

INFLUENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO ESTÁTICO CON SOPORTE EN LA MICROPROPAGACIÓN DE *Dioscorea alata* L. CULTIVAR 'BELEP'

Dayana Rodríguez*, Jorge López, Yadenis Torres, Milagros Basail, Aymé Rayas, Arletys Santos, Yenisey Gutiérrez, Víctor Medero, Yoel Beovides, Marisel Bauta.

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apartado 6, Santo Domingo CP. 53000, Villa Clara, Cuba.

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

RESUMEN

El ñame es un cultivo de excelente sabor, alto contenido de nutrientes y resistente a la sequía. Constituye una fuente importante de alimento a nivel mundial, sin embargo, su desarrollo extensivo ha estado limitado por la poca disponibilidad de material vegetal de plantación con adecuada calidad fisiológica y sanitaria. La propagación *in vitro* de segmentos nodales en medio de cultivo líquido estático es afectada por problemas de hipoxia, fenómeno que provoca un efecto depresivo sobre el crecimiento de los explantes. El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar el efecto del soporte de papel de filtro sobre el crecimiento de los segmentos nodales de ñame 'Belep', durante su multiplicación *in vitro* en medio de cultivo líquido estático. Se determinó que el uso del soporte de papel en el medio de cultivo líquido incrementó la longitud de los segmentos nodales y el desarrollo integral de los explantes de ñame.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, segmentos nodales.

INFLUENCE OF STATIC LIQUID CULTURE MEDIUM WITH SUPPORT IN THE MICROPROPAGATION OF *DIOSCOREA ALATA* L. 'BELEP' CULTIVAR

ABSTRACT

Yam is a crop of excellent taste, high nutrient content and elevated drought resistance. It is an important source of food worldwide, however, its extensive development has been limited by the scarce availability of planting material that has an adequate physiological and sanitary quality. The *in vitro* propagation of nodal segments in static liquid culture medium is affected by problems of hypoxia, a phenomenon that causes a depressive effect on the growth of the explants. The present work was carried out with the objective of determining the effect of the filter paper as a support on the growth of the nodal segments of 'Belep' yam during *in vitro* multiplication in static liquid culture medium. It was determined that the use of the paper as a support in this culture medium increased the length of the nodal segments and the integral development of the yam explants.

Keywords: *in vitro* culture, nodal stem segments.

INTRODUCCIÓN

El ñame (*Dioscorea* spp) se caracteriza por su excelente sabor, alto contenido de nutrientes, alta productividad y resistencia a la sequía. Se cultiva en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, con una producción mundial estimada de 68,13 millones de toneladas y rendimientos de 8,7 t.ha⁻¹ (FAOSTAT, 2014). Sin

embargo, su desarrollo extensivo ha estado limitado por la poca disponibilidad de material vegetal de plantación con adecuada calidad fisiológica y sanitaria. Además, los tubérculos subterráneos constituyen la parte útil de la planta para la alimentación y son utilizados como material vegetal de plantación, unido a las drásticas reducciones debido a infecciones virales y nemátodos (Ondo *et al.* 2015).

La propagación *in vitro* en medios de cultivo líquido presenta ventajas sobre la propagación en medios de cultivo semisólido, pero aún cuenta con limitaciones críticas en términos de eficiencia. Con el uso de los medios de cultivo líquido estático en la propagación *in vitro* de esta especie se ha logrado un incremento en el crecimiento de los entrenudos a pesar de las pérdidas ocurridas por hipoxia o la hiperhidricidad, asociados al cultivo líquido estacionario, que provocan un efecto depresivo sobre el crecimiento de los tejidos vegetales (Engelman *et al.* 2014).

El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar la influencia del papel de filtro como soporte en el medio de cultivo líquido estático sobre el crecimiento de los explantes de ñame cv. 'Belep' (*Dioscorea alata* L.), durante su propagación *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), ubicado en Santo Domingo, Villa Clara, Cuba. El mismo se llevó a cabo durante el período comprendido entre enero y marzo de 2017.

Se utilizaron como explantes segmentos nodales de ñame cv. 'Belep' procedentes de plantas *in vitro* con 35 días de cultivo en la etapa de multiplicación, según la metodología propuesta por (Cabrera, 2009).

Para el montaje del experimento se utilizó el medio de cultivo Murashige y Skoog (1962), (sales y vitaminas), suplementado con 1g.L^{-1} de carbón activado, 30g.L^{-1} de sacarosa sin la adición de reguladores de crecimiento y en estado líquido. Fueron vertidos 10 mL del medio de cultivo por cada tubo de ensayo sin soporte y con soporte. Adicionalmente se incluyó como control el mismo medio de cultivo en estado semisólido gelificado con 2g.L^{-1} de Gelrite (Duchefa®).

Las condiciones de cultivo fueron temperatura de $27\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ e iluminación artificial, con un régimen de 16 h de luz a una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (FFF) de $62\text{-}68\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 8 h de oscuridad.

Cada tratamiento utilizado estuvo formado por 40 explantes constituido cada uno por un segmento nodal entre 2-3 cm de longitud, incubados durante 30 días en las condiciones de cultivo descritas anteriormente. Las variables evaluadas fueron: altura de la planta *in vitro* (cm), número de entrenudos, número de hojas y presencia de brotes y callos.

Para la comparación de los tratamientos, se aplicaron los análisis estadísticos de HSD de Tukey y Chi cuadrado, con un nivel de significación de $p\leq 0,01$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Transcurridos 30 días de cultivo, los explantes cultivados en el medio de cultivo líquido con soporte mostraron los mejores resultados para todas las variables evaluadas, con diferencias estadísticas significativas con el resto de los tratamientos (Tabla 1 y Figura 1). Con el empleo de estas condiciones de cultivo se obtuvo un mejor desarrollo integral y supervivencia de los explantes, se logró disminuir la callosidad producida en la base de los mismos, así como la presencia de brotes múltiples (Figura 1b, c).

Resultados similares fueron señalados por Albany *et al.* (2015) en el cultivo de zábila, quienes obtuvieron los mayores valores en la altura y la supervivencia de los explantes establecidos en el medio de cultivo líquido con soporte, en comparación con el medio de cultivo semisólido a los 21 días de cultivo. También, Guiñazú *et al.* (2005) en vid var. 'Criollas' refirieron marcadas diferencias en la supervivencia de los explantes (100%) al colocarlos en medio de cultivo líquido con soporte. Respuesta probablemente relacionada con la facilidad que ofrecen los medios líquidos para absorber los nutrientes, mientras que en los medios semisólidos pasan a formar parte de la matriz del gel, lo cual dificulta su extracción del medio.

En el caso de los explantes cultivados en medio de cultivo líquido sin soporte se observó la presencia de un 25% de callos en la base de los explantes, lo cual impidió el desarrollo del brote. El desarrollo de pequeños brotes múltiples no fue apto para el proceso de propagación *in vitro* (Figura 1b).

Tabla 1. Efecto del estado físico del medio de cultivo y el soporte en el crecimiento de los explantes de ñame cv. 'Belep', a los 30 días de cultivo

Condiciones de cultivo	Altura de la planta (cm)	Número de entrenudos por planta	Números de hojas	Brotes múltiples	Presencia de callo (%)
LCS	2,37 a*	2,82 a*	3,62 a*	0,00 b	0% b
LSS	1,60 b	1,88 b	2,96 a	1,12 a*	25% a **
Sólido	1,50 b	1,02 c	1,65 b	0,00 b	0% b

*Medias con letras distintas difieren estadísticamente entre los tratamientos para $p \leq 0,01$ según prueba de HSD de Tukey

** Medias con letras distintas difieren estadísticamente entre los tratamientos para $p \leq 0,01$ según prueba de Chi cuadrado)

Leyenda: LCS: Medio de cultivo líquido con soporte; LSS: Medio de cultivo líquido sin soporte; Sólido: Medio de cultivo semisólido

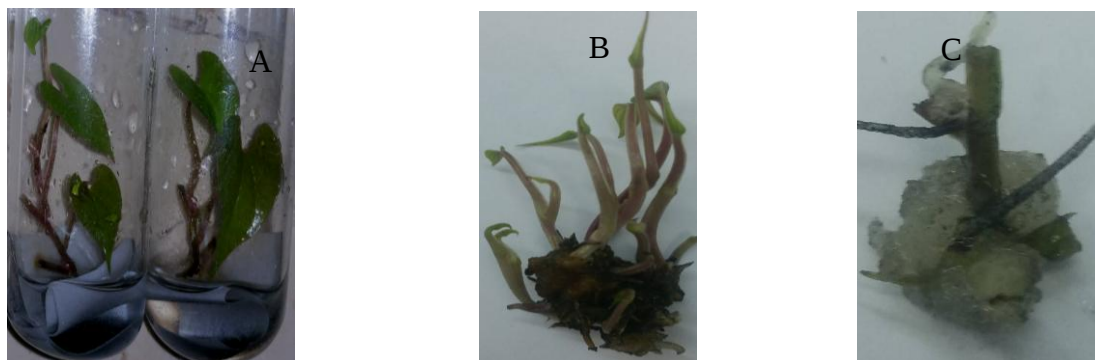


Figura 1. Efecto del medio de cultivo líquido estático con y sin soporte en el crecimiento de los explantes de ñame cv. 'Belep' a los 30 días de cultivo. **A** Plantas *in vitro* cultivadas con soporte de papel de filtro; **B** Brotes múltiples en medio de cultivo líquido sin soporte; **C** Desarrollo de callo sobre la base del explante.

Según Pierik (1990), el empleo de soportes físicos en los medios de cultivo líquidos en condiciones estáticas, permiten que los explantes no queden totalmente sumergidos en el medio de cultivo, lo cual evita la asfixia y, garantiza una buena aireación y desarrollo de los mismos.

CONCLUSIONES

Se determinó que el uso del papel de filtro como soporte en medio de cultivo líquido estático incrementó la longitud de los segmentos nodales y el desarrollo integral de los explantes de ñame cv. 'Belep' durante su multiplicación *in vitro*.

BIBLIOGRAFIA

- ALBANY, N.R.; J. VILCHEZ; S. LEÓN; A.R. NAVA; L.J. MARTÍNEZ y M.A. MOLINA. 2015. Medios de cultivo líquidos: un avance para la micropropagación comercial de zábila (*Aloe barbadensis* Mill.). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17 (1): 24-31.
- CABRERA, M.A. 2009. Empleo de métodos biotecnológicos para la propagación del ñame. *Biotecnología Vegetal*, 9(4): 195-209.
- ENGELMANN, F.; I. SYLVESTRE; E. DÉCHAMP; P. ILBERT; H. ETIENNE and F. POLZIN. 2014. Effect of activated charcoal on multiplication of African yam (*Dioscorea cayenensis-rotundata*) nodal segments using a temporary immersion bioreactor (RITA®). *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 50:210-216.
- FAOSTAT. 2014. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura Dirección de Estadística. Consultado: 6 de marzo de 2017: Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- GUIÑAZÚ, M.E.; M.T. PONCE; J. GUZMÁN; D.E. JUÁREZ y M.A. CIRINCIONE. 2005. Micropropagación de vid. Protocolo para variedades "Criollas". *Revista FCA UNCuyo*, 37(2): 93-103.
- MURASHIGE, T. and F. SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*, 15: 473-497.
- ONDO, O.P.; C. KEVERS and J. DOMMES. 2015. Behavior of various types of seeds of two species of yams tuber (*Dioscorea cayenensis* Lam. and *D. rotundata* Poir.) in Gabon. *IRJAS*, 5(2): 58-66.
- PIERIK, L. M. 1990. Preparación y composición de los medios nutritivos. En: Cultivo *in vitro* de plantas superiores. (Eds) Mundi-Prensa, Madrid, España, p. 49-84.