

Formación de callos con estructuras embriogénicas en *Dioscorea rotundata* Poir cv. 'Blanco de Guinea'

Dayana Rodríguez González*, Jorge López Torres, Nery Montano, Aymé Rayas Cabrera, Milagros Basail Pérez, Yoel Beovides García, Arletys Santos Pino, Víctor Medero Vega, Yenisey Gutierrez Sánchez *Autor para correspondencia

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Finca Tres Carolinas Apdo. 6, CP 53 000. Santo Domingo, Villa Clara. e-mail: tculture.biotech@inivit.cu

RESUMEN

El ñame contribuye a los requerimientos energéticos y nutricionales de gran parte de la población de los países en cultivo, sin embargo, su desarrollo extensivo se ve limitado por la poca disponibilidad de material de plantación con calidad fisiológica y sanitaria, y además, parte de la cosecha es utilizada como semilla en la próxima plantación. Por tal razón, es necesario establecer una metodología eficiente de regeneración de plantas como la embriogénesis somática que facilite su micropropagación y el mejoramiento genético del cultivo. El presente trabajo tuvo como objetivo formar callos con estructuras embriogénicas en *Dioscorea rotundata* Poir cv. 'Blanco de Guinea'. Se determinó el efecto de la adición de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (0, 1.0, 2.0 y 4.0 mg l⁻¹), en combinación con tres tipos de explantes procedentes de plantas *in vitro* (hojas con pecíolo, segmentos de pecíolos y secciones de raíz). El mayor porcentaje de callos con estructuras embriogénicas se obtuvo con 1.0 mg l⁻¹ de 2,4-D y hojas con pecíolo como explante. Estos se caracterizaron por la presencia de nódulos compactos de coloración blanquecina.

Palabras clave: ácido 2,4-diclorofenoxiacético, embriogénesis somática, micropropagación, ñame

Embryogenic callus formation in *Dioscorea rotundata* Poir cv. 'Blanco de Guinea'

ABSTRACT

Yam contributes to energy and nutritional requirements of most of the population of developing countries. However, their extensive culture is constrained by the limited availability of planting material with physiological and sanitary quality, and also part of the harvesting is used as seed in the next planting. For this reason, it is necessary to establish a methodology for plant regeneration and somatic embryogenesis could facilitate their micropropagation and genetic improvement. This study aimed to form embryogenic callus in *Dioscorea rotundata* Poir cv. 'White Guinea'. The effect of the addition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) (0, 1.0, 2.0 and 4.0 mg l⁻¹) was determined, in combination with three types of explants from *in vitro* plants (leaves petiole, petiole segments and root sections). The highest percentage of embryogenic callus was obtained with 1.0 mg l⁻¹ 2,4-D and leaves with petiole as explants. These were characterized by the presence of compact whitish nodules.

Key words: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, somatic embryogenesis, micropropagation, yam

INTRODUCCIÓN

El cultivo del ñame (*Dioscorea* spp.) constituye una fuente importante de alimento a nivel mundial, debido a su amplia gama de usos: alimentos básicos, fuente de empleo rural e ingresos para la población (Tamiru *et al.*, 2008). Se cultiva en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, con una producción

mundial estimada de 63.05 millones de toneladas y rendimientos de 11.7 t ha⁻¹ (FAOSTAT, 2014).

Dentro de este género, *Dioscorea rotundata*, P., es una de las especies que posee mayor importancia económica debido a su excelente sabor, alto valor nutritivo y arraigados hábitos de consumo. En Cuba, su producción ha ayudado a la

diversidad y estabilidad alimentaria en el mercado (Rodríguez, 2006). Sin embargo, su cultivo extensivo ha estado limitado entre otras causas, por la poca disponibilidad de material vegetal de plantación con adecuada calidad fisiológica y sanitaria, ya que los tubérculos, que constituyen la parte útil de la planta para la alimentación, también tienen que ser utilizados como material vegetal de plantación (Rodríguez, 2004). Para su propagación *in vitro* el método más empleado es la organogénesis, a partir de segmentos nodales de diferentes cultivares (Medero *et al.*, 1999; Borges *et al.*, 2004), los cuales han presentado bajos coeficientes de multiplicación. Suárez *et al.* (2011) señalaron la necesidad de desarrollar otros métodos de regeneración de plantas. Todo lo cual hace que sea necesario establecer una metodología de regeneración de plantas vía embriogénesis somática que pueda facilitar la propagación de plantas con calidad genética para su uso en la producción de semillas y en el mejoramiento genético de este cultivo.

Teniendo en cuenta lo anterior, el presente trabajo se realizó con el objetivo de formar callos con estructuras embriogénicas en ñame cv. 'Blanco de Guinea'.

MATERIALES Y MÉTODOS

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

Se utilizó ñame cv. 'Blanco de Guinea' procedente del Banco de germoplasma del INIVIT. Se empleó para los experimentos el medio de cultivo propuesto por Murashige y Skoog (1962) (sales y vitaminas), con 30 g l⁻¹ de sacarosa y solidificado con 2 g l⁻¹ de Gelrite® (SIGMA).

Con el objetivo de disponer de la cantidad de material vegetal necesaria para el montaje de los experimentos (toma de explantes) se procedió al establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de ñame 'Blanco de Guinea' según la metodología propuesta por Cabrera (2009).

Con el propósito de formar callos con estructuras embriogénicas se determinó el efecto de tres tipos de explantes (hojas con peciolo, segmentos de peciolo y secciones de raíz) y la adición de ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) (0, 1.0, 2.0 y 4.0 mg l⁻¹) que se añadió a cada tratamiento de forma independiente.

Los explantes procedían de plantas *in vitro* de 35 días de cultivo, los cuales se colocaron en placas de Petri que contenían el medio de cultivo propuesto por Suárez *et al.* (2011).

Se emplearon 50 placas de Petri (80 x 15 mm) con 15 ml de medio de cultivo por tratamiento, estas se sellaron con Parafilm® y se colocaron en la oscuridad a 25°C hasta su evaluación a las 12 semanas.

Al final del periodo se cuantificó el número de explantes que formaron callo y se calculó el porcentaje de callos con estructuras embriogénicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró la formación de callos con estructuras embriogénicas en ñame cv. 'Blanco de Guinea'. Transcurridos 20 días de colocados los explantes en el medio de cultivo comenzó la deformación de estos. Posteriormente, se observó el crecimiento desordenado de tejido con una coloración amarillenta y luego sobre estas estructuras, formaciones nodulares de color blanquecino con la aparición de masas proembriogénicas y embriones aislados (Fig. 1).

El mayor porcentaje de callos con estructuras embriogénicas (6.0%) se obtuvo a las 12 semanas de cultivo, al utilizar hojas con peciolo y el medio de cultivo MS con 1 mg l⁻¹ de 2,4-D. Cuando se duplicó la concentración de 2,4-D (2 mg l⁻¹), la formación de callos en hojas con peciolo y segmentos de peciolo fue de 2% mientras que al emplear secciones de raíz, no se observó callogénesis. Al incrementar la concentración de 2,4-D a 4 mg l⁻¹, ninguno de los explantes empleados formó callo, estos se necrosaron totalmente.

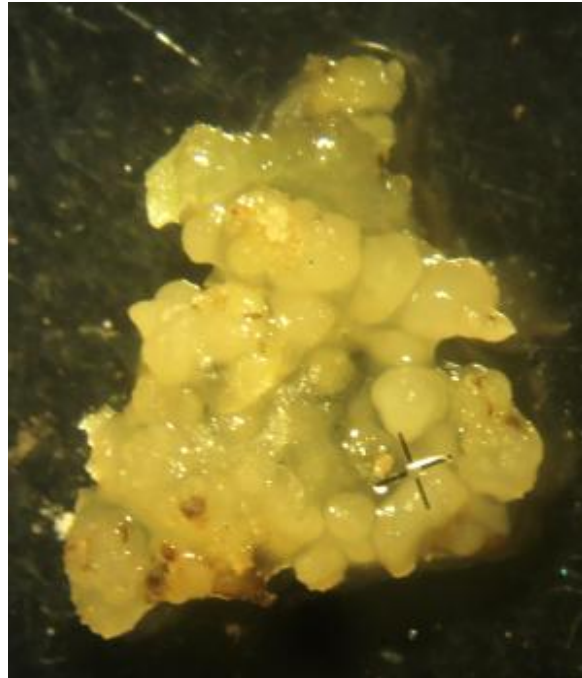


Figura 1. Callo con estructuras embriogénicas en ñame cv. 'Blanco de Guinea' (*Dioscorea rotundata*, Poir).

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Belarmino y González (2008) en *Dioscorea alata* L., quienes obtuvieron el mayor porcentaje de formación de callos embriogénicos con 1 mg l^{-1} de 2,4-D o picloram utilizando segmentos nodales como explante. Por otra parte, Salgado y Suárez (2012) en *D. alata* var. 'Pico de botella' refirieron 100% de inducción de tejido embriogénico en todos los tratamientos que tenían alguna concentración de 2,4-D, al utilizar explantes foliares. Las diferencias entre estos resultados y los informados en este trabajo pueden deberse principalmente a efectos del genotipo, ya que no todos responden de igual manera ante la estimulación de tejido embriogénico. Relacionado con lo anterior, Suárez *et al.* (2011) al utilizar otra especie (*Dioscorea rotundata* P.) para la inducción de la embriogénesis somática a partir del explante de hojas con peciolos procedentes de plantas *in vitro* observaron ya a las dos semanas posteriores al establecimiento, masas proembriogénicas, mientras que en este trabajo el tejido embriogénico se observó a las 12 semanas de cultivo, diferencias que puede estar marcadas por el estado fisiológico del explante al momento de la inducción, ya que este factor es crucial para obtener una buena respuesta embriogénica.

CONCLUSIONES

Se logró la formación de callos con estructuras embriogénicas en ñame cv. 'Blanco de Guinea' (*Dioscorea rotundata* P.).

REFERENCIAS

- Belarmino MM, González, JR (2008) Somatic embryogenesis and plant regeneration in purple food yam (*Dioscorea alata* L.). *Annals of Tropical Research* 30(2): 22-33
- Borges M, Meneses S, Aguilera N, Vázquez J (2004) Regeneration and multiplication of *Dioscorea alata* germplasm maintained *in vitro*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 76 (1): 87-89
- Cabrera MA (2009) Empleo de métodos biotecnológicos para la propagación del ñame. *Biotecnología Vegetal* 9(4): 195-209
- FAOSTAT (2014) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Dirección de Estadística. [En línea] En: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>. Consultado 11 Marzo 2014
- Medero V, Del Sol L, García M (1999) Metodología para la propagación del clon de ñame 'Blanco o Pelú'. *Resúmenes de BioCat 99, Granma Cuba* 5-7 de Octubre pp. 12

- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-497
- Rodríguez S (2004) Situación actual y perspectivas de los cultivos varios. Informe a la Asamblea Nacional del Poder Popular. Ministerio de la Agricultura. Ciudad de La Habana
- Rodríguez S (2006) Evaluación y recomendación de clones de boniato, yuca, ñame, plátanos y bananos resistentes o tolerantes a los factores adversos de la producción (FAP) y su manejo integrado. Informe final, Programa Nacional Científico. La Habana
- Salgado JA, Suárez I (2012) Respuesta de tejidos embriogénicos de Ñame (*Dioscorea alata* var. 'Pico de botella') a *Colletotrichum gloeosporioides*. *Temas Agrarios* 17(1): 9-19
- Suárez IE, Torres LA, Litz R (2011) Somatic embryogenesis in yam (*Dioscorea rotundata*). *Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín* 64(2): 6037-6042
- Tamiru M, Becker HC, Maass BL (2008) Diversity, distribution and management of yam landraces (*Dioscorea* spp.) in Southern Ethiopia. *Genet Resour Crop Evol.* 55: 115-131

Recibido: 15-04-2014

Aceptado: 25-6-2014