

CONVERSIÓN A PLANTAS DE EMBRIONES SOMÁTICOS DE ÑAME CULTIVAR 'BLANCO DE GUINEA'

Dayana Rodríguez González*, Jorge López Torres, Nery Montano Pérez, Daniel Rodríguez Pérez, Nadir Oviedo Trujillo, Arletys Santos Pino, Aymé Rayas Cabrera, Milagros Basail Pérez, Víctor Medero Vega, Yoel Beovides García y Yenisey Gutiérrez Sánchez.

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apartado 6, Santo Domingo CP: 53 000, Villa Clara, Cuba.

* Autora para la correspondencia: tculture.biotec@inivit.cu

Recibido: 9 de septiembre de 2019; Aceptado: 17 de diciembre de 2019

RESUMEN

La escasez de material vegetal de plantación con calidad fisiológica y sanitaria continúa limitando la producción a escala mundial del cultivo del ñame (*Dioscorea* spp). La embriogénesis somática constituye una alternativa para la producción de 'semilla' y una herramienta auxiliar para la mejora genética de este cultivo. Sin embargo, la eficiencia del proceso embriogénico en cualquier especie de plantas está dada por la germinación y conversión a plantas de los embriones somáticos, etapas que constituyen requisitos indispensables. El presente trabajo se realizó con el objetivo de lograr la conversión a plantas de embriones somáticos del cultivar de ñame 'Blanco de Guinea' en la fase de aclimatización. Las plantas provenientes de los embriones somáticos, mostraron un alto porcentaje de supervivencia (97 %), sin diferencias significativas con el control utilizado por organogénesis (96 %). Las mismas se caracterizaron por un crecimiento vigoroso, buen desarrollo foliar y coloración verde oscuro.

Palabras clave: aclimatización, *dioscorea*, embriogénesis somática, propagación *in vitro*

CONVERSION TO PLANTS OF SOMATIC EMBRYOS OF YAM CULTIVAR 'BLANCO DE GUINEA'

ABSTRACT

The scarcity of plant material for planting with physiological and sanitary quality continues limiting the production of yam (*Dioscorea* spp) worldwide. The somatic embryogenesis is an alternative for 'seed' production and an auxiliary tool for the genetic breeding of this crop. However, the efficiency of the embryogenic process in any plant species is determined by the germination and conversion of the somatic embryos into plants, stages which are indispensable requirements. The present work was carried out with the aim of achieving the conversion of somatic embryos into plants of the yam cultivar 'Blanco de Guinea', at the acclimatization stage. The plants from the somatic embryos showed a high percentage of survival (97 %), without significant differences, with the control used by organogenesis (96 %). They were characterized by a vigorous growth, good foliar development and dark green coloration.

Keywords: acclimatization, *dioscorea*, *in vitro* propagation, somatic embryogenesis, *in vitro* propagation

INTRODUCCIÓN

El ñame (*Dioscorea* spp.) es un género de amplia distribución, comprende más de 600 especies de plantas, de las cuales solo 10 producen tubérculos comestibles (Ondo *et al.*, 2015). En el año 2017 la producción mundial de ñame se estimó en alrededor de 73,0 millones de toneladas con un rendimiento agrícola de 8,5 t.ha⁻¹. En Cuba se producen anualmente unas 52 881 toneladas (FAOSTAT, 2017).

El cultivar 'Blanco de Guinea' (*Dioscorea cayenensis* subsp. *rotundata* (Poir.) J. Miège) originario de África Occidental, es uno de los más plantados en el mundo debido a su alto valor nutritivo y gran aceptación de la población para su consumo fresco y en forma procesada (Borges *et al.*, 2017).

A pesar de los progresos alcanzados en la producción de semilla de ñame, tanto por métodos convencionales como biotecnológicos, la escasez de material vegetal de plantación con calidad fisiológica y sanitaria continúa limitando la producción a gran escala de este cultivo (Manoharan *et al.*, 2016).

La embriogénesis somática constituye una alternativa para la propagación de material vegetal y una herramienta auxiliar para el mejoramiento genético (Nyaboga *et al.*, 2015). Este método de regeneración permite incrementar los coeficientes de multiplicación, disminuir los costos de producción y facilita la automatización del proceso productivo (De Fera, 2000). Sin embargo, la eficiencia del proceso embriogénico en cualquier especie de plantas está dada por la germinación y conversión de los embriones somáticos a plantas, etapas que constituyen requisitos indispensables (López, 2006). Autores como Manoharan *et al.* (2016) obtuvieron embriones somáticos de ñame (*D. rotundata*) pero con bajos porcentajes de conversión a plantas por esta vía morfogénica.

Teniendo en cuenta lo anterior, el presente trabajo se realizó con el objetivo de lograr la conversión a planta de los embriones somáticos del cultivar de ñame 'Blanco de Guinea' en la fase de aclimatización.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el área de aclimatización del Laboratorio de Biotecnología vegetal del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), ubicado en Santo Domingo, Villa Clara, Cuba.

Material vegetal

Se emplearon embriones somáticos germinados de ñame cv. 'Blanco de Guinea' obtenidos según el protocolo propuesto por Rodríguez *et al.* (2018).

Conversión a plantas de los embriones somáticos

Con el objetivo de lograr la conversión a plantas de embriones somáticos de ñame cv. 'Blanco de Guinea', se realizó un experimento en el cual se evaluó la supervivencia y desarrollo en condiciones ambientales *ex vitro* de los embriones somáticos germinados, en comparación con plantas provenientes de la propagación por organogénesis (segmentos nodales) utilizados como control en la propagación *in vitro*.

Las plantas de ambas procedencias (embriogénesis somática y organogénesis) se extrajeron de los tubos de cultivo con la ayuda de una pinza y se enjuagaron con agua común para eliminar los restos de medio de cultivo adheridos al explante.

El experimento se desarrolló en una casa de cultivo cubierta por una malla plástica (zarán), bajo condiciones semicontroladas de humedad relativa del 85-95 %, con una densidad de FFF de $600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Se utilizaron bandejas de polieturano de 70 orificios, con un volumen de 120 cm^3 de materia orgánica, las cuales se colocaron durante los primeros 15 días de plantadas dentro de cobertores de nylon, según lo recomendado por Medero *et al.* (2018). Se transfirieron 100 plantas por cada procedencia con una altura de 3-4 cm y de dos a tres hojas, que fueron plantadas a una profundidad de 1,0 cm.

A los 15 días se evaluó el porcentaje de supervivencia y transcurridos 60 días, al momento del transplante a bolsas de nylon, a 50 plantas de cada procedencia, se evaluaron las variables fenotípicas: altura de la planta (cm), número de entrenudos (u), número de hojas (u), y número de minitubérculos producidos por planta (u).

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Para el procesamiento de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS ver. 15,0 para Windows. Los datos se procesaron mediante una prueba de hipótesis para muestras independientes (T -Student), con un nivel de significación $p < 0,05$, según los resultados de la comprobación previa de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. El experimento fue repetido dos veces.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar las características de las plantas de ambas procedencias (embriogénesis somática y organogénesis), se observó un alto porcentaje de supervivencia. En el caso de las plantas procedentes de embriones somáticos fue de 97 % y en el control de organogénesis de 96 %, sin diferencias significativas.

El empleo del cobertor de nylon durante los primeros 15 días de transplantadas fue clave porque garantizó la humedad necesaria para la aclimatización de las plantas, similar a lo descrito por Medero *et al.* (2018) quienes lograron incrementar el porcentaje de supervivencia de plantas de *Carica papaya* L. var. 'Maradol roja' de 7,1 % a 42,2 %, durante esta etapa.

También, Medero *et al.* (2019) refirieron la importancia del cobertor de nylon para evitar la transpiración descontrolada, característica del material vegetal procedente de condiciones *in vitro*, como parte de la nueva metodología para la aclimatización de plantas producidas *in vitro* de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Estos autores incrementaron el porcentaje de supervivencia del cultivar de yuca 'INIVIT Y-93-4' de 7,42 % a 81,23 % con el empleo del cobertor.

Con relación a las variables evaluadas, excepto en el número de hojas, se obtuvieron diferencias estadísticas significativas a favor de las plantas regeneradas por embriogénesis somática (Tabla 1).

Resultados similares fueron referidos por López (2006) al estudiar la conversión a plantas de embriones somáticos del cultivar de plátano 'Navolean'. Este autor obtuvo altos porcentajes de supervivencia en plantas de ambas procedencias (organogénesis y embriogénesis somática), pero con diferencias significativas en las variables fenotípicas

evaluadas a favor de las plantas obtenidas por embriogénesis somática, lo cual coincide con lo obtenido en la presente investigación.

Tabla 1. Comparación entre las plantas obtenidas por embriogénesis somática y organogénesis de ñame ‘Blanco de Guinea’, a los 60 días de cultivo en la fase de aclimatización.

Procedencia	Altura (cm)	No. Hojas	No. Entrenudos	No. minitubérculos por planta
Organogénesis	4,17	5,10	1,97	2,16
Embriogénesis somática	5,34	5,93	2,66	3,10
T-Student	-4,687*	-1,736 ns	-2,827*	-3,225*

Nivel de significación para $p < 0,05$.

Por otra parte, Rodríguez *et al.* (2015) obtuvieron altos porcentajes de supervivencia durante la conversión a plantas de embriones somáticos del cultivar de plátano ‘FHIA-25’ (AAB) en área de aclimatización, similar a lo referido en este trabajo.

Las plantas de ñame ‘Blanco de Guinea’ obtenidas vía embriogénesis somática se caracterizaron por un crecimiento vigoroso, buen desarrollo foliar y coloración verde oscuro (Figura 1).



Figura 1. Plantas de ñame cv. ‘Blanco de Guinea’ procedentes de embriones somáticos en área de aclimatización.

Respecto al número de minitubérculos producidos por planta, Shiwachi *et al.* (2005) estudiaron el número y cantidad de días para su formación en siete variedades de ñame pertenecientes a *D. rotundata*. Estos autores obtuvieron los minitubérculos trascurridos 100 días de cultivo de las plantas producidas *in vitro*, mientras que en la presente investigación se obtuvieron a los 60 días, diferencias que pueden estar dadas

por la duración de los días, debido a que el ñame es un cultivo muy estacional. Los minitubérculos obtenidos serán utilizados como 'semilla' para cerrar el ciclo y estudiar su respuesta en condiciones de campo.

CONCLUSIONES

Se logró la conversión a plantas de embriones somáticos de ñame cv. 'Blanco de Guinea' en la fase de aclimatización.

BIBLIOGRAFÍA

- BORGES, M.; B. MALAURIE; S. MENESES; R. GÓMEZ y J. VERDEIL. 2017. Anatomía comparada de plantas de *Dioscorea alata* L. clon 'Caraqueño' cultivadas en tres ambientes de crecimiento *in vitro* Revista Colombiana de Biotecnología, 18(2): 112-118.
- De FERIA, M. 2000. Empleo de biorreactores para la multiplicación y diferenciación de suspensiones celulares embriogénicas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catimor 9722'. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Instituto de Biotecnología de las Plantas. 100p.
- FAOSTAT. 2017. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Dirección de Estadística. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>. Consultado: 23 de julio de 2019.
- LÓPEZ, J. 2006. Nueva metodología para el desarrollo de la embriogénesis somática en el cultivar de plátano vianda 'Navolean' (*Musa* spp., grupo AAB). Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad de Ciego de Ávila. Centro de Bioplasmas. 100p.
- MANOHARAN, R.; J. TRIPATHI y L. TRIPATHI. 2016. Plant regeneration from axillary bud derived callus in white yam (*Dioscorea rotundata*) *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 126: 481-497.
- MEDERO, V.; Y. BRAVO; M. BASAIL; A. RAYAS; J. LÓPEZ; A. SANTOS; D. RODRÍGUEZ; Y. BEOVIDES, M. TORRES; W. CABALLERO y C. PONS. 2018. Aclimatización de plantas producidas *in vitro* de papaya, var. 'Maradol Roja' *Agricultura Tropical*, 4(2): 38-47.
- MEDERO, V.; D. RODRÍGUEZ; Y. BRAVO; Y. BEOVIDES; M. TORRES y N. TRUJILLO. 2019. Metodología para aclimatización de plantas producidas *in vitro* de yuca y papaya. 12^{mo} Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal y Agricultura. 27-31 de mayo. Taller: Cultivos de Células y Tejidos de Plantas. ISBN 978-959-16-4260-8.
- NYABOGA, EN.; JM. NJIRU y L. TRIPATHI. 2015. Factors influencing somatic embryogenesis, regeneration, and Agrobacterium-mediated transformation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivar 'TME14'. *Frontier Plant Science*, 4(116): 1-13.
- ONDO, OP.; C. KEVERS y J. DOMMES. 2015. Behavior of various types of seeds of two species of yams tuber (*Dioscorea cayenensis* Lam. and *Dioscorea rotundata* Poir.). *Gabon International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 5(2): 58-66.
- RODRÍGUEZ, D.; J. LÓPEZ, A. RAYAS, N. MONTANO, A. SANTOS, M. BASAIL, D. REYNALDO; BEOVIDES y V. MEDERO. 2015. Embriogénesis somática en el

- cultivar de plátano 'FHIA-25' (AAB) a partir de ápices meristemáticos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(2): 54-60.
- RODRÍGUEZ, D.; J. LÓPEZ; I. BERMÚDEZ-CARABALLOSO; N. MONTANO; A. RAYAS; M. BASAIL; A. SANTOS; Y. GUTIÉRREZ; V. MEDERO y Y. BEOVIDES. 2018. Regeneración de plantas de *Dioscorea cayenensis* subsp. *rotundata* Poir cultivar 'Blanco de Guinea' a partir de embriones somáticos. *Biotecnología Vegetal*, 18(3): 175-180.
- SHIWACHI, H.; H. KIKUNO y R. ASIEDU. 2005. Mini tuber production using yam (*Dioscorea rotundata*) vines. *Tropical Science*, 54(4): 163-169.