

PRODUCCIÓN DE MATERIAL DE PLANTACIÓN DE ALTA CALIDAD GENÉTICA Y FITOSANITARIA EN YUCA

Víctor Medero Vega*, Rosa Filipia, Sergio Rodríguez Morales, Milagros Basail Pérez, Arletys Santos Pino, Aymé Rayas Cabrera, Jorge López Torres, Iban Arredondo Quevedo, José R. Pino Filipia, Marilyn Martínez Pérez, Marlenys Torres Delgado, Yanelys Bravo Corrales y Carmen Pons Pérez.

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

*Autor para la correspondencia: vicedir.biotech@inivit.cu

RESUMEN

El trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Biotecnología del INIVIT con el objetivo de establecer un sistema integral de producción rápida de "semilla" de alta calidad genética y fitosanitaria en yuca (*Manihot esculenta*, Crantz), mediante el empleo combinado de las técnicas de cultivo de tejidos y el método de reproducción convencional acelerado. Para el establecimiento de la metodología de multiplicación *in vitro* en los Sistemas de Inmersión Temporal (SIT) de plantas regeneradas por embriogénesis y/o organogénesis se estudiaron diferentes tiempos y frecuencias de inmersión, volúmenes de medio de cultivo, momentos de subcultivo, así como la evaluación de la respuesta de las plantas producidas *in vitro* en medio de cultivo semisólido (convencional *in vitro*) y medio de cultivo líquido con Inmersión Temporal. Además, se evaluó la respuesta de las plantas producidas *in vitro* obtenidas en la fase de aclimatización y/o en condiciones de campo. Los resultados obtenidos permitieron establecer una metodología para la micropropagación en los SIT con coeficientes de multiplicación superiores al método convencional *in vitro*. En aclimatización y en condiciones de campo las plantas procedentes del SIT tuvieron una respuesta superior a las procedentes del método de cultivo convencional *in vitro*. Se ajustó la metodología de reproducción convencional acelerada para la multiplicación de la yuca a partir de plantas rejuvenecidas por cultivo de tejidos.

Palabras clave: cultivo de tejidos, micropropagación, semilla de calidad.

CASSAVA PLANTING MATERIAL PRODUCTION OF HIGH GENETIC AND PHYTOSANITARY QUALITY

ABSTRACT

The work was developed at the Plant Biotechnology Laboratory from the Research Institute of Tropical Root and Tuber Crops (INIVIT) with the aim of establishing an integrated system for rapid "seed" production of high genetic and phytosanitary quality in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) by the combined use of tissue culture techniques and accelerated and conventional reproduction methods. In order to establish the *in vitro* propagation method in Temporary Immersion System (TIS) of plants regenerated by embryogenesis and / or organogenesis, different immersion times and frequencies, culture medium volumes, subculture times were studied, and the response of vitroplants in semisolid medium (conventional *in vitro*) and liquid culture medium with temporary immersion was evaluated. Moreover, the response of *in vitro* produced plants in the acclimatization phase and under field conditions was tested. The results allowed

establishing a micropropagation methodology in TIS with multiplication coefficients higher than *in vitro* conventional method. In the acclimatization and field conditions, plants from TIS showed a higher performance than plants from *in vitro* conventional culture method. In addition, the accelerated and conventional reproduction method for cassava multiplication from plants rejuvenated via tissue culture was adjusted.

Keywords: tissue culture, micropropagation, high quality seed.

INTRODUCCIÓN

La yuca (*Manihot esculenta*, Crantz) constituye un alimento energético de importancia primordial en los trópicos, especialmente en África Occidental y el Norte de América del Sur. Además, suple más calorías por área o valor monetario que cualquier otro cultivo (178 calorías/días a nivel mundial), sobrepasando considerablemente en ese aspecto a los cereales y otras raíces y tubérculos (Rodríguez *et al.*, 2000). En Cuba, este cultivo ha incrementado su importancia estratégica para la alimentación humana, animal y otros fines industriales; aunque los rendimientos que se obtuvieron durante el año 2013 a escala nacional fue de 7,0 t.ha⁻¹, los cuales estuvieron por debajo de la media mundial (13,5 t.ha⁻¹), según FAOSTAT (2015). Por tal motivo, esto ha implicado el incremento de las áreas de producción y las perspectivas de trabajos relacionados con la obtención de "semilla" de alta calidad y el mejoramiento genético.

Las técnicas de cultivo de tejidos vegetales constituyen poderosas herramientas que pueden ser aplicadas con éxito para la propagación clonal masiva de genotipos con alto valor genético y agronómico (Fregene *et al.*, 2002), lo cual combinado con otras alternativas de producción intensiva de material de plantación como los Centros de Reproducción Acelerados de Semilla (CRAS) (Filipia *et al.*, 2004), permitirán establecer un sistema integral de producción de semilla que garantice la producción de un material de plantación de alta calidad genética y rejuvenecido fisiológicamente en este cultivo. Debido a lo anterior se propuso el objetivo siguiente:

- Establecer un sistema integral, empleando técnicas de avanzada de cultivo de tejidos combinadas con los métodos convencionales acelerados de propagación, que garanticen la producción de "semilla" de alta calidad en menor tiempo y en un área más reducida.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal, el área del Centro de Reproducción Acelerado de Semilla y en áreas experimentales del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT).

Propagación *in vitro* en Sistema de Inmersión Temporal

Se utilizó el clon 'CMC – 40' del banco de germoplasma del INIVIT, genotipo representativo de los clones comerciales (Milián *et al.*, 2013). Se utilizaron las sales de Murashige y Skoog (MS). Las plantas *in vitro* fueron producidas vía embriogénesis y/o organogénesis, según protocolo descrito por (Medero *et al.*, 2000 y Medero, 2006).

Componentes del Sistema de Inmersión Temporal

Se emplearon baterías de cultivo formadas por dos frascos de vidrio con 200 mL de capacidad, uno para el crecimiento de los explantes y el otro como reservorio de medio

de cultivo. Estos frascos fueron conectados entre sí por una manguera de silicona de 6 mm de diámetro mediante conectores que atraviesan la tapa. El medio de cultivo circuló de un frasco a otro mediante un temporizador programable para la determinación de la frecuencia y la duración de la inmersión. Se utilizaron filtros hidrofóbicos (0,22 μm , Midisart 2000, Sartorius AG) para garantizar la esterilidad y evitar pérdidas por contaminación. La presión de aire fue regulada por un manómetro y se utilizó un compresor de aire libre de aceite y con encendido automático.

Determinación del tiempo de inmersión

Se utilizó el medio de cultivo formado por las sales “MS” suplementado con 0,13 mg.L^{-1} de Tiamina y 0,01 mg.L^{-1} de Ácido Naftalén Acético (ANA) para la multiplicación de los explantes en Sistema de Inmersión Temporal. Se estudiaron tres tiempos de inmersión (5, 10 y 15 minutos), teniendo en cuenta los resultados descritos para otros cultivos en estos sistemas a una frecuencia cada seis horas. Se utilizaron 50 explantes por tratamiento, las evaluaciones se realizaron a los 25 días de cultivo y se evaluó:

- Longitud del explante (cm).
- Número de entrenudos por explante (u).
- Número de hojas activas (u).
- Coeficiente de Multiplicación.
- Peso promedio (g).

Efecto de la frecuencia de inmersión

Se utilizaron las mismas condiciones experimentales antes mencionadas, así como el medio de cultivo. Se empleó la mejor variante del experimento anterior (10 min.) y se varió la frecuencia de inmersión. Las evaluaciones se realizaron a los 25 días de cultivo. Los tratamientos utilizados fueron:

- I: Frecuencia de inmersión cada tres horas
- II: Frecuencia de inmersión cada seis horas
- III: Frecuencia de inmersión cada ocho horas

Determinación del volumen de medio de cultivo

Se utilizaron cuatro volúmenes de medio de cultivo (10; 20; 40 y 60 mL.explante^{-1}). Se utilizó un tiempo de inmersión de 10 minutos a una frecuencia de seis horas (cuatro inmersiones por día). Se utilizaron 50 explantes por tratamiento y tres repeticiones. Las evaluaciones se realizaron a los 25 días de cultivo.

Determinación del momento de subcultivo en el Sistema de Inmersión Temporal

Se formaron cuatro tratamientos: 20, 25, 30 y 35 días de cultivo en frascos de cinco litros. Se utilizaron 50 explantes por tratamiento y tres repeticiones.

Multiplicación del clon ‘CMC – 40’ en el Sistema de Inmersión Temporal

Se evaluó la respuesta de los explantes de yuca por los métodos de propagación convencional *in vitro*, gelificado con agar a razón de 4,5 g.L^{-1} y con el Sistema de Inmersión Temporal descrito ajustado hasta el momento, donde se utilizó un tiempo de inmersión de 10 minutos, una frecuencia de seis horas y 40 mL de medio de cultivo por explante. Las evaluaciones se realizaron a los 30 días de cultivo.

Las plantas producidas *in vitro* obtenidas del Sistema de Inmersión Temporal y del método de propagación convencional (semisólido) fueron colocadas en el medio de cultivo semisólido de enraizamiento formado por las sales y vitaminas “MS” suplementado con 0,13 mg.L⁻¹ de Tiamina + 0,01 mg.L⁻¹ de ANA solidificado con agar a razón de 4,50 g.L⁻¹ y un pH de 5,7, durante 35 días de cultivo.

Respuesta de las plantas producidas *in vitro* durante la fase de aclimatización

Las plantas enraizadas, se separaron en dos grupos:

- Procedentes del Sistema de Inmersión Temporal.
- Procedentes del método de propagación (semisólido).

La plantación se realizó sobre bandejas de polieturano con 70 alvéolos y como sustrato se empleó cachaza bien descompuesta con zeolita a una proporción de 3:1, utilizando cámaras húmedas según Paz (2012). Las evaluaciones se realizaron a los 45 días de plantadas y se tuvo en cuenta lo siguiente:

- Longitud del tallo (cm).
- Número de hojas.
- Porcentaje de supervivencia (%).
- Número de raíces.

Propagación Convencional Acelerada a partir de plantas producidas *in vitro*

Se aplicó la metodología descrita por Filipia *et al.* (2004), donde se disponía de: un área para la propagación y una cámara para enraizamiento de las estacas, provenientes de plántulas producidas *in vitro* y previamente aclimatizadas. Las plantas producidas *in vitro*, a los 60 días de aclimatización, fueron plantadas en bolsas de polietileno de 27 x 27 centímetros y con capacidad de un galón, que contenían una mezcla de suelo y materia orgánica con una proporción de 3:1.

Evaluación de las plántulas obtenidas en condiciones de campo

Se realizó con el objetivo de evaluar la respuesta de las plantas producidas *in vitro* procedentes del Sistema de Inmersión Temporal y plantas del método convencional en campo. Para cada variante se plantaron 1 000 plantas, donde la distancia de plantación fue de 0,90 m x 1,10 m. Las atenciones culturales, labores de cultivo y control de plagas y enfermedades se realizaron según las recomendaciones del Instructivo Técnico para la producción de semilla de Yuca (MINAG, 2012). Las evaluaciones se realizaron a los 10 meses de la plantación y las variables fueron las siguientes:

- Altura de la planta (cm).
- Altura a la primera ramificación (cm).
- Rendimiento por planta (kg).

Procesamiento estadístico

Los datos se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza de clasificación simple para los modelos paramétricos y la comparación múltiple de medias se realizó según las dójimas de Tukey. El nivel de significación fijado para todas las pruebas fue del 95%, o sea $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación del tiempo de inmersión

En la Tabla 1, el tiempo de inmersión durante 10 minutos fue el que mejores resultados obtuvo en todas las evaluaciones realizadas (10,40 cm para la longitud del explante, 6,65 entrenudos, 5,05 hojas activas, un coeficiente de multiplicación de 5,20 y 0,48 g de peso) con diferencias significativas respecto a los dos tratamientos restantes. La respuesta menos favorable en todas las variables evaluadas se observó cuando los explantes fueron sometidos a inmersiones por cinco minutos (para la longitud del explante 5,70 cm, 3,45 entrenudos por explante, 2,70 hojas activas promedio, un coeficiente de multiplicación de 2,30 y 0,15 g para el peso del explante).

Tabla 1. Efecto del tiempo de inmersión sobre las variables evaluadas en el clon de yuca 'CMC – 40'.

Tratamiento	Longitud explante (cm)	Entrenudos explante	Número de hojas activas	Coefic. multip.	Peso promedio (g)
5 minutos	5,70 c	3,45 c	2,70 b	2,30 c	0,15 c
10 minutos	10,40 a	6,65 a	5,05 a	5,20 a	0,48 a
15 minutos	7,25 b	4,60 b	3,05 b	4,95 b	0,31 b
ES ±	0,79 *	0,21*	0,14 *	0,17*	0,01*
CV (%)	18,63	19,36	17,56	15,30	11,66

Letras desiguales dentro de cada columna difieren para $p < 0,05$ según prueba de Tukey.

El tiempo de inmersión es considerado uno de los factores más importantes en la respuesta morfogénica del material vegetal a micropropagar. Al respecto, Lorenzo *et al.*, (1999) en el cultivo de la piña encontraron que con un tiempo de inmersión de dos minutos con una frecuencia de tres horas se lograron los mayores incrementos en el coeficiente de multiplicación y por lo tanto se facilitó una mayor eficiencia en la asimilación de nutrientes por los explantes.

Efecto de la frecuencia de inmersión

En la Tabla 2, se puede observar que el mejor resultado se logró al utilizar una frecuencia cada seis horas de inmersión (cuatro inmersiones por día) y un tiempo de inmersión de 10 minutos con diferencias significativas respecto a las frecuencias de tres y ocho horas, respectivamente.

Tabla 2. Efecto de la frecuencia de inmersión en el clon de yuca 'CMC – 40'.

Tratamiento	Longitud explante (cm)	Entrenudos por explante	Número de hojas activas	Coefic. multip.	Peso promedio (g)
3 horas	6,92 b	5,30 b	3,70 c	4,45 b	0,38 b
6 horas	10,40 a	6,65 a	5,05 a	5,20 a	0,48 a
8 horas	4,62 c	4,70 c	4,30 b	3,96 c	0,23 c
ES ±	0,48 *	0,25 *	0,19 *	0,14*	0,04 *
CV (%)	18,67	19,37	20,00	16,38	21,13

Letras desiguales dentro de cada columna difieren para $p < 0,05$ según prueba de Tukey.

Colmenares y Jiménez (2003) en el banano, clon 'Gran Enano', con inmersiones de dos minutos cada cuatro horas obtuvo un coeficiente de multiplicación de 7,5 y para 20 minutos cada cuatro horas un índice de multiplicación superior.

Determinación del volumen de medio de cultivo

El tratamiento de 40 mL.explante⁻¹ mostró la respuesta más favorable (Tabla 3), con diferencias significativas con los demás tratamientos. La variante de 10 mL.explante⁻¹ presentó la peor respuesta en todas las evaluaciones realizadas con las medias más bajas (4,45 para el coeficiente de multiplicación, 6,54 cm de longitud del explante, 3,95 cm para el número de entrenudos, 2,75 hojas activas y 0,19 g de peso).

Tabla 3. Efecto del volumen de medio de cultivo sobre las variables evaluadas en el clon de yuca 'CMC – 40'.

Tratamiento (mL.explante ⁻¹)	Coefic. Multip.	Longitud explante (cm)	Entrenudos por explante	Hojas Activas	Peso promedio (g)
10	4,45 c	6,54 c	3,95 c	2,75 c	0,19 c
20	5,40 b	8,92 b	5,00 b	3,78 b	0,30 b
40	6,65 a	10,25 a	6,15 a	5,10 a	0,45 a
60	4,55 c	9,20 b	4,31 c	3,96 b	0,25 b
ES ±	0,09*	0,33*	0,18*	0,19*	0,01*
CV (%)	15,50	20,50	18,80	7,80	21,00

Letras desiguales dentro de cada columna difieren para p<0,05 según prueba de Tukey.

Resultados similares han sido obtenidos por Medero *et al.*, 2001 y Basail *et al.*, 2003. Por otra parte, Lorenzo *et al.* (1999) en el cultivo de la piña en Sistema de Inmersión Temporal emplearon 200 mL de medio de cultivo por explante, de modo que volúmenes por encima afectaron la asimilación de nutrientes, con la consiguiente disminución de los coeficientes de multiplicación.

Determinación del momento de subcultivo

Luego de evaluar las variables definidas en este experimento se pudo determinar que el mejor tiempo de subcultivo fue a los 30 días, sin diferencias significativas con el tratamiento de 35 días de cultivo pero sí con diferencias significativas respecto al resto de los tratamientos, lo que demostró que en períodos menores de incubación el material no posee la calidad cualitativa ni cuantitativa para realizar el subcultivo (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto del tiempo de incubación en el clon de yuca 'CMC – 40'.

Tratamiento	Coefic. multip.	Longitud explante (cm)	Entrenudos por explante	Hojas activas	Peso promedio (g)
20 días	4,45 c	6,42 c	3,95 c	2,75 c	0,14 c
25 días	5,22 b	8,31 b	4,30 b	3,10 b	0,22 b
30 días	6,65 a	10,25 a	6,15 a	5,10 a	0,45 a
35 días	6,58 a	10,27 a	6,18 a	5,04 a	0,47 a
ES ±	0,12*	0,33 *	0,18 *	0,19 *	0,01 *
CV (%)	16,01	20,50	18,80	7,80	21,00

Letras desiguales dentro de cada columna difieren para $p < 0,05$ según prueba de Tukey.

Lorenzo *et al.* (1999), en el cultivo de la piña demostraron que períodos prolongados de tiempo promovieron la deformación de los brotes y por lo tanto afectaron el número de brotes que se podía obtener.

Multiplicación del clon 'CMC – 40' de yuca

En todas las variables evaluadas el Sistema de Inmersión Temporal fue el de mejor respuesta (6,89 para el coeficiente de multiplicación, 10,32 cm para la longitud del explante, 6,36 para el número de entrenudos, 5,45 número de hojas activas y 0,39 g para el peso promedio del explante) y el más desfavorable con diferencias estadísticas fue el método convencional de propagación en medio de cultivo sólido (2,40 para el coeficiente de multiplicación, 3,55 cm para la longitud del explante, 3,35 cm para el número de entrenudos, 2,95 hojas activas y 0,11g para el peso del explante (Tabla 5).

Tabla 5. Efecto de los métodos de propagación estudiados sobre las variables evaluadas en el clon de yuca 'CMC – 40'.

Tratamientos	Coefic. Multip.	Longitud explante (cm)	Entrenudos por explante	Hojas Activas	Peso promedio (g)
SIT	6,89	10,32	6,36	5,45	0,39
Método Convencional	2,40	3,55	3,35	2,95	0,11
T	-8,30*	-5,47*	-2,78*	-4,43*	-1,40*

Al respecto Jiménez *et al.* (1999), demostraron la superioridad de SIT ante los métodos convencionales de micropropagación en papa tanto en la variedad 'Desiree' como 'Atlantic'; donde alcanzaron un incremento en la altura de las plantas y el número de entrenudos hasta 22,5 cm y 11,5 entrenudos por planta en comparación con 6,5 cm de altura y 4,5 entrenudos por planta en la propagación en medios de cultivo solidificados con agar. Para la etapa de inducción de tubérculos, en el SIT se incrementaron de 1,15 a 3,0 tubérculos por planta comparados con los frascos tradicionales de cultivo y el peso promedio de los tubérculos aumentó de 160 mg a 1,04 g, donde se alcanzó una proporción de más del 60% de los tubérculos con calibre mayor de 7,0 mm.

Respuesta de las plantas producidas in vitro durante la fase de aclimatización

Al evaluar las características del crecimiento de las plantas producidas *in vitro* provenientes del Sistema de Inmersión Temporal (SIT) con el método convencional (semisólido), se observó que el porcentaje de supervivencia de las plántulas en la fase de aclimatización fue de 98,20% en las obtenidas con el SIT y de 94,65% en las procedentes del método convencional *in vitro*, lo que demuestra la alta calidad del material obtenido en el SIT. Al evaluar la posible variación somaclonal no se observó, por métodos visuales, la presencia de plántulas fuera de tipo en ninguno de los tratamientos. Sin embargo, se demostró que el Sistema de Inmersión Temporal incrementó de forma significativa todos los parámetros evaluados con respecto al método de propagación convencional (Tabla 6).

Tabla 6. Respuesta de las plantas obtenidas por el Sistema de Inmersión Temporal y el método de micropropagación convencional en fase de aclimatización.

Tratamiento	Longitud del tallo (cm)	Número de hojas	Supervivencia (%)	Número de raíces
SIT	14,60	5,99	98,20	8,50
Método Convencional	9,26	4,32	94,65	5,42
T	- 6,43**	- 2,36**	- 12,34*	- 2,56**

Resultados similares han sido obtenidos por Paz (2012), quien a los 60 días de la aclimatización alcanzó en plántulas de los clones 'CMC-76', 'CMC-40' e 'INIVIT Y 93-4' una altura promedio de 12,9 cm, un diámetro del tallo de 5,2 mm en su parte basal y 4,7 hojas activas por lo que estaban listas para su plantación a campo. De igual forma García (2012) obtuvo plántulas de yuca aclimatizadas, a los 45 días del trasplante, con una altura de 12,0 cm y más de cinco hojas activas. Es conocido que dentro de los principales problemas que presentan las plantas cultivadas *in vitro* se encuentra la ineficiente absorción y transporte de agua, debido a una conexión vascular incompleta entre la raíz y el brote (Sosa *et al.*, 2009 y Hurtado, 2010).

Propagación Convencional Acelerada a partir de plantas producidas in vitro

Se logró la propagación convencional acelerada a partir de plantas con dos meses de edad desarrolladas en bolsas con una altura entre 30 y 50 cm. De ellas se cortaron secciones apicales y de yemas axilares con una longitud aproximadamente de 5 cm. En cámaras de enraizamiento las plántulas desarrollaron de 3-5 raíces con un tamaño óptimo de 1-2 cm de longitud, y a los 30 días estaban listas para su trasplante definitivo a campo.

Evaluación de las plántulas obtenidas en condiciones de campo

Los mejores resultados en las variables evaluadas se obtuvieron con las plantas procedentes del Sistema de Inmersión Temporal, con diferencias significativas respecto a los valores alcanzados por las plantas procedentes del método de propagación convencional en campo (Tabla 7). No se observaron plantas fuera tipo y la población evaluada se caracterizó por su homogeneidad.

Tabla 7. Respuesta del clon de yuca 'CMC – 40' en condiciones de campo, a los 10 meses de la plantación.

Tratamiento	Altura total (cm)	Altura primera ramificación (cm)	Rendimiento (kg.planta ⁻¹)
SIT	255,60	133,50	4,38
Método Convencional	246,50	125,80	4,02
T	2,23 *	1,22 *	0,86 *

En condiciones *ex vitro* se demostró que las plantas producidas por el sistema integral de producción de material de plantación de alta calidad en yuca, son genéticamente

estables y en estudios anteriores de la durabilidad del efecto de rejuvenecimiento se determinó que las plantas producidas por métodos biotecnológicos son factibles cinco ciclos de cultivo en campo (Medero, 2006), con rendimientos superiores a los obtenidos por estacas procedentes del método tradicional.

En general, se logró desarrollar una metodología de trabajo para la producción de material de plantación en yuca a partir de plantas producidas *in vitro*, la cual se describe a continuación:

- Producir en condiciones de laboratorio por Sistema de Inmersión Temporal o convencional *in vitro*, plantas con calibres superiores a 2,1 cm de altura.
- Aclimatizar las plantas producidas *in vitro* mediante el empleo de cámara húmeda con bolsas de *nylon* transparente como cobertor durante 45-60 días.
- Trasplantar las plántulas a bolsas de polietileno con un sustrato formado por una mezcla de suelo y materia orgánica a una proporción de 3:1.
- Cortar segmentos de tres yemas, que incluyen la apical, cuando las plantas alcanzan entre 30 y 50 cm de altura.
- Sumergir dichas estacas en una solución con hormona enraizadora (Ácido Indol Butírico) por cinco minutos, para lograr el 100% en la formación de raíces.
- Colocar las estacas procedentes de las plantas *in vitro* en frascos de cristal (pomos de penicilina) con agua estéril dentro de las cámaras de enraizamiento, durante 30 días aproximadamente (Figura 1 y 2).

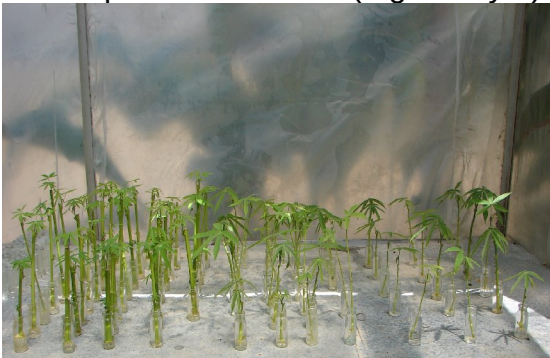


Figura 1. Cámara de enraizamiento de estacas de yuca.



Figura 2. Estacas enraizadas listas para el trasplante a bolsa a los 30 días.

Se demostró que a partir de un número limitado de plantas producidas *in vitro* se pueden producir un gran cantidad de estacas y posteriormente plántulas que constituyen un excelente material de plantación como semilla original de yuca.

Finalmente, la ventaja de la investigación no sólo consiste en la obtención y puesta a punto de los protocolos de regeneración *in vitro* de la yuca, sino en la utilización de las plantas saneadas y rejuvenecidas como material original en el Esquema Nacional de Producción de Semilla Categorizada.

CONCLUSIONES

1. Se estableció una metodología para la propagación en Sistema de Inmersión Temporal a partir de plantas producidas *in vitro*, regeneradas por embriogénesis somática y/o organogénesis.

2. Se desarrolló un sistema integral de producción de “semilla” de alta calidad genética y fitosanitaria en yuca, al ajustar la metodología de reproducción convencional acelerada a partir de plantas rejuvenecidas por cultivo de tejidos.

BIBLIOGRAFÍA

- BASAIL, M.; V. MEDERO; M. CABRERA; A. SANTOS, J. LÓPEZ; J. VENTURA; M. GARCÍA, A. RAYAS; C. PONS; M. MARTÍNEZ Y J. GARCÍA. 2003. Efecto de la densidad de explantes y el volumen de medio en la micropropagación de la yuca en Sistemas de Inmersión Temporal. *Revista de Biotecnología Vegetal*. 3(2): 95-98.
- COLMENARES, M. Y C. JIMÉNEZ. 2003. Multiplicación *in vitro* *Musa* spp. mediante el Sistema de Inmersión Temporal. *Rev. Fac. Agron.* 20(4):468-477, Venezuela.
- FAOSTAT. 2015. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Dirección de Estadística. En: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>, Consultado: 3 de junio 2015.
- FILIPIA, R., J.A. PINO, S. RODRÍGUEZ Y R. M. PINO. 2004. Producción acelerada convencional en yuca. Plegable. Instituto de investigaciones de Viandas Tropicales.
- FREGENE, M.; J. TOHME; W. ROCA; P. CHAVARRIAGA; R. ESCOBAR Y H. CEBALLOS. 2002. Biotecnología para la yuca. Capítulo 21. En: Ospina, B. y H. Ceballos. (Eds.). La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. CIAT, Cali, Colombia. pp. 377-405.
- GARCÍA, R. 2012. Escalado de la propagación *in vitro* de la yuca en la Biofábrica de Cienfuegos. Tesis para optar por el grado de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Cienfuegos “Carlos Rafael Rodríguez”, 34p.
- HURTADO, O. 2010. Aclimatización y multiplicación vegetativa en casas de cultivo de plantas cultivadas *in vitro* de *Bambusa vulgaris* var. *vulgaris* Schrad. ex Wendl. Tesis en opción al título de Magister Scientiae en Biotecnología Vegetal, IBP-UCLV. 63 p.
- JIMÉNEZ, E.; N. PÉREZ; M. DE FERIA; R. BARBÓN; A. CAPOTE; M. CHÁVEZ; E. QUIALA; J. C. Pérez. 1999. Improved production of potato microtubers using a temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 59: 19-23.
- LORENZO J.; M. ESCALONA; B. GONZÁLEZ *et al.* 1999. Pineapple (*Ananas Comosus* (L.) Merr.) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Reports* 18(9):743-748.
- MEDERO, V.; C. BORROTO; S. RODRÍGUEZ; R. GÓMEZ; J. LÓPEZ; M. GARCÍA; J. DE LA C. VENTURA; L. DEL SOL *et al.* 2000. Embriogénesis somática a partir de meristemos axilares de yuca. *Revista Biotecnología Vegetal* 1:21-26.
- MEDERO, V.; S. RODRÍGUEZ; C. BORROTO; R. GÓMEZ; J. LÓPEZ; M. DE FERIA; M. GARCÍA; J. DE LA C. VENTURA; L. DEL SOL; M. CABRERA; C. PONS; M. MARTÍNEZ; M. ALVAREZ Y J. GARCÍA. 2001. Sistema de Inmersión Temporal para producción intensiva de material de siembra de yuca. *Continente yuquero*; Informativo de CLAYUCA. Colombia. No. 3. Enero, p. 10-11.
- MEDERO, V. 2006. Embriogénesis Somática en Yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad de Ciego de Ávila. 101 p.

- MILIÁN, M. D.; S. RODRÍGUEZ; A. MORALES; E. ESPINOSA; J. VENTURA; Y. FIGUEROA; D. RODRÍGUEZ; Y. RODRÍGUEZ; Y. BEOVIDES; M. BASAIL; J. A. CRUZ; E. RUIZ; L. GONZÁLEZ e I. ARREDONDO. 2013. Identificación de cultivares comerciales resilientes a los efectos del cambio climático. Oficina para las Naciones Unidas PNUD, Cuba, p. 24.
- MINAG. 2012. Instructivo técnico para la producción de semillas de viandas. La Habana. p. 9-30.
- PAZ, E. 2012. Nueva metodología para la aclimatización de vitroplantas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) y su respuesta en campo. Tesis para optar por grado de Ingeniero Agrónomo, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, 42p.
- RODRÍGUEZ, S.; M. FOLGUERAS Y V. MEDERO. 2000. La yuca en Cuba. *Continente Yuquero*. Informativo del Consorcio Latinoamericano y del Caribe de Apoyo a la Investigación y Desarrollo de la Yuca, CLAYUCA. Colombia. N° 2. Agosto, 5p.
- SOSA, R.F.; M. ORTIZ; S. HERNÁNDEZ; R. ARMAS Y P. GUILLEN. 2009. *In vitro* acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108(3):386-389.