



Diagnóstico, Saneamiento y Multiplicación *In vitro* de la Yautía Coco (*Colocasia esculenta*)

José Efraín Camilo Santos
Esclaudys Pérez González

I. Introducción

La Yautía Coco (*Colocasia esculenta L. Schott*)

1. Parte de la canasta alimenticia
2. Contribuye a la seguridad alimentaria;

Fuente:

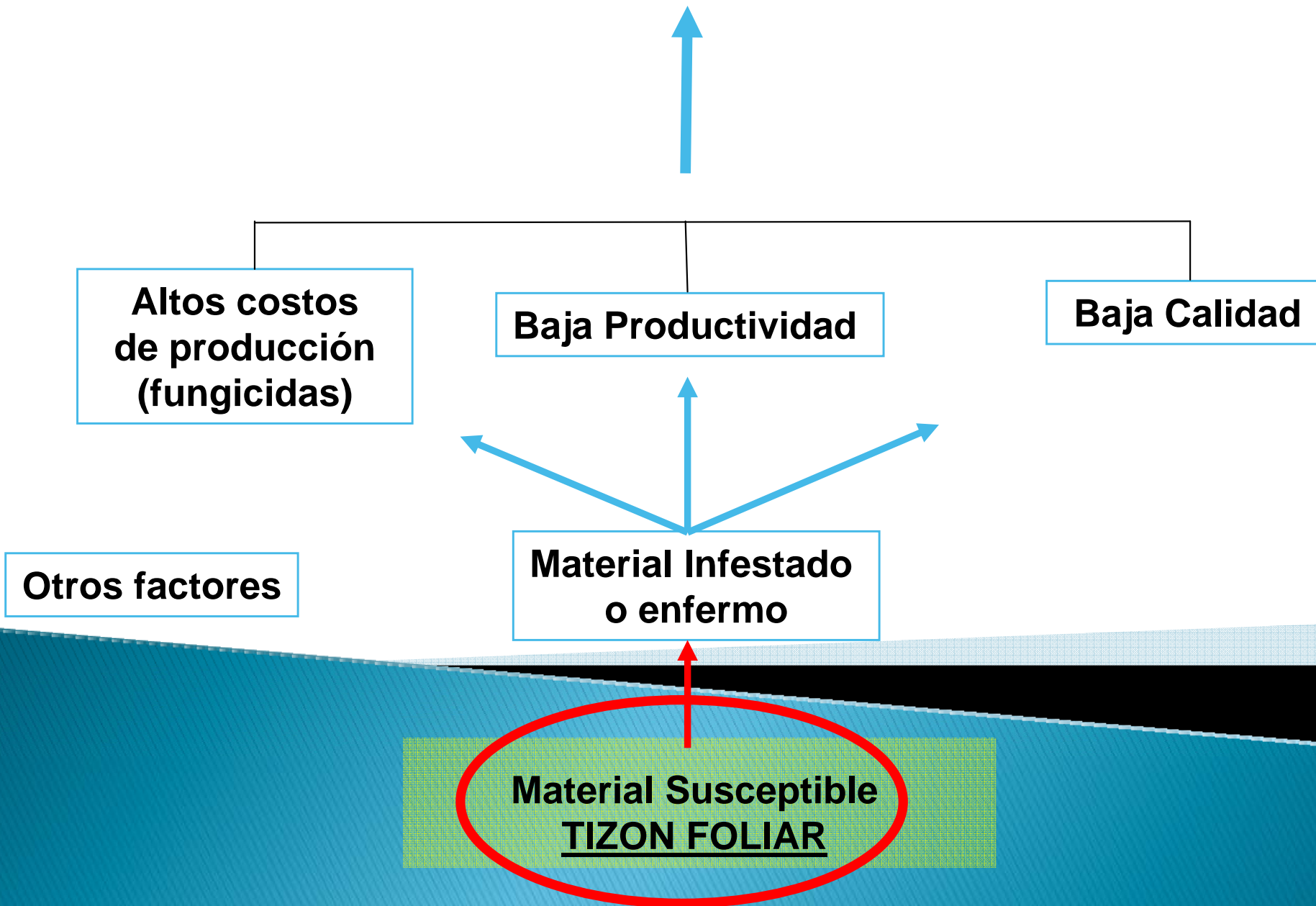
- Alimento: energía,
- Generación de empleos (20,000 empleos),
- Generación de ingresos

3. Generador de divisas: US\$ 9.4 millones (2003)



INSOSTENIBILIDAD DEL SISTEMA DE PRODUCCION

2004



Plantaciones de Yautía (2004)

TIZON FOLIAR: *Phytophthora colocasiae*



1.2 Síntomas

Ataca

- Hojas
- Tallo
- Colmos



► Diseminación:

- Agua de riego, lluvia, viento
- Material de siembra



1.3. Efectos

1. Reducción de ingresos:

- Aumento en los costos de producción, por uso de insumos (sin efecto significativo en la producción)
- Reducción en los rendimientos en más del 70%.

2. Reducción en más del 70% el área de siembra:

- 29,000 tareas en el 2003 *vrs* 7,000 tareas en el 2005.



1.3. Efectos (2)

1.3.1. Reducción en la generación de Divisas:

- US\$ 9.4 millones 2003 vrs ??? en el 2004 (90%)

1.3.2. Aumento de precios locales en más del 200%.

SEA 2005



Objetivo General:

- ▶ Desarrollar un protocolo para el diagnóstico, saneamiento y multiplicación masiva *In vitro* de la Yautía Coco (*Colacasia esculenta*).



Objetivos específicos;

- ▶ Evaluar **tres métodos de desinfección** y **tres tamaño de explante** en el establecimiento *In vitro* de ápices y meristemas de Yautía Coco (*Colacasia esculenta*).
- ▶ Evaluar el efecto del **fotoperíodo** en la fase de multiplicación de explantes de Yautía Coco (*Colacasia esculenta*).
- ▶ Evaluar el efecto del **estado físico del medio de cultivo** en la fase de multiplicación de Yautía Coco (*Colacasia esculenta*).



Objetivos específicos 2

- ▶ Evaluar el efecto de tres porcentajes de sacarosa (2, 4, 6 %) y tres niveles de auxina (0.01, 0.02 y 0.03 mg/l de AIA) en medio líquido y semi sólido en la fase de enraizamiento *In vitro* de Yautía Coco.
- ▶ Realizar una búsqueda exploratoria de material de Yautía Coco tolerante al Tizón Foliar en la región noreste.



II. MATERIALES Y METODOS

- ▶ **Ubicación:** Laboratorio de Biotecnología del ISA, La Herradura, Santiago.
- ▶ **Selección de plantas:**
 - Zonas productoras
 - Características tolerantes (*C. esculenta*)
 - Sanas
 - Plantas con síntomas
- ▶ **Desinfección:**
 - Hipoclorito de sodio 25% por 10 Minutos.
- ▶ **Medio Basal:** MS + recomendaciones de Dottin 1997.

2.1. Desinfección:

Tratamientos



Tamaño del explante	Método de desinfección		
	Na OCL 25% 15 minutos	Alcohol 70% Na OCL 25% 15 minutos	Na OCL 25% 15 minutos Tween 80
0.5 mm	0.5 Na 1	0.5 ANa 4	0.5 NaT 7
1 mm	1 Na 2	1 ANa 5	1 NaT 8
5 mm	5 Na 3	5 ANa 6	5 NaT 9

Variables medidas: # de explantes establecidos y contaminados

Completo al azar, con arreglo factorial, tres repeticiones

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + M_j + (TM)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

2.2. Fase de Multiplicación

Tratamientos

Condición de luz	Condición física del medio	
	Semi sólido	Líquido
16 horas luz	16 HL-S	16 HL - L
24 horas Luz	24 HL - S	24 HL - L

Variables medidas: # de brotes por explante y longitud de brotes.

Diseño completo al azar con arreglo factorial, cuatro repeticiones

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + M_j + (LM)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

2.3. Fase de Enraizamiento y Adaptación.

Tratamientos

Tipo de Medio	2% Sacarosa			4% Sacarosa			6% Sacarosa		
	AIA			AIA			AIA		
	0	0.1	0.2	0	0.1	0.2	0	0.1	0.2
Medio semi sólido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T6	T8	T9
Medio líquido	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18

Variables medidas: Número de raíces y longitud de raíces.

Diseño completo al azar, con arreglo factorial, cuatro repeticiones

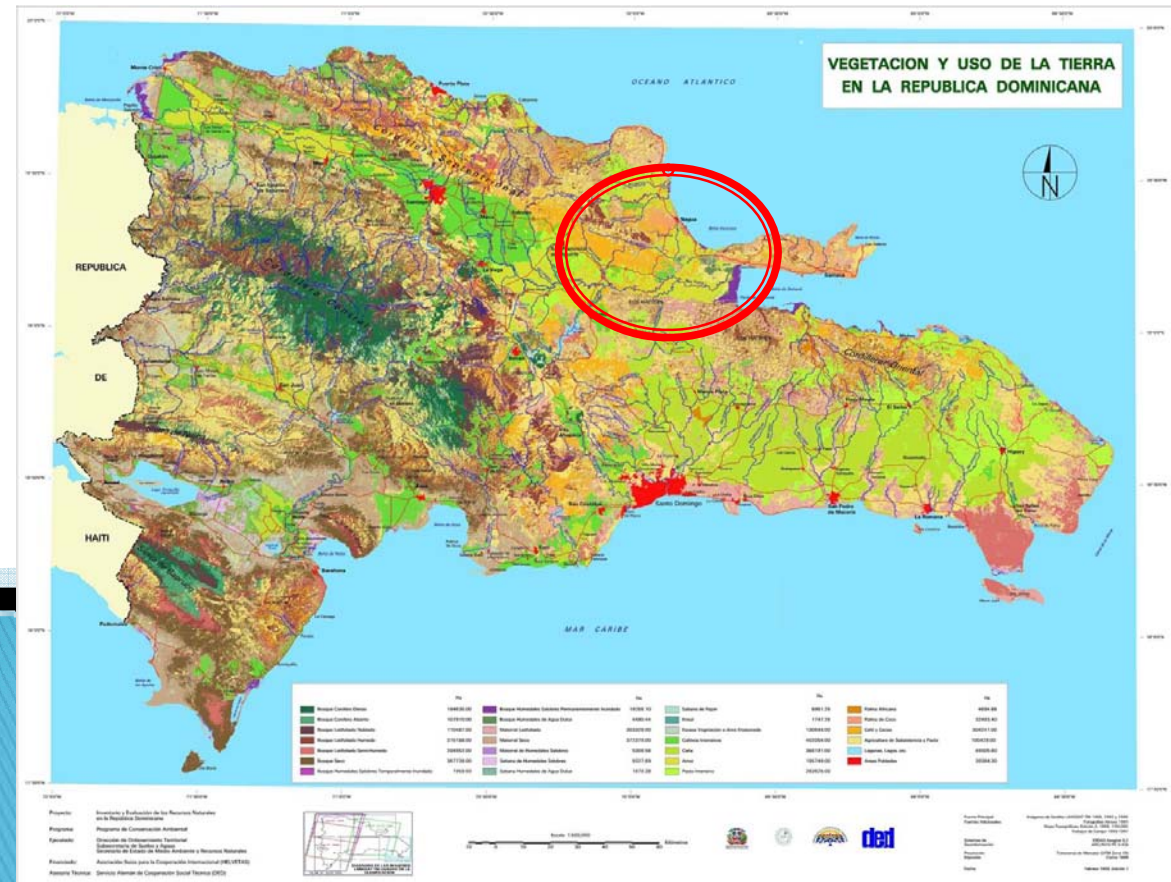
$$Y_{ijk} = \mu + M_i + S_j + A_k + (MS)_{ij} + (MA)_{ik} + (SA)_{jk} + (MSA)_{ijk} + \epsilon_{ijkm}$$

2.5. Seleccionar y multiplicar individuos tolerantes (de plantas libres en el campo.

Visitas exploratorias en las zonas de:
Nagua, San Francisco de Macorís y Salcedo.

Se considero tolerante a:

1. Menos del 15% de las hojas afectadas y;
2. Menos del 10% del área foliar afectada, a una edad de 120 días.



III. RESULTADOS



0-20

3.1. Desinfección:

Número de explantes

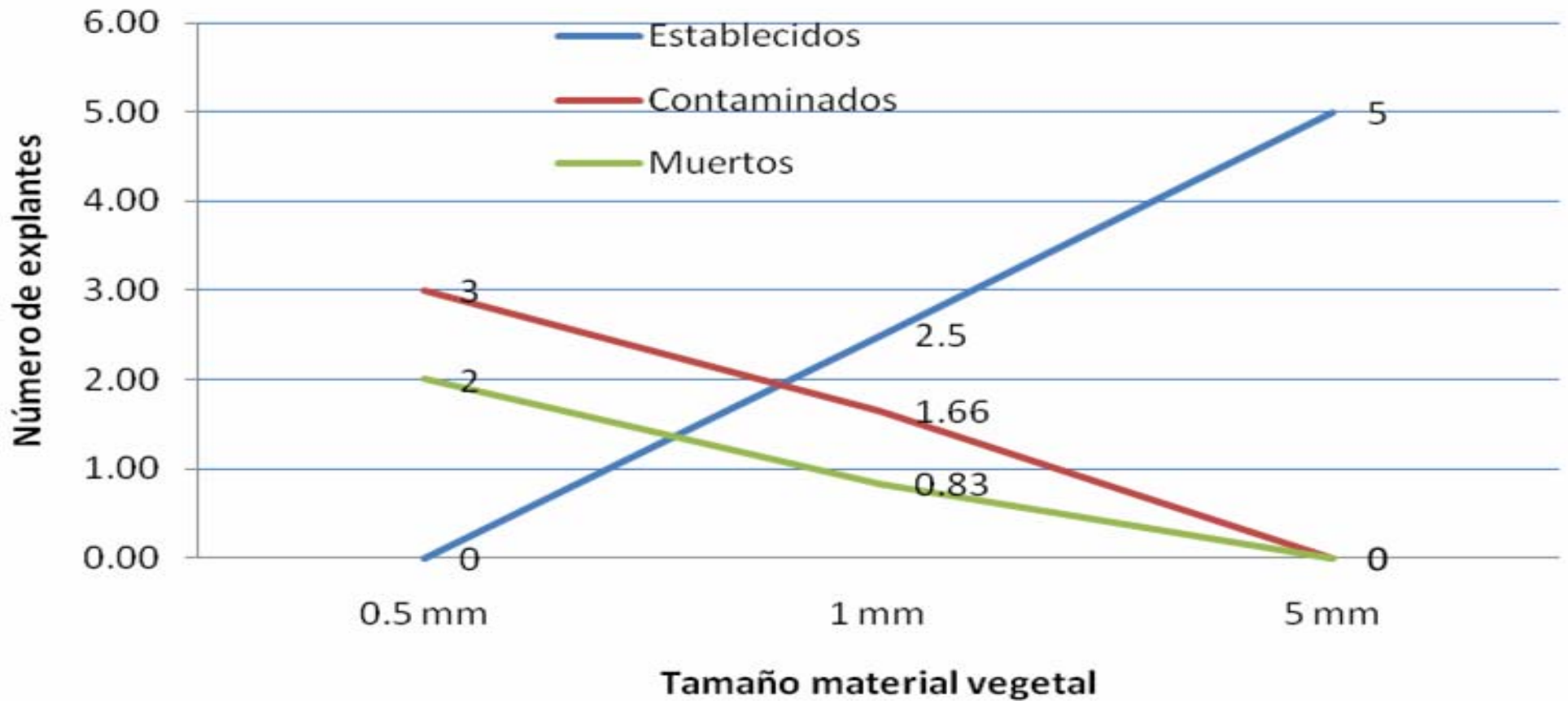
Tratamiento	Establecidos	Contaminados
0.5 Na-T 7	0.00 a	3 a
1 A-Na 5	0.83 ab	2.17 ab
1 Na-T 8	2.50 abc	1.67 ab
0.5 A-Na 4	3.17 abc	0.83 ab
5 Na 3	3.33 abc	0.33 b
1 Na 2	3.83 bc	0.67 b
5 A-Na 6	4.17 bc	0.33 b
0.5 Na 1	5.00 c	0 b
5 Na-T 9	5.00 c	0 b

\geq Cantidad \leq Cantidad

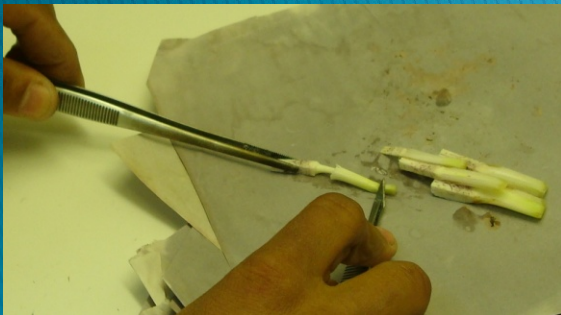
Letras distintas indican diferencias significativas ($p < = 0.05$).

No diferencia significativa (# explantes muertos)

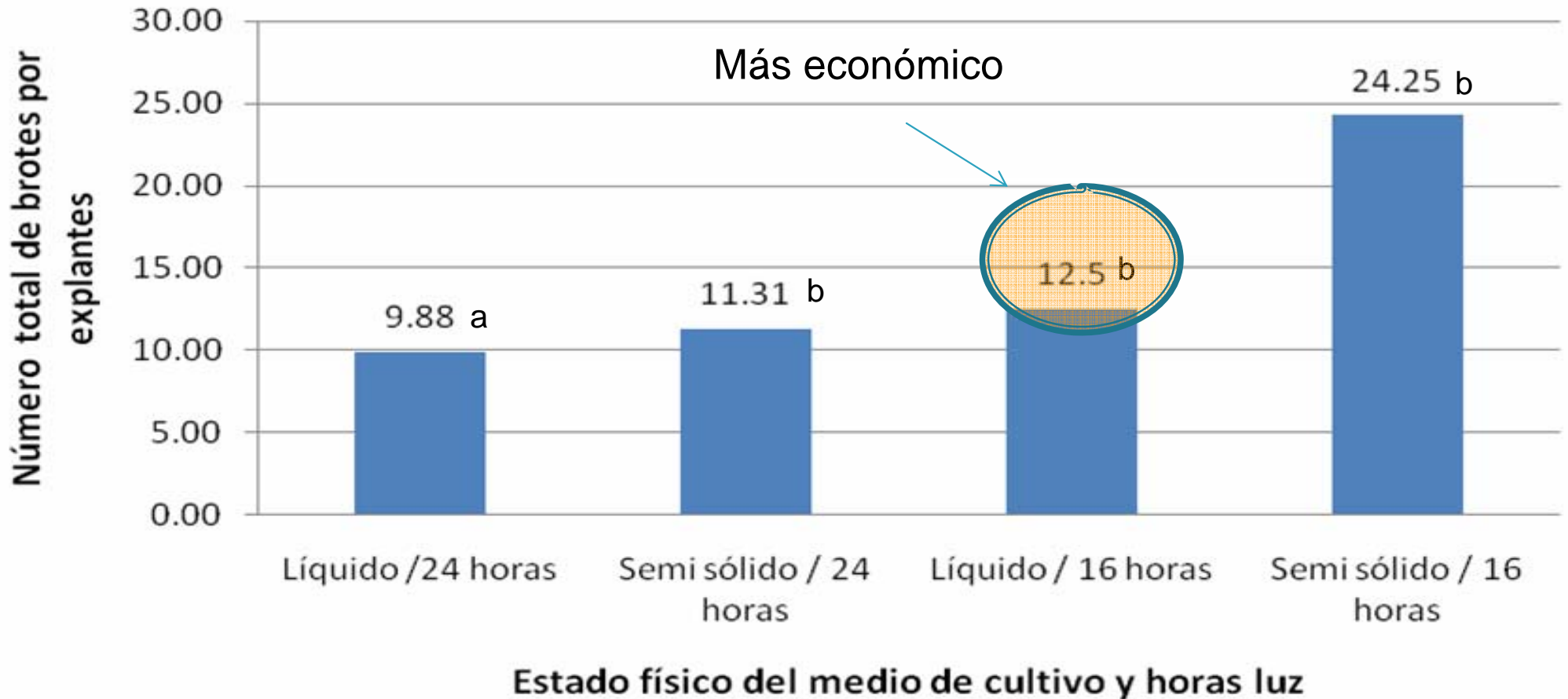
Relación significativa entre el tamaño del material vegetal y la cantidad de explantes.



El r^2 fue de 0.67 y 0.45



3.2. Fase de Multiplicación

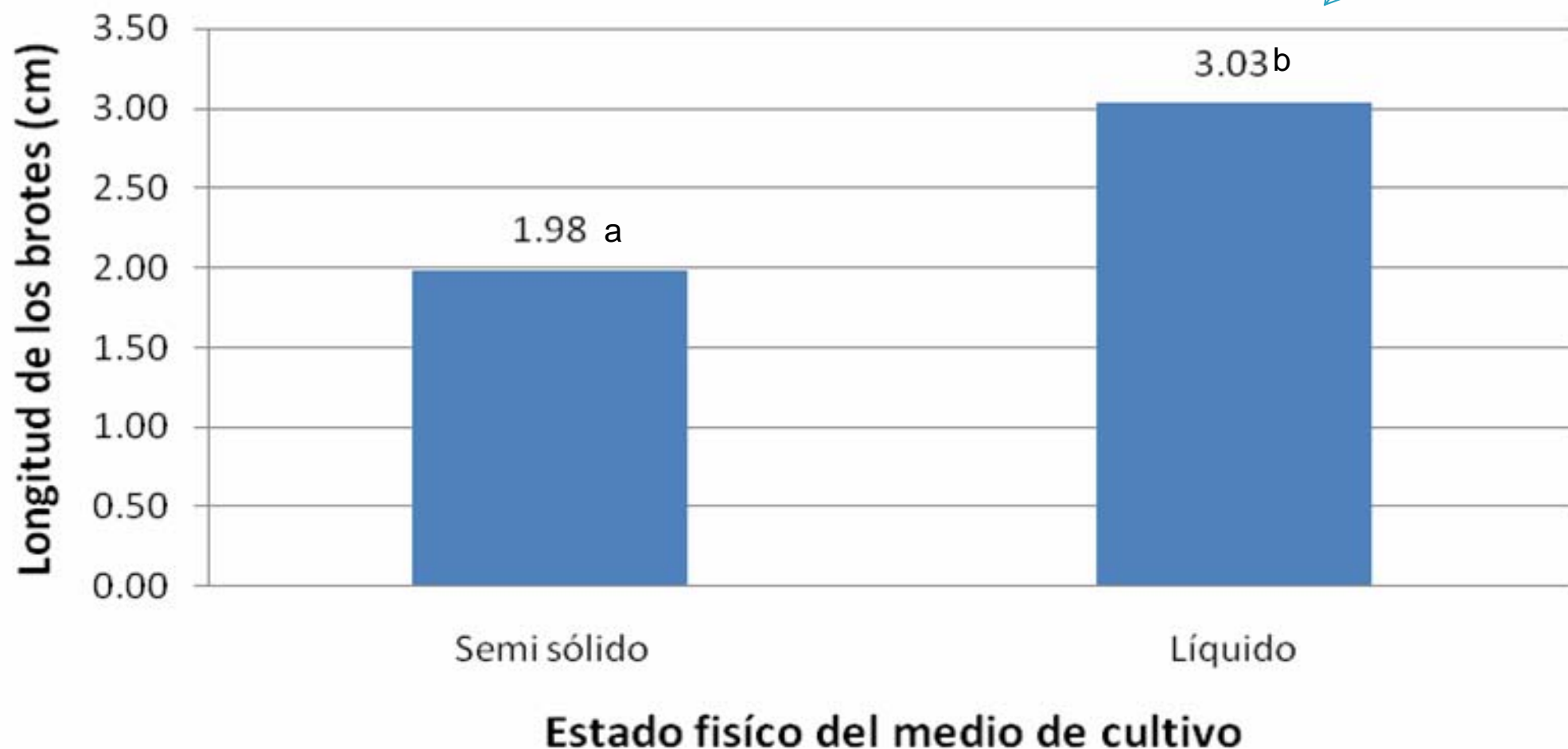


Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Interacción altamente significativa entre el estado físico del medio de cultivo y las horas luz

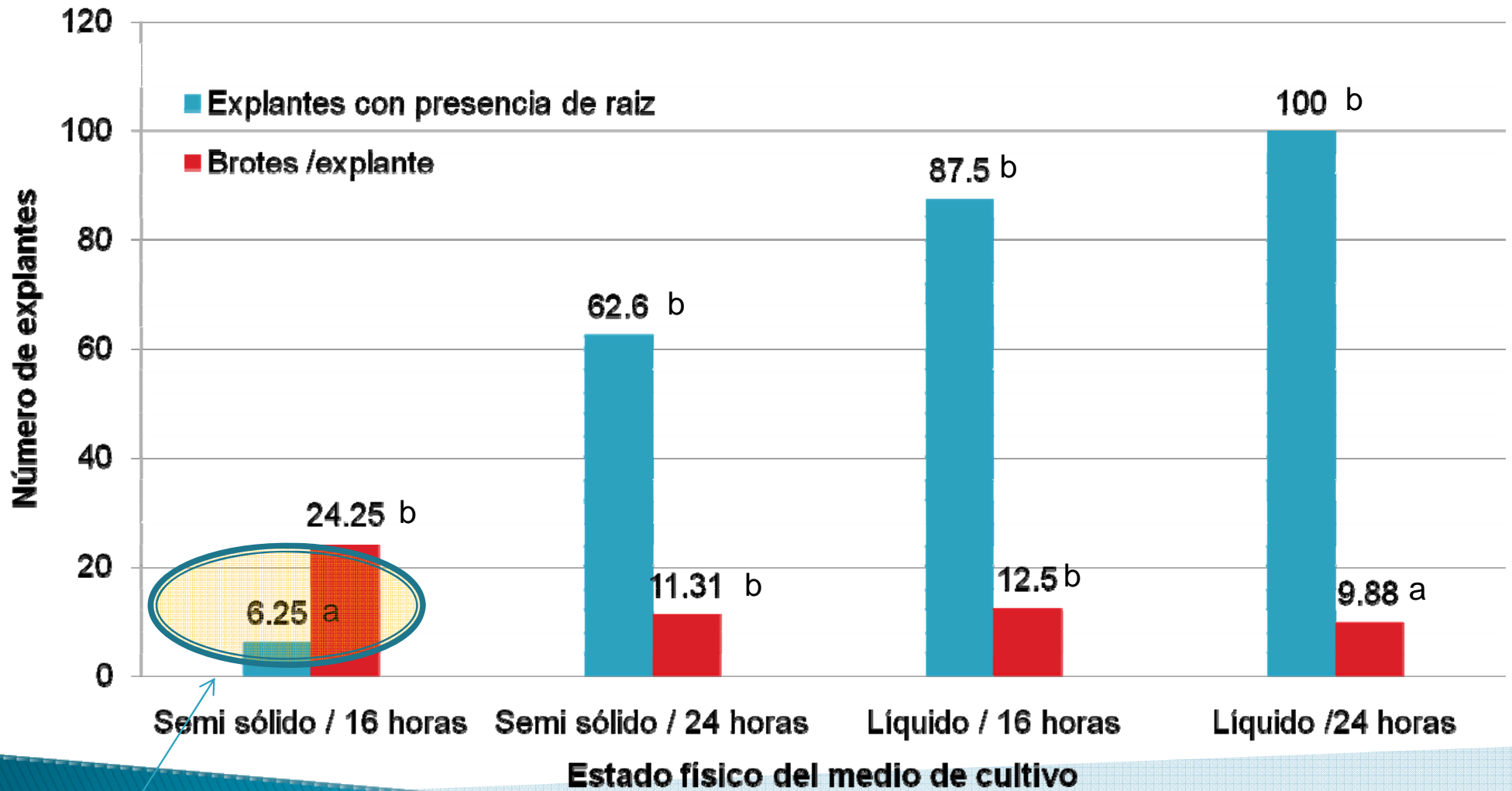
3.2. Fase de Multiplicación (2)

53% mayor



*Solo se encontró diferencia significativa para el estado físico del medio de cultivo sobre la **longitud de los brotes***

Presencia de raíz

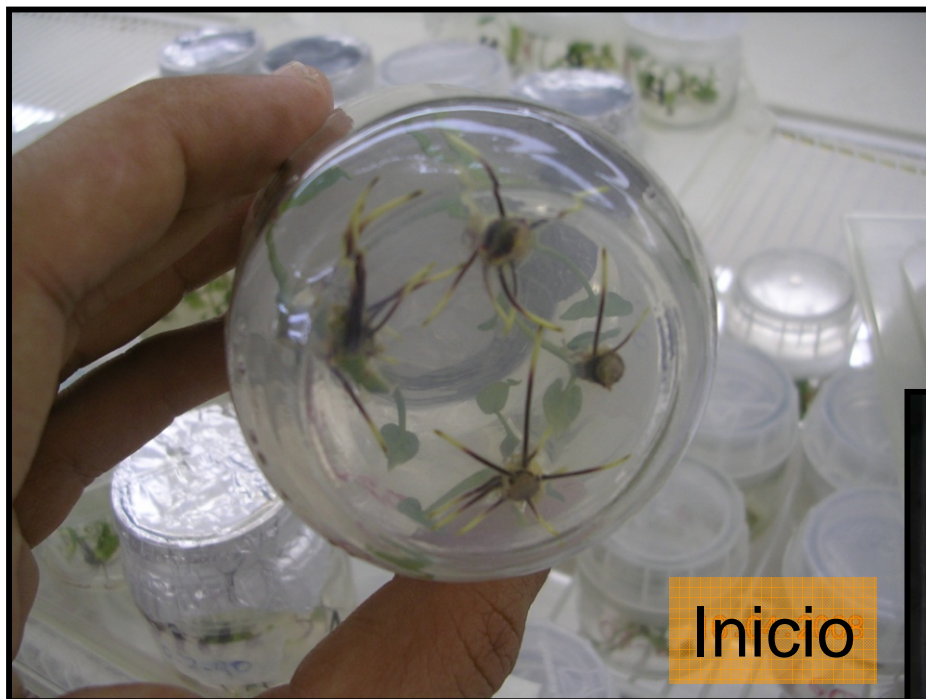


Menor formación de raíces

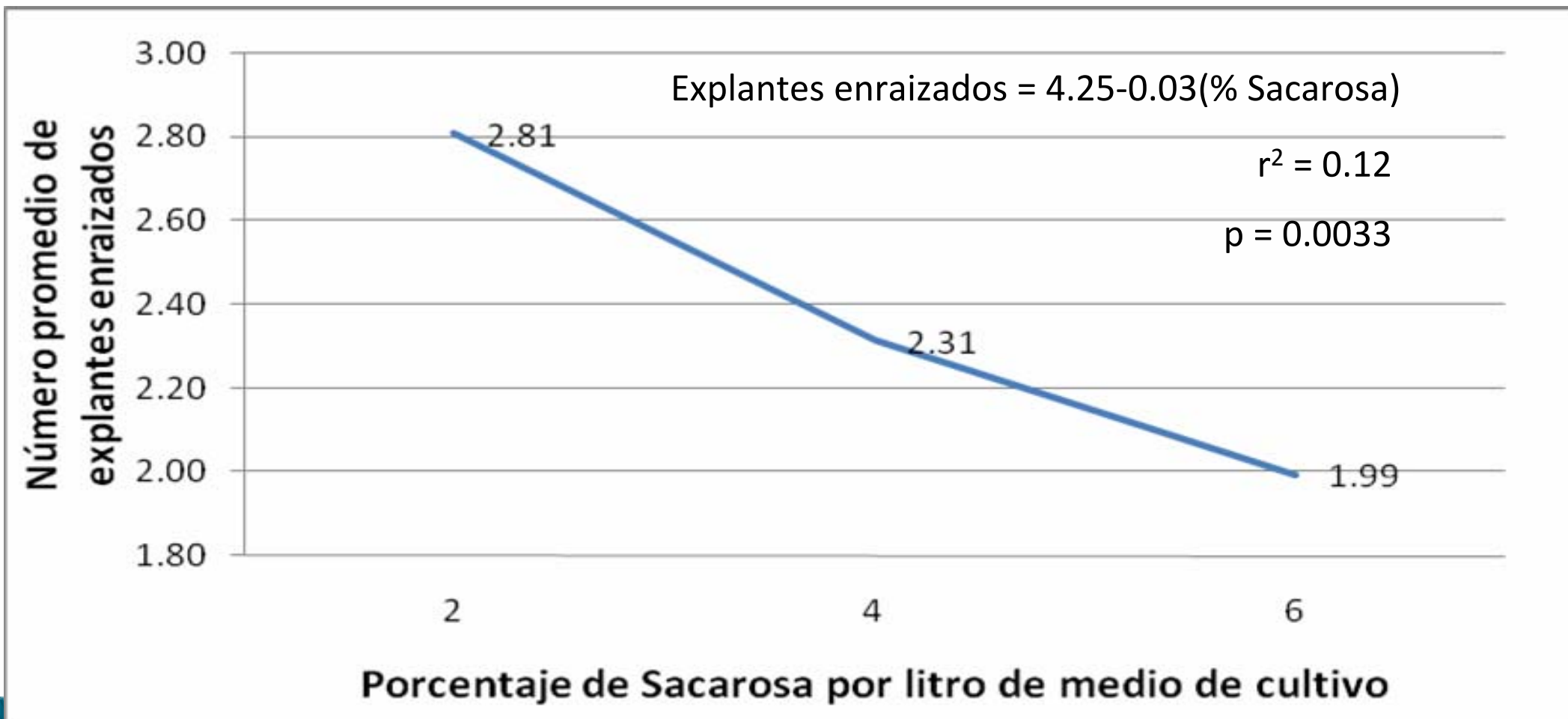
> Cantidad de brotes < raíces

Utilidad en el ultimo subcultivo

3.3. Fase de Enraizamiento



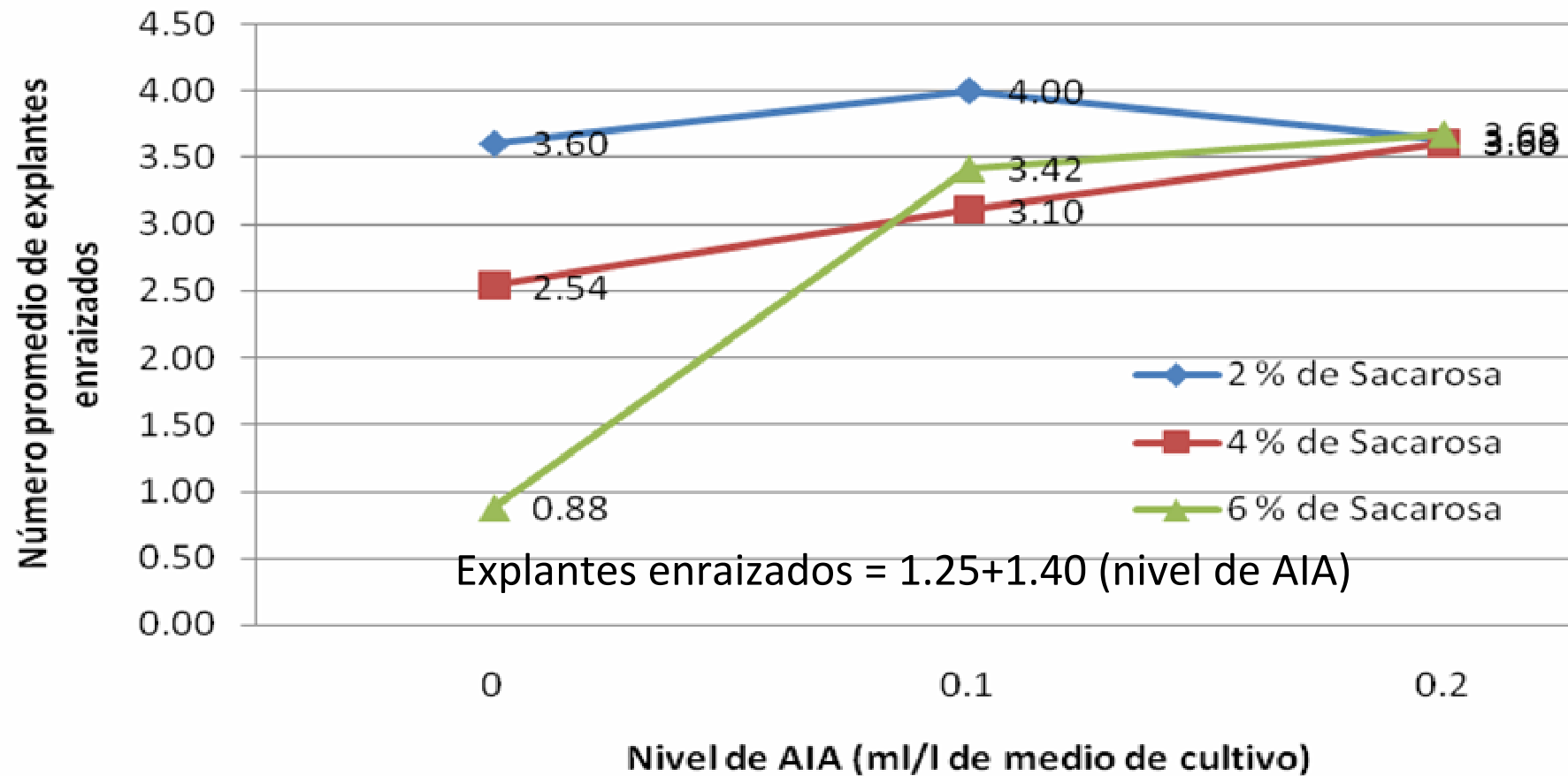
Explantos enraizados (Interacción Medio x Sacarosa)



Efecto significativo sacarosa

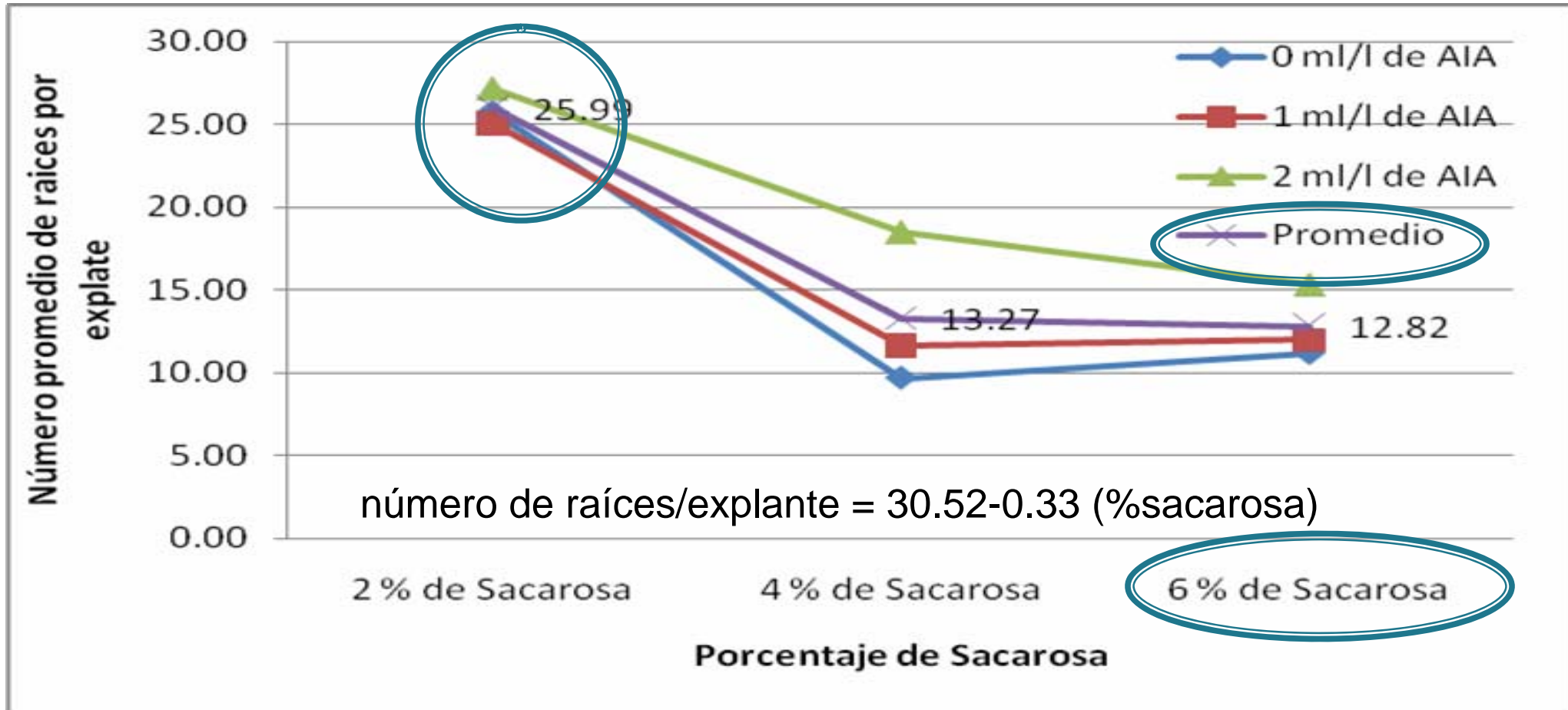
Se observó una relación negativa en la cantidad de explantes enraizados a medida que se aumenta el nivel de sacarosa

Explantos enraizados (Interacción AIA x Sacarosa)



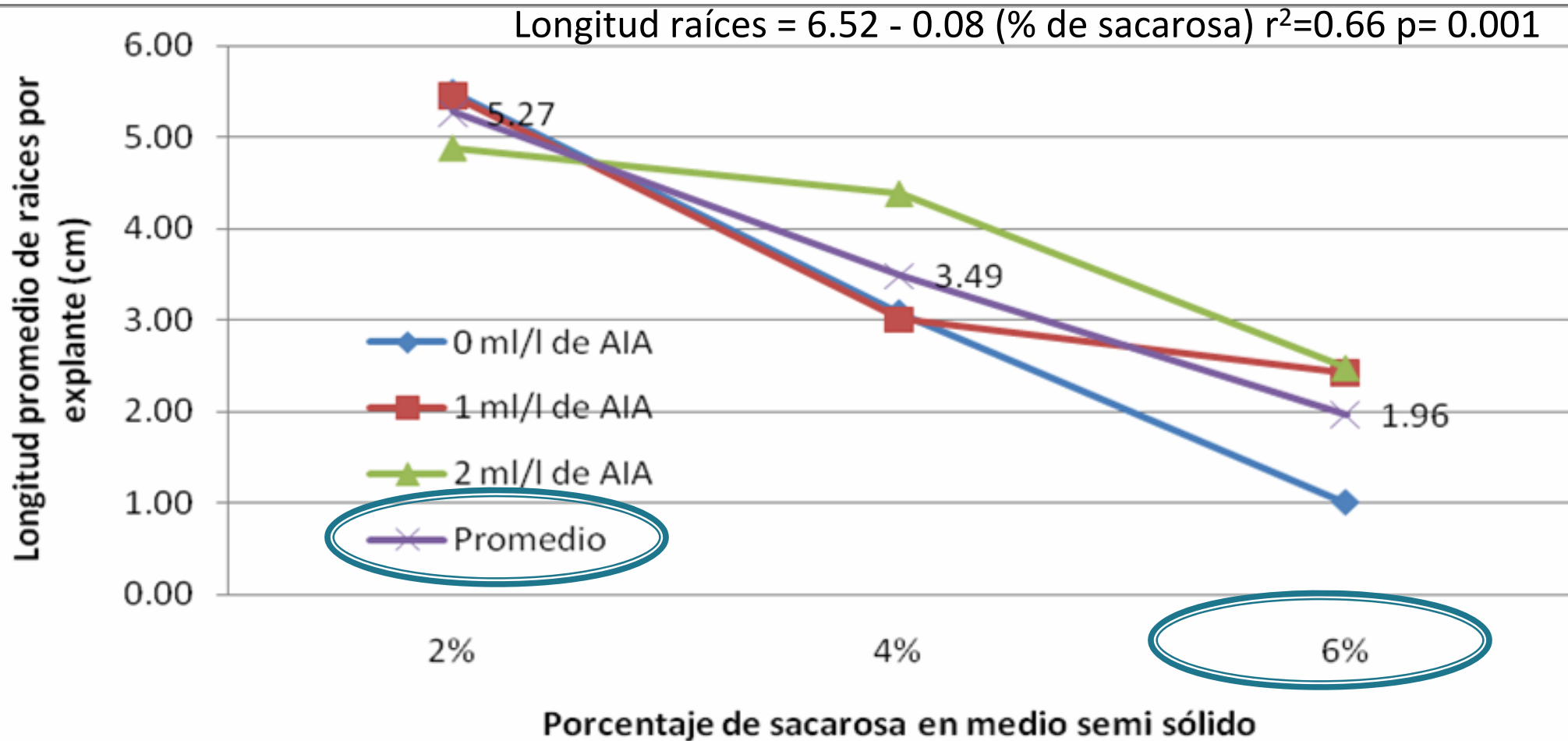
La menor cantidad promedio de explantes enraizados se observó cuando se utiliza 0 ml/l de AIA y 6% de sacarosa ($p=0.05$)

Número de raíces



Sólo el efecto de la sacarosa es estadísticamente significativo $r^2 = 0.39$ y $p = 0.001$.

Longitud de raíces



La longitud promedio de la raíces se reduce de 5.27 a 1.96 por explante al pasar de 2% de sacarosa a un medio de cultivo con 6%.

3.4. Fase de Adaptación

3.4.1. Evaluación de adaptación de vitro plantas:



3.4.1. Evaluación de adaptación de Vitro plantas:

Medio de Cultivo	AIA	% Sacarosa	% de sobrevivencia		
Liquido	0	4	14.29	A	
Semi sólido	0	6	14.29	A	
Liquido	0.1	4	14.29	A	
Liquido	0.2	4	89.29		B
Semi sólido	0.2	2	92.86		B
Semi sólido	0.1	6	96.43		B
Liquido	0	6	100.00		B
Liquido	0.2	2	100.00		B
Liquido	0.1	6	100.00		B
Liquido	0.1	2	100.00		B
Semi sólido	0	2	100.00		B
Semi sólido	0	4	100.00		B
Semi sólido	0.1	4	100.00		B
Liquido	0	2	100.00		B
Semi sólido	0.2	4	100.00		B
Liquido	0.2	6	100.00		B
Semi sólido	0.2	6	100.00		B
Semi sólido	0.1	2	100.00		B

Mejores parámetros en enraizamiento



Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

3.5. Seleccionar y multiplicar individuos tolerantes de plantas libres en el campo.

Limitantes : no existen plantaciones comerciales



Plantación abandonada

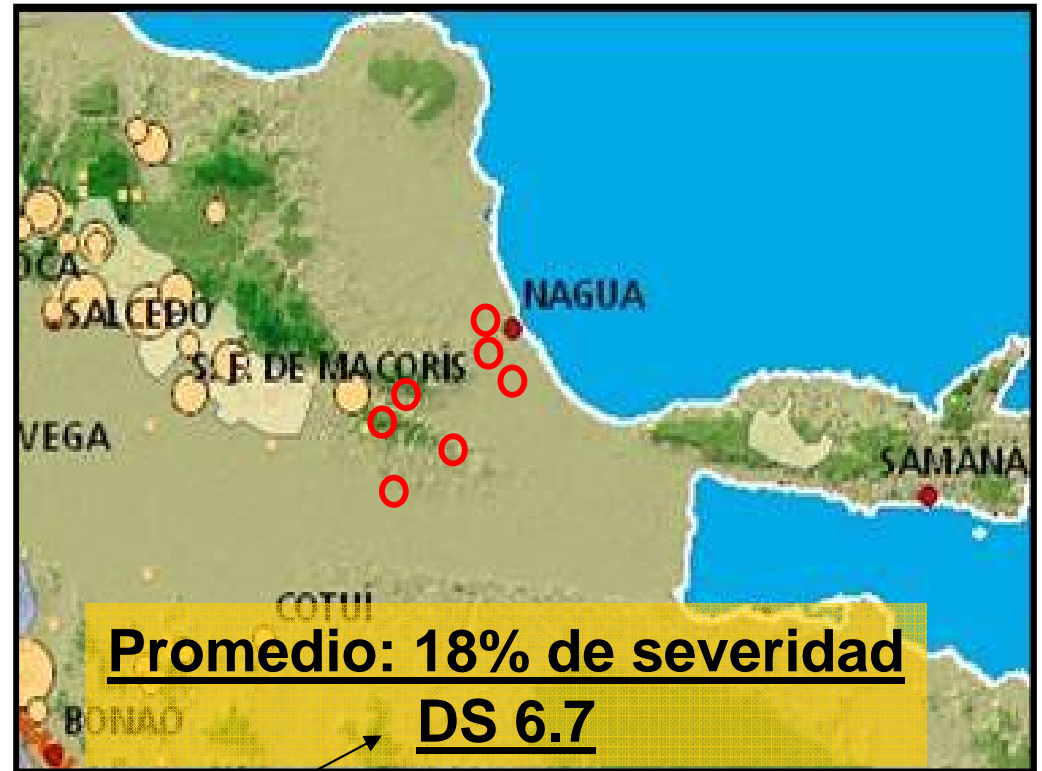
3.5. Seleccionar y multiplicar individuos tolerantes de plantas libres en el campo.

Plantas seleccionadas: (visitas zonas de Nagua, San Francisco y Salcedo)

- 2 Rafael Polanco en Sabaneta,
 - 1 en el Gajo de Nagua,
 - 5 en Arrollo al Medio Arriba Nagua
 - 1 en el kilómetro 3, Osiris Calvo.
- 9

Promedio: 45% de incidencia
DS 22.5

Promedio: 18% de severidad
DS 6.7



Del total de plantas observadas en las zonas el 100% tuvo en promedio una incidencia y severidad de ataque de la enfermedad superior a las establecidas

4. Conclusiones

- ▶ A mayor tamaño del material de siembra o adición de Tween-80 a la solución de desinfección se obtienen mayor cantidad de explantes establecidos y libres de bacterias.
- ▶ El medio de cultivo líquido y la exposición de los explantes a 16 horas luz es la combinación más adecuada en la fase de multiplicación, al tener alto índice de multiplicación, no requerir de agar y sólo 16 horas luz.

4. Conclusiones (2)

- ▶ La fase de enraizamiento, aumentar el nivel de sacarosa de 2 a 6% afecta negativamente la cantidad de explantes enraizados y la cantidad y longitud de las raíces. El medio de cultivo más adecuado es cuando se utiliza 2% de sacarosa independientemente del estado físico del medio o nivel de AIA.

4. Conclusiones (3)

- ▶ No se observó establecimiento de la enfermedad (tizón foliar) en los explantes cultivados in vitro.
- ▶ Las 9 plantas tolerantes en el campo y seleccionadas no mantuvieron los niveles de tolerancia.



Agradecimientos;
DIOS

***IDIAF, SEA, CEDAF, Universidad ISA, SEECyT,
Mi familia***

Dr. Perez Ponce y Dr. Genaro Reynoso

***Héctor Jiménez, Carlos Céspedes, Elpidio Avilés, Isidro Almonte,
José Esteban, Jorge del Villar, Esclaudis Perez,
Generis Vicente, María Cruz, Luis
Muchas Gracias***



***Gracias por
su atención***