

PRODUCCIÓN DE PLÁNTULAS DE YUCA BAJO LA TÉCNICA DE SISTEMA AUTOTRÓFICO HIDROPÓNICO (SAH)¹

Yannery Gómez-Bonilla²- Jeannette Avilés Ch.² - Hazel Mena², Gaudy Ortíz²

RESUMEN

Producción de plántulas de yuca bajo la técnica de Sistema Autotrófico Hidropónico (SAG). La semilla es factor fundamental para garantizar la calidad y la productividad de un cultivo, así la obtención de semilla de calidad está directamente relacionada con una mayor producción. Con la multiplicación de plantas *in vitro* en la fase de endurecimiento se tenían pérdidas de 95-99 % de las plántulas. Este trabajo consistió en utilizar la técnica de Sistema Autotrófico Hidropónico (SAH) aplicarla en yuca para lograr una mayor sobrevivencia de las plantas. El ensayo fue realizado en la Estación Experimental Los Diamantes en tres años, donde se evaluaron en laboratorio, invernadero, vivero y campo la sobrevivencia y producción de plantas de yuca. En ese periodo se ajustó los tiempos de cada una de las fases y se determinaron los rendimientos. Los resultados obtenidos en el presente proyecto fueron los siguientes: 1) Se logró con la técnica que el 98% de las plántulas sobreviviera en la fase de endurecimiento. 2) Las plántulas adoptando esta técnica tendrán (los cuidados de riego, fertilización y aplicación de plaguicidas para el combate de plagas y enfermedades que se pudieran dar en el lugar 3) Las plantas *in vitro* y en multiplicación por SAH en campo en comparación con la estaca normal (40 cm), tiene un excelente desarrollo y su rendimiento es superior, 4) Se comprobó en el campo que las mini estacas de 2-3 nudos tienen un buen rendimiento y desarrollo, comparable con la estaca normal, 5) Se validó y dio seguimiento en el campo la segunda siembra de la semilla producida *in vitro*, con excelente rendimiento y producción de raíces, lográndose un 98% de plantas adaptadas en campo.

Palabras clave: *In vitro* yuca, micropropagación, macropropagación, sistema hidróponico.

Keywords: *In vitro* cassava, micropropagation, macropropagation, system hydroponic

1 Fittacori e Instituto Nacional de innovación y transferencia de tecnología.

2 Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnologías Agropecuaria, INTA. yangomez27@yahoo.com, ORCID: 0000-0002-4229-7434, j.aviles05@gmail.com, hmena@inta.go.cr, gortiz@inta.go.cr, San José, Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

La yuca es un cultivo de gran importancia para el pequeño y mediano productor de trópico húmedo costarricense. Las principales zonas productoras de este cultivo son la Región Huetar Norte, (San Carlos, Los Chiles y Upala) y la Región Huetar Caribe (Pococí y Guácimo). El área sembrada de yuca pasó de 3.092 a 9.000 ha en un lapso de 17 años (1990 a 2007), alcanzando su máximo pico en el año 2005, con 15.000 ha (INEC, 2015).

Para que una semilla realmente tenga impacto en la agricultura, es necesario que, además de ser de alta calidad y de una variedad mejorada, sea usada extensamente por los agricultores, de esta manera aumentará la producción, ayudará a un uso más eficiente de insumos debido a una mayor uniformidad de emergencia y vigor de plantas, y más si se trata de un cultivo como la yuca que se multiplica en forma vegetativa a través de estacas-semilla. Si bien es cierto esta forma de multiplicación es una ventaja ya que permite mantener las características propias de la variedad por generaciones, tiene la desventaja que es una fuente eficaz para la diseminación de plagas y enfermedades que afectan grandemente al cultivo de yuca (Velásquez Carrera, 2018).

Con el desarrollo de sistemas de propagación clonal en los laboratorios, como es la técnica de propagación *in vitro*, se puede eliminar la planta algunas de enfermedades (sobre todo bacterias y virus) mediante diversas técnicas como termoterapia y poner a disposición de los agricultores material de siembra limpio sano y certificado con la seguridad de que: (1) las plantas estarán libres de enfermedades, (2) corresponde al clon o la variedad que se necesita, (3) se evitan confusiones o mezclas entre variedades y (4) en la cosecha se obtendrá una mejor producción. Actualmente se cuenta con la micropropagación por medio de la producción *in vitro* de plántulas de yuca, sin embargo, esta metodología necesita equipo especial, los medios de cultivo están expuestos a contaminación por lo que se debe seguir una rigurosa esterilización y la climatización de las plántulas a condiciones fuera del laboratorio es difícil (FAO 2007).

Roosevelt *et al.* (2012) destaca que “la técnica del cultivo de tejidos consiste en tomar de una parte de una planta (tallos, ramas, hojas, raíces, etc.) porciones de tejido u órganos (diferenciados o no), los cuales se colocan en un medio nutritivo especial, bajo condiciones controladas de luz y temperatura para que continúen su desarrollo, tal y como lo hacía en la planta “madre”. Para lograr este crecimiento y desarrollo se debe eliminar la microflora contaminante externa (hongos y bacterias entre otras), mediante un proceso conocido como des-infestación, para evitar que sigan creciendo en el medio de cultivo; si no se controlan estos contaminantes podrían matar el tejido vegetal usado para iniciar el proceso. Por este motivo, es necesario siempre mantener los cultivos de tejidos libres de contaminantes, o sea, en forma aséptica”. Sin embargo, los laboratorios tienen grandes problemas en la fase de endurecimiento de la plántula de yuca ya que se pueden tener pérdidas de 95-98%.

Otra técnica de propagación es Sistema Autotrófico Hidropónico (SAH), desarrollado por el (INTA de Argentina y SAH Tecno) que se utiliza en el cultivo de papa, como parte de su proceso de multiplicación acelerada de plántulas para la producción de semilla élite. Con esta técnica no se requiere de equipo especial para la producción de las plántulas, y se da una reducción de pérdidas por contaminaciones, además este tipo de reproducción produce plántulas más rústicas ya que desde que están en crecimiento ya están fotosintetizando, por lo cual se espera una disminución de pérdida al trasplante, esta técnica produce un incremento exponencial, mayor cantidad de plántulas en menor tiempo. Estas plántulas serán de mayor tamaño, mejor funcionamiento fisiológico y crecimiento uniforme (Riatio *et al.* 2018). El Sistema Autotrófico Hidropónico (SAH), consiste en reproducir las plantas *in vitro*, mediante la corta de esquejes, los cuales se colocan en un sustrato libre de patógenos, en cajas con una solución nutritiva hidropónica. Esta técnica tiene la ventaja de que las plantitas están fotosintetizando desde un inicio y la planta se mantiene en el mismo sustrato.

Siendo el medio de reproducción de yuca, la estaca-semilla, un factor fundamental para garantizar la calidad y la productividad de un cultivo, la siembra de estacas de mala calidad puede perjudicar una siembra, aun cuando las demás condiciones sean favorables al cultivo. Así, la obtención de estaca-semilla de calidad está directamente relacionada con una mejor producción y esta

técnica nos puede garantizar una micro propagación masiva del cultivo de yuca.

Objetivo general

evaluar técnica del SAH para la fase de endurecimiento en plantas *in vitro* de yuca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Comparar la producción y multiplicación de plántulas de yuca por medio de la técnica SAH e *in vitro* en la fase de endurecimiento en el laboratorio

Este trabajo de investigación fue desarrollado en la Estación Experimental los Diamantes, contando con la ayuda y colaboración de todo el equipo de trabajo del Laboratorio de Cultivo de Tejidos y el Coordinador de la Estación.

Se tomaron plantas de cultivo *in vitro* de los frascos (con al menos una buena hoja y vigorosas como para la corta del esqueje) y se colocaron sobre la toalla húmeda (esterilizada). Se realizó el corte de las plántulas con bisturí para obtener los esquejes apicales, medios y basales (se recomienda con dos nudos). Estos últimos incluyen parte de las raíces que deben de estar libres de agar. Se plantaron 20 esquejes por caja plástica de 40x20x10 cm, con sustrato de turba, se regó con una solución nutritiva hidropónica y se dejó reposar hasta que se absorbió. Posteriormente se realizó un pequeño hoyo en el sustrato con la punta de un lápiz, se tomó el esqueje con la pinza y se planta aplicando una leve presión. Las cajas permanecieron cerradas durante tres semanas y se mantuvieron a 24 °C con 16 horas de luz y 8 de oscuridad.

Luego, las cajas se sacaron del laboratorio y se llevaron al invernadero, con ayuda de una cuchara, se extrajeron las plántulas de la caja y se colocaron en bolsas de plástico de dos kg llenas con 2:1 arena-tierra, fueron previamente coladas, esterilizadas y mezcladas. A estas plantas se les nombró como plantas (madre), cada planta fue tapada con un vaso plástico transparente, para

ayudar a mantener la humedad relativa. Este vaso se dejó por 7-8 días, luego se retiró y se dejó la planta en el invernadero por 3-4 semanas. Se evaluó el número de plantas sobrevivientes.

Las plántulas de yuca, después de retirar el vaso, se dejaron en el invernadero de 4-5 semanas, hasta que ellas estén bien ancladas y endurecidas. Se hizo la primera aplicación de dos gramos de fertilizante 10-30-10 y riego día por medio o según las condiciones ambientales.

Al cabo de este tiempo, las plantas fueron pasadas al vivero, las que se observaron muy pequeñas o faltas de desarrollo, se dejaron en el invernadero un par de semanas más y luego se pasaron al vivero. Las plantas en el vivero a los 6-8 semanas, crecieron aproximadamente un metro. En este tiempo se les aplicó fertilizante foliar y fungicidas e insecticidas por los posibles ataques de plagas y enfermedades. Las plantas fueron cortadas con tijera de podar sobre la base a dos nudos. Las plantas se llevaron al invernadero, donde se les quitaron las hojas y se cortó estacas de 3-4 nudos, se introducen en una solución enraizadora por dos minutos y luego se sembraron en bolsas de un kg de mezcla de 2:1 de tierra y arena, descrito anteriormente. A todas las plantas cortadas (plantas hijas) se les hizo aplicación de fungicidas para curar la herida hecha. Estas plantas se dejaron en el invernadero por 3-4 semanas, para luego ser llevadas al vivero para su desarrollo.

Las plantas del vivero se les hizo cortes en el tiempo, según necesidad de plantas a multiplicar, se continuó con aplicaciones de abono foliar, fungicidas e insecticidas, hasta ser llevadas a campo. Las plantas hijas crecidas en el vivero, también se les hizo uno o más cortes para sacar otras plantas hijas, les tomó unas 4 semanas desarrollarse para ser llevadas a campo.

Las plantas hijas después de al menos 4 semanas de estar en el invernadero se llevaron nuevamente al vivero. Las plantas en el vivero,

no se dejaron crecer mucho tiempo, porque se vuelcan. Al volcarse de los entrenudos salen nuevos brotes, que son muy débiles, además del peligro de que se llenan de diferentes enfermedades. Todas las plantas que fueron cortadas se le aplicó fungicida a la herida para evitar la entrada de enfermedades. Las plantas del vivero que son llevadas a campo, lo ideal es que tengan un tamaño de 20-30 cm, ya que por el transporte se maltratan mucho y se corre el riesgo de que la planta se quiebre y se quiebren las hojas.

Comparar rendimientos con las diferentes técnicas de multiplicación de plantas de yuca en campo

Se realizó un ensayo de campo, para la comparación del desarrollo y el rendimiento de diferentes técnicas de multiplicación de plantas de yuca.

Este ensayo fue sembrado en un diseño de bloques completos al azar, para comparar los rendimientos de las diferentes técnicas de multiplicación de las plantas y su desarrollo. Los tratamientos evaluados fueron:

1. Micro propagación *in vitro* (primera siembra =S1).
2. Micro propagación con la técnica SAH (primera siembra =S1).
3. Macro propagación por mini estacas (estacas 2-3 nudos). Estacas de la estación (octava siembra =S8).
4. Macro propagación por mini estacas (estacas 2-3 nudos). Estacas Agricultor de Cariari (sin conocimiento del número de siembras).
5. Testigo relativo: Macro propagación por medio de estacas de 30-40 cm (5-9 nudos) S8.

Las variables que se evaluaron fueron:

- A. Número de plantas que sobreviven
- B. Medición cada mes de grosor y altura (5 plantas por repetición).
- C. Rendimiento:
 1. Número de raíces
 2. Peso de raíces por planta

Diseño experimental

Bloques completos al azar. Cinco tratamientos y cuatro repeticiones, en cada repetición se sembró un total de 20 plantas. Las plantas fueron sembradas en lomillo a 0.5 cm y entre surcos a 1 m.

Para la siembra de los tratamientos 1 al 2, se hizo hueco en el surco, se quitó la bolsa y se sembraron con todo y la tierra que trae, se presionó un poco para buen anclaje de la planta al suelo. En el caso de la mini estaca, éstas fueron cortadas 15 días antes de la siembra, cada dos nudos y fueron sembradas en bolsas con la tierra preparada de manera vertical, se dejaron en el invernadero para su desarrollo. La siembra en el campo fue igual a los tratamientos 1 y 2.

En el caso del tratamiento 5 la siembra de estacas (testigo) se sembró en un ángulo de 45° directamente en el suelo en el campo, presionando también la tierra en la estaca.

La unidad experimental fue una planta, para un total de 3 plantas por parcela. El manejo agronómico fue llevado por el equipo de Raíces y Tubérculos según se acostumbra en la Estación Experimental los Diamantes.

Análisis de datos

1. Análisis de varianza con prueba de medias según Duncan
2. Porcentaje de sobrevivencia de las plantas en campo.

Validar rendimiento de plantas de yuca en campo en el tiempo

Para esta validación, se tomó la semilla de la primera siembra (S1) de las plantas del ensayo de comparación de técnicas. Aquí se midió en el tiempo la degradación de la semilla *in vitro* y por reproducción de la técnica SAH.

Se sembraron hileras de al menos 100 estacas de semilla producida del punto 4), se sembró para el periodo 2019-2020.

Los tratamientos fueron sembrados por estacas en un ángulo de 45°, presionando también la tierra en la estaca,

Se evaluaron los siguientes tratamientos:

1. Micro propagación *in vitro* (2S= segunda siembra)
2. Micro propagación con la técnica SAH (2S)

3. Macro propagación por mini estacas (estacas 2-3 nudos). Estacas de la estación (S9)
4. Testigo relativo: Macro propagación por medio de estacas de 30-40 cm (5-9 nudos) (S9).
5. Micro propagación con la técnica SAH2, plantas más tiempo en vivero (S1)

Variables:

- A. Número de raíces
- B. Rendimiento

El ensayo fue sembrado en agosto del 2019 y cosechado en setiembre 2020. Las semillas de este ensayo fueron sembradas y se continuó con la medición del rendimiento.

Diseño experimental

Este ensayo fue sembrado en Las Guineas, que es una sección del campo experimental de la EELD. La siembra fue de dos surcos continuos con 50 plantas, para cada uno de los tratamientos. Las plantas fueron sembradas a 0.5 cm entre plantas y a un metro entre surcos. Alrededor se siembra yuca amarga, por problemas de robo como cortina de protección.

Análisis de datos

1. Estadística descriptiva, promedios, totales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comparar la producción y multiplicación de plántulas de yuca por medio de la técnica SAH (desarrollado por el INTA de Argentina y SAH TEC) e *in vitro* en la fase de endurecimiento en el laboratorio

Con esta técnica se pretende sustituir la fase de endurecimiento (una fase de desarrollo del cultivo de yuca de plántulas *in vitro*), donde se tiene una pérdida de plántulas de > al 95%. De ahí se ajustó la estancia de las plantas en cada una de las fases. Las cajas ya con turba, se concertó haciendo 20 hoyos para la siembra de

los esquejes. Los esquejes dentro de la caja SAH deben permanecer de 3-4 semanas, estuvieron todo el tiempo cerradas, ya que al abrirse corren el riesgo de contaminación, luego fueron trasladadas por la tarde al invernadero, a la mañana siguiente se hizo el trasplante (figura 1). En esta fase se logró un 98% de sobrevivencia de las plántulas.



Figura 1. Plántulas desarrolladas después de 3-4 semanas en cuarto de crecimiento

La plántula de yuca con una cuchara fue tomada con toda la raíz y resto de la tierra y se sembró individualmente en bolsa de al menos 2 kg de mezcla de tierra y arena, presionando la planta en la tierra (figura 2 y 3), esto permitió que en las siembras posteriores con la técnica SAH, se obtuvieron un 98% de sobrevivencia de plantas lo que demostró el gran éxito de la técnica.



Figura 2. Trasplante de plántulas de la caja SAH a bolsas previamente llenas de tierra y arena, presionar bien la planta con el substrato, y luego colocar encima un vaso transparente con un pequeño agujero en el fondo. Este vaso debe permanecer al menos 8-10 días desde el trasplante.



Figura 3. Trasplante y siembra en bolsas, todas tapadas con el vaso plástico para mantener el microclima de la planta en el invernadero.

Aunque hay informes disponibles sobre la aclimatación de las plantas *in vitro* de la yuca desarrollado en el mundo, los protocolos son difíciles y costosos de implementar en los países en desarrollo dado que la tecnología es intensiva en capital, trabajo y energía (Ahloowalia *et al.* 2004). Una de las problemáticas que se tiene con el cultivo de yuca, es la fase de endurecimiento, la planta de yuca es muy débil y delicada y de difícil anclaje en la tierra y la mayoría de las plantas son curvadas.

Con la técnica de SAH utilizado solo en papa, se adaptó al cultivo de yuca, lo cual produjo resultados excelentes.

El invernadero en las primeras dos semanas se mantuvo puesta la malla negra en la parte superior y las plántulas permanecieron al menos 4-5 semanas y posteriormente fueron pasadas al vivero para su fortalecimiento (figura 4).



Figura 4. A. Plantas madre con vaso transparente para mantener microclima y para su fortalecimiento. B. Plantas madres después de quitar el vaso.

En el invernadero también se mantuvo otro grupo de plantas, las plantas “hijas”, que son las que vienen del vivero, una vez que las plantas madre se han desarrollado, con una altura de 60-80 cm y tiene mayor grosor el tallo. Estas plantas madre, fueron cortadas al 2-3 nudo sobre la base y se dejaron en el vivero. Las plantas cortadas, se le quitan todas las hojas y cortan en estacas de 3-4 nudos, con las yemas hacia arriba, se siembran en bolsas de almacigo de un kg con la mezcla de tierra y arena (figura 5). Estas plantas permanecieron en el invernadero de 3-4 semanas, se les aplicó 2 g de fertilizante y fungicidas a todas las plantas cortadas, además del riego diario o según condiciones ambientales.



Figura 5. Estacas de las plantas madre, después de haber permanecido en el vivero al menos cuatro semanas.

El potencial de micropropagación de la yuca es grande, especialmente en casos de multiplicación de materiales libres de patógenos (Mabanza *et al.* 1994), gracias a esta técnica en el invernadero la fase de endurecimiento, el porcentaje de pérdida de plantas fue menor. Pedroso *et al.*, (2000), indica que el sistema de eficiencia de la aclimatación son los factores importantes para la calificación de un sistema de micropropagación. En esta fase las plántulas fueron trasplantadas y colocado el vaso transparente encima que cubra toda la planta, se dejó durante 8-10 días, para mantener el microclima (figura 5). En esta fase de aclimatación con la técnica SAH los investigadores que han trabajado con este sistema en el cultivo de papa, hacen las comparaciones del número y tamaño de tubérculos (Andrade *et al* 2017; Hanhineva *et al* 2005; Rigato *et al* 2001), en nuestro caso como fue la primera experiencia en el cultivo de yuca no se tiene comparador con esta técnica. Sin embargo, esta fase de endurecimiento en otros laboratorios como en el trabajo de Sessou *et al.* (2020) que lograron un 98% de sobrevivencia, el caso de

(Pedroso *et al.*, 2000), no reportan tener problemas en la fase de endurecimiento y logran una sobrevivencia del 92% de aclimatación de las plantas, pero menciona (Tumwegamire *et al.*, 2018) que es muy factible tener una alta probabilidad de muerte prematura durante la aclimatación.

En este tiempo la planta se fue aclimatando a las condiciones de campo y desarrollando y en 5-6 semanas puede tener una altura de 60-80 cm o más (figura 6), donde se realizó el primer corte para multiplicación de la planta de yuca. Aquí las plantas en el mismo vivero fueron cortadas sobre la base de la planta al 2-3 nudo (figura 7), la planta madre se dejó en el mismo lugar y las plantas cortadas fueron llevadas al invernadero para el corte de estacas (3-4 nudos) para obtener nuevas plantas hijas.

La primer entrega de plantas a la EELD para lote semilla, fue de 4500 plantas, donde se tuvo una pérdida de un 20% en campo.



Figura 6. Plantas en vivero, listas para ser cortadas y multiplicar.



Figura 7. Corte de plantas hijas con 3-4 nudos (A), se dejan en el invernadero (3-4 semanas)

Comparar rendimientos con las diferentes técnicas de multiplicación de plantas de yuca en campo

La sobrevivencia de las plantas del primer ensayo de comparación de técnicas de multiplicación del cultivo de yuca, se observa en el Cuadro 1, el número de plantas sobreviviente al mes 9, de las plantas de *in vitro* quedaron solo 66% plantas vivas y de técnica SAH de 47%, en comparación con las estacas normales de siembra que sobrevivió 81% plantas. Ospina *et al.* (2007) indica que la mayoría de las pérdidas de plantas *in vitro* ocurren durante trasplante, es decir, cuando las plántulas se mueven de una prueba tubo a una bolsa de plástico llena de tierra y luego transferida al campo. Este trasplante directo es muy sensible para la yuca. Si la transferencia no se realiza con especial cuidado, el porcentaje la pérdida será muy alta (del 50 al 95%), también se informó que el trasplante de choque en el suelo se debe principalmente al escaso vigor de las plántulas (Cuesta *et al.* 2010) y el crecimiento de raíces (Ospina *et al.* 2007), especialmente cuando las plantas proceden de origen *in vitro*. En el estudio de (Acedo y Corazon 2008), ellos mencionan que tuvieron problemas con las plantas que traían *in vitro* en campo de los clones que estaban evaluando e indican que es necesario establecer el protocolo óptimo para la micropropagación de la mayoría de los genotipos que evaluaron,

Cuadro 1. No. De plantas sobrevivientes de las diferentes técnicas de propagación del cultivo de yuca.

	Tratamientos	Medidas
1	Invitro	65,78
2	SAH	46,68
3	Miniestacas (Estación)	68,3
4	Miniestacas (Cariari)	82,7
5	Estaca 30-40	80,75

En la segunda multiplicación de plántulas producidas por la técnica SAH, las plantas llevadas a campo para lotes de semilla, venían del vivero, en esa oportunidad se tenían en el vivero plantas madre (con dos cortes), plantas hijas que también se les había realizado un corte. Estas nuevas plantas hijas tuvieron seis semanas después del corte (como mínimo), antes de ser llevadas a campo (figura 8). En esta oportunidad se sembraron 4500 plantas y sobrevivieron 92%, de las plantas que murieron algunas habían sido maltratadas por transporte. La tercera siembra de plantas (para los lotes semilla), en igual de condición que la segunda (plantas madre con dos cortes, plantas hijas con dos cortes), fueron llevados a campo julio (6750 plantas), el 98% han sobrevivido.



Figura 8. Siembra en campo del primer lote de semilla de plantas producidas y multiplicadas por la técnica SAH, cerca de los lotes de abaca. 2019

Medición cada mes de grosor y altura

En la (figura 9) se presenta el crecimiento de las plantas de yuca en el tiempo, en su desarrollo fenológico, se midió la altura (m), para determinar si se daban diferencias con el desarrollo con la estaca normal. Los resultados indican que si hay diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($F=13,79$, $p<0,0001$), (cuadro 2, Anexo), con la técnica SAH se dio un menor crecimiento según las medias de Duncan y la que tuvo más crecimiento fue con la mini estaca de Cariari.

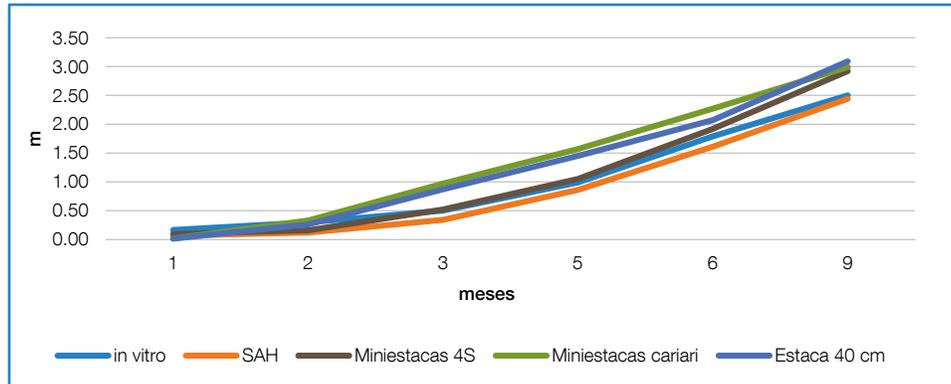


Figura 9. Comparación del crecimiento promedio de las plantas de yuca de su ciclo fenológico por la diferentes técnicas de propagación.

Con respecto al grosor del tallo de las plantas de yuca en su desarrollo fenológico se puede observar en la Figura 10. El análisis de varianza, también mostro diferencias altamente significativas ($F=18,65$, $p<0,0001$) (cuadro 3, Anexo), en este caso las plantas *in vitro* son menos gruesas que el resto y con la técnica SAH, alcanza el mismo grosor que la estaca normal. Lo cual podría representar una ventaja ya que la mayoría de los agricultores prefieren comprar la semilla de estaca normal.

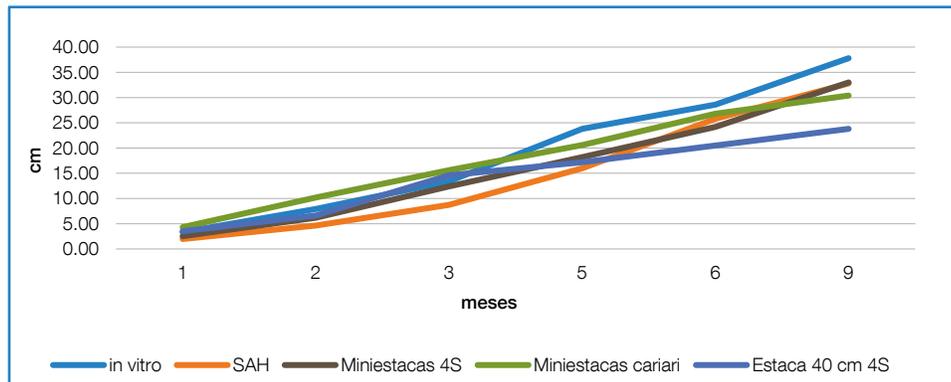


Figura 10. Comparación del promedio del grosor del tallo de yuca por diferentes técnicas de propagación a través de su ciclo fenológico.

Rendimiento

En el primer ensayo se comparó el número promedio de raíces y el peso promedio por planta con las diferentes técnicas de propagación (figura 11), en comparación con el testigo relativo (estaca normal de 40 cm). Los análisis de varianza (cuadro 4, Anexo) del peso de raíces por plantas, se dieron diferencias significativas ($F=2,84$, $p<0,0334$), las medias de Duncan indican que los tratamientos de *in vitro* y mini estacas de la estación tiene mayor producción que el resto de los tratamientos y tercer lugar con mayor rendimiento está la producción con SAH. En cuanto al número de raíces por planta (cuadro 5, Anexo) no se dan diferencias

significativas entre los tratamientos ($F= 0,84$, $p < 0,5043$). Normalmente se le indica a los agricultores que la primera producción con las plantas *in vitro* y ahora SAH, podría no tener un buen porcentaje en peso de raíces de primera calidad, porque es posible que las raíces por estar cierto tiempo entre el frasco y la bolsa, ellas se encuentren enrolladas, sin embargo, no se observó este problema en esta cosecha, la mayoría de las raíces estaban en óptimas condiciones (figura 12) y en todos los tratamientos se obtuvieron un promedio de cinco raíces por plantas, el máximo

de raíces que se encontraron en algunas plantas en todos los tratamientos fue de 10 raíces y las de menos producción fueron 3 raíces. Este ensayo fue cosechado a los 10 meses desde su siembra y posiblemente por ser plantas “nuevas tienen mucho vigor, así que se cosecharon raíces muy grandes de más de 3 kg, por lo que, para efectos comerciales, sería conveniente ir evaluando desde los 8 meses para tomar la decisión de cosechar antes y poder vender yuca de primera para para-finado de primera, que es lo mejor pagan a los agricultores.

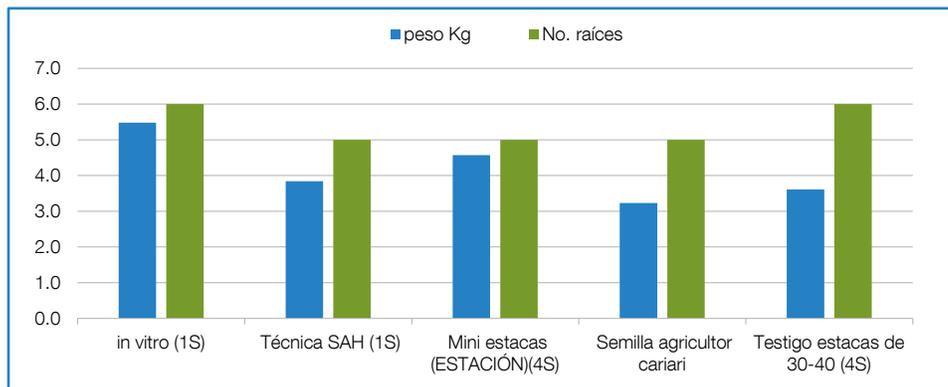


Figura 11. Comparación promedio de producción en peso y número de raíz.



Figura 12. Se observan plantas de yuca cosechada, con un buen número de raíces y grosor y sin pedúnculo.

Parcelas de validación de medición de rendimiento de plantas de yuca por diferentes técnicas de propagación

De la semilla obtenida del primer ensayo de comparación en el rendimiento de las diferentes técnicas de propagación, se dio seguimiento a un lote de validación con el fin evaluar el rendimiento de la semilla de yuca con las diferentes técnicas de propagación (figura 13) ya que es costumbre del agricultor, sembrar su semilla (n) cantidad de veces. Considerando que el INTA tiene lotes de semilla de yuca para la venta de estacas, es importante conocer los rendimientos en el tiempo de la semilla que se está produciendo.

Los resultados muestran que en número de raíces no hay diferencias significativas (Cuadro 6, Anexo), entre los tratamientos ($F=1,30$, $p<0,2734$). Con respecto al peso promedio de las raíces el análisis muestra que hay diferencias ($F=3,08$, $p<0,0185$) cuadro 7, Anexo), Duncan, marca que hubo más producción en el tratamiento *in vitro* S2 y SAH S2 y la de menor producción fue SAH2 S1, Se observa el peso promedio de plantas de cada tratamiento en dos años de evaluación, en el año 2020, la segunda siembra de *in vitro* y SAH es de mayor producción con respecto al testigo

relativo de la estaca de 40 cm. Con respecto a SAH2 S1, aquí la planta se llevó al campo ya más endurecida tenía 8 semanas de estar en el vivero. Se puede esperar que el rendimiento en los próximos años sea siempre mayor, pero conforme las plantas permanecen más en el campo, con el ataque de enfermedades tales como virus y bacterias y algunas plagas, es posible que este comportamiento haga que la producción vaya bajando, es por esa razón se le dará seguimiento a esta semilla, para ver su comportamiento de producción en el tiempo. También resultan muy interesantes los resultados de producción de las mini estacas, el rendimiento es muy bueno y con este método se puede aprovechar más la semilla que se tiene por el corte de 2 nudos por estaca, en el trabajo realizado por (Tumwegamire *et al.* 2017), ellos realizaron siembra de miniestacas y de múltiples brotes que salieron de las plantas de yuca e indican que la técnica ayudó a ahorrar tiempo y reducir los costos de adquisición y aclimatación y se aseguró de que hubiera suficientes esquejes de tallos y puede ser útil en la multiplicación de plantas endurecidos.

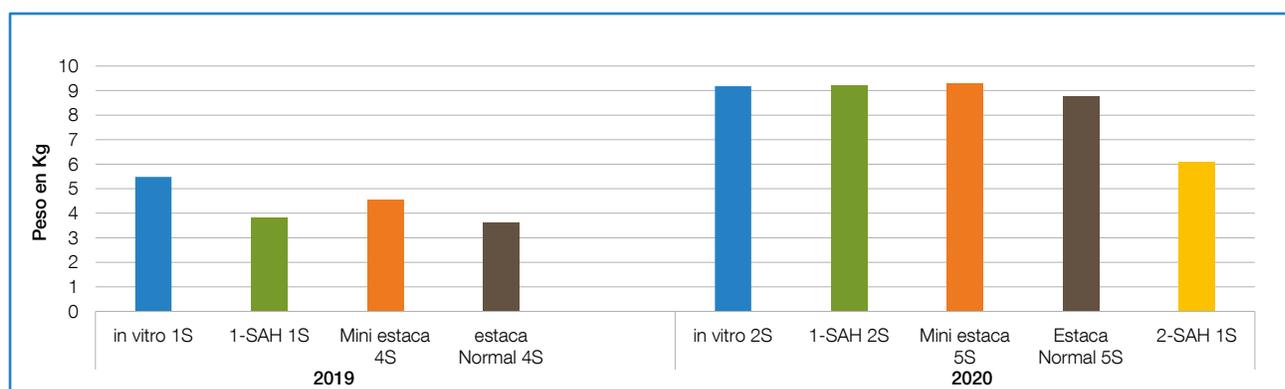


Figura 13. Peso promedio de raíces de yuca de cada tratamiento en dos años de seguimiento a la misma semilla.

CONCLUSIONES GENERALES

1. Las plántulas *in vitro* tienen que estar en óptimas condiciones para las siembras de SAH.
2. El corte de la planta *in vitro* se hará completa y se siembra todas las partes igualmente en la caja de SAH, ciertamente el crecimiento es un poco desigual, pero no es relevante, siempre y cuando se manejen agrónomicamente de manera regular.
3. Las plantas sembradas en las cajas de SAH, se llevan al cuarto de crecimiento y ahí permanecen cerradas todo el tiempo durante las 3-4 semanas de su estancia. En la fase del laboratorio se logró una sobrevivencia de un 98%.
4. El trasplante se hará directamente a bolsas grandes, estas serán las plantas madre, para en el tiempo realizar varios cortes,
5. Al trasplantar las plantas de la caja de SAH a la bolsa, colocar encima de la planta un vaso transparente para mantener el microclima que se tenía con la caja, dejarlo al menos una semana.
6. En el invernadero, las plantas permanecerán al menos 4-6 semanas y se les abonará con 2 gr de fertilizante 10-30-10 y aplicación de plaguicidas si fuera necesario, en esta fase se logró una sobrevivencia del 100% de las plantas.
7. Una vez en el vivero, las plantas deben estar al menos 6-8 semanas antes de ser llevadas a campo, para una mejor aclimatación y endurecimiento. Las mismas tendrán los cuidados de riego, fertilización y aplicación de plaguicidas para el combate de plantas y enfermedades. Aquí sobrevivió el 100% de las plantas
8. Las plantas *in vitro* y en multiplicación por SAH en comparación con la estaca normal, tiene un excelente desarrollo y su rendimiento es superior.
9. Se comprobó en el campo que las mini estacas de 2-3 nudos tienen un buen rendimiento y desarrollo, comparable con la estaca normal.
10. Se validó y dio seguimiento en el campo la segunda siembra de la semilla producida *in vitro*, con excelente rendimiento y producción de raíces, a los que se le espera dar seguimiento con sucesivas siembras en el tiempo, lográndose un 98% de plantas sobrevivientes en campo, y que allá estado en vivero al menos 6 semanas.

RECOMENDACIONES

Se debería darle seguimiento a la semilla de yuca que está produciendo y vendiendo el INTA por 10 años, con un manejo adecuado y regulado de manera estricta durante el tiempo de la cadena de desarrollo, recordar que el cambio de manejo puede afectar la calidad del material, con las diferentes siembras en el tiempo para medir

los rendimientos y ver cuando esta se empieza a degenerar a causa del ataque de plagas y enfermedades o por edad fenológica. Promover el uso extensivo de semilla limpia que cumpla con las necesidades del sector, con un manejo adecuado y tecnificado que fortalezca el material en desarrollo.

LITERATURA CITADA

- Acedo, ZV; Corazon, UL. 2008. Rapid propagation of released Philippine cassava varieties through tissue culture. *Journal of Root Crops*. 34(2):108–114.
- Ahloowalia, BS; Prakash, J; Savangikar, VA; Savangikar, C. 2004. Plant tissue culture. In *Blow cost options for tissue culture technology in developing countries*^ Proceedings of a Technical Meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture held in Vienna, 26–30 August 2002”: 1–15. (Also available www.pubiaea.org/mtcd/publications/pdf/te_1384_web.pdf).
- Andrade-Bolaños, AJ; Mullo-Panoluisa, FE; Rojas-Olmedo, VN. 2017. Sistema de Inmersión Temporal en la propagación de minitubérculos semilla de papa. *Revista Latinoamericana de la Papa* 21 (2): 97 – 105.
- INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censo). 2015. Censo Nacional Agropecuario VI. Instituto Nacional de Estadística y Censos. Mayo 2014. 146 p.
- FAO. 2007. Material de propagación de calidad declarada. Protocolos y normas para cultivos propagados vegetativamente. ED: J. Fajardo, N. Lualadio, M. Larinde, C. Rosell, I. Barker, W. Roca, E. Chujoy. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma, Italia. 133 g.
- Hanhineva, K; Kokko, H; Kaˆ Renlampi, S. 2005. Shoot regeneration from leaf explants of five strawberries (*Fragaria x Ananassa*) cultivars in temporary immersion bioreactor system. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 41:826–831.
- Mabanza, J; Rodriguez-Andriyaması, AV; Mahouka, J; Boumba, B. 1994. Evaluation of cleaned cassava varieties in Congo. In: *International Scientific Meeting on Cassava Biotechnology Network, 2., 1994, Bogor. Proceedings. Bogor Cassava Biotechnology Network*. p.194-201.
- Pedroso de Oliveira, R; Da Silva, T; Gomes, A; Duarte Vilarinhos, A. 2000. Avaliação de um sistema de micropropagação massal de variedades de mandioca Evaluation of a mass micro-propagation system of cassava varieties. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 35(12): 2329-2334.
- Riato, S; Gonzáles, A; Huarte, M. 2018. Sistema de producción de plántulas. Sistema autotrófico hidropónico. (1).pdf http://www.abbabatabrasileira.com.br/images/eventos/arquivos/Marcelo_Huarte
- Rigato, S; González, A; Huarte, M. 2001. Producción de plántulas por el sistema autotrófico-hidropónico. *Revista Latinoamericana de la Papa* 12 (1): 110 -120.
- Roca, WM.1984. Cassava. In: Sharp, WR.; Evans, DA.; Ammirato, PV.; Yamada, Y. (Ed.). *Handbook of plant cell culture: crop species*. New York: Mcmillan, 1984. p.269-301.
- Roosevelt, HE; Caicedo, E; Muñoz, L; Ríos, A; Azcárate, A; Dorado, C; Tohme, J. 2012. El cultivo in vitro: Otra manera de propagar la yuca. *Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Área de Investigación en Agrobiodiversidad*.X, 52 p. (Publicación CIAT no. 376) ISBN 978-958-694-111-2.
- Sessou, AF; Kahia, JW; Houngue, JA; Ateka, EM; Dadjo, C.; Ahanhanzo, C. 2020. In vitro propagation of three mosaic disease resistant cassava cultivars. *Biotecnología BMC*. 20 (51):1-13.
- Tumwegamire, S; Kanju, E; Legg, J; Shirima, R; Kombo, S; Mkamilo, G; Mtunda, K; Sichalwe, K; *et al.* 2018. Exchanging and managing in-vitro elite germplasm to combat Cassava Brown Streak Disease (CBSD) and Cassava Mosaic Disease (CMD) in Eastern and Southern Africa. *Food Security*.10:351–368
- Velásquez Carrera, J. 2018. Producción de tuberculo-semillas de papa en la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP y su relación con el sector semillero nacional. *INIAP. Estación Experimental Santa Catalina. Departamento de Producción de Semillas*. <http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Producci%C3%B3n%20de%20tuberculosemilla%20de%20papa%20en%20la%20Estaci%C3%B3n%20Experimental%20Santa%20Catalina.pdf>

ANEXO

Cuadro 2. Análisis de la Varianza y medias de Duncan, comparando el crecimiento en altura de las plantas por diferentes técnicas de propagación, a través del ciclo fenológico.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5465514,96	11	496865,00	272,97	<0,0001
Tratamiento	100369,35	4	25092,34	13,79	<0,0001
Fecha	5365090,99	7	766441,57	421,07	<0,0001
Error	1252314,57	688	1820,22		
Total	6717829,53	699			

Test:Duncan Alfa=0,05

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
SAH	71,27	140	3,81	A		
Miniestaca4S	90,44	140	3,80		B	
In vitro	91,21	140	3,80		B	
Estaca 40cm	96,95	140	3,81		B	
Mini estaca ca	108,14	140	3,80			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cuadro 3. Análisis de la Varianza y medias de Duncan, comparando el grosor de las plantas por diferentes técnicas de propagación, a través del ciclo fenológico.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	67180,48	11	6107,32	337,33	<0,0001
Tratamiento	1350,35	4	337,59	18,65	<0,0001
Fecha	65828,88	7	9404,13	519,42	<0,0001
Error	12456,28	688	18,11		
Total	79636,76	699			

Test:Duncan Alfa=0,05

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
SAH	12,53	140	0,38	A
Estacas 40cm	12,74	140	0,38	A
Miniestaca 4S	13,74	140	0,38	B
Miniestaca ca	14,48	140	0,38	B
In vitro	16,37	140	0,38	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cuadro 4. Análisis de la Varianza y medías de Duncan, comparando el Peso de las raíces de yucas entre tratamientos.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	38,25	4	9,56	2,82	0,0334
TRATAMIENTO	38,25	4	9,56	2,82	0,0334
Error	186,29	55	3,39		
Total	224,54	59			

Test:Duncan Alfa=0,05

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
Miniestaca car	3,23	12	0,53	A	
Estacas 40cm	3,61	12	0,53	A	
SAH	3,83	12	0,53	A	
Miniestacas 4S	4,57	12	0,53	A	B
In vitro	5,48	12	0,53	B	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cuadro 5. Análisis de la Varianza y medías de Duncan, comparando el Peso de las raíces de yucas entre tratamientos.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	12,10	4	3,03	0,84	0,5043
TRATAMIENTO	12,10	4	3,03	0,84	0,5043
Error	197,50	55	3,59		
Total	209,60	59			

Test:Duncan Alfa=0,05

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
Miniestaca 4S	4,67	12	0,55	A	
SAH	4,92	12	0,55	A	
Miniestaca car	5,00	12	0,55	A	
Estacas 40 cm	5,50	12	0,55	A	
In vitro	5,92	12	0,55	A	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cuadro 6. Análisis de la Varianza del número de raíces por planta entre los tratamientos y Medías de Duncan

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	137,76	36	3,83	0,57	0,9738
tratamiento	34,95	4	8,74	1,30	0,2734
planta	102,81	32	3,21	0,48	0,9913
Error	859,85	128	6,72		
Total	997,61	164			

Test:Duncan Alfa=0,05

tratamiento	Medias	n	E.E.		
SAH2	S1	5,91	33	0,45	A
Miniestacas S5	6,64	33	0,45	A	B
Estacas 40cm S5	6,67	33	0,45	A	B
SAH S2	6,67	33	0,45	A	B
In vitro S2	7,36	33	0,45	B	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cuadro 7. Análisis de la Varianza comparando el peso de raíces por planta entre los tratamientos y Medias de Duncan

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	769,86	36	21,38	0,82	0,7477
tratamiento	320,46	4	80,11	3,08	0,0185
planta	449,40	32	14,04	0,54	0,9775
Error	3328,92	128	26,01		
Total	4098,78	164			

Test:Duncan Alfa=0,05

tratamiento	Medias	n	E.E.		
SAH2 S1	6,10	33	0,89	A	
Estaca S5	7,88	33	0,89	A	B
Miniestaca S5	8,52	33	0,89	A	B
In vitro S2	9,70	33	0,89	B	
SAH S2	9,96	33	0,89	B	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)