



## **Mejora del rendimiento de la papa y otros tubérculos andinos – Root to Food**

**Producto 11: Puesta en marcha de un laboratorio de bajo costo para la producción de semilla de buena calidad - Colombia**

**Maria del Pilar Márquez Cardona, Marcela Pinilla, Consuelo Rincón**

**2024**



Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un mecanismo único de cooperación técnica entre países de América Latina, el Caribe y España, que promueve la competitividad y la seguridad alimentaria. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por **María del Pilar Márquez, Marcela Pinilla, Consuelo Rincón.**

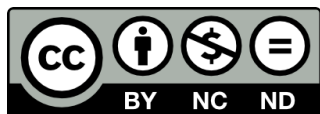
Copyright © 2022 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial-SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

**FONTAGRO**

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)

[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)



# Tabla de Contenidos

<b>ABSTRACT</b> .....	5
<b>RESUMEN EJECUTIVO</b> .....	7
<b>PALABRAS CLAVE:</b> .....	7
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	8
<b>OBJETIVOS</b> .....	8
<b>CULTIVO DE TEJIDOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE PAPA</b> .....	9
<b>REQUERIMIENTOS PARA LA PUESTA EN MARCHA DE UN LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDOS IN VITRO</b> .....	10
ORGANIZACIÓN DEL LABORATORIO .....	10
EQUIPO PARA EL LABORATORIO .....	11
ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO .....	11
<b>RESULTADOS</b> .....	12
LABORATORIO PILOTO DE BAJO COSTO EN COLOMBIA .....	12
PROTOCOLOS PARA EL ESTABLECIMIENTO <i>IN VITRO</i> Y PROPAGACIÓN .....	14
<b>DISCUSIÓN</b> .....	19
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	20
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	21
<b>INSTITUCIONES PARTICIPANTES</b> .....	22



#### INDICE FIGURAS

Figura 1. Flujo operativo del laboratorio .....	12
Figura 2. Ubicación espacial de las áreas de laboratorio. ....	13
Figura 3. Modelo de hoja de vida de material vegetal en el laboratorio .....	19

#### INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de equipos de laboratorio.....	11
Tabla 2. Equipos en las diferentes áreas del laboratorio de bajo costo .....	14



## ABSTRACT

Tubérculos andinos como la papa (*Solanum tuberosum*) y el cubio (*Tropaeolum tuberosum*) son esenciales para la seguridad alimentaria del agricultor andino, quienes cultivan y mantienen la diversidad de estos tubérculos en sus parcelas, bajo esquemas de agricultura familiar. Sin embargo, los rendimientos, particularmente de las variedades tradicionales, son bajos. Una de las causas fundamentales de los bajos rendimientos y la mala calidad del producto obtenido, es la mala calidad de la semilla empleada. En efecto, los pequeños agricultores andinos tienen cada vez más dificultades para conseguir semillas de calidad, principalmente de variedades tradicionales.

Además, estos materiales de siembra de mala calidad deben enfrentar otras presiones ambientales y que son consecuencia de prácticas de manejo de monocultivo, con uso excesivo de agroquímicos, agotamiento y pérdida de fertilidad de los suelos, pérdida de diversidad en las variedades sembradas, bajos controles de plagas y enfermedades por el desconocimiento de las mismas. Todo lo anterior viéndose agravado por los efectos del cambio climático global.

El proyecto “Mejora en el rendimiento de la papa y otros tubérculos andinos - Root to Food” tiene como finalidad fortalecer la economía de unidades de producción agrícola familiar de Bolivia y Colombia productoras de papas nativas y tubérculos andinos, a través del desarrollo participativo de paquetes tecnológicos y encadenamientos productivos que impacten en la conservación, valorización, mejora del rendimiento y sostenibilidad ambiental de los cultivos.

El proyecto cuenta con tres componentes: 1) fortalecimiento del tejido social, organizacional y empresarial de familias productoras de papa nativa y tubérculos andinos; 2) conservación y obtención sostenible de semilla de buena calidad de papa y tubérculos andinos para la agricultura familiar; 3) innovación agroecológica para el manejo integrado de plagas de papa y tubérculos andinos en unidades de producción agrícolas familiares. Dentro de cada uno de estos componentes se realizan acciones conjuntas entre los participantes, bajo el esquema de Innovación Rural Participativa (IRP), con el fin de contribuir a mejorar la calidad de la semilla, los rendimientos en la producción, la sostenibilidad ambiental y social, de manera que redunden en la seguridad alimentaria de las comunidades.

En este proyecto participan la Pontificia Universidad Javeriana – sede Bogotá de Colombia (organismo ejecutor), la Corporación PBA de Colombia y la Universidad Mayor de San Simón de Bolivia (organismos co-ejecutores). Asociaciones de pequeños productores de papa en Colombia y el municipio de Sacaba en Bolivia en donde se encuentran los agricultores quienes son beneficiarios directos del proyecto.



Andean tubers such as potato (*Solanum tuberosum*) and mashua (*Tropaeolum tuberosum*) are essential for the food security of the Andean farmers, who cultivate and maintain the diversity of these tubers in their plots, under family farming schemes. However, yields, particularly of traditional varieties, are low. One of the root causes of the low yields and inadequate quality of the product obtained is the poor quality of the seed used. Indeed, small Andean farmers are finding it increasingly difficult to obtain quality seeds, from traditional varieties.

In addition, these poor-quality planting materials must face other environmental pressures and are a consequence of monoculture management practices, with excessive use of agrochemicals, exhaustion and loss of soil fertility, loss of diversity in the varieties sown, low pest and disease controls due to lack of knowledge of them. All of this is compounded by the effects of global climate change.

The project "Improvement in the yield of potato and other Andean tubers - Root to Food" aims to strengthen the economy of family agricultural production units of Bolivia and Colombia producing native potatoes and Andean tubers, through the participatory development of technological packages and productive linkages that impact the conservation, valorization, improvement of yield and environmental sustainability of crops.

The project has three components: 1) strengthening the social, organizational, and business fabric of families producing native potatoes and Andean tubers; 2) conservation and sustainable production of good quality potato seed and Andean tubers for family farming; 3) agroecological innovation for the integrated management of potato pests and Andean tubers in family agricultural production units. Within each of these components joint actions are carried out among the participants, under the Participatory Rural Innovation (IRP) scheme, in order to contribute to improve seed quality, yields in production, environmental and social sustainability, so as to ensure food security for communities.

The Pontificia Universidad Javeriana - Bogota Colombia (executing agency), the PBA Corporation of Colombia and the Universidad Mayor de San Simón of Bolivia (co-executing organizations) participate in this project. Associations of small potato producers in Colombia and producers of the municipality of Sacaba, are the direct beneficiaries of the project.



## RESUMEN EJECUTIVO

Los pequeños agricultores de la región andina enfrentan dificultades para obtener semillas de calidad, especialmente de variedades tradicionales. Esto se debe a la crisis en los sistemas tradicionales de provisión de semillas y a la falta de acceso a sistemas comerciales debido a los altos costos. Adicionalmente, el uso de semillas de baja calidad se ve agravado por prácticas agrícolas inadecuadas y los efectos del cambio climático.

En el marco del proyecto Root to Food se establecieron laboratorios de cultivo de tejidos *in vitro*, los cuales requieren una infraestructura adecuada para mantener condiciones asépticas y controlar factores como la luz, temperatura y humedad. Estos laboratorios se organizan en varias áreas, incluyendo preparación, lavado y esterilización, transferencia, incubación y control fitosanitario. En estos laboratorios, se realiza la multiplicación *in vitro* de papa para producir plantas libres de enfermedades y con características genéticas uniformes.

En el municipio de Carmen de Carupa (Cundinamarca) se estableció un laboratorio de bajo costo dotado con los equipos necesarios para su funcionamiento óptimo. El flujo operativo dividido en tres zonas garantiza la asepsia durante todo el proceso de establecimiento y multiplicación. Las plantas producidas *in vitro* son posteriormente aclimatadas en invernadero o casa de malla para la producción de minitubérculos.

El laboratorio piloto ha sido efectivo en la producción de semillas de alta calidad, lo que potencialmente mejorará los rendimientos y la calidad de las cosechas de papa para los productores involucrados en el proyecto. Sin embargo, es crucial asegurar la sostenibilidad del laboratorio y continuar con la transferencia de tecnología a los agricultores locales.

### **PALABRAS CLAVE:**

Laboratorio de bajo costo, cultivo *in vitro*, micropropagación, semilla de buena calidad, apropiación social del conocimiento.





## INTRODUCCIÓN

Una de las dificultades que presenta el cultivo de papa en países como Bolivia y Colombia, es el bajo rendimiento, particularmente de las variedades tradicionales. En Bolivia, el rendimiento promedio de la papa es de 6 t/ha; mientras que en Colombia el rendimiento oscila entre 18 y 22 t/ha, dependiendo de la variedad y la localidad de siembra (MADR).

Una de las causas fundamentales de este bajo rendimiento en cuanto a cantidad y calidad del producto obtenido, es la mala calidad de la semilla empleada. En efecto, los pequeños agricultores de la región andina tienen cada vez más dificultades para conseguir semillas de calidad para establecimiento de los cultivos, principalmente de variedades tradicionales. En promedio, en Bolivia, solo el 1% de los pequeños agricultores utiliza semilla de calidad de papa, cifra muy similar a la de Colombia, país en el que solo 3%-5% de los agricultores inician su cultivo con semilla certificada. Las causas de este bajo porcentaje de semillas de calidad adecuada son diversas. Por una parte, si bien siempre han existido sistemas tradicionales de provisión de semilla para la agricultura familiar en los Andes (producción, intercambio, compra), estos actualmente están en crisis. Cada vez hay menos agricultores y menos especialistas en producción de semillas. Esto obliga a los agricultores a utilizar año tras año su propia semilla, deteriorando la calidad de esta. Si bien existen sistemas comerciales de producción de semilla de alta calidad (“formales”), los pequeños agricultores no se benefician de ellos, debido al costo elevado de la semilla y al desinterés del sistema formal por las variedades tradicionales y/o a una inadecuada relación entre los sectores formal e informal y entre el sector privado y público.

Es por esto, que el proyecto Root to Food, propone estrategias que permitan sistemas de provisión de semillas de papas, económicos y sostenibles para la agricultura familiar, que permitan mejorar la calidad genética, fisiológica y fitosanitaria de los cultivos; así como mejorar el rendimiento en cuanto a cantidad y calidad e igualmente contribuyan a conservar la gran diversidad de estos recursos genéticos nativos de los Andes, de alto valor cultural y nutricional para muchas comunidades.

## OBJETIVOS

### *General*

El objetivo general del proyecto es fortalecer la economía de unidades de producción agrícola familiar de Bolivia y Colombia productoras de papas nativas y tubérculos andinos, a través del desarrollo participativo de paquetes tecnológicos y encadenamientos productivos que impacten en la conservación, valorización, mejora del rendimiento y sostenibilidad ambiental de los cultivos





*Específico*

Puesta en marcha de laboratorios para la producción de semilla de buena calidad de papa

## CULTIVO DE TEJIDOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE PAPA

La producción de papa se ve afectada por diversas enfermedades, plagas y condiciones ambientales adversas. La multiplicación *in vitro* de papa es una técnica que permite la producción masiva de plantas libres de enfermedades y con características genéticas uniformes, asegurando la disponibilidad de material de siembra sano y homogéneo, lo que contribuye a aumentar la productividad y el rendimiento del cultivo (Morais et al. 2018).

El cultivo *in vitro* consiste en aislar una porción de la planta (explantos) y cultivarla dentro de un frasco en un ambiente artificial, lo cual requiere de una infraestructura que permita la asepsia durante todo el proceso y poder controlar los factores que afectan el crecimiento de la planta (luz, temperatura, humedad). Además de personal capacitado para llevar todas las actividades en el laboratorio. Aunque estos principios son normalmente invariables en todos los laboratorios, su aplicación puede presentar variaciones dependiendo de los objetivos del laboratorio (Roca & Mroginski 1993).

Los laboratorios de cultivo de tejidos deben disponer de diferentes áreas que le permitan cumplir con los objetivos. En el caso de los laboratorios cuyo objetivo es la producción y distribución de materiales con sanidad certificada, además de los espacios con los que normalmente se debe disponer (preparación de medios, establecimiento y multiplicación, crecimiento), se deben incluir espacios para la evaluación fitosanitaria de los materiales.

Antes de establecer un laboratorio de cultivo de tejidos se debe tener clara la necesidad de hacerlo y los beneficios que pueda tener para el sector agrícola, ya que la puesta en marcha y funcionamiento de estos laboratorios tiene unos altos costos de operación (Intagri).



## REQUERIMIENTOS PARA LA PUESTA EN MARCHA DE UN LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDOS *IN VITRO*

### Organización del laboratorio

Con el fin de llevar a cabo las diferentes funciones que se desarrollan en un laboratorio de cultivo de tejidos *in vitro*, este debe tener las siguientes áreas (Roca & Mroginski 1993):

Área de preparación: en esta área se preparan los medios de cultivo y debe tener los espacios para el almacenamiento de materiales de vidrio, fungibles y reactivos químicos. En esta sección se debe contar con mesones para la preparación de medios y ubicar equipos como balanzas, planchas de agitación, pHmetro, nevera, etc.

Área de lavado y esterilización: esta zona debe incluir un lavadero, canecas para la disposición de diferentes tipos de residuos, destilador, autoclaves, etc.

Área de transferencia: en esta área se lleva a cabo la disección, inoculación y transferencia de los explantes (tejido vegetal). Esta es la zona del laboratorio que requiere el más alto nivel de limpieza ambiental. En esta área se ubican las cámaras de flujo laminar con aire filtrado bajo presión.

Área de incubación: en esta área se incuban los explantes para lograr su crecimiento óptimo. En esta área se debe proporcionar control de temperatura, fotoperíodo, irradiancia y control de la humedad relativa.

Área de control fitosanitario: cuando se producen materiales élite en el laboratorio, se debe garantizar la sanidad del material vegetal, por lo tanto, se debe contar con un área en la cual se puedan llevar a cabo los análisis de sanidad (pruebas de Elisa, PCR, etc.).

Además de estas áreas, el laboratorio debe contar con un espacio de oficina, en donde se pueda almacenar archivos importantes como protocolos, libros de referencia y control, etc. También se debe tener en cuenta la ubicación de equipos de primeros auxilios y extintores para garantizar la seguridad del personal del laboratorio.

Una vez finalizado el proceso de multiplicación *in vitro*, las plantas se deben aclimatar en invernadero o casa de malla, en donde llevarán a cabo el acondicionamiento gradual a las condiciones de campo. En este espacio se debe asegurar un estricto control fitosanitario, el riego y la temperatura adecuada a cada especie.



## Equipo para el laboratorio

Los equipos mínimos con los que debe contar un laboratorio se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1. Distribución de equipos de laboratorio**

Área	Equipos
Preparación	Nevera, plancha de agitación, estufa o microondas, potenciómetro, balanza
Lavado y esterilización	Autoclave, destilador
Transferencia	Cámara de flujo laminar, estereomicroscopio
Incubación	Estantería con iluminación, fotoperíodo, temperatura y humedad controladas

Además de los equipos, se debe dotar el laboratorio con vidriería, material de plástico, bisturís, cuchillas, mecheros, canecas, material de aseo y reactivos que garanticen la multiplicación del material vegetal.

## Establecimiento del cultivo

Teniendo en cuenta los objetivos del cultivo *in vitro*, se deben estandarizar los protocolos con las características particulares de cada sistema. En general se deben tener en cuenta:

- El tipo de explante
- Las normas de asepsia
- Los medios de cultivo
- Las condiciones de incubación

La interacción de todos estos factores condicionará la respuesta de los explantes.

## RESULTADOS

### Laboratorio Piloto de Bajo Costo en Colombia

Este laboratorio se encuentra ubicado en instalaciones de la Asociación Asoagroalzal en el municipio de Carmen de Carupa (Cundinamarca). El laboratorio tiene especificaciones técnicas básicas desde los aspectos operativos, de flujo de la operación y estado fitosanitario del material en producción.

En la figura 1 se encuentra esquematizado el flujo operativo del laboratorio, el cual se divide en tres zonas para garantizar el control de la asepsia. En la zona de intercambio se encuentra el sitio de recepción de material vegetal y el vestier de las operarias del laboratorio. En la zona gris, se encuentran las áreas de diagnóstico fitosanitario, preparación de medios, lavados y esterilización y la oficina. En la zona blanca, se encuentra en cuarto de transferencia con la cámara de flujo laminar y el cuarto de incubación. Después de esto el material sale a la casa de malla para su aclimatación.

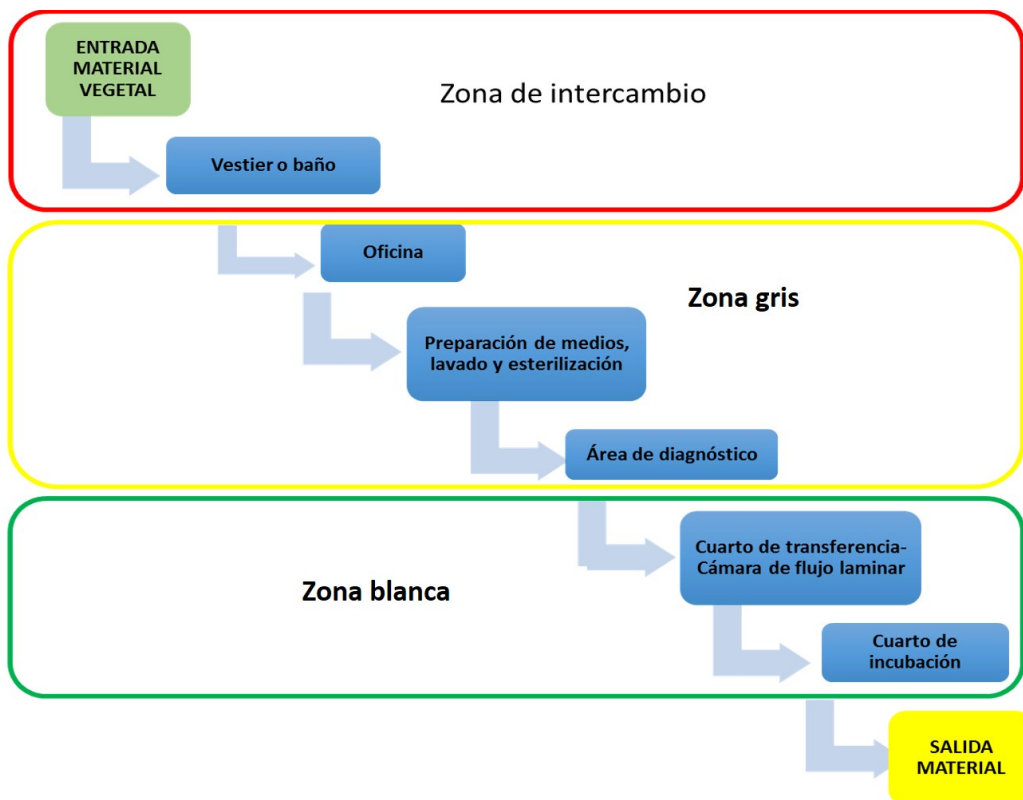


Figura 1. Flujo operativo del laboratorio



En la figura 2 se observa la ubicación espacial de las diferentes áreas del laboratorio piloto, que incluyen: área de lavado y esterilización de material contaminado, área de preparación y esterilización y almacenamiento de reactivos y materiales, área de diagnóstico, área de registro (oficina), cuarto de incubación y cuarto de transferencia.



**Figura 2. Ubicación espacial de las áreas de laboratorio.**



El laboratorio se encuentra dotado con los equipos necesarios para el óptimo funcionamiento. En la tabla 2 se listan los equipos de cada área del laboratorio.

**Tabla 2. Equipos en las diferentes áreas del laboratorio de bajo costo**

CANTIDAD	EQUIPO	Ubicación
1	Cámara de flujo laminar con sus respectivos filtros de aire.	Cuarto de transferencia
1	Gramera digital capacidad 3.000 g x 0,1 g doble display	Área de preparación de medios
1	Horno microondas ST 651 W	Área de preparación de medios
1	Nevera MABE gris 235 litros	Área de preparación de medios
3	Mesas acero inoxidable 2 m x 0,6 m x 0,9, cubierta en acero inoxidable calibre 18-304 acero de manejo de alimentos, con 4 patas en tubería acero inoxidable de 1 ½" con niveladores al piso	Área de preparación de medios (2) y área de diagnóstico (1)
1	Destilador marca TUTTNAUER Modelo 9000	Área de preparación de medios
2	Autoclave eléctrica a vapor, en forma de olla 25 x	Área de preparación de medios
1	Autoclave eléctrica a vapor, en forma de olla 25 x	Área de lavado y esterilización de material contaminado
1	pH-metro de mesa. Marca HANNA	Área de preparación de medios
1	Estéreo microscopio binocular con 20 y 40 aumentos fijos	Cuarto de transferencia
1	Agitador magnético con calentamiento análogo	Área de preparación de medios
1	Computador de escritorio con impresora	Área de registro-Zona gris

### Protocolos para el establecimiento *in vitro* y propagación

Estos protocolos fueron estandarizados por dos mujeres campesinas de la vereda el Alizal (Marcela Pinilla y Consuelo Rincón), quienes han sido capacitadas por la Universidad Javeriana para todo el funcionamiento del laboratorio.



**EL LABORATORIO SE DIVIDE EN UN ÁREA BLANCA Y ÁREA GRIS, en cada una de estas áreas se realizan procedimientos diferentes**

### **ÁREA BLANCA**

Se debe tener en cuenta:

1. Área restringida a personal no autorizado.
2. Contar con bata, guantes, tapabocas, polainas y gafas de protección.
3. Es un área donde se extraen meristemas y se realiza la propagación de material vegetal.
4. Se encuentra la cámara de flujo laminar, estereoscopio, medios de cultivo, alcohol, pinzas.
5. Se encuentra el área de crecimiento de material vegetal.

### **Tener en cuenta:**

Realizar desinfección del área con timsen<sup>®</sup>, hipoclorito de sodio o alcohol con diferente reactivo cambiándolos por semana para combatir las bacterias y hongos.

### **ÁREA GRIS**

1. Se debe tener la dotación completa: bata, cofia y polainas.
2. Se encuentra el área de material contaminado.
3. Se debe realizar desinfección con tres tipos de desinfectantes como alcohol, hipoclorito de sodio y timsen<sup>®</sup>.

### **ÁREA DE MATERIAL CONTAMINADO**

No se deben destapar los contenedores cuando están contaminados ni en área gris. En el área blanca primero se deben esterilizar en autoclave de material vegetal contaminado después de este proceso se pueden destapar y lavar el contenedor.


## **PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN Y EXTRACCIÓN DE MERISTEMOS**

Se debe seleccionar el material vegetal en buen estado con condiciones óptimas sin enfermedades ni virus.

### **Procedimiento**

1. Se recolecta el material vegetal (ramas) en el invernadero se llevan al laboratorio en bolsas plásticas marcadas con la variedad que se va a trabajar con fecha de colecta.
2. Se dividen en entrenudos.
3. Se colocan en contenedores para empezar el proceso de desinfección.
4. Se realiza un lavado superficial al material con una solución jabonosa (timsen<sup>®</sup>) antibacterial.



- 
5. Se enjuaga con agua destilada estéril (3 veces).

#### **Desinfección en área blanca.**

6. Se realiza una desinfección con hipoclorito de sodio (5%).
7. Se enjuaga con agua destilada esterilizada (3 veces).
8. Se sumergen los explantes en etanol (70%) durante 30 segundos con agitación.
9. Se enjuaga con agua destilada estéril (3 veces).

#### **Fase de establecimiento**

10. Se utiliza el estereoscopio, bisturí y pinzas para extraer los meristemas y se siembran en un tubo de ensayo con un medio de cultivo preparado según la variedad que se va a sembrar.
11. Se marca el tubo de ensayo con la variedad o código y fecha de establecimiento.
12. Se lleva al cuarto de crecimiento para incubación por 3 semanas con un fotoperiodo de 14 horas luz.

### **PROTOCOLO PARA LA MICROPROPAGACIÓN**

1. Antes de iniciar el proceso se realiza la desinfección de la cabina de flujo laminar con alcohol al 70% y se enciende la cabina
2. Previamente se deben alistar todos los materiales necesarios para el proceso de multiplicación (bisturí, cuchillas, pinzas, servilletas y medios de cultivo estériles), al igual que los contenedores con el material vegetal a propagar.
3. Se destapa el contenedor de las plantas que se van a micropropagar, sacando una a una las plántulas para el corte de los tallos, teniendo en cuenta que siempre se debe dejar por lo menos una yema en cada explante.
4. Los explantes se siembran en contenedores con medio nuevo y se llevan a cuarto de crecimiento por 3-4 semanas (condiciones de temperatura y fotoperiodo controladas).
5. Se debe hacer una revisión periódica de las plántulas en el cuarto de crecimiento con el fin de hacer seguimiento a la contaminación que se pueda presentar.

### **PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO**

1. Se pesan todos los componentes que se adicionan al medio.
2. Se prende el agitador se coloca el magneto dentro del Erlenmeyer se adiciona la mitad de agua de preparación del medio.



3. Se adiciona el medio.
4. Se adiciona el myo inositol (según el tipo de medio).
5. Se adicionan las vitaminas (según el tipo de medio).
6. Se adiciona el GA3
7. Se adiciona el azúcar.
8. Se agita en el agitador se lleva a la probeta se adiciona el agua restante hasta completar el medio a preparar, se agita de nuevo.
9. Se procede a medir el pH.
10. Se adiciona el gellum gum® al medio se coloca con agitación y calor, no se lleva a punto de ebullición.
11. Se empaca en contenedores de plástico o recipientes de vidrio, se tapan bien y se llevan a esterilización en auto clave a temperatura de 125 °C.
12. Se dejan enfriar y se llevan a área blanca.
13. Se dejan en reposo una semana para su utilización.

### **PROTOCOLOS DE ENDURECIMIENTO Y ACLIMATACIÓN EN INVERNADERO**

El material vegetal producido por meristemos y propagación se deja 5 meses en el área de crecimiento se debe llevar al área de endurecimiento y aclimatación en invernadero.

#### **PASOS**

1. Se realiza un lavado de raíces del material vegetal *in vitro* con agua destilada y se lleva a cámara húmeda luego se llevan a invernadero, en el cual deben estar llenas las bandejas de turba en la cual se van a sembrar las plantas.
2. Se hace un pequeño orificio y se siembran las plantas.
3. Se colocan las bandejas en las mesas y se dejan en cámara húmeda por dos semanas con riego en la mañana y en la tarde.
4. Se debe cuidar la planta como un bebe teniéndole un cuidado especial ya que en el laboratorio ella no respiraba por si sola y los estomas no se abren ni se cierran, por este motivo se deben aclimatar las plantas.
5. Luego de 2 semanas en cámara húmeda se empieza hacer el riego con nebulización por 1 mes y se pasan las plantas a casa de malla.



## PROTOCOLO DE DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO

### Este procedimiento se lleva a cabo en el **ÁREA DE DIAGNOSTICO**

En esta área se realizan las pruebas para diagnosticar los siguientes virus:

- PVS (Virus S de la papa)
- PVY (Virus Y de la papa)
- PVX (Virus X de la papa)
- PLRV (Virus del enrollamiento de la hoja de la papa)

*Cuando se detecta algún virus en cualquiera de los materiales vegetales, éstos se deben desechar*


### PROTOCOLO PARA EL DIAGNÓSTICO DE VIRUS POR EL MÉTODO DE ELISA

Se prepara el buffer de cubrimiento con agua destilada

- Se prepara el buffer de carbonato.
- Se agrega el H<sub>2</sub>O destilada.
- Se mide cada anticuerpo del PVS, PVY, PVX y PLRV se prepara una cámara húmeda en un recipiente plástico con servilletas húmedas.
- Se agrega en antígeno en la placa y se tapa con aluminio se marca la placa con el tipo de virus que se está muestreando con la hora y se deja 4 horas incubando en cámara húmeda.
- Se realiza un lavado con PBST 3 veces.
- Preparación y desinfección de muestras vegetales.
- Se selecciona el material vegetal al que se va a realizar el diagnóstico, se empaca en bolsas plásticas y se maceran.
- Luego se llenan los pozos de las placas.
- Se realiza un lavado con PBST 3 veces.
- Se siembra la muestra en la placa según el orden correspondiente.
- Se deja incubar toda la noche.
- Se lavan las placas 8 veces con el buffer PBST.
- Para el PBY se utiliza el ELISA COMPUESTO para los otros virus como: PVX, PVS y PLRV el conjugado enzimático se procede a llenar las placas se esperan 2 horas después de llenada las placas a temperatura ambiente.
- Se realiza un lavado con PBST 8 veces después de la incubación.
- Se prepara el sustrato de revelación se agitan sin que les de la luz.

- Se siembran en las placas el PNP y se deja incubando por 30 minutos para mostrar los resultados.

A cada uno de los materiales ingresados en el laboratorio se le realiza un seguimiento hasta su salida a invernadero o casa de malla. Esto con el fin de tener la trazabilidad y garantizar la calidad de la semilla que posteriormente se les entrega a los productores. En la figura 3 se observa el formato de hoja de vida para cada uno de los materiales introducidos.



**FORMATO HOJA DE VIDA MATERIAL VEGETAL DE PAPA**  
**LABORATORIO BAJO COSTO CARMEN DE CARUPA**

Fecha de ingreso al laboratorio		Variedad		CLON			
<b>PROCEDENCIA</b> (municipio/vereda/finca/infraestructura)							
Responsable		Consuelo Rincón/ Marcela Pinilla					
<b>Año</b>	<b>No lote</b>	<b>Semana cal</b>	<b>Movimiento</b>	<b>No. de entrada</b>	<b>No. de salida</b>	<b>Tasa de X</b>	<b>Observaciones</b>

Figura 3. Modelo de hoja de vida de material vegetal en el laboratorio

## DISCUSIÓN

El cultivo de tejidos *in vitro* es muy útil para la propagación y conservación de los recursos fitogenéticos. A través de estas técnicas se puede obtener una producción rápida y a gran escala de plantas libres de enfermedades y patógenos. Los laboratorios de bajo costo, que generalmente se encuentran ubicados en zonas productoras y son totalmente manejados por las comunidades locales, son un sistema de aprovisionamiento de semilla de buena calidad asequible para los pequeños productores. Experiencias como la que se ha llevado a cabo en el marco del proyecto Root to Food, son innovaciones que generan avances muy importantes, no solo por la producción de semilla de buena calidad, sino también en el fortalecimiento de las capacidades organizacionales y de investigación por parte de los pequeños productores (Corporación PBA 2013).

En este proceso de innovación con comunidades campesinas queda claro que en este entorno los procesos se han facilitado gracias al enfoque de Innovación Rural Participativa con el que se ha



abordado este proyecto. “Aprender haciendo” ha sido la mejor herramienta para introducir los conocimientos necesarios para el manejo técnico del laboratorio y el invernadero. Otro aspecto importante es que desde la academia se reconoce plenamente el conocimiento que tienen estos agricultores, lo que permite un diálogo e intercambio de saberes entre todos los actores que participan en este proceso.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

A través de procesos de apropiación social del conocimiento fue posible la puesta en marcha de un laboratorio de bajo costo para la producción de semilla de buena calidad de papa.

El cultivo *in vitro* es una tecnología que permite obtener materiales de buena calidad fitosanitaria y a gran escala.

Los sistemas de cultivo *in vitro*, permiten un aprovisionamiento constante de semilla de buena calidad asequible para los pequeños productores.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Corporación PBA. 2013. IRP Innovación Rural Participativa. Manual para facilitadores. Recuperado de: [https://www.corporacionpba.org/publicaciones/Manual\\_IRP/mobile/index.html#p=2](https://www.corporacionpba.org/publicaciones/Manual_IRP/mobile/index.html#p=2)

Intagri. Cultivo in vitro de células y tejidos vegetal. Recuperado de: <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/cultivo-in-vitro-de-celulas-y-tejidos-vegetal>

MADR. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Colombia - MADR. Recuperado de: <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1>

Morais T.P, Asmar S.A, Silva, H.F.J, Luz J.M.Q, Melo B. 2018. Application of tissue culture techniques in potato. Biosci. J. Uberlandia. 34 (4): 952-969.

Roca W. M & Mroginski L.A. 1993. Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. CIAT. Cali, Colombia. 970p.

## INSTITUCIONES PARTICIPANTES





Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)