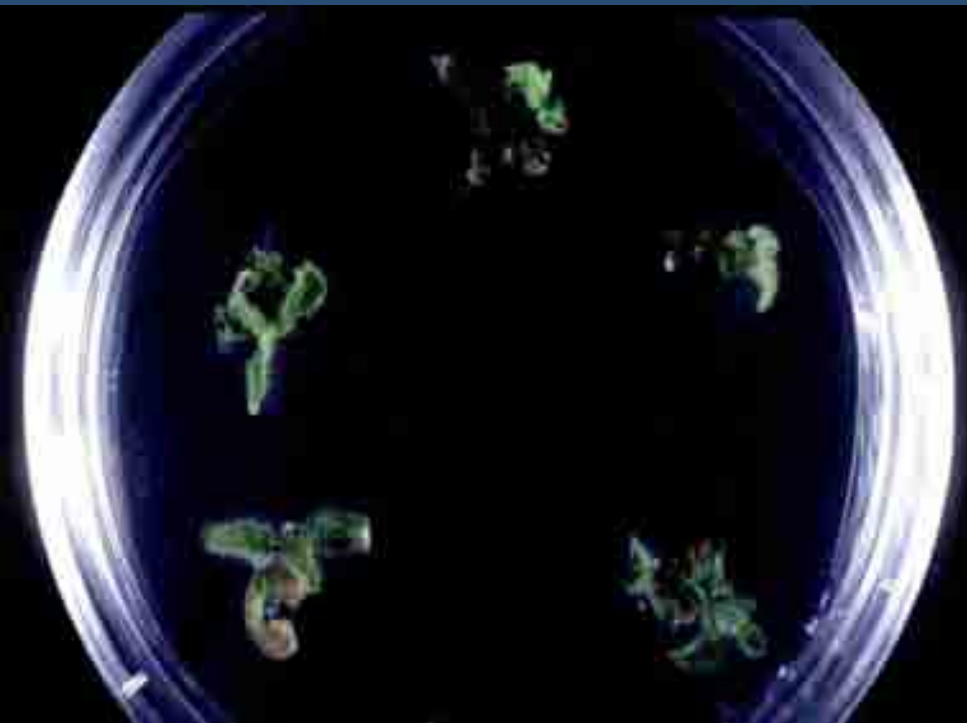
- Diferentes medios de regeneración.
- Diferentes explantes de lulo
- Dos genotipos (Sq y SqE)

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

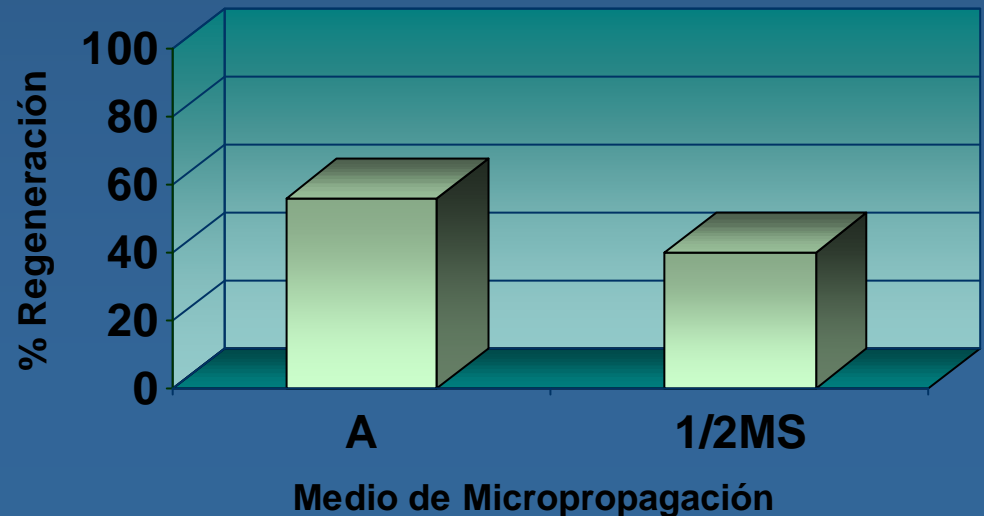


Regeneración es afectada por el medio de micropropagación utilizado en la planta madre

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**

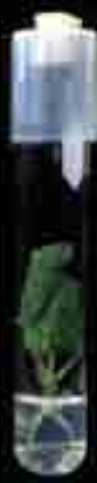
Ensayo pequeño. Observaciones hasta fructificación.

- **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



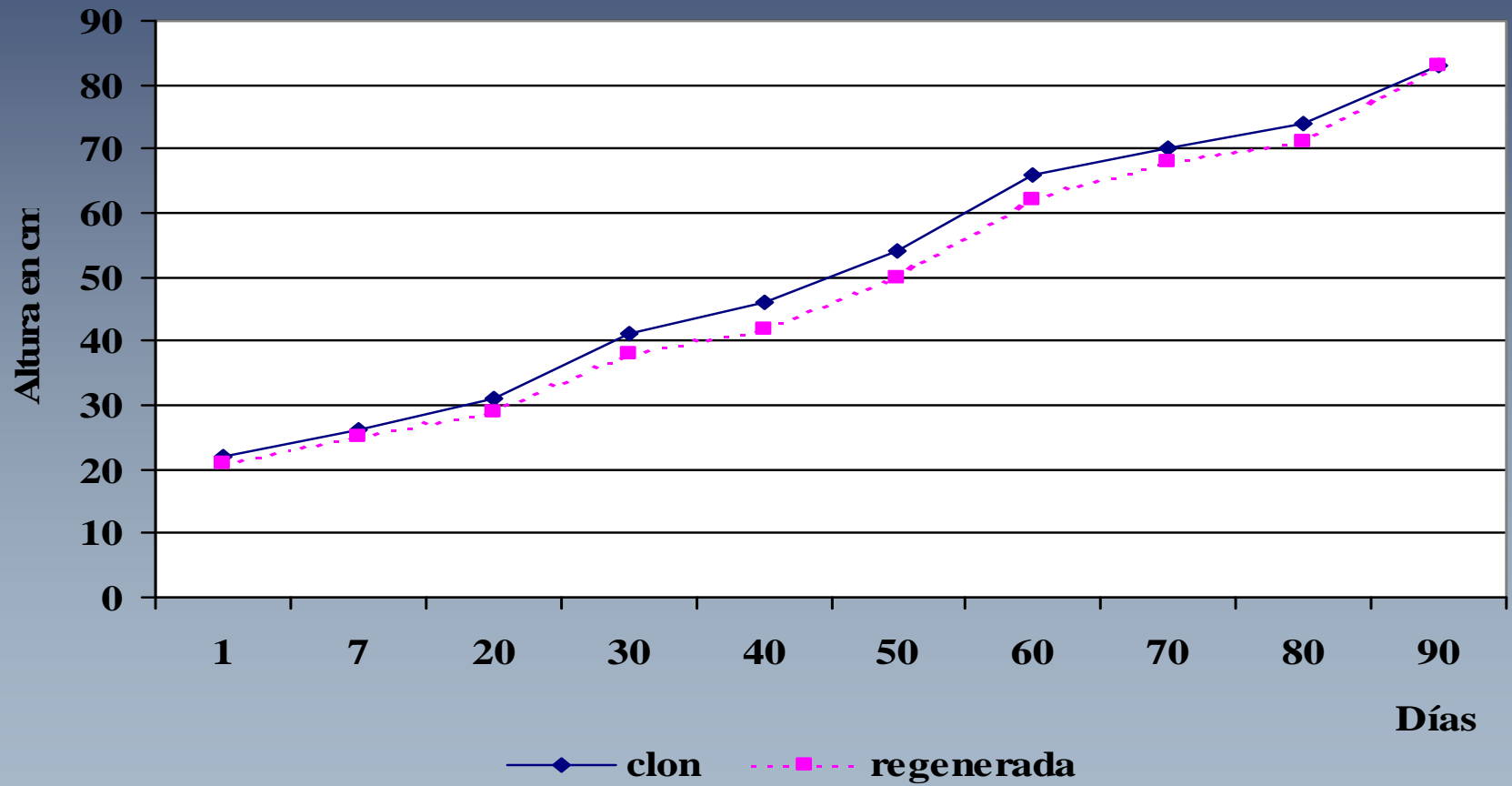


**Fase vegetativa
hasta la floración**

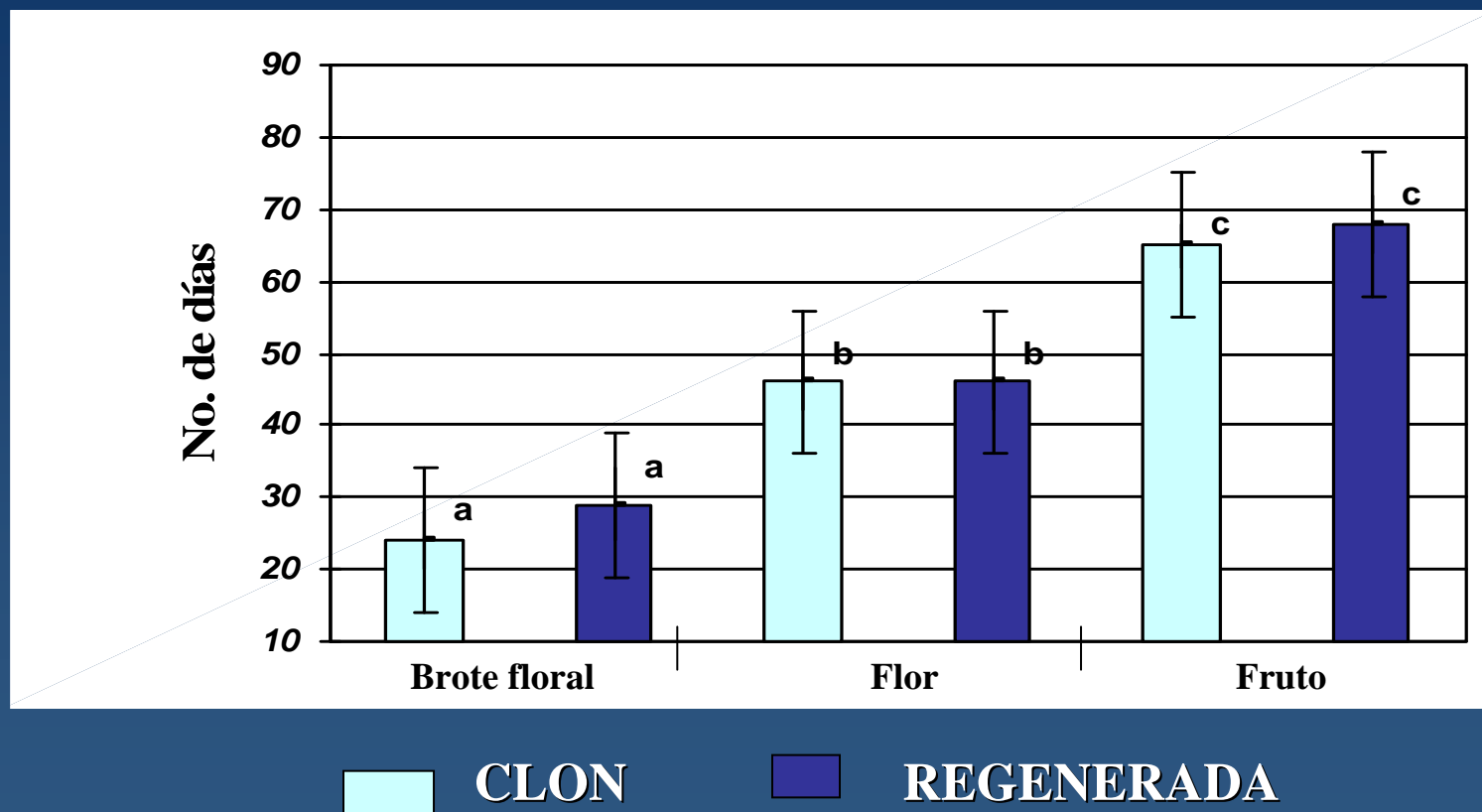


**Desarrollo normal de
clones y regenerados**

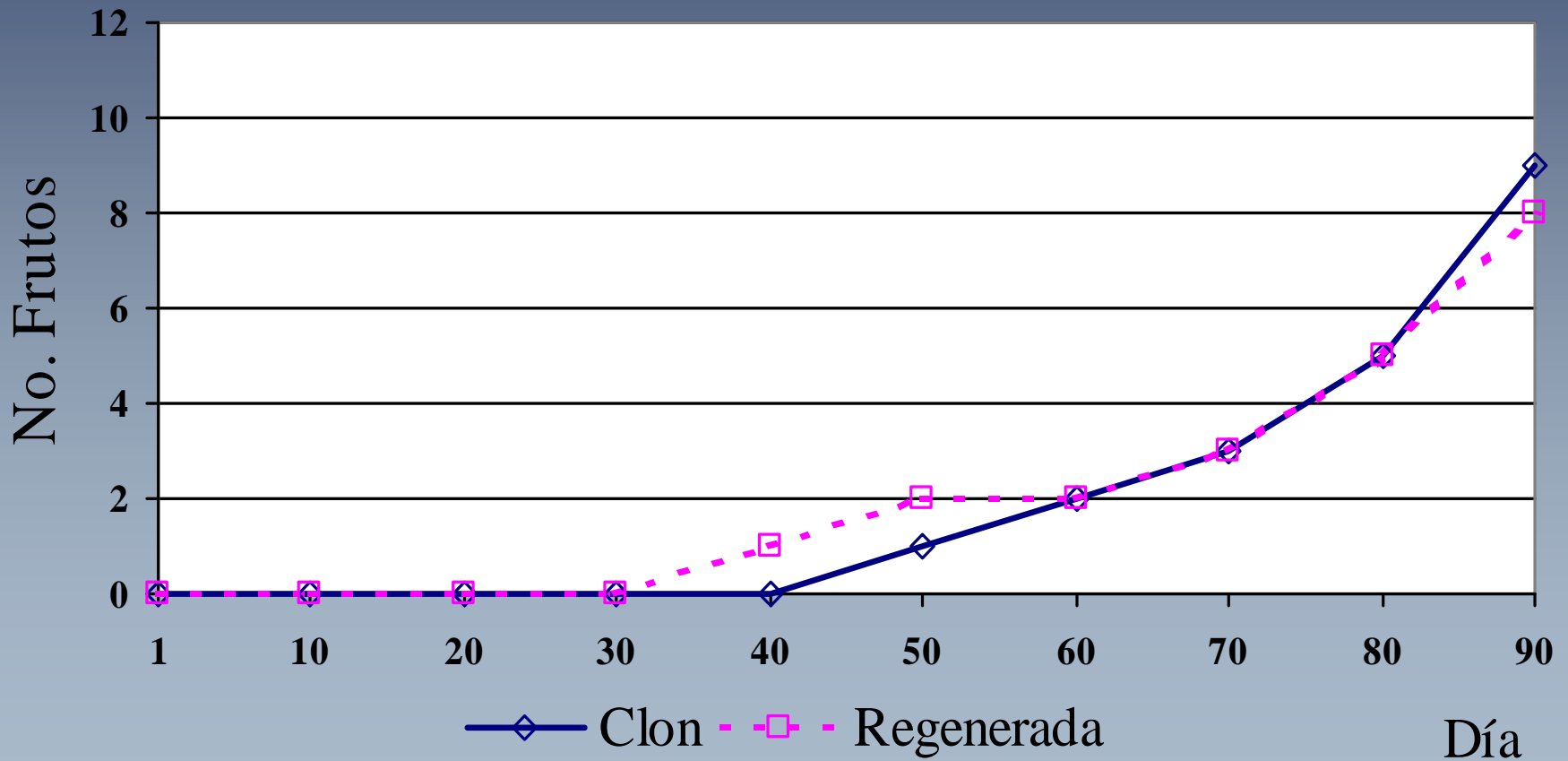
En altura = comportamiento equivalente entre clones y regenerados



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
Sq	11	1316	119.6	54	5	10	87.2	2.5
SqR	12	1290	107.5	47	4	19	80.3	0.5
SqE	6	280	46.6	13	2	8.5	78.2	13.2
SqER	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

Determinación	SqR	Sq	SqER	SqE	Mercado
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

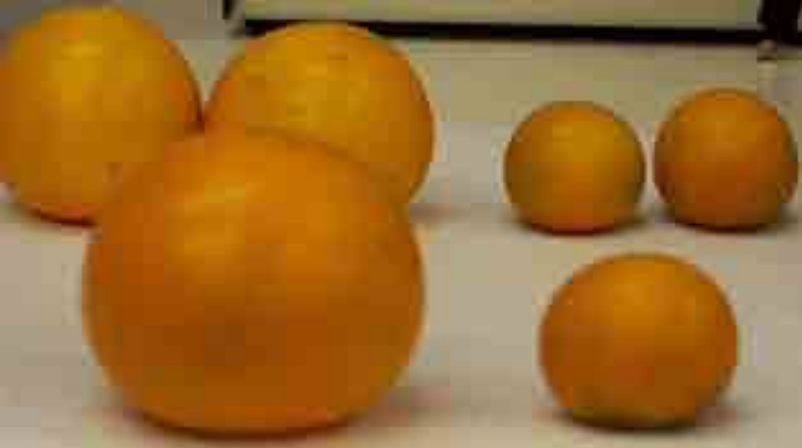
Día 8

Día 15



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

****prob.=5%**

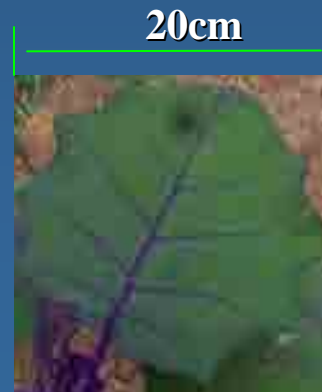


→ **Posible somaclon derivado de planta regenerada**

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>