

# Parte B

## **Aplicaciones del Cultivo de Tejidos a Especies Vegetales Económicamente Importantes**

# Capítulo 17

## Eliminación de virus y propagación de clones en la yuca (*Manihot esculenta* Crantz)

W. M. Roca\*

B. Nolt\*\*

G. Mafla\*

J. Roa\*\*\*

R. Reyes\*\*\*

---

\* Unidad de Investigación en Biotecnología (UIB), Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

\*\* Programa de Frijol, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

\*\*\* Unidad de Recursos Genéticos (URG), Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

## **Introducción**

La yuca es, entre los cultivos que proporcionan alimentos básicos, uno de los más importantes de los trópicos bajos. Las raíces de la yuca son la principal fuente de calorías para casi 600 millones de personas de África, Asia Suroriental, América Latina, el Lejano Oriente, y Oceanía. Pequeños agricultores cultivan tradicionalmente la yuca en condiciones de clima y suelo que generalmente dificultan la obtención de otros cultivos sin insumos muy costosos. El rendimiento actual varía de 6 a 10 t/ha por año; sin embargo, hay un potencial en la yuca para duplicar o aun triplicar dicho rendimiento si se aplica una tecnología mejorada simple (Cock, 1982).

La yuca es una especie altamente heterocigótica y poliploide ( $2n = 4x = 36$ ), razón por la cual se propaga tradicionalmente por esquejes caulinares o estacas y no por semilla sexual. Los agricultores obtienen el material de siembra del cultivo anterior o de fincas vecinas; en promedio, se pueden obtener 10 estacas de una planta de yuca madura cada año. Los organismos patógenos sistémicos, como los virus, pueden transmitirse mediante el material de siembra por generaciones sucesivas; estos organismos no sólo afectan el rendimiento de los cultivares locales de yuca, sino que se han convertido en una limitación importante para el mantenimiento de los bancos de germoplasma y para el intercambio internacional y regional de clones.

Mejorar la yuca por su resistencia a los virus es tarea difícil y no permite la rehabilitación de variedades que ya poseen atributos agronómicos valiosos. En consecuencia, la producción de material de siembra de alta calidad es una necesidad para mantener el rendimiento y la calidad de los cultivares locales (Lozano et al., 1983b). Ahora bien, las técnicas de cultivo de tejidos se han usado para propagar cultivos que se multiplican vegetativamente, entre ellos la yuca, en condiciones de sanidad vegetal (Roca, 1985; Schilde-Rentscheller y Roca, 1986).

## **Eliminación de los Virus de la Yuca**

Las enfermedades causadas por virus afectan seriamente el rendimiento y la calidad de la yuca en las principales regiones cultivadoras de esa raíz en el mundo. En África, el virus más importante es el que causa la enfermedad del mosaico africano de la yuca (ACMD), responsable de pérdidas de rendimiento hasta del 90% (Bock y Guthrie, 1976). En América Latina existen diversos virus y organismos similares a los virus, y se ha informado

sobre otros nuevos. La enfermedad cuero de sapo (FSD) reduce el rendimiento de 80% a 100% (Lozano et al., 1983a); el virus del mosaico común de la yuca (CCMV), ampliamente difundido en América Latina, reduce el rendimiento hasta en un 60% (Costa y Kitayima, 1972); y la enfermedad del mosaico caribeño (CMD), localizada en la costa norte de Colombia, puede causar pérdidas del rendimiento de 30% a 40% (CIAT, 1983). Recientemente se descubrieron el virus X de la yuca (CsXV) y el que causa la enfermedad del virus latente, ambos de considerable importancia (CIAT, 1986).

## **Técnica para la eliminación de los virus**

**Termoterapia y cultivo de tejidos apicales.** Partiendo del trabajo original de Kartha et al. (1974), las técnicas de cultivo de puntas meristémicas<sup>1</sup> relacionadas con la termoterapia se desarrollaron en el CIAT; el propósito era eliminar los virus de las variedades de yuca infectadas (CIAT, 1982). El desarrollo de técnicas sensibles para el diagnóstico de los virus ha contribuido enormemente a la producción de clones de yuca en que se ha probado la ausencia de organismos patógenos. La eliminación de los virus depende, en alto grado, de la exposición de las estacas con brotes a una temperatura alta (40 °C diurna y 35 °C nocturna) durante 3 a 4 semanas, antes de la excisión de las puntas meristémicas. El tamaño de las puntas usadas para el cultivo in vitro es también importante cuando se trata de excluir un virus, especialmente si las estacas no se expusieron a termoterapia (Cuadro 17.1). La aplicación de termoterapia antes del cultivo de meristemas condujo a la exclusión, en un 100%, de los cuatro virus, aun cuando dos de ellos infectaran una planta (Cuadro 17.1).

Las puntas meristémicas se cortan de las yemas terminales de estacas cultivadas bajo termoterapia, y se implantan en la superficie del medio de cultivo que contenga las sales minerales de Murashige y Skoog (1962), complementadas con 100 mg/litro de inositol, 1 mg/litro de tiamina, sucrosa al 2%, 0.04 mg/litro de BAP, 0.05 mg/litro de AG y 0.02 mg/litro de ANA. El medio se hace semisólido con 0.8% de agar lavado. Los cultivos se incuban a una temperatura de 27 a 28 °C, con una iluminación de 600 a 1000 lux durante unos 15 días, y luego de 3000 a 4000 lux, y en un fotoperíodo de 12 h.

---

1. En este trabajo, el término 'punta meristémica' se refiere a la cúpula meristémica apical, rodeada por uno o dos primordios, de la hoja más joven; y la expresión 'sometido a pruebas de presencia de patógenos' (pathogen-tested) se refiere a plantas o estructuras vegetales probadas para establecer la ausencia de virus después del cultivo de puntas meristémicas.

Cuadro 17.1. Efecto de la termoterapia y del tamaño de los meristemas en el resultado de la eliminación de cuatro virus, en tres variedades de yuca infectadas con ellos.

Variedad de yuca	Virus	Tratamiento		Indización (planta <sup>+</sup> /total) <sup>c</sup>	
		Termoterapia <sup>a</sup>	Tamaño del meristema <sup>b</sup>	ELISA	dsRNA
Secundina	CsXV	sí	pequeño	0/12	0/7
		sí	grande	0/2	—
		no	pequeño	0/2	0/2
		no	grande	5/5	4/5
MPar 51	CCMV	sí	pequeño	0/1	—
		sí	grande	4/4	—
MCol 33	CsVX	sí	pequeño	0/7	0/6
		sí	grande	0/2	0/3
	Mosaico	no	pequeño	1/4	1/2
		FSD	no	grande	4/5

a. 40 °C diurna y 35 °C nocturna, con 12 h de fotoperíodo, durante 3 semanas.

b. Pequeño: 0.1 a 0.2 mm; grande: 0.5 a 0.7 mm.

c. Número de plantas positivas (con virus)/total de plantas probadas.

FUENTE: CIAT, 1985.

**Micropropagación.** Después de un lapso de 3 a 4 semanas, las puntas meristémicas se han convertido en brotes con raíces o con un callo basal pequeño; cada brote es micropropagado por esquejes de un solo nudo (Roca et al., 1984). Cuando las plantitas han desarrollado de tres a cuatro hojas, la primera prueba de virus se lleva a cabo empleando de una a dos hojas pequeñas.

**Pruebas virológicas.** Técnicas de indización altamente sensibles se han desarrollado para los virus de yuca más conocidos (Cuadro 17.1). Las pruebas se hacen *in vitro* y en plantas que se han trasladado al invernadero. Aunque la técnica de eliminación de virus descrita en este trabajo ha demostrado ser altamente eficiente, la indización de plantas regeneradas es necesaria. La indización de los virus de la yuca comprende las siguientes técnicas:

- ELISA para el CCMV y el CsXV.
- El dsRNA que comprende el aislamiento de especies de ARN vírico y su visualización mediante la electroforesis de geles (Gabriel et al., 1987); la técnica dsRNA se usa para todos los virus ARN conocidos de la yuca, p. ej., CsXV, FSD, CCMV, y los virus latentes.

- La inoculación mecánica de savia foliar en plantas de *Chenopodium quinoa*; induce lesiones locales cloróticas cuando el CCMV y el CsXV están presentes.
- La detección de síntomas de mosaico en la variedad de yuca Secundina cuando se injerta en materiales con afecciones virales; ésta es una prueba confiable de la enfermedad del mosaico caribeño (CMD).

La inoculación mecánica y las pruebas de injerto se aplican solamente a plantas de maceta en el invernadero. La Figura 17.1 representa gráficamente la metodología general empleada para eliminar los virus de los clones de yuca.

## **Conservación de Clones de Yuca Sometidos a Pruebas de Patógenos**

Es posible mantener in vitro muestras de material limpio para que la nueva propagación de plantas sanas pueda hacerse en cualquier momento; el mantenimiento in vitro evita la recontaminación con organismos patógenos. El germoplasma de yuca se ha mantenido tradicionalmente en cultivos vegetativos continuos establecidos en el campo. El mantenimiento en el campo tiene un costo alto, y a menudo expone el germoplasma valioso a pérdidas por ataques de plagas o de enfermedades, por cambios climáticos y por problemas del suelo.

La Figura 17.2 presenta las interrelaciones que hay entre las diversas formas de conservación in vitro del germoplasma de yuca y la eliminación de enfermedades, la micropropagación, la distribución y la conservación tradicional mediante semillas y en plantaciones de campo. La colección activa incluye el mantenimiento de campo tradicional y una nueva técnica de conservación bajo condiciones de crecimiento lento. La colección activa está disponible en forma de plantitas conservadas en tubos de ensayo individuales, que pueden micropropagarse y llevarse al campo. La colección de base está representada por la semilla sexual conservada y por la criopreservación de puntas meristémicas; estas colecciones son una forma de almacenamiento de germoplasma a largo plazo.

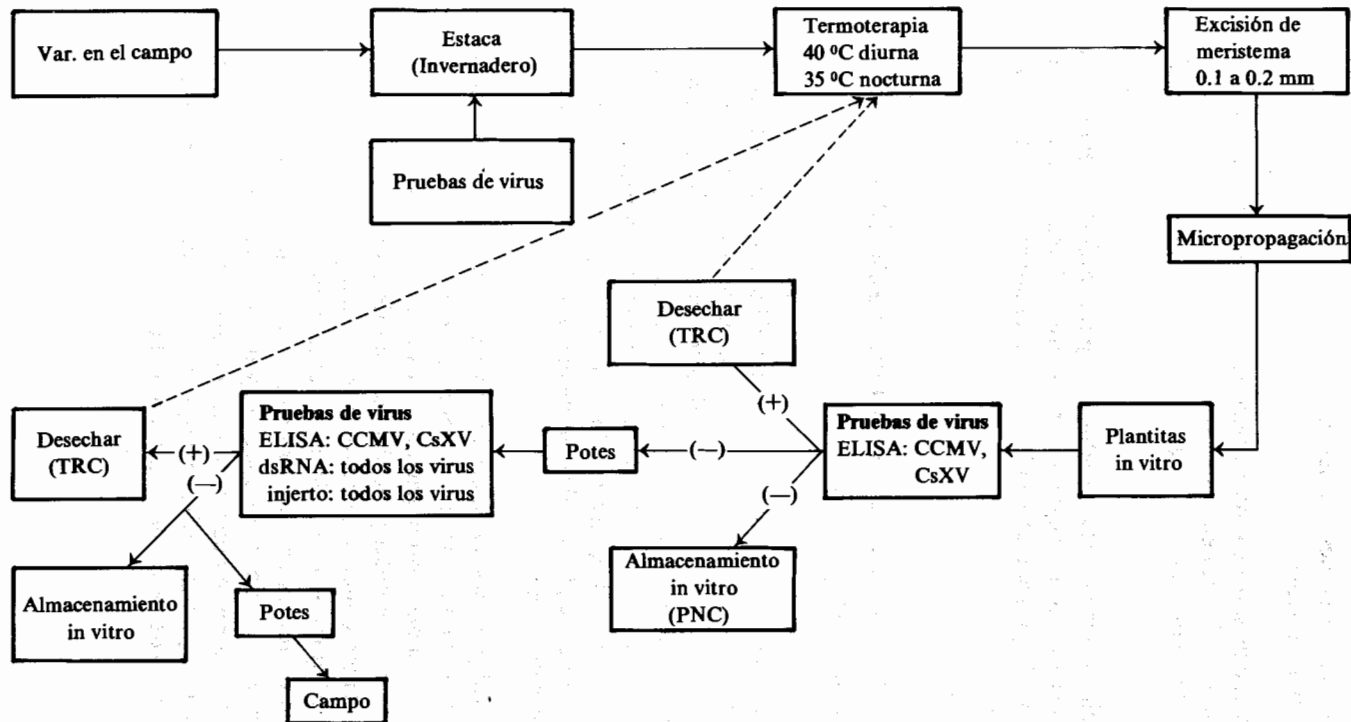


Figura 17.1. Metodología empleada para la eliminación de virus de las variedades de yuca infectadas con ellos. Se usan la termoterapia y las técnicas de cultivo de puntas meristémicas, junto con ensayos muy sensibles a los virus. La micropropagación se incorpora al esquema para indicar el incremento de los cultivos derivados de puntas meristémicas. El proceso total, desde la termoterapia hasta las plantas sometidas a pruebas de presencia de patógenos (en macetas de invernadero), toma aproximadamente 3 meses. Var.= variedad. TRC = termoterapia (al material in vitro) y recomenzar el ciclo, cuando haya escasez de material. PNC = si la prueba virológica (última) es negativa (-), se conserva el material.

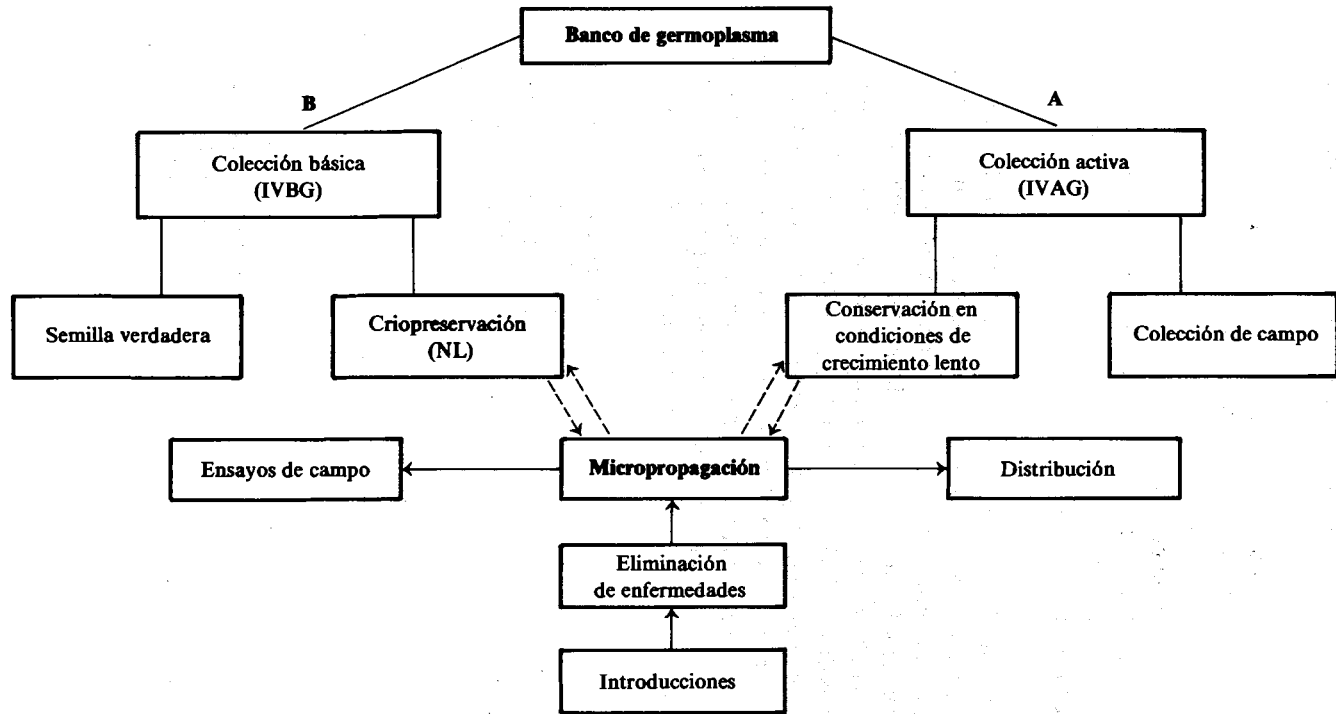


Figura 17.2 Interrelaciones entre las diversas metodologías de conservación in vitro del germoplasma de yuca, de un lado, y del otro, la micropropagación y la conservación convencional de la semilla y del cultivo en el campo. Obsérvese que se proponen dos tipos de conservación in vitro: A) el banco activo de genes in vitro (IVAG) que se halla en crecimiento lento, el cual, junto con la colección de campo, constituye la colección activa de germoplasma; y B) el banco básico de genes in vitro (IVBG) que se halla en criopreservación, el cual, junto con la colección de semilla sexual, constituye la colección de base. En el CIAT, el IVAG de yuca se halla en operación rutinaria, pero el IVBG se encuentra todavía en etapa experimental. NL = nitrógeno líquido.



## **Intercambio Internacional de Germoplasma de Yuca**

Como se indicó anteriormente, varios organismos patógenos de la yuca se pueden difundir a través de las fronteras de los países, transportados en las estacas de yuca. Esta difusión ocurre frecuentemente sin signos notorios y es especialmente crítica si la yuca se mueve de su centro de origen a otras regiones del mundo. Hay además ciertas enfermedades de la yuca que están geográficamente confinadas; por ejemplo, no se ha informado de la presencia de ACMD en las Américas.

Se han desarrollado técnicas de cultivo *in vitro* asociadas con la metodología de las pruebas que detectan organismos patógenos, con el fin de facilitar el intercambio internacional de germoplasma en forma de clones (Schilde-Rentscheler y Roca, 1987); esto se ha hecho sobre todo con yuca (Roca, 1986). Los cultivos de ápices meristémicos de plantas madre sometidas a las pruebas de presencia de organismos patógenos se establecen en medio estéril, en el que enraizan, y se empacan para distribuirlos (Roca et al., 1983). Es costumbre preparar plantitas individuales en tubos de ensayo o grupos de hasta 10 plantitas en un mismo recipiente, para distribuirlos a otras regiones; estos grupos adelantan un poco el endurecimiento de las plantitas antes de que el destinatario las transfiera a macetas (Figura 17.3).

En los últimos 7 años, más de 200 clones elite de yuca y casi 300 accesiones de germoplasma han sido enviados por el CIAT a 32 países. Se ha suministrado capacitación especial a los destinatarios de los envíos en la manipulación de los cultivos, para que puedan recuperar mejor las plantas para su siembra en maceta y luego en el campo (Roca et al., 1984). En varios países, los clones de yuca despachados *in vitro* han sido multiplicados y ensayados agrónomicamente en diversas localidades; por ejemplo, de unos pocos cultivos despachados a China 3 años atrás, uno de los mejores híbridos se ha propagado masivamente y ha sido ensayado en 15 localidades en la provincia de Guandong, con un aumento del rendimiento 80% mayor, en promedio, que el de las variedades locales.<sup>2</sup> De modo similar, más de 2000 cultivares de yuca se han introducido al CIAT desde diversos países mediante las técnicas *in vitro*; estos materiales se han micropropagado, se han probado para detectar organismos patógenos, y se han llevado al campo para su evaluación (Figura 17.3).

---

2. Chun Yen, K. Comunicación personal.

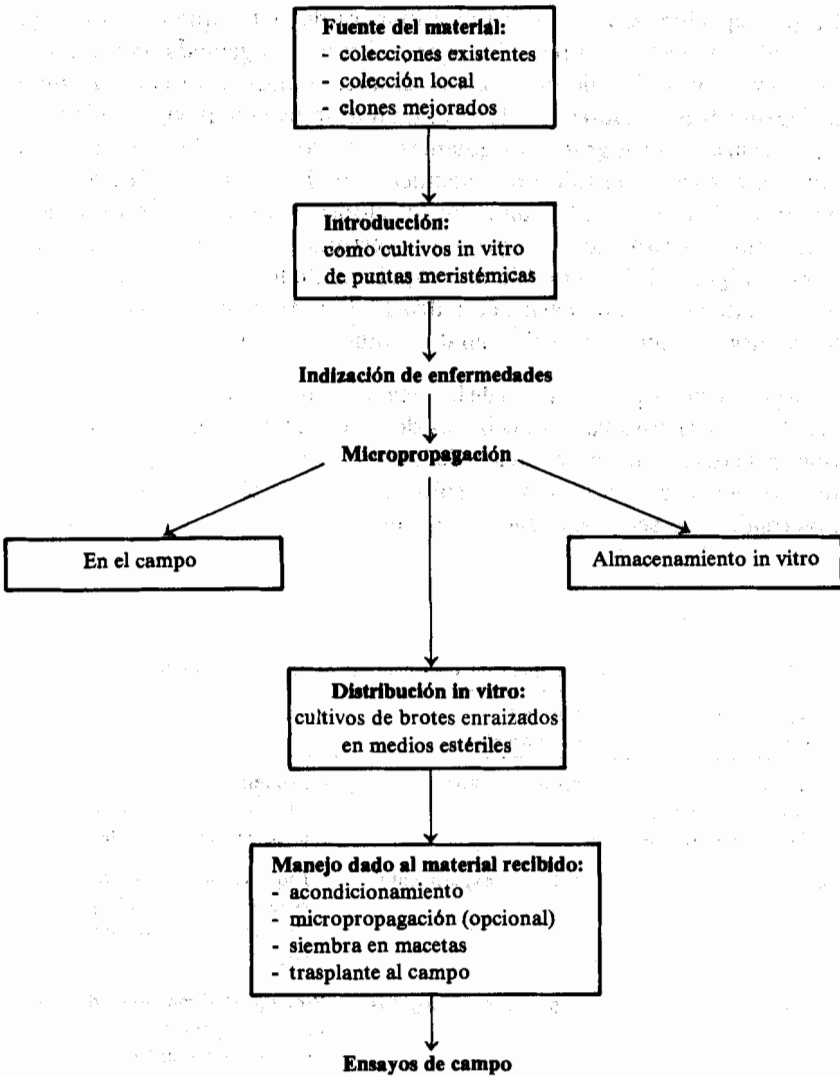


Figura 17.3. Flujo del material cuando se intercambia el germoplasma de yuca empleando técnicas de cultivo in vitro. Obsérvese que la indización de enfermedades y la micropropagación son fundamentales para el proceso de introducción y distribución de germoplasma.

## Propagación in Vitro de Clones de Yuca

La propagación in vitro es la única manera de evitar que los clones, ya probados respecto a la presencia de organismos patógenos, se contaminen de nuevo por acción de los insectos, el aire, el agua u otros organismos patógenos transportados por el suelo. La multiplicación in vitro de la yuca es necesaria para lograr los siguientes fines: a) aumentar el número de cultivos derivados de ápices meristémicos para hacer pruebas de presencia de virus (Figura 17.1); b) aumentar los clones ya probados respecto a la presencia de organismos patógenos para estimular el intercambio internacional (Figura 17.3); c) multiplicar rápidamente los clones seleccionados para producir 'semilla' básica (Cuadro 17.2); y d) propagar masivamente los clones elite que se trasplantan directamente al campo.

El potencial de propagación de la yuca in vitro supera ampliamente el de las técnicas mejoradas, es decir, las de invernadero. Sin embargo, para fines prácticos, una combinación de la técnica más simple de propagación in vitro, a saber, el cultivo de un solo nudo, con la técnica más simple de invernadero, o sea, los esquejes de tallo de dos nudos, y empleando la

Cuadro 17.2. Producción de material de 'siembra' de yuca para certificación.

Categoría de la semilla	Entidad responsable	Técnica de multiplicación <sup>a</sup>
Genética Cultivares locales Variedades nuevas	Fitomejorador	- Esquejes in vitro (un solo nudo) - Esquejes de tallo de dos nudos o esquejes simples de hoja y nudo
Básica <sup>b</sup>	Estación experimental	- Esquejes de dos nudos o esquejes simples de hoja y nudo - Propagación tradicional de estacas
Registrada	Agricultores escogidos	Propagación tradicional de estacas Fincas cooperadoras Empresas de semillas
Certificada <sup>b</sup>	Agricultores escogidos	Propagación tradicional de estacas Fincas cooperadoras Empresas de semillas

a. Empieza con clones probados respecto a la presencia de patógenos, que se obtuvieron mediante cultivo in vitro de puntas meristémicas y por termoterapia.

b. Puede reciclarse varias veces para acrecentar las reservas.

FUENTE: Domínguez, 1985.

técnica tradicional de las estacas (Cock et al., 1982), es posible satisfacer casi todas las necesidades actuales de multiplicación de la yuca (Cuadro 17.3).

Cuadro 17.3. Potencial de propagación de las técnicas tradicionales (en el campo), de las mejoradas (en el invernadero), y de las desarrolladas in vitro para mantener el germoplasma de yuca.

Técnica	Estacas/planta madre <sup>a</sup>
Tradicional (por estacas)	1 x 10 <sup>2</sup>
De invernadero <sup>b</sup>	
Estacas caulinares de 2 yemas	12 x 10 <sup>3</sup>
Esquejes de una sola hoja con nudo	50 x 10 <sup>3</sup>
In vitro	
Cultivos de un solo nudo (3 nudos/mes)	65 x 10 <sup>3</sup>
Cultivos de brotes múltiples (10 brotes/mes)	65 x 10 <sup>4</sup>
Embriogénesis somática <sup>c</sup>	—

- O también: estacas/cultivo inicial; se considera un rendimiento de 10 estacas comerciales por planta madura.
- Partiendo de 150 estacas caulinares por planta en un año, y de 100 esquejes de nudo por planta en 6 meses.
- Tiene un potencial de millones de plantas por año, que debe comprobarse.

## Micropropagación Mediante Cultivos de un Solo Nudo

La técnica más simple de micropropagación in vitro de la yuca es el cultivo de segmentos nodales obtenidos de plantitas derivadas de puntas meristémicas. Esta técnica es útil para incrementar la reserva de plantitas in vitro que se destinarán a las pruebas de virus, a la siembra en macetas y al trasplante en el campo.

La mano de obra intensiva sería la limitación principal de esta técnica. Se pueden obtener de tres a cinco plantitas por cultivo cada mes. Se usan dos medios: a) para nudos con yema axilar incipiente, el medio es el mismo descrito arriba para un cultivo de ápices meristémicos; b) para nudos con yemas axilares grandes y visibles, y para ápices de tallo, se usa un medio más simple: 1/3 de sales MS, 100 mg/litro de inositol, 1 mg/litro de tiamina, sucrosa al 2%, 0.01 mg/litro de ANA, y agar lavado al 0.8% (Roca et al., 1984).

## **Micropropagación Mediante Cultivos de Brote Múltiple**

Los requerimientos para lograr una multiplicación muy rápida de clones elite se pueden satisfacer mediante la inducción de cultivos de brote múltiple iniciados con puntas meristémicas (Roca, 1984). En teoría, se producirían hasta  $65 \times 10^4$  estacas en 18 meses empleando esta técnica; en ella, la adición de una dosis alta (1.0-5.0 mg/litro) de BAP rompe la dominancia apical y da origen a un cultivo en roseta. La transferencia de cultivos en roseta a un medio libre de BAP pero enriquecido con AG, promueve el crecimiento de yemas axilares que formarán de 10 a 20 brotes por cultivo. Una limitación importante de esta técnica es su relativa complejidad; sin embargo, es posible simplificarla empleando brotes axilares más grandes de estacas que hayan emitido ya brotes en el invernadero.

## **Micropropagación por Embriogénesis Somática**

Se ha desarrollado una técnica para regenerar plantas de yuca, eficaz y reproducible, mediante la inducción de embriones somáticos en el tejido embriogénico derivado de segmentos de hoja inmadura. Se halló que eran necesarios altos niveles de 2,4-D (8 a 16 mg/litro) para la inducción del tejido embriogénico bajo iluminación continua. Las plantitas se desarrollaron a partir de embriones primarios o secundarios en presencia de BAP y de AG (Szabados et al., 1987). La estabilidad de las plantas regeneradas se demostró a través de evaluaciones morfológicas y bioquímicas.

Esta técnica permite cultivar un gran número de embriones somáticos o de tejidos embriogénicos en pequeños volúmenes de medios líquidos; hay aquí, por tanto, un potencial para la regeneración de millones de plantas por año. Una posibilidad atractiva es el desarrollo de técnicas de encapsulación de embriones para la producción de semilla artificial. Dicha tecnología facilitaría no sólo la siembra directa de embriones en el campo, sino también la conservación y el transporte de germoplasma de yuca en una forma mucho más simple, como se hace con los cultivos de puntas meristémicas.

## **Rehabilitación de Cultivares Regionales de Yuca**

Después de la termoterapia y del cultivo de puntas meristémicas, se han obtenido algunas veces aumentos del rendimiento de más del 100% (Roca,

1984); sin embargo, el rendimiento se reduce más tarde en un 50%, más o menos. Este descenso gradual en el rendimiento y en la calidad de los cultivares locales de yuca sería el resultado de la acumulación de organismos patógenos que puede manifestarse por síntomas, aunque a veces permanece latente.

La recuperación del rendimiento y de la calidad de los cultivares locales es quizás la aplicación actual más importante de la micropropagación. Como el desarrollo de variedades nuevas de yuca es una tarea a largo plazo, la rehabilitación de cultivares locales constituye una estrategia a corto plazo para la producción de yuca en las regiones pobres de los trópicos. Los siguientes ejemplos ilustran esta proposición:

a. La primera demostración de recuperación del rendimiento de la yuca mediante la micropropagación ocurrió en los cultivares Llanera y CMC-40; el primero es una variedad muy antigua que se cultiva en Colombia, y el segundo una introducción de Brasil, más reciente. El descenso en el rendimiento fue más evidente en Llanera que en CMC-40 durante los últimos 10 años. Después de la termoterapia y del cultivo de ápices de meristemas, se obtuvo un incremento en el rendimiento de 50%, en promedio, el primer año. El segundo año, el aumento medio del rendimiento de ambos cultivares era de un 25%. Se espera, no obstante, que se reduzca la recuperación del rendimiento a causa de la recontaminación del material limpio.

La reinfección ocurrirá con mayor o menor rapidez según la enfermedad de que se trate; por ello, los virus transmitidos por los insectos causan una reinfección más rápida que aquellos transmitidos mecánicamente. El aumento del rendimiento depende también de las características climatológicas de la localidad en que se cultive la yuca; mientras en CIAT-Palmira un clon de yuca libre de enfermedades similares a micoplasmas (antólisis) duplicó el rendimiento (36 kg/ha) del testigo enfermo, en Media Luna, en la costa norte colombiana, el rendimiento de ese clon no presentó diferencia significativa respecto al testigo (CIAT, 1985).

b. El cultivar de yuca Secundina es muy apreciado en la costa del norte de Colombia, pero es altamente susceptible a la enfermedad del mosaico caribeño (CMD); las significativas reducciones del rendimiento de Secundina registradas en los campos de los agricultores fueron, evidentemente, un efecto del CMD. El material enfermo fue tratado con termoterapia o por medio del cultivo de puntas meristémicas y se sometió a pruebas de presencia de patógenos. Estacas de un año de edad de plantas regeneradas se llevaron a la costa norte de Colombia y se cultivaron, junto con testigos que no habían sido micropropagados, en los campos de los agricultores. Al final del primer año, se triplicaron los rendimientos de raíces frescas y de

almidón. Si el material de siembra que no había sido micropropagado se seleccionaba cuidadosamente en la finca, el aumento del rendimiento (18%) causado por la limpieza de la enfermedad era todavía significativo (Cuadro 17.4). En las generaciones sucesivas hubo una disminución gradual del rendimiento, y después de años de cultivo continuo, el rendimiento era ya similar al del testigo (Cuadro 17.5). Esta reducción del rendimiento se atribuyó a la recontaminación con el virus (Lozano et al., 1983a; CIAT, 1985), lo que señala que el material se debe renovar antes de que el rendimiento descienda a un nivel económicamente indeseable. Para atender esta necesidad se requiere un esquema de producción de 'semilla'.

Cuadro 17.4. Influencia del origen del material de 'siembra' en el rendimiento y en la calidad del cultivar de yuca Secundina.

Material de 'siembra' (procedencia)	Rendimiento <sup>1</sup> (t/ha)		Reducción del rendimiento (%)
	Raíces	Almidón	
De cultivo de puntas meristémicas	24.0 a	7.9 a	0
De campos de agricultores, seleccionado	19.6 b	6.2 b	18.3
De campos de agricultores, sin seleccionar	7.3 c	2.4 c	69.5

1. Los valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ( $P \leq 0.05$ ).

FUENTE: Lozano et al., 1983b.

Cuadro 17.5. Rendimiento del cultivar de yuca Secundina durante los 4 años siguientes a su micropropagación (termoterapia y cultivo de meristemas).

Ciclo o año de cultivo <sup>1</sup>	Rendimiento <sup>2</sup> (t/ha)	
	Raíces frescas	Almidón
Material micropropagado		
I	30.2 a	8.9 a
II	25.9 ab	7.7 ab
III	20.7 b	6.1 b
IV	17.6 c	5.2 c
Testigo <sup>3</sup>	17.0 c	5.3 c

1. El material de siembra para cada ciclo se obtuvo del ciclo precedente.

2. Los promedios seguidos por la misma letra no son significativos ( $P \leq 0.05$ ).

3. El material de siembra se obtuvo de los campos de los agricultores.

FUENTE: CIAT, 1985.

c. El cuero de sapo (FSD) es endémico en una región de pequeños cultivadores de yuca al sur de Colombia; apareció en el cultivar local Quilcacé y en un cultivar recientemente introducido, M Col 113, los cuales han desaparecido prácticamente porque sus rendimientos son muy bajos (de 4 a 7 t/ha). Se limpió entonces la enfermedad en ambos cultivares, y se distribuyeron a los agricultores, para hacer un ensayo, estacas tomadas de plantas de un año de edad. Un aumento significativo del rendimiento de ambos cultivares se registró el primer año y el segundo, aunque en éste descendió la tasa de aumento del rendimiento (Cuadro 17.6). Este fenómeno se atribuyó a la reinfección por virus transmitidos por insectos. El descenso gradual del rendimiento que experimentan los cultivares limpios se puede retardar si se emplean mejores prácticas de manejo; ese descenso era significativo cuando el cultivo no se protegía de los insectos con plaguicidas o cuando se obtenía material de siembra de los campos de los agricultores (Cuadro 17.7).

Es posible, en consecuencia, usar técnicas de propagación in vitro para rehabilitar los cultivares regionales de yuca cuya producción se haya deteriorado por la acumulación de organismos patógenos. El desarrollo reciente del procesamiento y de la utilización de la yuca, es decir, la elaboración de productos de yuca secos para la industria, creará mayor demanda de material de 'siembra' de alta calidad entre los agricultores. Se usarán técnicas nuevas y tradicionales para desarrollar esquemas de certificación de la 'semilla' asexual de la yuca. Un esquema de este tipo se presenta en el Cuadro 17.2; en él aparece el cultivo in vitro al comienzo,

Cuadro 17.6. Rendimiento de dos cultivares de yuca limpios de la enfermedad cuero de sapo (FSD) y cultivados durante 2 años consecutivos en una región donde la FSD es endémica.

Cultivar <sup>a</sup>	Ciclo o año de cultivo <sup>b</sup>	Rendimiento (t/ha)		Plantas enfermas a la cosecha (%)
		Raíces	Almidón	
Quilcacé	I	17.4	5.3	0.0
	II	12.9	3.9	10.4
Testigo		7.5	2.1	100.0
MCol 113	I	16.5	4.3	6.2
	II	7.2	1.9	28.5
Testigo		4.6	1.2	100.0

a. Estacas obtenidas de material básico limpiado mediante termoterapia y cultivo de ápices meristémicos.

b. Estacas obtenidas de los campos de los agricultores.



Cuadro 17.7. Efecto del tratamiento con plaguicidas en el rendimiento de cuatro variedades de yuca previamente limpiadas mediante la micropropagación.

Fuente del material de 'siembra'	Tratamiento con plaguicida	Rendimiento <sup>1</sup> (t/ha)	
		Raíces frescas	Almidón
Cultivo de puntas meristémicas	sí	36.6 a	9.2 a
Campos de los agricultores	sí	27.7 b	8.3 b
Cultivo de puntas meristémicas	no	24.6 b	6.8 b
Campos de los agricultores	no	18.4 c	5.3 c

1. Los promedios seguidos por la misma letra no son significativos ( $P \leq 0.05$ ).

FUENTE: CIAT, 1984.

cuando se producen clones sometidos a pruebas de presencia de organismos patógenos, y cuando se hace la micropropagación de una reserva limpia de material genético. El mantenimiento de reservas limpias de germoplasma en un laboratorio central y el intercambio de clones, probados respecto a la presencia de organismos patógenos, con otras unidades de producción de semilla se facilitarían mucho si se emplearan las técnicas de cultivo in vitro descritas en este capítulo.

## Referencias

- Bock, K. R. y Guthrie, E. J. 1976. Recent advances in research on cassava viruses in East Africa. En: African cassava mosaic workshop. Memorias. International Development Research Centre (IDRC), Ottawa, Canadá. 11 p.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1982. Cultivo de tejidos. En: Informe anual del Programa de Yuca, 1981. Cali, Colombia. p. 115-126.
- . 1983. Pathology. En: Cassava Program annual report 1982. Cali, Colombia. p. 97-118.
- . 1984. Pathology. En: Cassava Program annual report 1983. Cali, Colombia. p. 371-400.
- . 1985. Pathology. En: Cassava Program annual report 1984. Cali, Colombia. p. 99-120.
- . 1986. Cassava Program annual report 1985. Cali, Colombia. p. 264-282.
- Cock, J. H. 1982. Cassava: A basic energy source in the tropics. Science 218:755-763.

- ; Toro, J. C. y Roca, W. M. 1982. Multiplicación acelerada de material genético promisorio de yuca: Guía de estudio. CIAT, Cali, Colombia. [Serie 04SC-06-06]. 28 p.
- Costa, A. S. y Kitajima, E. W. 1972. Studies on virus and mycoplasma diseases of the cassava plant in Brazil. En: Cassava mosaic workshop. Memorias. International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ibadán, Nigeria. p. 1-8.
- Domínguez, C. 1985. Oportunidades para la industrialización y comercialización de material de 'siembra' de papa y yuca. Semillas para América Latina (CIAT) 5:8-9.
- Gabriel, C. J.; Walsh, R. y Nolt, B. L. 1987. Detection and immunoblot electrophoresis of cassava dsRNAs. *Phytopath.* 76:1132. (Resumen.)
- Kartha, K. K.; Gamborg, O. L.; Constabel, F. y Shyluk, J. P. 1974. Regeneration of cassava plants from shoot apical meristem. *Plant Sci. Lett.* 2:107-113.
- Lozano, J. C.; Jayasinghe, U. y Pineda, B. 1983a. Viral diseases affecting cassava in the Americas. *Cassava Newsletter (CIAT)* 7:1-4.
- ; Pineda, B. y Jayasinghe, U. 1983b. Effect of cutting quality on cassava (*Manihot esculenta* Crantz) performance. En: Sixth Symposium of the International Tropical Root Crops Society. Memorias. Lima, Perú.
- Murashige, T. y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15:473-497.
- Roca, W. M. 1984. Cassava. En: Sharp, W. R.; Evans, D. A.; Ammirato, P. V. y Yamada, Y. (eds.). *Handbook of plant cell culture; 2: Crop species.* MacMillan Publishing, Nueva York. p. 269-301.
- . 1985. In vitro clonal propagation to eliminate crop diseases. En: *Biotechnology in international agricultural research. Memorias. International Rice Research Institute (IRRI), Manila.* p. 3-10.
- . 1986. Cassava. En: León, J. y Withers, L. (eds.). *Guidelines for seed exchange and plant introduction in tropical crops. Paper 76, FAO, Roma.* p. 43-47.
- ; Rodríguez, J.; Beltrán, J.; Roa, J. y Mafla, G. 1983. Tissue culture for the conservation and international exchange of germplasm. En: Fujiwara, A. (ed.). *Plant tissue culture 1982: Fifth Symposium on International Plant Tissue Culture.* Tokio. p. 771-772.
- ; Rodríguez, J. A.; Mafla, G. y Roa, J. 1984. Procedures for recovering cassava clones distributed in vitro. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 8 p.

Schilde-Rentscheller, L. y Roca, W. M. 1986. Virus elimination in potato and cassava. En: Cock, J. (ed.). Global workshop on root and tuber crops propagation. Memorias. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. p. 89-95.

— y —. 1987. Tissue culture for the international exchange of potato and cassava germplasm. En: Bajaj, V. P. S. (ed.). Biotechnology in agriculture and forestry. Springer-Verlag, Berlín. v. 3, p. 453-465.

Szabados, L.; Hoyos, R. y Roca, W. M. 1987. In vitro somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava. *Plant Cell Reports* 6:248-251.