



AgEcon SEARCH
RESEARCH IN AGRICULTURAL & APPLIED ECONOMICS

The World's Largest Open Access Agricultural & Applied Economics Digital Library

This document is discoverable and free to researchers across the globe due to the work of AgEcon Search.

Help ensure our sustainability.

Give to AgEcon Search

AgEcon Search

<http://ageconsearch.umn.edu>

aesearch@umn.edu

*Papers downloaded from **AgEcon Search** may be used for non-commercial purposes and personal study only. No other use, including posting to another Internet site, is permitted without permission from the copyright owner (not AgEcon Search), or as allowed under the provisions of Fair Use, U.S. Copyright Act, Title 17 U.S.C.*

No endorsement of AgEcon Search or its fundraising activities by the author(s) of the following work or their employer(s) is intended or implied.

PROCEEDINGS
OF THE
33rd ANNUAL MEETING

6-12 July 1997

Proceedings Edited
by
Nelson Semidey and Lucas N. Aviles

Published by the Caribbean Food Crops Society

CONTROL DE LATENCIA EN ÑAMES *D. alata*.

J. Cardona, S. Salas y D. Ramírez. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayaguez, Mayaguez P.R. 00680.

ABSTRACT. Gibberellins are bioregulators associated with yam tuber dormancy. When yam tubers were dipped in GA3 solution at concentration from 100-1000 ppm bud breaking never occurred. Furthermore, bud breaking was delayed by three folds with GA3 at 1 ppm compared with the control. Similar effects were found with Promalin at concentration from 1-1000 ppm. Daminozide and Paclobutrazole also extended dormancy but in a less degree. None of the treatments inhibited the dormancy period compared with the control. Experiments were design to characterize giberellins in yam tubers. Methanol and ethyl acetate extracts were prepared from tuber tissue. Extracts were purified by adsorption chromatography using a polyvinylpyrrolidone column followed by charcoal-celite column. Further purification was made using C-18 reversed phase HPLC. Fractions with biological activity were detected by the lettuce hypocotyl bioassay.

INTRODUCCION

Los tubérculos de ñame (*Dioscorea spp.*), tienen un período de latencia de 3 semanas a 6 meses, el cual no permite que ocurra la brotación de éstos. Para efectos de mercado de consumo es conveniente que ese periodo sea lo más extenso posible. Sin embargo para efectos de siembra y producción, esta condición limita el cultivo de ñame a una estación del año. Campbell et al (1962), lograron romper latencia en *D. alata* cv. White Lisbon aplicando cloroetanol a una concentración de 4-8%. Cibes y Adsuar (1966), encontraron resultados similares en *D. alata* cv. Florido cuando mezclaron cloroetanol con tiourea del 1-2%. Gregory (1968), reportó el mismo efecto en *D. composita*, sin embargo, en *D. floribunda* logró romper latencia más eficazmente cuando aumentaba la temperatura de almacenaje en 3°C (28-31°C). Martin y Cabanillas (1975), consiguieron mejorar el efecto del cloroetanol aplicando etefón (ácido 2-cloroetilfosfónico) en 2 cultivares de *D. alata* (Forastero y Morado). Reportan que el etefón contrario a cloroetanol no causa daño en tejidos vegetales, posiblemente porque es efectivo a dosis bien baja (.08%). Goenaga et al (1988), encontraron que el etefón usado como tratamiento presiembra en *D. alata* cv. Gunung, causaba efectos secundarios como mayor cantidad de brotes y una mayor cantidad de tubérculos, pero de menor peso.

Las giberilinas han sido asociadas con el desarrollo y la extensión del período latente en tubérculos y bulbillos de ñames (Okagami y Nagao 1971, Martin 1977, Okagami y Tanno 1976, Wikham et al 1983, Clarke y Ferguson 1983, Wikham 1987, Rao y George 1988, Nnodu y Alozie 1989, Tanno et al 1995). Tanno et al (1992), identificaron las giberilinas GA₄, GA₉, GA₁₂, GA₁₉, GA₂₀, GA₂₄, GA₃₆ y GA₅₃, en extractos de *D. opposita*. Por otro lado, Okagami y Nagao (1971), interrumpieron el período de latencia en *D. batatas* aplicando los inhibidores CCC, B-9 y AMO 1618. Tanno et al (1995), encontraron que los inhibidores uniconazole y prohexadiona promovieron brotación en *D. opposita*, pero observaron un efecto inhibitor de uniconazole a concentraciones de 14-140 µM.

MATERIALES Y METODOS

Experimento I. El experimento fue establecido el 6 de febrero de 1996. Se utilizaron ñames de la especie *D. alata* selección Diamante, los cuales fueron cosechados 2 semanas antes de comenzar el experimento. Los tubérculos fueron divididos en pedazos de 1.5 Kg utilizando solamente la parte central. Se dejaron secar al sol 3 - 4 horas antes de los tratamientos.

Los tratamientos fueron los siguientes: Promalina, Ga₃, Fluiridone y Daminozide a 4 concentraciones (1,10,100,1000 ppm) y Paclobutrazole a 1, 10, 100, 300 ppm. En cada tratamiento sumergimos 16 pedazos de tubérculos durante 18 horas. Para la siembra usamos un medio comercial (Promix B-x) con riego de microaspersores bajo cubierta de saran 63%. Cada tratamiento de 16 pedazos fue sub-dividido en 4 replicaciones de 4 pedazos cada uno.

Se determinaron los siguientes parámetros: germinación completa (Figura 1)(cuando los brotes de la mitad de las posturas emergieran sobre el medio), cantidad de brotes por pedazo (Figura 2) y la distancia entre los primeros 3 entrenudos (Figura3) que fue tomada aproximadamente 30 días después de la germinación.

Experimento II. Extracción de Giberilinas. 100 gramos de tubérculos de ñame *D. alata* en estado latente fueron homogenizados con 1 L de metanol y se dejaron en agitación constante por 24 horas a 4°C. Luego se filtró con celita lavada en ácido y removimos el metanol en un rotavapor con vacío a <35°C. El residuo acuoso se ajustó a pH 3 y se extrajo con un volumen igual de acetato de etilo. La fase de acetato se extrajo con amortiguador de fosfato a pH 8.2. La fase acuosa fue pasada por una columna de polivinilpirrolidona y lavada con el amortiguador. Se ajustó a pH 3 y se hizo una extracción con acetato de etilo. La fase de acetato se llevó a sequedad y se disolvió en acetona al 20%, se pasó através de una columna de carbon activado-celita y se eluyó con acetona al 80%. La acetona se evaporó al vacío a < 35°C, el residuo acuoso se ajustó a pH 3 y se extrajo 3 veces con acetato de etilo. La fase de acetato se evaporó al vacío hasta sequedad y el residuo se disolvió en 2ml de metanol. La solución se filtró através de una membrana de 0.45µm.

Para la purificación de la muestra se utilizó Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC, modelo Waters 600) con arreglo de fotodiodo PDA 996 y una estación de control Millennium 2010. Fue usado un inyector U6K. Se usó una columna C-18 en fase reversa. La muestra fue eluida en un gradiente de 30% metanol y 70% ácido acético 1% hasta 100% metanol en 65 minutos con flujo de 0.75 ml/min (Figura 4).

Para el bioensayo se tomó una alícuota de 300 µL de cada fracción y se llevó a sequedad. Se colocó papel filtro Whatman en el fondo de cada frasco (10 mm de diámetro por 35 mm de alto) y se añadieron 4 semillas de lechuga con 50 µL de agua. Se colocaron bajo iluminación constante durante 7 días. Después de ese período se midió la longitud de los hipocotilos y se determinó el promedio (Figura 5).

RESULTADOS Y DISCUSION

Experimento 1. Ninguno de los inhibidores de giberilina (paclobutrazole, daminozide) o reguladores usados lograron romper latencia en las secciones de *D. alata* (figura 1), pero se observó que éstos fueron absorbidos ya que mostraron otros efectos. Ambos mostraron

tendencia a reducir el largo entrenudos (figura 2) y a aumentar el crecimiento de yemas laterales según aumentaba su concentración.

Los tratamientos de fluridone mostraron una tendencia, aunque no significativa, a interferir el período latente (figura 1) e incluso algunos valores fueron inferiores al control. Se observó fitotoxicidad en todos los niveles, expresados como coloraciones rojas o rosadas en los tallos, clorosis intervenal de hojas, enroscamiento de algunos peciolo y en ocasiones la muerte. Todos los niveles mostraron brotación múltiple (figura 3) distribuidas en toda el área de la cáscara.

Los tratamientos de giberilina GA3 y Promalina (BA + GA4 + 7), causaron una extensión significativa en el período latente que fue proporcional a la concentración usada, corroborando los trabajos de Wickham *et al*, 1983. Aún la concentración más baja (1ppm) logró un aumento de sobre 100% comparado con el control (Figura 1). Las concentraciones más altas (100 y 1000 ppm) no habían germinado cuando terminamos el experimento a los 180 días. Ambos tratamientos conteniendo giberilinas mostraron un aumento en el largo entrenudos pero fue mucho más marcada en Promalina (Figura 2).

Tanno *et al* 1995, encontraron que la efectividad de GA3 es igual al GA4 para el alargamiento de tallos en ñames *D. opposita*. Si la teoría aplicara a los ñames tropicales, significaría entonces que la diferencia correspondería a la presencia de la citoquinina (BA) o de la GA7.

Experimento II. En la figura 4 se observa el cromatograma de las muestras corrida en el HPLC. Los resultados del biosensayo demuestran que algunas fracciones estimularon el alargamiento de los hipocotilos comparados con el control (agua). Las fracciones eluidas de 10-15 y de 24-42 minutos estimularon alargamiento del hipocotilo. Estos resultados demuestran la presencia de giberilinas en *D. alata*. Estas muestras serán analizadas en un Cromatógrafo de Gas-Espectrómetro de Masa (GC-MS) para caracterizar las Giberilinas.

REFERENCIAS

- Campbell, J.S. et al. 1962. Some physiological investigations into the White Lisbon yam (*Dioscorea alata* L.). I. The breakage of the rest period in tubers by chemical means. *Empire Journal of Experimental Agriculture*, Vol. 30, No. 118, 1962.
- Cibes, H.R. and Adsuar, J. 1966. Effects of chlorethanol and thiourea on the germination and relative yield of the yam (*Dioscorea alata*) L. *Journal of Agriculture of University of Puerto Rico*.
- Goenaga, R., Irizarry, H. and Rivera, E. 1988. Ethepon for induction of multiple tubers I water yam (*D. alata*). *J. Agric. Univ. P.R.* Vol 73, No. 3, July, 1989.
- Gregory, L.E. 1968. Factors that influence vegetative bud development in rootstocks segments of *Dioscorea composita* and *D. floribunda*. *Journal of Agriculture of University of Puerto Rico*.
- Martin, F.W. and Cabanillas, E. 1975. Stimulating the sprouting of yam tubers with ethepon. *Journal of Agriculture of University of Puerto Rico*.
- Nnodu, E.C. and Alozie, S.O. 1989. Using gibberilic acid to control sprouting of yam tubers. *National Root Crops Research Institute, Umudike, PMB 7006, Umuahia, Nigeria*.

- Okagami, N. and Nagao, M. 1971. Gibberellin-induced dormancy in bulbils of *Dioscorea*. *Planta (Berl.)* 101, 91-94 (1971).
- Okagami, N. and Tanno, N. 1976. Dormancy in *Dioscorea*: Generality of gibberellin-induced dormancy in asexual dormant organs. *Plant & Cell Physiol.* 18: 309-316 (1977).
- Rao, M.M. and George, C. 1990. Studies to extend the dormancy of White Yam (*Dioscorea alata* L). *The Journal of agriculture of the University of Puerto Rico.* Vol. 74, No. 3, July 1990.
- Tanno, N. et al. 1995. Promotive and inhibitory effects of uniconazole and prohexadione on the sprouting of bulbils of chinese yam, *Dioscorea opposita*.
- Wickham, L.D. 1988. Extension of dormancy in cush-cush yams (*Dioscorea trifida*) by treatment with gibberellic acid. *Tropical Science.* 1988, 28, 75-77.
- Wickham, L.D. et al. 1984. Dormancy responses to post-harvest application of growth regulators in *Dioscorea* species. *J. Agric. Sci., Camb.* (1984), 102-427-432.
- Wickham, L.D. et al. 1984. Tuber development, storage and germination in yams (*Dioscorea spp.*) in response to pre-harvest application of plant growth regulators. *J. Agric. Sci., Camb.*(1984), 102-437-442.



