

## Producción de ñame clon Criollo a partir de bulbillos aéreos<sup>1</sup>

### Creole clone yam from air bulbils production

Misterbino Borges-García<sup>2</sup>, Diana María Reyes-Avalos<sup>3</sup>, Humberto Leyva-Domínguez<sup>4</sup>, Ubail Ávila-Medina<sup>2</sup>,  
Tania Lambert-García<sup>2</sup>

#### Resumen

El empleo de bulbillos aéreos de plantas de ñame como material de plantación permite el aprovechamiento del 100% de la cosecha de tubérculos para su consumo con un impacto significativo desde el punto de vista agronómico, económico, social y ambiental. El objetivo de este trabajo fue evaluar los principales indicadores morfológicos y agronómicos de ñame clon Criollo a partir de bulbillos aéreos procedentes de plantas *in vitro* establecidas durante un primer ciclo de cultivo en campo como fuente de semilla a nivel local. La investigación se desarrolló en el Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Granma y las localidades colindantes “Las Tamaras” y “La Asunción”, consideradas como tratamientos, en el periodo comprendido de abril a diciembre de 2014. A los treinta días se determinó el porcentaje de supervivencia y se realizó un análisis morfológico (diámetro del tallo y relación largo/ancho de la hoja), al cabo del primer, cuarto y séptimo mes de establecidas las plantas en condiciones de campo (veinte plantas por tratamiento). El análisis agronómico se efectuó a los nueve meses de efectuada la plantación, donde se determinaron las siguientes variables: número de tubérculos por planta; masa fresca de tubérculos por planta (kg); masa fresca promedio de tubérculo (kg); número y masa fresca promedio (g) de bulbillos aéreos con un 100% de supervivencia. Las plantas de ñame obtenidas a partir de bulbillos aéreos procedentes de plantas *in vitro* establecidas durante un primer ciclo de cultivo en campo, presentaron un 100% de supervivencia y un desarrollo morfoagronómico óptimo para la producción y recuperación sostenible de este clon.

**Palabras clave:** *Dioscorea alata*, plantas *in vitro*, tubérculos, producción sostenible.

#### Abstract

The employment of air bulbils in yam plants, like plantation material, allows using a 100% of the tubers crop for its consumption, the aforementioned implicates a significant agronomic, economic, social, and environmental impact. The aim of this study was to evaluate the main morphological and agronomic indicators of Creole clone yam *in vitro* plants obtained by using air bulbils during a first cycle field cultivation as a local level seed source. The research was developed in the Biotechnology Studies Center Plant at Granma University in collaboration with the localities of “Las Tamaras” and “La Asunción” between April and December, 2014. At thirty days, the survival percentage

<sup>1</sup> Recibido: 11 de octubre, 2016. Aceptado: 22 de marzo, 2017. Este trabajo formó parte de una tesis de maestría en Ciencias Agrícolas del tercer autor. Universidad de Granma, Granma, Cuba. semgrm@enet.cu

<sup>2</sup> Universidad de Granma, Facultad de Ciencias Agrícolas, Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal, Carretera Bayamo-Manzanillo Km 17, Apdo. 21, Bayamo 85 100, Granma, Cuba. mborgesg@udg.co.cu (autor para correspondencia), uabilam@udg.co.cu, tlambert@udg.co.cu

<sup>3</sup> Universidad de Granma, Centro Universitario Municipal, Jiguaní, Granma, Cuba. dreyesa@udg.co.cu

<sup>4</sup> Ministerio de la Agricultura (MINAGRI), Empresa Productora y Comercializadora de Semillas, Unidades Empresariales de Base (UEB). Granma, Cuba. semgrm@enet.cu



and morphological analysis (stem diameter and length/wide leaf ratio) of 1, 4 and 7 months plants were determined under field conditions (twenty plants by treatment). The agronomical analysis was carried out when the plants of the plantation were nine months, and the following variables were determined: tubers per plant number; tubers plant fresh mass (kg); average fresh tubers mass (kg); air bulbils number and average fresh mass (g) with 100% of survival and the best morphoagronomical development for rapid production of air bulbils in Creole clone. The obtained air bulbils from Creole clone yam *in vitro* plants during a first field cultivation cycle, presented a 100% survival and the best morpho-agronomic development for sustainable recovery and production.

**Keywords:** *Dioscorea alata*, *in vitro* plants, tubers, sustainable production.

## Introducción

El ñame (*Dioscorea alata*) es una planta de multiplicación vegetativa, cuyo cultivo en campo tiene diferentes inconvenientes tales como una baja tasa de multiplicación y problemas fitosanitarios. Además, los tubérculos, que constituyen la parte útil de la planta para la alimentación, se utilizan como material vegetal de plantación (Cabrera et al., 2010), y pueden abarcar una parte importante de la cosecha (35%) (Borges, 2011). La producción de ñame ha estado limitada por la escasez de semilla sana, baja fertilidad del suelo y la incidencia de plagas y patógenos en los sistemas tradicionales de cultivo (Balogun et al., 2014).

En Cuba se han desarrollado protocolos de propagación *in vitro* de ñame por organogénesis, a partir de segmentos nodales, en diferentes clones (Borges et al., 2011). Estos han presentado bajos coeficientes de multiplicación y supervivencia de las plantas en la fase de campo, por ello, se requiere continuar buscando alternativas factibles para incrementar la propagación de buena calidad de material vegetal de plantación.

En los últimos años ha habido una tendencia a la disminución de la producción cubana de ñame, debido a que, sobre el género *Dioscorea* ha existido un alto riesgo de erosión genética a causa de diversos factores bióticos y abióticos, lo que ha ocasionado una drástica reducción del área cultivada, donde casi la totalidad de la producción se deriva de agricultores individuales, mientras que la misma en el sector estatal es casi inexistente (Borges et al., 2009). De manera que, una política agrícola basada en la combinación de métodos tradicionales con técnicas modernas, podría detener el deterioro de este género, como la introducción de la micropropagación y conservación *in vitro*, aplicada con éxito en diversos clones de ñame (Borges et al., 2011; Carmona et al., 2013; Aighewi et al., 2015; Díaz et al., 2015).

Los trabajos de investigación participativa a través del Programa de Biotecnología Agrícola, han permitido estandarizar técnicas de multiplicación de plantas *in vitro* de ñames de interés agrícola con fines comestibles y medicinales libres de patógenos, lo que ha generado enorme interés en los productores, debido a las ventajas obtenidas por estos sistemas, por ejemplo la uniformidad del material vegetal, el vigor, la velocidad de propagación y el número de plantas regeneradas (Borges, 2011; Balogun y Gueye, 2013; Ramos et al., 2015). Estudios recientes realizados por Borges et al. (2015) han demostrado la factibilidad técnica de la respuesta en campo de plantas *in vitro* en diferentes momentos de plantación en el año, como estrategia para la producción de semilla en el cultivo.

Hasta la fecha no ha sido evaluado el empleo de los bulbillos aéreos de plantas de ñame (*Dioscorea alata* L) clon Criollo, establecidas en campo durante un primer ciclo de cultivo, procedentes de plantas *in vitro* como fuente de semilla a nivel local, lo cual permitiría el aprovechamiento del 100% de la cosecha de tubérculos para consumo, con un impacto significativo desde el punto de vista agronómico, económico, social y ambiental.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los principales indicadores morfológicos y agronómicos de ñame clon Criollo, a partir de bulbillos aéreos de plantas establecidas en campo.

## Materiales y métodos

El estudio fue desarrollado por el Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal (CEBVEG) de la Universidad de Granma, en las localidades rurales “Las Tamaras” y “La Asunción”, del municipio Bayamo, provincia Granma, Cuba, en el periodo comprendido de abril a diciembre 2014. Ambas localidades son colindantes, poseen suelo pardo con carbonato, medianamente profundo, textura arcillosa, estructura fragmentaria, buen drenaje, no es húmedo en exceso, buen desarrollo radicular de la planta, reacción fuerte frente al ácido clorhídrico al 10%, topografía casi llana, poca erosión y buena fertilidad; con 4,1% de materia orgánica descompuesta, capacidad de cambio de bases (CCB) de 42,7 cmol/kg de suelo, predominio de minerales del tipo 2:1 en la fracción arcillosa, estructura bien desarrollada, generalmente nuciforme granular y pH 6,8 (Hernández et al., 2011). Las variables climáticas registradas fueron de  $33 \pm 2$  °C de temperatura, 60 - 80% de humedad relativa y fotoperiodo de 13 h luz.

### Selección del material vegetal

Se utilizaron bulbillos de la especie *D. alata* L. clon Criollo (Borges, 2011), con una masa fresca promedio de 40 g, obtenidos de plantas *in vitro* cultivadas durante un primer ciclo de cultivo en campo, provenientes del banco de germoplasma del Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Granma.

### Evaluación de la producción de ñame clon Criollo a partir de bulbillos aéreos procedentes de plantas *in vitro* como fuente de semilla en las localidades de “Las Tamaras” y “La Asunción”

Se utilizó un diseño en bloques al azar con dos tratamientos (localidades) y cuatro repeticiones. En el mes de junio, se efectuó la siembra de los bulbillos aéreos directamente en campo a una distancia de plantación de 1 x 0,5 m, en dos localidades de la agricultura suburbana, la localidad “Las Tamaras” (Tratamiento 1) y la localidad “La Asunción” (Tratamiento 2). Las parcelas estaban formadas por surcos de montículos de 30 cm de altura con cincuenta plantas cada una. El riego, las demás actividades culturales y el control fitosanitario fueron realizados según el instructivo técnico del cultivo del ñame (MINAGRI, 2008).

Al momento de la plantación y al cabo de los cuatro meses de cultivo, se realizó una aplicación de 1,5 kg de abono orgánico (compost de estiércol vacuno) por planta. En todos los casos se colocaron tutores para facilitar el desarrollo vegetativo de las plantas.

También se evaluó durante todo el periodo del experimento la incidencia de plagas y patógenos, por observación directa y monitoreo semanal desde el inicio de la brotación de los bulbillos, al cabo de los quince días de plantados en campo.

### Porcentaje de supervivencia

A un mes de la plantación se determinó, en la población total, el porcentaje de supervivencia.

### Indicadores morfológicos

Al cabo del primer, cuarto y séptimo mes de establecidas las plantas en campo, se determinaron en veinte plantas por tratamiento, los siguientes indicadores morfológicos:

- Diámetro del tallo (mm): se efectuó la medición, con un pie de rey del grosor del tallo a 0,1 m de altura.
- Relación largo/ancho de la hoja: se obtuvo por la división del largo por el ancho de diez hojas por planta, a partir de 1 m de altura del tallo.
  - Largo de la hoja (mm): se midió con una regla graduada el largo de diez hojas por planta, a partir de 1 m de altura del tallo.
  - Ancho de la hoja (mm): se midió con una regla graduada el ancho de diez hojas por planta, a partir de 1 m de altura del tallo.

### Indicadores agronómicos

La cosecha se efectuó de forma manual a los nueve meses de efectuada la plantación (enero).

Se seleccionaron veinte plantas por tratamiento y se determinaron los siguientes indicadores agronómicos:

- Número de tubérculos por planta: se realizó el conteo del número total de tubérculo por cada planta.
- Masa fresca de tubérculos por planta (kg): se determinó la masa fresca total de tubérculos por planta.
- Masa fresca por tubérculo (kg): se determinó mediante la división de la masa fresca total de tubérculos por planta entre el número total de tubérculos por planta.
  - Número de bulbillos aéreos por planta: se contó el total de bulbillos por planta al momento de la cosecha.
  - Masa fresca de bulbillos(g):se determinó mediante la división de la masa fresca total de bulbillos por planta entre el número total de bulbillos por planta.
  - Estimado de producción sostenible de material de plantación a partir de bulbillos aéreos para una hectárea: 10 000 plantas/ha por número de bulbillos/planta.

### Análisis estadístico

En los distintos experimentos se utilizó un análisis de varianza de clasificación doble con prueba de comparación múltiple de medias de Tukey al 5% de probabilidad del error. Para comprobar la normalidad de los datos se utilizó la prueba de Kolmogorov–Smirnov y para la homogeneidad de varianzas la prueba de Bartlett. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica versión 10.0 para Windows (StatSoft, 2011).

## Resultados y discusión

### Supervivencia de plantas de ñame clon Criollo a partir de bulbillos aéreos procedentes de plantas *in vitro* a nivel local

Los porcentajes de supervivencia de las plantas, a los treinta días de establecidas en condiciones de campo, fueron de un 100% para las dos localidades evaluadas. Esto indica que las plantas de ñame clon Criollo mantuvieron la misma capacidad de supervivencia en las dos localidades evaluadas. Resultados similares se obtuvieron al comparar plantas aclimatizadas de *D. alata* clon Caraqueño cultivadas en condiciones de campo, procedentes de la micropropagación y la conservación *in vitro*, donde al cabo de los treinta días de establecidas en campo con sistema de riego con microjet, mostraron porcentajes de supervivencia de 98,5 y 99%, sin diferencias significativas con las plantas obtenidas de fragmentos de tubérculos de la propagación convencional (Borges, 2011). También Borges et al. (2015) al evaluar la respuesta en campo de plantas *in vitro* de *D. alata* clon ‘Caraqueño’ en distintos momentos de plantación en campo, mostraron altos porcentajes de supervivencia para todos los tratamientos a los treinta días de cultivo, sin diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Con el control de tubérculos, los mismos autores obtuvieron valores de 98,5% de supervivencia en junio, 98,0% en julio, 96,5% en agosto, 98,5% en septiembre, 97,0% en octubre y 96,5% en noviembre, mientras que para el control fue de 99,5%. Estos autores

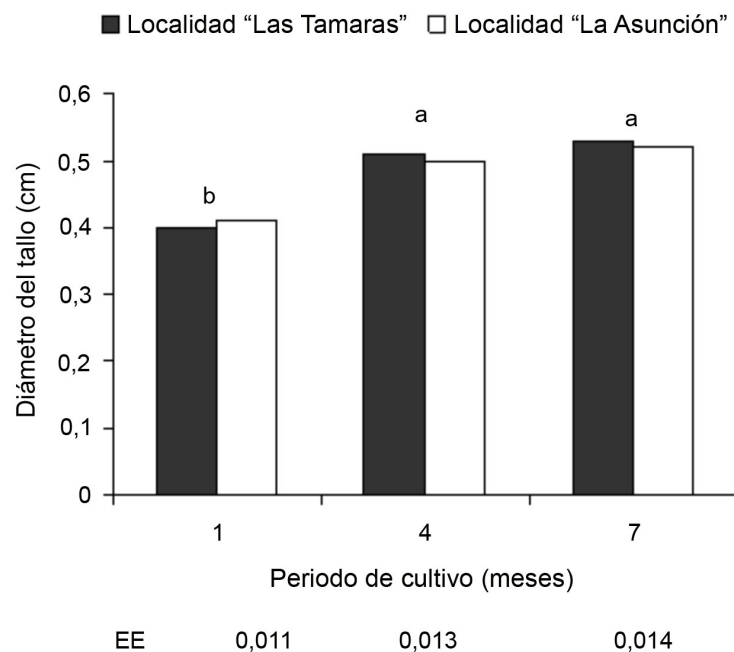
demonstraron que las plantas de ñame clon ‘Caraqueño’ procedentes del cultivo *in vitro* presentaron una respuesta satisfactoria de adaptación en campo, lo que brinda la posibilidad de contar con material vegetal de buena calidad para su plantación satisfactoria desde junio hasta noviembre.

Resultados inferiores han sido descritos por Cabrera et al. (2010), quien obtuvo 86,5% de supervivencia a los 42 días de establecidas en campo las plantas aclimatizadas de ñame clon Pacala Duclos; mientras que Danso et al. (1998) en *Dioscorea* spp., lograron 80% de supervivencia a los tres meses de establecidas en campo las plantas *in vitro* aclimatizadas.

### Indicadores morfoagronómicos de plantas de ñame clon Criollo a partir de bulbillos aéreos procedentes de plantas *in vitro* establecidas durante un primer ciclo de cultivo en campo a nivel local

#### Diámetro del tallo

En los valores para el diámetro del tallo al primer, cuarto y séptimo mes (Figura 1) no mostraron diferencias significativas para los dos tratamientos evaluados. Hubo un incremento significativo de esta variable hasta los



**Figura 1.** Diámetro del tallo de plantas de ñame clon Criollo, obtenido partir de bulbillos aéreos procedentes de plantas *in vitro* establecidas durante un primer ciclo de cultivo en campo, en el periodo de abril a diciembre de 2014 en las localidades “Las Tamaras” y “La Asunción”, Bayamo, Cuba.

EE: error estándar. Medias con letras distintas por columnas difieren significativamente para  $p < 0,05$  según prueba de comparación múltiple de medias de Tukey.

**Figure 1.** Stem diameter of creole clone yam *in vitro* plants obtained by air bulbils during the first field cultivation cycle between April and December 2014, found in the localities of “Las Tamaras” and “La Asunción”, Bayamo, Cuba.

EE: standard error. Means with different letters by columns differ significantly for  $p < 0.05$  according to Tukey mean multiple comparison test.

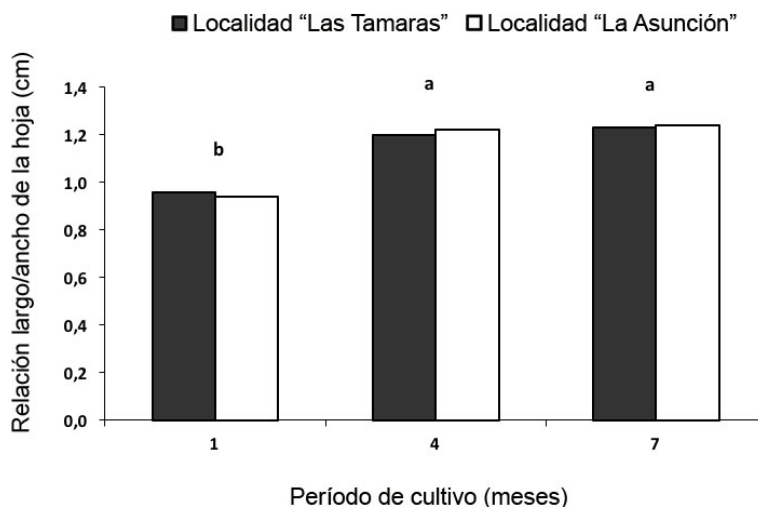
cuatro meses de cultivo, donde, a partir de este tiempo, no se presentaron diferencias significativas, lo que indica que el desarrollo vegetativo posee su mayor velocidad hasta los cuatro meses, ya que a partir de este tiempo la planta, por su ciclo fenológico natural, comienza el proceso de tuberización.

Al estudiar la respuesta en campo de plantas *in vitro* de *D. alata* clon ‘Caraqueño’ en distintos momentos de plantación en campo, Borges et al. (2015) determinaron que el mayor desarrollo vegetativo significativo de la planta se alcanzó a los cuatro meses de cultivo (junio-septiembre), debido a que a partir de este momento se inicia el proceso de tuberización (septiembre). En este aspecto, Vaillant et al. (2005) informaron que la tuberización en *D. alata* se produce doce semanas (tres meses) después del inicio de la brotación de las plantas, lo cual ha sido revelado a partir de estudios sobre el efecto del fotoperíodo en el desarrollo vegetativo de este cultivo.

### Relación de largo/ancho de la hoja

Una respuesta biológica similar al diámetro de tallo se presentó para la relación de largo/ancho de la hoja al primer, cuarto y séptimo mes (Figura 2). No se presentaron diferencias significativas para los dos tratamientos evaluados.

Se produjo un aumento significativo de esta variable hasta los cuatro meses de cultivo, donde a partir de este tiempo no se presentaron diferencias significativas.



**Figura 2.** Relación largo/ancho de la hoja de plantas de ñame clon Criollo, obtenidas partir de bulbillos aéreos procedentes de plantas *in vitro* establecidas durante un primer ciclo de cultivo en campo, en el periodo de abril a diciembre de 2014, en las localidades “Las Tamaras” y “La Asunción”, Bayamo, Cuba.

EE: error estándar. Medias con letras distintas por columnas difieren significativamente para  $p < 0,05$  según prueba de comparación múltiple de medias de Tukey.

**Figure 2.** Length/wide leaf ratio of creole clone yam *in vitro* plants obtained by air bulbils during the first field cultivation cycle between April and December 2014, found in the localities of “Las Tamaras” and “La Asunción”, Bayamo, Cuba.

EE: standard error. Means with different letters by columns differ significantly for  $p < 0.05$  according to Tukey mean multiple comparison test.

### Número de tubérculos por planta, masa fresca de tubérculos por planta y masa fresca promedio de tubérculo

No se presentaron diferencias significativas entre ambas localidades para el número de tubérculos por planta de ñame clon Criollo. Se obtuvieron valores de 1,8 y 1,6 para las localidades “Las Tamaras” y “La Asunción”, respectivamente.

Resultados superiores para el número de tubérculos por planta fueron logrados en el cultivo en campo de plantas *in vitro* previamente aclimatizadas de *D. alata* por Arnolin (1985) y Charrier (1985) con 4,25 y 6 a 8, respectivamente. Otros estudios en el que se emplearon plantas *in vitro* de *D. alata* durante el primer ciclo de cultivo en campo se alcanzaron valores de 3,60 (clon Pacala Duclos) (Cabrera, 2009), y 3,9 tubérculos por planta (clon Caraqueño) (Borges, 2011).

Resultados similares a los obtenidos en este trabajo durante la cosecha en campo de los tubérculos de *D. alata* provenientes de plantas *in vitro* aclimatizadas, fueron obtenidos por Cabrera et al. (2010) con 2,56 y Borges et al. (2015), con un rango de 2 a 3,3, durante distintos momentos de plantación (junio a noviembre).

Para la masa fresca de tubérculos y la masa fresca promedio de tubérculo por planta de ñame clon Criollo, los valores obtenidos variaron entre 2,6 y 2,74 para el primer indicador y de 1,8 a 1,6 para el segundo, sin diferencias significativas entre las localidades estudiadas.

Los rendimientos alcanzados en la presente investigación, en función de la masa fresca de tubérculos por planta para el clon Criollo (2,6 a 2,74 kg), se consideraron de normales a buenos para esta especie durante un primer ciclo de cultivo en condiciones naturales, lo que concuerda con los resultados de rendimiento obtenidos a partir de material convencional de *D. alata* en condiciones de campo por Degras et al. (1986), quienes mostraron que el rendimiento potencial de esta especie fue superior a 5 kg/planta (6 a 8 kg/planta), los buenos rendimientos están en el orden de 4 kg/planta y los normales entre 1,5 a 2,5 kg/planta.

Los resultados obtenidos para las diferentes variables estudiadas pueden atribuirse a un desarrollo vegetativo óptimo de las plantas, bajo condiciones apropiadas que favorecieron la producción acelerada de semilla básica, con rendimientos agrícolas superiores y un desarrollo óptimo de los tubérculos (Figura 3).

### Número y masa fresca promedio de bulbillos aéreos

A los cuatro meses de establecido el experimento se observó la aparición de bulbillos aéreos a razón de 3 bulbillos/planta y a los nueve meses se alcanzó un número de 20 bulbillos/planta.

Los valores promedios para la masa fresca de bulbillos de plantas de ñame clon Criollo, variaron entre 14 y 16 g; no se encontraron diferencias significativas entre localidades.

El estimado de producción sostenible de material de plantación a partir de bulbillos aéreos para una hectárea: 10 000 plantas/ha x 20 bulbillos/planta durante un ciclo de cultivo de nueve meses, arrojó una producción total de 200 000 bulbillos, lo que significa la posibilidad de plantación de veinte hectáreas para la próxima campaña, aspecto relevante para potenciar el desarrollo del cultivo a nivel local.

El clon Criollo es de buena productividad y rusticidad, resistente al ataque de plagas y patógenos, tolerante a la sequía, así como de alta aceptación, buena presentación culinaria y consumo por la población. Sin embargo, la disponibilidad actual de semilla de ñame es muy reducida, de manera que la producción sostenible acelerada de bulbillos aéreos de excelente calidad fisiológica y fitosanitaria (Figura 4), potencia la producción de semilla básica proveniente de cultivo *in vitro*, con todas las ventajas y beneficios agronómicas que esta tecnología ofrece.

La reproducción asexual del cultivo del ñame, implica que el material de plantación envejece fisiológicamente por los reiterados ciclos de cultivo en campo y se deteriora por la acumulación de patógenos, lo que disminuye de forma considerable el potencial de rendimiento del cultivo, de modo que resulta imprescindible establecer un esquema de certificación de material de plantación, por lo cual, es necesario producir por métodos biotecnológicos el material original (Cabrera, 2009). También el tamaño y la masa fresca de los microtubérculos destinados para



**Figura 3.** Tubérculos de plantas de ñame clon Criollo a partir de bulbillos aéreos procedentes de plantas *in vitro* establecidas durante un primer ciclo de cultivo en campo en el periodo de abril a diciembre de 2014 en las localidades “Las Tamaras” y “La Asunción”, Bayamo, Cuba.

**Figure 3.** Tubers of creole clone yam *in vitro* plants obtained by air bulbils during the first field cultivation cycle between April and December 2014, found in the localities of “Las Tamaras” and “La Asunción”, Bayamo, Cuba.



**Figura 4.** Producción de bulbillos de plantas de ñame clon Criollo, a partir de bulbillos aéreos procedentes de plantas *in vitro* establecidas, durante un primer ciclo de cultivo en campo en el periodo de abril a diciembre de 2014, en las localidades “Las Tamaras” y “La Asunción”, Bayamo, Cuba.

**Figure 4.** Bulbils Productions of creole clone yam *in vitro* plants obtained by air bulbils during the first field cultivation cycle between April and December 2014, found in the localities of “Las Tamaras” and “La Asunción”, Bayamo, Cuba.



la plantación en campo, determina en gran medida la respuesta de los mismos bajo esas condiciones de cultivo (Cabrera, 2009).

Los resultados obtenidos en esta investigación indican no solo la factibilidad agronómica de los bulbillos aéreos del clon Criollo con relación a los tubérculos tradicionales, sino también la factibilidad técnica, económica y comercial, pues permite el aprovechamiento total de los tubérculos para su consumo, a diferencia de lo señalado por Ile et al. (2006), que los tubérculos de ñame tienen una función agrícola doble: primero como alimento, ya que los mismos constituyen la principal fuente de alimentación para millones de personas, y segundo como material de plantación.

## Literatura citada

- Arnolin, R. 1985. Reactions differentes de l'igname (*Dioscorea* L.) au bouturage *in vitro*, selon le cultivar. À: L. Degross, éditeur, 7<sup>ème</sup> Symposium de la Société Internationale pour les Plantes à Tubercule Tropicales. INRA, Guadeloupe, Gosier, FRA. p. 341-352.
- Aighewi, B.A., R. Asiedu, N. Maroya, and M. Balogun. 2015. Improved propagation methods to raise the productivity of yam (*Dioscorea rotundata* Poir.). *Food Sec.* 7:823-834. doi:10.1007/s12571-015-0481-6
- Balogun, M.O., and B. Gueye. 2013. Status and prospects of biotechnology applications to conservation, propagation and genetic improvement of yam. In: K.G. Ramawat, and J.M. Merillon, editors, *Bulbous plants: Biotechnology*. CRC Press, NY, USA. p. 92-112.
- Balogun, M.O., N. Maroya, and R. Asiedu. 2014. Status and prospects for improving yam seed systems using temporary immersion bioreactors. *Afr. J. Biotech.* 13:1614-1622. doi:10.5897/AJBX2013.13522
- Borges, M. 2011. Caracterización de la diversidad genética de *D. alata* y producción de plantas *in vitro* sanas como fuente de semillas. Tesis Dr., Universidad de Antillas y de la Guyana, Guadalupe, FRA.
- Borges, M., Y. Alarcón, B. Malaurie, Y. Hernández, y J.J. Silva. 2009. Conservación *in vitro* de *Dioscorea alata* L. clon Caraqueño. *Rev. Peru. Biol.* 16(2):20-25. doi:10.15381/rpb.v16i2.207
- Borges, M., R. Destrade, S. Meneses, R. Gómez, B. Malaurie, P. Hamon, y L.C. Demenorval. 2011. Optimización de un medio de cultivo para plantas micropropagadas de *Dioscorea alata* L. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 13(2):221-228.
- Borges, M., R. Gómez, E. Estrada, D. Reyes, B. Malaurie, y R. Destrada. 2015. Respuesta en campo de plantas *in vitro* de *Dioscorea alata* L. clon 'Caraqueño' en distintos momentos de plantación. *Biotecnol. Vegetal* 15:137-142.
- Cabrera, M. 2009. Formación de microtuberculos de ñame (*Dioscorea alata* L.) clon Pacala Duclos en sistema de inmersión temporal como material vegetal. Tesis Dr., Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas, Santa Clara, CUB.
- Cabrera, M., R. Gómez, A. Rayas, M. DeFeria, J. López, V. Medero, M. Basail, G. Rodríguez, y A. Santos. 2010. Evaluación en campo de plantas de ñame (*Dioscorea alata* L.) obtenidas de los microtubérculos formados en sistema de inmersión temporal. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 12(1):47-56.
- Carmona, O., L. Díaz, y J. Beltrán. 2013. Efecto de los osmolitos sacarosa, manitol y sorbitol en la conservación *in vitro* de *Dioscorea alata*, *D. bulbifera*, *D. rotundata* y *D. trifida* por el método de crecimiento mínimo. *Rev. Asoc. Col. Cienc. Biol.* 25:41-51.
- Charrier, A. 1985. L'utilisation des biotechnologies chez les plantes à tubercules. À: L. Degross, éditeur, 7<sup>ème</sup> Symposium de la Société Internationale pour les Plantes à Tubercule Tropicales. INRA, Guadeloupe, Gosier, FRA. p. 2.
- Danso, K.E., H.M. Amoatey, and R.K. Ahiabu. 1998. Improving the tuber size and survival rate of tissue cultured yam (*Dioscorea* spp.): the effect of age, weaning substrate and nutrients on *in vitro* plantlets survival during acclimatization.

- In: ISTRC, editor, Proceedings of the 7<sup>th</sup> Triennial Symposium of the International Society for Tropical Root Crops, Africa branch, Cotonou, BEN. p. 106.
- Degras, L. 1986. L'igname, techniques agricoles et productions tropicales. Maisonneuve et Larose, Paris, FRA.
- Díaz, L.C., O.E. Carmona, y J.D. Beltrán. 2015. Optimización de la conservación *in vitro* de germoplasma de Dioscorea spp por crecimiento mínimo. Rev. Colomb. Biotecnol. 17(1):32-39. doi:10.15446/rev.colom.biote.v17n1.50842
- Hernández, A., N.J. Martín, y J.L. Durán. 2011. El suelo y su fertilidad. Editorial Felix Varela, La Habana, CUB.
- Ile, E.I., P.Q. Craufurd, N.H. Battey, and R. Asiedu. 2006. Phases of dormancy in yam tubers (*Dioscorea rotundata*). Ann. Bot. 97:497-504. doi:10.1093/aob/mcl002
- MINAGRI (Ministerio de la Agricultura). 2008. Instructivo técnico del cultivo de ñame. MINAGRI, La Habana, CUB.
- Ramos, V.A., S.L. Bustamante, J. Rincón, M.A. Rojas, L. Raz, y G. Buitrago. 2015. Identificación, establecimiento *in vitro* y análisis fitoquímico preliminar de especies silvestres de ñame (*Dioscorea* spp.) empleadas con fines medicinales. Rev. Colomb. Biotecnol. 17(1):9-17. doi:10.15446/rev.colom.biote.v17n1.50711
- Statsoft. 2011. Statistica for Windows. Release 10.0. Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA.
- Vaillant, V., P. Bade, and C. Constant. 2005. Photoperiod affects the growth and development of yam plantlets obtained by *in vitro* propagation. Biol. Plantarum 49:355-359. doi:10.1007/s10535-005-0007-8