

ACLIMATACIÓN DE PLANTAS *IN VITRO* DE ÑAME ESPINO, JAPÓNICO Y CHOCOANO EN LA COSTA CARIBE

Andrés Aguas A.
Galo Gamero V.
Jorge Romero F.
Amaury Espitia
Corpoica Turipaná, Regional Córdoba

INTRODUCCIÓN

Durante los meses de febrero a marzo de 1999 en la Regional 2 de Corpoica, en el Centro de Investigación Turipaná, se realizó un experimento exploratorio que consistió en aclimatar plantas del medio ambiente artificial *in vitro* al medio ambiente natural, en la primera fase de casa malla, con el propósito de ajustar la metodología para adaptar vitroplantas de ñame. Se evaluaron seis tratamientos, que consisten en tres materiales de ñame en dos ambientes diferentes que se definieron así:

Material 1, ñame espinoso (*Dioscorea rotundata*), material 2, ñame chocoano (*Santhosoma sagittifolium*) y material 3, ñame japonés (*Dioscorea japonica*). Ambiente 1, casa malla con algunas modificaciones: techo de sarán del 40% de luz y plástico transparente seguido de sarán del 60%. Las plantas individuales se sembraron en vasos desechables destapados, montadas en mesas de propagación de un metro de alto, encerradas en un cubículo de icopor de media pulgada de espesor. Ambiente 2, similar al ambiente 1, con la diferencia de que se utilizaron vasos tapados y sin cubículo de icopor. El diseño utilizado para el experimento fue el de bloques al azar, con cinco repeticiones por tratamiento y la unidad experimental; cada tratamiento estuvo representado por una planta. Como resultado se encontró que el incremento foliar de los clones espinoso, chocoano y japonés fue mayor en el ambiente 2. En cuanto al incremento longitudinal del clon espinoso fue mayor en el ambiente 1 que en el ambiente 2. Los ñames chocoano y japonés tuvieron mayor incremento longitudinal en el ambiente 2. La mortalidad en el ambiente 1 fue del 60% para el clon japonés y para el espinoso fue del 20% en el ambiente 2. El clon chocoano no presentó porcentaje de mortalidad en ninguno de los ambientes.

La aclimatación de plántulas procedentes de ambientes artificiales *in vitro* es uno de los componentes cruciales dentro del proceso de adaptación de materiales a nuevos ambientes, y es uno de los requisitos indispensables que debe cumplir cualquier especie para su acomodo a un sitio definitivo en el campo.

Uno de los obstáculos para aclimatar diferentes especies de ñame, tales como: *Dioscorea alata*, *Dioscorea rotundata*, *Dioscorea japonica* y *Santhosoma sagittifolium*, provenientes de sistemas *in vitro*, es el desconocimiento de metodologías ajustadas a las condiciones tropicales, ya que no se tienen referencias de trabajos realizados en el país, lo cual repercute, desde el punto de vista técnico y económico, en una nula o baja eficiencia en el número de plántulas a producir. Este proceso debe tener la mayor eficiencia en la fase de invernadero (casa malla), como en la fase de vivero, para poder reducir los niveles de mortalidad y aumentar el endurecimiento de las plántulas, en forma tal que no reduzcan su crecimiento y desarrollo, permitiendo así llevar plantas sanas y vigorosas al campo.

El ensayo exploratorio tuvo como objetivo cuantificar en condiciones de la Costa Caribe colombiana, los factores abióticos (luz, temperatura y humedad relativa) y su efecto sobre el crecimiento y adaptación de vitroplantas de ñame en fase de invernadero (casa malla), con el propósito de ajustar la metodología a utilizar en posteriores trabajos con ñame.

Variables y condiciones de adaptación

El experimento se realizó en la Regional 2 de Corpoica, en el Centro de Investigación Turipaná, y tuvo una duración de dos meses (febrero a marzo de 1999).

La metodología utilizada se ajustó a las metodologías y sugerencias reportadas por Laignelet y colaboradores (1997); Usui Kanji y colaboradores (1996); Mantell y colaboradores (1993); Perea y colaboradores (1998) y Hurtado (1994).

Se evaluaron tratamientos utilizando tres variedades de ñame sometidas a dos ambientes diferentes definidos así:

- Material 1, ñame espino (*Dioscorea rotundata*).
- Material 2, ñame chocono (*Santhosoma sagittifolium*).
- Material 3, ñame japonico (*Dioscorea japonica*).
- Ambiente 1, casa malla con algunas modificaciones, tales como techo de sarán que filtraba 40% de luz y plástico transparente calibre No. 12, ubicado 50 cm por debajo del sarán y luego seguido de otro sarán del 60% de luz a una altura del piso de 2 metros, dentro de la casa malla; las plantas individuales estaban en vasos desechables destapados, montadas en mesas de propagación de un metro de alto y encerradas en un cubículo, hecho con láminas de icopor, de media pulgada de grueso, de 2 metros de ancho por 1 metro de alto por 1 metro de largo.
- Ambiente 2, parecido al ambiente 1, con la diferencia de que las plantas estaban en vasos de icopor que tenían como tapa hermética otro vaso y sin cubículo de icopor (véase fotografía 1).

El diseño utilizado para el experimento fue el de bloques al azar, con cinco repeticiones por tratamiento. La unidad experimental, para cada tratamiento, estuvo representada por una planta.

Las plántulas utilizadas en el experimento permanecieron entre 4 a 6 meses en tubos de vidrio, a cuyo término se trasplantaron. Para pasar las plantas al sustrato (suelo), primero se removieron las trazas de medio adherido a las raíces, con agua destilada y esterilizada. Para el trasplante se utilizaron vasos de icopor de 6 onzas con orificios en el fondo. Los vasos contenían una mezcla de tierra con arena estéril, en relación 2:1. Para mantener regulada la temperatura y humedad relativa, en todos los tratamientos, se aplicaron riegos de 9:00 a.m. a 4:00 p.m. a diferentes frecuencias dependiendo de la humedad relativa, así: en todos los tratamientos se mantuvo una humedad relativa del 90% en las dos primeras semanas, y en la tercera y cuarta semanas se mantuvo en 80%, descendiendo a 70% para las semanas quinta y sexta. De otra parte, en cada uno de los tratamientos se iban descubriendo paulatinamente las plantas, al retirar las láminas de icopor (véase fotografía 1). En el ambiente 2, los vasos tapados se perforaron con cinco orificios al igual que las tapas o vasos superiores.

Como parámetros abióticos se tomaron la temperatura (°C), la humedad relativa (%) y la intensidad lumínica (Lux). Para determinar el crecimiento y desarrollo de las plantas, se tomaron como parámetros bióticos el crecimiento longitudinal, número de hojas emitidas, número de hojas muertas y la mortalidad de las plantas (véase fotografía 2). Estos parámetros se correlacionaron con los factores abióticos según lo propuesto por Salisbury y colaboradores (1994) y por Tudela y colaboradores (1993).

En los dos ambientes cada hora se hicieron mediciones de la intensidad lumínica, la humedad relativa y la temperatura promedio; utilizando higrotermógrafo y luxómetro (véase fotografía 1). Las unidades de calor (UC) se determinaron mediante la fórmula:

$$UC = (T_{\text{máx}} + T_{\text{mín}}) / 2 - T_b$$

donde: $T_{\text{mín}}$ corresponde a las temperaturas mínimas, $T_{\text{máx}}$ corresponde a las temperaturas máximas, registradas ambas con termómetro de mínimas y máximas, y T_b corresponde a la temperatura mínima para el crecimiento fisiológico de las plantas de ñame.

Las mediciones del crecimiento y del desarrollo de las plantas como variables de respuesta se hicieron semanalmente.

Para la nutrición de las plantas se utilizó la metodología reportada por Laignelet y colaboradores (1997) en la primera semana de la siembra. Con una bomba de espalda se realizaron dos aplicaciones de una solución de Wuxal® o Nutrifoliar® completo (2 ml/ l de agua) con el último riego de la tarde. A partir de la segunda semana se aplicaron fertilizantes líquidos dos veces por semana, empleando la siguiente fórmula en 10 litros de agua:

| | |
|---------------------|-------|
| Nitrato de calcio | 32 g |
| Agrimins® | 5 g |
| Sulfato de magnesio | 15 g |
| Kelatex de hierro | 9 g |
| Nitrato de amonio | 92 ml |
| Ácido fosfórico | 20 ml |
| Nitrato de potasio | 136 g |

La dilución se preparó al momento de fertilizar, empleando la cantidad necesaria de la anterior solución en proporción 1:10 de agua.

Para el manejo sanitario de las plantas se utilizaron los fungicidas Benomylá en rotación con oxiclورو de cobre y en dosis de 1 a 2 g/l de agua, cada diez días después del último riego de la tarde (Lainelet *et al.*, 1997).

Respuestas de las variedades de ñame a las condiciones de aclimatación

Se analizan tres clones de ñame (espino, chocoano y japonico), en dos ambientes. Para el ambiente 1, las condiciones climáticas promedio que se presentaron fueron:

| | |
|-------------------|------------------|
| unidades de calor | 500 |
| Lux | 1402 (acumulado) |
| Humedad relativa | 86% |
| Temperatura | 26.8°C. |

Para el ambiente 2, las condiciones climáticas promedio que se presentaron fueron:

| | |
|-------------------|------------------|
| unidades de calor | 568 |
| Lux | 2202 (acumulado) |
| Humedad relativa | 76,15% |
| Temperatura | 27°C |

Los resultados del experimento se resumen para cada una de las variables de respuesta en las tablas 1 y 2. Al comparar el incremento foliar de los clones en los ambientes 1 y 2, la tendencia indica que en el ambiente 2, los clones ñame espino y ñame chocoano presentan un mayor incremento foliar y de longitud del tallo que el ñame japonico. En el ambiente 1 hubo la misma tendencia aunque el incremento fue menor (véase tabla 1).

La respuesta del ñame espino en cuanto a incremento longitudinal de las plantas, presentó mejores resultados en el ambiente 1 comparado con el ambiente 2, ya que evidenció un incremento promedio de 3.5 cm durante el tiempo de experimentación. La variedad chocoano y el ñame japonico presentaron mayor incremento en las variables respuesta en el ambiente 2 (véase tabla 1).

En general, el clon de ñame espino pierde el mayor número de hojas en los dos ambientes, si se compara con los otros materiales evaluados; pero así mismo, este material es el que tiene genéticamente mayor velocidad de emisión foliar en los dos ambientes. El clon de ñame japonico es el que presenta menor número de hojas muertas y, adicionalmente, es el que menor emisión de hojas presenta (véase tabla 2).

El mayor porcentaje de mortalidad de plantas se presentó en la variedad japonico (60%) en el ambiente 1, seguido por el ñame espino (20%) en el ambiente 2; la variedad chocoano no presentó mortalidad en ninguno de los dos ambientes.

La tabla 3 muestra que en general no hubo diferencias en el incremento foliar entre los clones de ñame espino y chocoano, pero sí hubo diferencia entre estos y el japonico (0.4 hojas). Para el ñame espino se observó que es el que tiene el mayor incremento en longitud de las plantas (3.09 cm) en los dos ambientes, seguido por el clon ñame chocoano y, por último, el japonico.



Fotografía 1. Etapa de adaptación de plántulas de ñame de *in vitro* a *ex vitro*.



Fotografía 2. Plántulas de ñame en invernadero, listas para trasplantar a campo.

Tabla 1. Promedio de incremento foliar y longitud del tallo de tres clones de ñame en dos ambientes

| CLON DE ÑAME | AMBIENTE | INCREMENTO FOLIAR | INCREMENTO LONGITUD DE PLANTA (CM) |
|--------------|---|-------------------|------------------------------------|
| Espino | 1. Casa malla + cubículo + vasos destapados | 2.0 | 3.50 |
| | 2. Casa malla + vasos tapados | 3.4 | 2.68 |
| Chocoano | 1. Casa malla + cubículo + vasos destapados | 2.0 | 1.18 |
| | 2. Casa malla + vasos tapados | 3.6 | 2.16 |
| Japónico | 1. Casa malla + cubículo + vasos destapados | 0.0 | 0.52 |
| | 2. Casa malla + vasos tapados | 0.8 | 0.80 |

Tabla 2. Promedio de número de hojas muertas y porcentaje de mortalidad de plantas de tres clones de ñame en dos ambientes

| CLON DE ÑAME | AMBIENTE | NO. DE HOJAS MUERTAS | MORTALIDAD % |
|--------------|---|----------------------|--------------|
| Espino | 1. Casa malla + cubículo + vasos destapados | 3.0 | 0 |
| | 2. Casa malla + vasos tapados | 4.4 | 20 |
| Chocoano | 1. Casa malla + cubículo + vasos destapados | 0.8 | 0 |
| | 2. Casa malla + vasos tapados | 0.4 | 0 |
| Japónico | 1. Casa malla + cubículo + vasos destapados | 1.0 | 60 |
| | 2. Casa malla + vasos tapados | 0.2 | 0 |

Tabla 3. Promedio total de incremento foliar y longitud del tallo (cm) de tres clones de ñame a través de dos ambientes

| CLON DE ÑAME | INCREMENTO FOLIAR | INCREMENTO LONGITUD DE PLANTA (CM) |
|--------------|-------------------|------------------------------------|
| Espino | 2.7 | 3.09 |
| Chocoano | 2.8 | 1.67 |
| Japónico | 0.4 | 0.66 |

Al comparar el comportamiento en los dos ambientes experimentados, el ñame espino presentó el mayor promedio total de hojas muertas, debido posiblemente a que genéticamente tiene la mayor tasa de emisión de hojas en cualquier ambiente. Los clones chocoano y japonico tienen el menor número de hojas muertas (0.6), pero también presentaron menor emisión de hojas en los ambientes.

La mayor mortalidad de plantas (30%) entre los dos ambientes, la presentó el clon japonico, posiblemente porque no se adapta bien a las condiciones del trópico. El ñame espino presenta un índice bajo de mortalidad mientras que el chochoano no presentó mortalidad de plantas (véase tabla 4).

Tabla 4. Promedio total de número de hojas muertas y porcentaje de mortalidad de plantas de tres clones de ñame a través de dos ambientes.

| CLON DE ÑAME | No. HOJAS MUERTAS | MORTALIDAD (%) |
|--------------|-------------------|----------------|
| Espino | 3.7 | 10.0 |
| Chocoano | 0.6 | 0.0 |
| Japonico | 0.6 | 30.0 |

En la tabla 5 se observa que hay mayor efecto para el incremento foliar (2.6 hojas) en los tres clones sometidos al ambiente 2 comparado con el ambiente 1. No así para el incremento longitudinal de la planta, donde no hay una diferencia marcada de los ambientes.

Tabla 5. Promedio total de incremento foliar y longitud del tallo (cm) de dos ambientes en tres clones de ñame. C. I. Turipaná, 1999

| AMBIENTE | INCREMENTO FOLIAR | INCREMENTO LONGITUD DE PLANTA (CM) |
|---|-------------------|------------------------------------|
| 1. Casa malla+Cubículo+vasos destapados | 1.33 | 1.73 |
| 2. Casa malla+vasos tapados | 2.60 | 1.88 |

De la tabla 6 se desprende como los ambientes 1 y 2 no mostraron diferencias en el número de hojas muertas (1.6) para los tres clones, pero sí su influencia en la mortalidad de plantas. El menor porcentaje de mortalidad (6.6%) se presentó en el ambiente 2.

Tabla 6. Promedio total de número de hojas muertas y porcentaje de mortalidad de plantas de dos ambientes en tres clones de ñame.

| AMBIENTE | No. HOJAS MUERTAS | MORTALIDAD (%) |
|---|-------------------|----------------|
| 1. Casa malla + cubículo + vasos destapados | 1.6 | 20 |
| 2. Casa malla + vasos tapados | 1.65 | 6.66 |

Condiciones de aclimatación recomendadas

Como resultado de este trabajo, el ambiente 2 (casa malla + vasos tapados), mostró mayor eficiencia para el incremento foliar, longitudinal y bajo porcentaje de mortalidad. El clon japonico tuvo poco crecimiento y desarrollo en los dos ambientes, y mayor porcentaje de mortalidad en el ambiente 1. El clon chocono presenta un mejor comportamiento en los dos ambientes trabajados, si se compara con los clones espino y japonico. El ñame espino tuvo mayor incremento foliar, mayor número de hojas muertas en el ambiente 2, y mayor incremento longitudinal en el ambiente 1.

Estos resultados se obtuvieron empleando en la experimentación poblaciones no homogéneas de plántulas en edad, número de hojas y raíces, condiciones que se espera que prevalezcan cuando se lleven materiales de ñame a adaptación en casa malla. Es deseable y pertinente que se estudien ambientes con mayores diferencias a los aquí evaluados, resaltando que la metodología y las variables contempladas son apropiadas para generar resultados igualmente válidos. Igualmente, es importante destacar que estos resultados sólo son válidos para las condiciones ambientales de la región en la que se realizaron los experimentos. Para regiones con climas diferentes, se puede emplear una metodología similar para generar la información requerida en la propagación de plantas de ñame provenientes de condiciones *in vitro* (véase fotografía 2).

Las condiciones encontradas con este trabajo se emplearán en el programa de producción de semillas de ñame que se adelanta con el apoyo del gobierno de Holanda. Sin embargo, durante estas actividades se continuará generando información sobre la adaptación de plántulas de ñame a condiciones de casa malla y vivero. Estas apreciaciones son igualmente válidas para establecer condiciones bióticas y abióticas, incluyendo en éstas aspectos de nutrición y de prácticas culturales (véase fotografía 3).



Fotografía 3. Etapa de trasplante a campo de plántulas de ñame obtenidas *in vitro*.

BIBLIOGRAFIA

- HURTADO, D. (1994). Adaptación de plantas obtenidas *in vitro* a condiciones naturales. En: Cultivos vegetales. México, Trillas, pp. 154-161.
- LAIGNELET, A. y NARVAEZ, J. (1997). Manual de manejo para el endurecimiento en invernadero y vivero de plantas de yuca producidas *in vitro*. Documento de trabajo, Corpoica, 15 pp.
- (1997) Manual de manejo para el endurecimiento en invernadero y vivero de plantas de plátano producidas *in vitro*. Documento de trabajo. Corpoica, 18 pp.
- MANTELL, S. H., HAGUE, S. Q. y CHAUDLER, F. L. (1991). Cultivo de tejidos y material de propagación libre de enfermedades. En: Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. CIAT, Cali, pp. 481-512.
- SALISBURY, F. y ROSS, C. (1994). Fisiología en condiciones de estrés. En: Fisiología vegetal. Editorial: Iberoamericana, México, pp. 639-667.
- TUDELA, D. y TADEO, F. (1993). Respuesta y adaptaciones de las plantas al estrés. En: Fisiología y bioquímica vegetal. Madrid, España, Mcgraw-Hill Interamericana, pp. 537-553.
- PEREA, M. (1998). Memorias del curso-taller: "Aplicaciones de los sistemas *in vitro* en el cultivo de ñame (*Dioscorea alata* L.)". Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá, mayo 11 al 22, 1998.